

ЄВТУШЕНКО М.Ю., ГОРЛІЧЕНКО М.Г., ШЕВЧЕНКО С.В.

СТАТИЧНА БІОХІМІЯ ГІДРОБІОНТІВ



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
Одеський державний екологічний університет

**М. Ю. Євтушенко
М. Г. Горліченко
С. В. Шевченко**

СТАТИЧНА БІОХІМІЯ ГІДРОБІОНТІВ

Навчальний посібник

Схвалено
Міністерством аграрної політики України
для використання в навчально-виховному процесі
як навчальний посібник для підготовки бакалаврів напряму
6.090201 «Водні біоресурси та аквакультура»
у вищих навчальних закладах II – IV рівнів акредитації
Міністерства аграрної політики України

Одеса
«Екологія»
2010

УДК 577.1
ББК 28.072
Є 27

Рецензенти:

Сергій Анатолійович Петров, доктор біол. наук, професор, зав. кафедри біохімії ОНУ імені І. І. Мечнікова;

Ірина Олексіївна Кравченко, доктор хім. наук, професор кафедри фармацевтичної хімії ОНУ імені І. І. Мечнікова;

Орест Михайлович Арсан, доктор біолог. Наук, професор, зав. відділом екотоксикології інституту гідробіології НАН України

Гриф надано Міністерством аграрної політики України
(Лист № 18 – 26 – 13/97 від 23.06.2009 р.)

Євтушенко М. Ю., Горліченко М. Г., Шевченко С.В.

Є 27 Статична біохімія гідробіонтів : навчальний посібник / М.Ю. Євтушенко, М. Г. Горліченко, С. В. Шевченко. – Одеса : Екологія, 2010. – 220 с.

ISBN 978-966-8470-68-8

В навчальному посібнику викладені сучасні загальні уявлення щодо будови біохімічного складу гідробіонтів, детально розглянуто будову і властивості білків, вуглеводів, ферментів, гормонів, вітамінів та мінеральних речовин; особлива увага приділялась методам практичного (якісного і кількісного) визначення вмісту всіх складових в організмах гідробіонтів та встановленню генетичних зв'язків між біохімічним складом гідробіонтів та багатьма факторами, що впливають на хімічний склад гідросфери.

До кожного розділу додаються запитання для самоперевірки, завдання та задачі з використанням термінів і понять, які відповідають найновішим поглядам і вимогам сучасної біохімії. Окрім того, розроблені методичні вказівки щодо проведення експериментальних робіт з біохімії, що сформує теоретичні і практичні знання а також дозволить майбутнім фахівцям використовувати їх на виробництві.

Навчальний посібник «Статична біохімія гідробіонтів» призначений для студентів, що навчаються з напрямку «Водні біоресурси та аквакультура».

УДК 577.1
ББК 28.072

ISBN 978-966-8470-68-8

© Одеський державний
екологічний університет, 2010

*Вода, у тебе немає ні смаку, ні
запаху, тебе неможливо описати,
тобою насолоджуються, не знаючи,
що ти таке. Не можна сказати, що
ти необхідна для життя; тому, що
вода – сама є життя.*

Антуан Сент-Екзюпері

ПЕРЕДМОВА

Гідробіонти – це організми, увесь життєвий цикл яких відбувається у воді. Навіть в одній краплині води вирує їх життя: вони народжуються, живуть, розвиваються та відмирають. В основі всіх процесів лежать складні біохімічні реакції, які вивчає біохімія гідробіонтів.

Природознавство розкриває суть явищ природи, загальні закони руху матерії і енергії в природі. Біохімія відноситься до природничого комплексу наук, що вивчають природу та обґрунтовують суть філософських тлумачень. Сучасне вивчення хімії живих організмів, тобто біохімії, тісно пов'язане із загальним бурхливим розвитком біології у ХІХ столітті.

На початку свого існування біохімія виконувала допоміжну роль для медицини, але потім була виділена як самостійна фундаментальна галузь знань. Вивчення хімічних речовин органічного походження бере свій початок з глибокої давнини, коли люди навчалися одержувати з природних речовин ліки, продукти харчування, барвники, миючі засоби та ін. Так, Гіппократ систематизував описи багатьох хвороб та методи їх лікування; давньоримський лікар Гален виготовляв ліки і рецепти одержання фармакологічних речовин; Авіценна і Парацельс навчилися виділяти і виготовляти різноманітні лікарські препарати з рослин і тварин, а також ввели поняття про їх дозування при лікуванні. Великий внесок у розвиток біохімії зробили відкриття та дослідження К.Шеєле, Т.Е.Ловіца, М.В.Ломоносова, А.Лавуазьє, М.Шевреля, О.М.Бутлерова, П.Ерліха та ін.

Біологічна хімія, або біохімія, як самостійна наука сформувалася наприкінці ХІХ століття. На перших етапах розвитку цієї науки основну увагу приділяли вивченню хімічної природи речовин, що входять до складу тканин (статична біохімія). Ці дослідження дуже важливі для встановлення властивостей та особливостей технології сировини тваринного і рослинного походження. Потім виникла необхідність у вивченні сутності хімічних процесів, які відбуваються в тканинах живих організмів і є основою їх життєдіяльності (динамічна біохімія), а також

функціональної біохімії, яка вивчає біохімічну роль різних тканин та органів.

Сучасна біохімія гідробіонтів ґрунтується на досягненнях фізіології сільськогосподарських тварин, зокрема риб, їх годівлі, генетики, ензимології, молекулярної біології, біоенергетики, біохімічної генетики тощо. Новітні дослідження і технології стали можливими завдяки використанню сучасних методів електрофорезу, хроматографії, полярографії, ультрацентрифугування, рентгеноструктурного аналізу та ін.

Значення біохімії полягає в тому, що вона формує фундаментальне розуміння фізіології гідробіонтів і дає відповіді на питання, як працюють біологічні системи. Знання біохімії знайшли своє застосування в сільському господарстві (одержання і застосування нових генетичних видів, їх селекція та ін.); в медицині (фармацевтична промисловість); в дієтології; в технології виробництва харчових продуктів та ін.

Біохімія вивчає будову і біологічні функції найважливіших компонентів гідробіонтів, в першу чергу, біополімерів і низькомолекулярних біорегуляторів, при цьому вона виявляє закономірності взаємозв'язку між структурою і біологічною дією. Біохімія гідробіонтів сприяє вирішенню складних задач одержання практично важливих препаратів для медицини, сільського господарства, харчової промисловості та ін.

Під час біохімічних перетворень виникають речовини з новими якостями, що є ілюстрацією закону переходу кількісних змін в якісні. Складні біохімічні перетворення, що відбуваються в організмах гідробіонтів, протікають на атомно-молекулярному рівні і супроводжуються різними явищами, які змінюють біохімічну основу тканин і органів та суттєво впливають на метаболічні процеси.

Біохімія в біології виконує важливу об'єднуючу роль та тісно пов'язана з іншими науками, вона виникла на межі таких дисциплін як хімія і біологія, тому має з ними тісний взаємозв'язок. Це одна з фундаментальних природничих наук, знання якої потрібні для формування і майбутньої діяльності молодих фахівців з біологічної, хімічної, екологічної, сільськогосподарської та інших спеціальностей. Сучасна біохімія ґрунтується на досягненнях органічної і загальної хімії, біології, екології, ензимології, молекулярної біології, біоенергетики, фізіології, генетики тощо.

Важливим завданням біохімії гідробіонтів є охорона навколишнього середовища та раціональне використання водних біоресурсів. Теоретичні і практичні знання з біохімії будуть сприяти створенню у майбутніх фахівців широкого природничо-наукового світогляду та розумінню біохімічних основ гідробіонтів.

Дисципліна „Біохімія гідробіонтів” для студентів, які навчаються за напрямом „Водні біоресурси і аквакультура”, належить до професійного

та практичного циклу підготовки бакалаврів і є нормативною, загальнонауковою дисципліною, яка служить базою для подальшого більш поглибленого вивчення спеціальних дисциплін. Знання з біохімії гідробіонтів та проведення лабораторного практикуму дозволить майбутнім фахівцям ефективно використовувати одержані практичні навички на виробництві, а також сприяє створенню у студентів широкого природничо-наукового світогляду і розуміння біохімічних процесів.

Біохімія гідробіонтів забезпечує вивчення таких дисциплін, як: генетика з основами біометрії; селекція риб; гістологія і ембріологія; фізіологія риб; стандартизація продукції аквакультури; технологія переробки риб; годівля риб; селекція риб тощо.

Для розвитку творчих здібностей студентів та формування у них практичних навичок з дисципліни в посібнику створена відповідна організація пізнавальної діяльності по засвоєнню теоретичного матеріалу: надані основні методики визначення біохімічного складу водних організмів та запропоновані завдання практичного і теоретичного характеру.

Мета цього видання – формування у студентів цілісного світогляду на основі сучасних знань уяви про біохімічні процеси, про хімічний склад основних представників гідробіонтів та розуміння сутності процесів, що відбуваються в їх організмах.

В навчальному посібнику розглянуто найважливіші питання сучасної біохімії та практичні методи біохімічних досліджень, які є фундаментальною основою вивчення біохімічної природи різних організмів, зокрема гідробіонтів. На жаль, більша частина біохімічних узагальнень має теоретичний характер, тому в посібнику наведені і практичні завдання, які можуть бути використані для біохімічних досліджень, а також для виконання курсових і дипломних робіт та майбутньої роботи за обраною спеціальністю.

Посібник складається з двох частин. В першій частині розглянуто біохімічні властивості основних структурних компонентів гідробіонтів: білків, ліпідів, вуглеводів та експериментальні методи їх дослідження.

В другій частині містяться теоретичні положення про ферменти, вітаміни, гормони, мінеральні речовини та метаболізм в організмах гідробіонтів.

В навчальний посібник введені контрольні питання і завдання за програмою курсу „Біохімія” для державних університетів, що дозволяє студентам перевірити свої знання.

Автори сподіваються, що запропонований посібник з біохімії гідробіонтів й одержані знання допоможуть студентам в оволодінні своєю майбутньою професією і можуть служити теоретичною та практичною базою для сучасного фахівця за спеціальністю „Водні біоресурси і аквакультури”.

Особлива подяка від авторів за увагу, критичні зауваження та поради рецензентам: доктору біологічних наук, професору, завідувачу кафедри біохімії Петрову С.А., доктору біологічних наук, професору кафедри фармацевтичної хімії Одеського національного університету імені І.І. Мечникова Кравченко І.А.; доктору технічних наук, доценту кафедри технічного консервування Одеської національної академії харчових технологій Добробабіній Л.Б.; науковому редактору, доктору хімічних наук, професору Ганіну Е.В. – за доцільні пропозиції; завідуючій клінічною лабораторією, лікарю вищої категорії Труновій Н.І. та завідуючій лабораторією кафедри хімії навколишнього середовища Одеського державного екологічного університету Гриб К.О. за сприяння в практичній постановці експериментів.

Автори з вдячністю приймуть критичні зауваження і побажання, розуміючи, що посібник не позбавлений недоліків. Ваші пропозиції по суті даної тематики можна надсилати за адресою: 65020, м.Одеса, вул. Львівська, 15, Одеський державний екологічний університет.

Розділ 1. Основні структурні компоненти гідробіонтів

1.1. Вступ

Дисципліна „Біохімія гідробіонтів” є фундаментальною загальнобіологічною дисципліною теоретичного курсу в процесі підготовки фахівців з напрямку „Водні біоресурси” і базовою для вивчення сільськогосподарських тварин, зокрема риб, їх годівлі, генетики і селекції та інших практичних та професійних дисциплін.

Статична біохімія гідробіонтів вивчає будову і біологічні функції найважливіших компонентів живої матерії, в першу чергу, білків, ліпідів і вуглеводів і низькомолекулярних біорегуляторів – вітамінів, гормонів, ферментів та мінеральних речовин, при цьому вона виявляє закономірності взаємозв'язку між структурою і біологічною дією. По суті вона є хімічним фундаментом сучасної біології. Біохімія сприяє вирішенню складних задач одержання практично важливих препаратів для медицини, сільського господарства, харчової промисловості та ін.

Важливим завданням біохімії гідробіонтів є охорона навколишнього середовища та раціональне використання водних біоресурсів. Курс сприяє створенню у майбутніх фахівців широкого природничо-наукового світогляду та розумінню біохімічних основ гідробіонтів.

Об'єкт вивчення: білки і пептиди, нуклеїнові кислоти, вуглеводи, ліпіди, вітаміни, ферменти, гормони та ін.

Методи дослідження: основу складають методи органічної хімії, однак для розв'язання структурно-функціональних завдань використовують і різноманітні фізичні, фізико-хімічні, математичні і біологічні методи.

Основні задачі: виділення в індивідуальному виді біохімічних сполук за допомогою кристалізації, перегонки, хроматографії, електрофореза, фотоелектроколориметрії; дослідження і встановлення структури біохімічних об'єктів, а також біологічне тестування біохімічних сполук.

За своїм хімічним складом живі організми, і гідробіонти в тому числі, істотно відрізняються від літосфери і атмосфери. З 92 хімічних елементів, виявлених у земній корі, у них знайдено тільки 27. Хімічний склад тканин тіла водних тварин і рослин складається з комплексу елементів, серед яких тільки чотири хімічні елементи – Гідроген, Оксиген, Нітроген, Карбон – виявлені в найбільшій кількості. Ці хімічні елементи є основними біогенними елементами, тобто елементами без яких неможливе життя. У більшості клітин їхня частка складає 99% від загальної маси. Відносний вміст трьох цих елементів – Гідрогену, Нітрогену і Карбону – в

живій речовині набагато вищий, ніж у земній корі. Виявлені в живих організмах чотири хімічні елементи є найбільш придатними для побудови тих біомолекул, з яких вони складаються. Придатність цих елементів пояснюється їхньою легкістю і будовою їх атомів. Для заповнення зовнішньої електронної оболонки атома Гідрогену не вистачає одного електрона, Оксигену – два, Нітрогену – три і Карбону – чотири. Тому атоми цих хімічних елементів здатні утворювати міцні ковалентні зв'язки шляхом спарювання електронів як між собою, так і з атомами інших елементів.

Кількісний вміст основних біогенних елементів у сухій субстанції тканин тварин і рослин, що постійно перебувають у гідросфері, досить сталий. Так, у зоопланктоні вміст Гідрогену і Нітрогену майже однаковий і складає 7,2-9,5 %; Карбону - 43,3-45,5%; мінеральний залишок складає приблизно 13,0-16,0%. Для риб ці показники мають такі значення: вміст Гідрогену - 6,4-7,0% ; Нітрогену – 14,3-15,0%; Карбону – 50,6-52,8%; мінерального залишку – 4,9-5,9%. Вміст мінеральних речовин в організмах водоростей і фітопланктона найбільший, його значення коливаються в діапазоні 15,5-52,0%, але дещо меншим є вміст Гідрогену і Нітрогену – до 7 %, кількісний вміст Карбону складає 32,7-46,3%.

До складу сухої субстанції тканин гідробіонтів, окрім біогенних елементів, також входять більш ніж 60 хімічних елементів. В залежності від концентрації окремих елементів у навколишньому середовищі і продуктах харчування, їх досяжності змінюється ступінь застосування окремих елементів в процесах асиміляції у окремих видів гідробіонтів. Деякі елементи накопичуються в тканинах в кількостях, що значно перевищують їх концентрацію в навколишньому середовищі (аккумулятивна здатність організмів), що є проявом біохімічної специфіки даного виду гідробіонтів.

Елементи, що входять до складу живої речовини в різноманітних сполученнях, утворюють хімічні сполуки, які складають молекулярний хімічний склад тканин. Все це спричинює утворення дуже великої кількості речовин, в основі яких лежать скелети з ковалентно зв'язаних між собою карбонових атомів. Такі речовини називаються органічними сполуками. Живий організм за своїми властивостями відрізняється від об'єктів неорганічного світу складністю і високим рівнем організації.

Характерним для живих організмів, зокрема гідробіонтів, є складність їхньої внутрішньої будови, наявність великої кількості складних молекул. Інша особливість живого організму полягає в тому, що будь-яка його складова частина має спеціальне призначення і виконує конкретну функцію. Це стосується не тільки таких органів, як серце, шлунок, легені, мозок, зябра але й внутрішньоклітинних структур, таких як ядро, мітохондрії, лізосоми та інші. Спеціальними функціями наділені

окремі хімічні сполуки, що містяться в клітині. Наприклад, білки, нуклеїнові кислоти, ліпіди тощо.

Молекулярний склад гідробіонтів характеризується вмістом води, органічних білкових і жирових речовин, вуглеводів і мінеральних речовин. В утворенні молекулярних сполук білкових речовин (протеїдів) приймають участь: С, Н, О, Р, N, S, Ca, Fe, Cu, I; в процесі утворення ліпідів - С, Н, О, Р, N; вуглеводів - С, Н, О. Для утворення молекулярних сполук мінеральних речовин необхідна присутність великої кількості хімічних елементів (Na, K, Ca, Mg, Cl та інших).

Встановлено, що молекулярний склад тканин гідробіонтів нестабільний і залежить від біологічних особливостей окремих видів та біологічної специфіки окремих тканин.

Серед молекулярних сполук центральне місце в біохімічних процесах займають речовини білкової природи. Важливу роль в процесах життєдіяльності гідробіонтів відіграє численна група складних високомолекулярних сполук - біологічно активних речовин (ферменти, гормони, вітаміни), які мають специфічні властивості та функції.

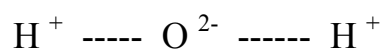
Наступною особливістю живого є те, що живі організми здатні добувати, перетворювати і використовувати енергію навколишнього середовища у формі органічних харчових речовин або у вигляді енергії сонячного випромінювання. Завдяки цьому, організми, наприклад, гідробіонти мають можливість створювати власні, багаті на енергію, складні речовини, за рахунок яких організми виконують механічну роботу під час рухів і здійснюють транспорт різноманітних речовин через мембрани. Нежива природа не має таких властивостей.

Найбільш унікальна особливість живих організмів – це їхня здатність до точного самовідтворення, що забезпечує зберігання з покоління в покоління однакової форми, маси і внутрішньої структури.

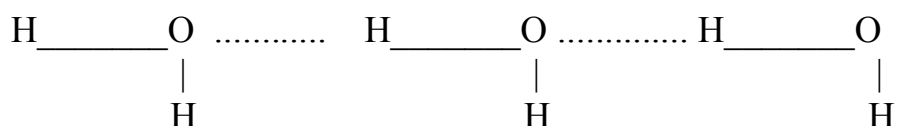
Серед молекул, що входять до складу живих організмів, переважають молекули води. Ваговий вміст води в них становить 70% і більше. Вода заповнює всі складові частини кожної живої клітини. Вона являє собою те середовище, у якому не тільки постійно перебувають гідробіонти, але й у якому здійснюється транспорт харчових речовин, усі метаболічні процеси, перенесення хімічної енергії. Тому всі структурні елементи клітини, їх функції добре пристосовані до фізичних і хімічних властивостей води. Клітини використовують унікальні властивості води для реалізації багатьох процесів своєї життєдіяльності.

В порівнянні з більшістю рідин вода має високі температури плавлення, кипіння і теплоту випаровування. Це свідчить про сильне притягання між молекулами води. Атоми Гідрогену і Оксигену у воді сполучені один з одним ковалентними полярними зв'язками, кожен із двох атомів Гідрогену об'єднує свій електрон з одним із електронів атома Оксигену. Проте більш електронегативний атом Оксигену намагається

притягнути електрони атомів Гідрогену. В результаті на двох атомах Гідрогену локалізовані частково позитивні заряди, а на атомі Оксигену – два частково негативні заряди.



Розташування валентних електронних пар навколо атомів Оксигену в молекулі води близьке до тетраедричного. Молекула води в цілому електронейтральна, її часткові негативний і позитивний заряди просторово розділені, що спричинює появу в ній електричного дипольного моменту. Таким чином, вода являє собою приклад полярної рідини. Завдяки розподілу зарядів дві сусідні молекули води притягуються одна до одної за рахунок сил електростатичної взаємодії між частковим негативним зарядом, локалізованим на атомі Оксигену однієї молекули води, і частковим позитивним зарядом, локалізованим на атомі Гідрогену. іншої молекули. Такий тип електростатичної взаємодії приводить до утворення так званого водневого зв'язку.



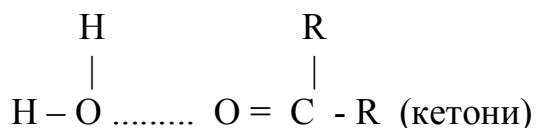
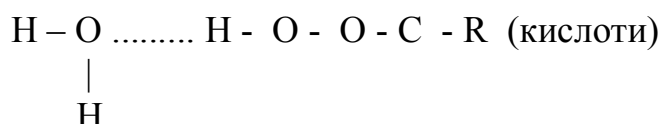
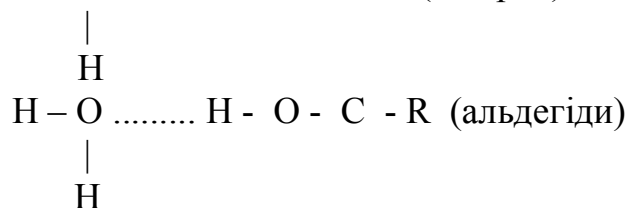
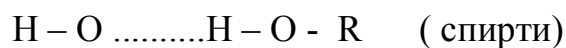
Окремі молекули води завдяки водневому зв'язку утворюють асоціати. Водневі зв'язки слабкіші за ковалентні, але завдяки своїй чисельності забезпечують високу стійкість рідкої води і високу температуру кипіння.

Вода є значно кращим розчинником ніж більшість інших рідин. Багато кристалічних солей, таких як хлорид натрію, добре розчинні у воді завдяки біполярному характеру її молекул. Кристалічна ґратка солі стабілізована сильним електростатичним протягуванням між позитивно і негативно зарядженими йонами, що чергуються один з одним. Коли кристал NaCl поміщають у воду, біполярні молекули води дуже сильно притягують йони Na^+ і Cl^- , руйнуючи тим самим кристалічну ґратку солі. В результаті ці йони в гідратованій формі поступово переходять у розчин:

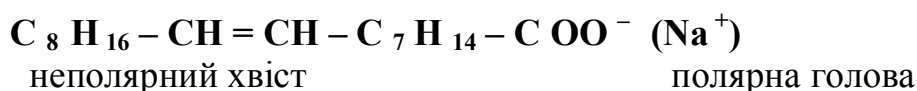


Вода розчиняє також багато нейтральних органічних речовин, що містять карбоксильні, карбонільні або аміногрупи, які здатні йонізуватися в процесі взаємодії з водою. Добре розчиняється у воді багато нейтральних органічних сполук, що містять полярні функціональні групи. Це такі речовини як цукри, спирти, альдегіди і кетони. Розчинність речовин обумовлена здатністю молекул води утворювати водневі зв'язки з

гідроксильними групами цукрів, а також із карбонільними групами кетонів і альдегідів.



Ще один клас речовин – це речовини, що диспергуються водою, до них відносяться сполуки, що містять гідрофобні (ті що відштовхують) і гідрофільні (ті, що притягують воду) групи. Наприклад, натрієва сіль олеїнової кислоти з довгим вуглеводневим ланцюгом (неполярний хвіст), яка має вуглеводневий ланцюг, як і вуглеводні, гідрофобний, тобто не розчинний у воді та полярну голову:

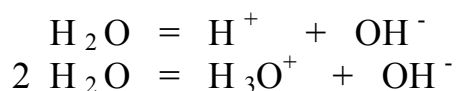


Проте, якщо олеат натрію диспергувати у воді, то утворюються системи (агрегати), що називаються міцелами. У міцелах гідрофільні негативно заряджені карбоксильні групи взаємодіють із молекулами води і звернені до водної фази. Гідрофобні вуглеводневі ланцюги заховані всередині структури. Такі міцели можуть містити сотні і навіть тисячі молекул олеїнату натрію, вони залишаються рівномірно суспензованими у воді, тому, що всі мають однойменний негативний заряд і тому постійно відштовхуються одна від одної. Таке розташування неполярних груп у міцелах обумовлене властивістю молекул води, що оточують міцелу, утворювати водневі зв'язки між собою, а також зв'язуватися з гідрофільними карбоксильними групами. В результаті гідрофобні вуглеводневі ланцюги, що не здатні утворювати водневих зв'язків, ховаються від води в середину міцели.

Багато компонентів живих клітин наприклад фосфоліпіди, білки, нуклеїнові кислоти містять гідрофобні і гідрофільні групи і намагаються

утворювати у водних розчинах структури, у яких неполярні гідрофобні ділянки їх молекул ізольовані від водної фази. Встановлено, що саме міцелярна організація ліпідних молекул складає основу біологічних мембран клітин.

З хімічної точки зору вода – це слабкий електроліт, що розпадається на йони гідрогену (H^+) і йони гідроксилу (OH^-). При цьому між недисоційованими молекулами води та йонами встановлюється рівновага:



Цей процес відбувається в двох напрямках, зворотна йонізація (дисоціація) води має дуже важливе значення у функціонуванні живої клітини. Йонізація води відбувається дуже слабо, але при 25°C із 10 мільйонів молекул чистої води в дисоційованому стані знаходиться лише одна. Оскільки в чистій воді концентрації цих йонів однакові $[\text{H}^+] = [\text{OH}^-]$, то такий розчин називають нейтральним, що відповідає значенню водневого показника середовища **pH** (це від'ємний десятковий логарифм концентрації йонів H^+). Для нейтральних розчинів $\text{pH} = 7$, для кислого середовища pH менше 7 ($\text{pH} = 1 - 6,9$), для лужного середовища pH більше 7 ($\text{pH} = 7,1 - 14$). Необхідно знати, що величини pH і pOH , як і концентрації йонів H^+ і OH^- , тісно пов'язані між собою. У цьому випадку можна записати такий вираз: $\text{pH} + \text{pOH} = 14$.

Величину pH водних розчинів можна приблизно визначити за допомогою різних індикаторів, таких як лакмус, метилоранж, фенолфталеїн. Точне значення pH визначають за допомогою спеціального приладу – pH -метра. Так, наприклад, 1М розчин HCl має $\text{pH}=1$; лимоний сік – $\text{pH}=2$; оцет і кока-кола – $\text{pH}=3$; томатний сік і червоне вино – $\text{pH}=4$; молоко і слина – $\text{pH}=6,5$; кров і сльози – $\text{pH}=7,2$; морська вода і яєчний білок – $\text{pH}=7,8$; питна сода (гідрокарбонат натрія) – $\text{pH}=9$; нашатирний спирт (гідроксид амонію) – $\text{pH}=12$; 1М розчин гідроксиду натрію – $\text{pH}=14$.

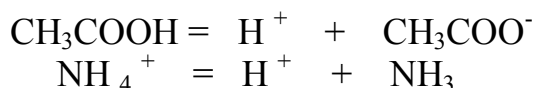
Від значення pH залежить структура й активність біологічних макромолекул, зокрема, активність ферментів. Так, активність пепсину шлункового соку максимальна при $\text{pH} 1,5-2$, каталази крові – при $7,0$. Тканинні катепсини в нейтральному середовищі здійснюють синтез білків, у кислому – відбувається їх розщеплення. Зміна pH середовища понижує активність ферментів, порушує обмін речовин, змінює структуру та впливає на осадження білків.

Значення pH використовують при діагностиці захворювань. Наприклад, у людей що страждають важкою формою діабету значення pH крові часто нижче порівнянно з нормою, такий стан називають ацидозом. При деяких інших захворюваннях величина pH може бути вище за норму, такий стан називають алкалозом.

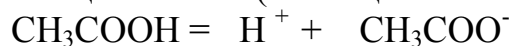
З властивостями води тісно пов'язані властивості кислот і основ. Розрізняють сильні кислоти (хлоридна, сульфатна, нітратна) і сильні основи (натрій гідроксид, калій гідроксид) та слабкі. У водних розчинах сильні кислоти і основи повністю йонізовані, тому для них характерні порівнянно великі значення констант дисоціації, або констант йонізації (але їх логарифмічне значення рК навпаки менше ніж у слабких кислот – чим більше рК кислоти, тим слабше кислота і навпаки).

У біологічних системах присутні слабкі кислоти (мурашина, оцтова, карбонатна, фосфатна) і основи (гідроксид амонію або нашатирний спирт).

Кислоти визначаються як донори протонів, а основи – як акцептори протонів. Донор протона і відповідний йому акцептор протона складають сполучену кислотно-основну пару. Вони пов'язані між собою оборотними реакціями. Наприклад:

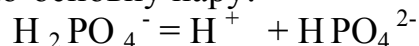


Суміші слабких кислот і спряжених з ними основ являють собою системи, що називають буферними. Вони мають дуже важливу властивість: при додаванні до такої суміші невеликих кількостей кислоти $[\text{H}^+]$ або основи $[\text{OH}^-]$, або при розведенні вони здатні підтримувати постійне значення рН. Прикладом буферної системи може служити суміш оцтової кислоти та ацетат-йона (солі оцтової кислоти):



У всіх живих організмів внутрішньоклітинні і позаклітинні рідини мають характерну і постійну величину рН, що підтримується в першу чергу буферними системами.

У людини, ссавців і гідробіонтів є дві важливі буферні системи. Фосфатна – підтримує рН внутрішньоклітинної рідини. Вона являє собою спряжену кислотно-основну пару:

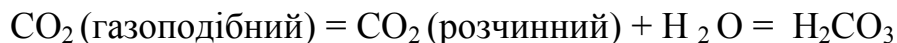


Ця система максимально ефективно функціонує біля рК = 6,86, тому що значення рК йонів H_2PO_4^- - дорівнює 6,86. Така фосфатна буферна пара добре утримує рН в інтервалі між 6,1 - 7,7 і може забезпечувати буферну ємність внутрішньоклітинної рідини, значення якої лежить у межах 6,9 - 7,4.

Головною буферною системою плазми крові є бікарбонатна система. Вона являє собою спряжену кислотно-основну пару, яка складається з молекул карбонатної кислоти (H_2CO_3), що виконує роль донора протона, і бікарбонат-йона (HCO_3^-), що виконує роль акцептора протона:



Це унікальна буферна система організму, яка виконує функцію фізіологічного буфера близько $pH = 7,4$, тому, що донор протона H_2CO_3 у плазмі крові знаходиться в динамічній рівновазі з великим резервним об'ємом газоподібної CO_2 у повітряному просторі легенів. Тому за будь-яких умов, коли в кров за яких небудь причин потрапляє надлишок йонів OH^- і pH підвищується, частина карбонатної кислоти H_2CO_3 , перетворившись в HCO_3^- в результаті взаємодії з йонами OH^- , дуже швидко відновлюється за рахунок великого запасу газоподібної CO_2 в легенях. Остання, розчиняючись у крові, утворює розчинну CO_2 , що вступає в реакцію з водою, утворюючи H_2CO_3 .



Якщо чомусь величина pH крові зменшується, деяка кількість HCO_3^- буферної системи зв'язується з надлишком йонів H^+ . При цьому утворюється надлишок H_2CO_3 , яка розпадається, виділяючи розчинений вуглекислий газ, переходить у газову фазу і видихається організмом. Таким чином висока ефективність процесу дихання, тобто висока швидкість вдихання повітря і видихання CO_2 обумовлює підтримання постійного значення pH у крові.

Склад крові гідробіонтів в нормі має сталі значення й коливається в незначних межах. Будь-які зміни її складу, морфологічні і хімічні, виникають як відображення патологічних процесів, що відбуваються в організмі.

Кров риб та інших гідробіонтів стала предметом детального вивчення тільки останнім часом (Blaxhall, 1972; Ellis, 1977; Головіна.Н.А., Тромбицький І.Д., 1989; Іванова Н.І., 1995; Головіна Н.А., 1996), чому сприяв розвиток медичної і ветеринарної гематології, розробка нових універсальних методів гематологічного аналізу, нова більш досконала класифікація крові гідробіонтів, що була запропонована Н.І.Івановою (1983).

При проведенні гематологічних досліджень гідробіонтів використовують методики, які подібні тим, що використовують для вивчення крові у теплокровних тварин, із врахуванням ряду особливостей, характерних для фізико-хімічних властивостей крові гідробіонтів. Наприклад, активність ферментів риб визначають при температурі 24-26°C.

Основними методами дослідження крові є такі, як: морфологічні, біохімічні, імунологічні, так найчастіше визначають такі показники: швидкість осадження еритроцитів, загальна кількість еритроцитів і лейкоцитів, вміст гемоглобіну, кількість білків, жирів, вуглеводів та ін.

Останім часом більше уваги приділяють вивченню біохімічних і метаболічних процесів, що виникають в крові гідробіонтів в результаті

взаємодії із вірусами, бактеріями, токсичними сполуками та ін. Найбільш часто в якості індикатора загального стану здоров'я гідробіонтів визначають вміст білка і його фракцій у сироватці крові (Давидов О.Н. та ін., 1999; Давидов О.Н., Темніханов Ю.Д., 2004).

В наш час існує високоінформативні методи оцінки патології гідробіонтів, в основі яких лежать імунологічні показники (Мікряков В.Р., 1984; Лук'яненко В.В., 1989; Темніханов Ю.Д., Клименко Г.М., 2003; Компанець Е.В., Мандігра Н.С., 2003).

В результаті таких досліджень було виявлено, що кров складається з рідкої частини - плазми і формених елементів (еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів). Рідка частина крові, що залишається після зсідання, називається сироваткою. Плазма крові складається з 80% води, 18% білків і 2% інших розчинних речовин; біля половини цих речовин – солі (фосфатний буферний розчин з рН 6,8 – 7,2).

Еритроцити містять гемоглобін. Кількість гемоглобіна для здорових риб, наприклад, рибця, шемаї, осетрових та ін. коливається біля 166, 0 г/л в залежності від темпу росту, умов існування, сезону року і фізіологічного стану гідробіонтів. Гемоглобін „С” має велике значення в прісних водах; гемоглобін „F” – в морських. Також гетерогенна природа гемоглобіну виявлена у осетрових риб (Голованенко Л.Ф., 1964; Лук'яненко В.В., 1993).

Більшу тривалість життя еритроцитів у риб пояснюють наявністю в них ядра, на відміну від ссавців і людини. У різних видів риб кількість еритроцитів може бути різною: у прісноводних риб – 1,71 млн, у морських – 2,26 млн, так у коропа налічують 0,9 – 1,89 млн, у форелі – 1,1 – 1,4 млн, у щуки – 2,08 млн в 1 мл (Анісімова І.М., Лаврівський В.В., 1991; Житнєва Л.Д., Макаров Е.В., Рудницька О.А., 2001).

Найбільш багаточисельні клітини білої крові риб – лімфоцити (90%) – це великі, округлі, амебоподібні клітини з крупним червоно-фіолетовим ядром або без нього; інша частка 10% представлена іншими лейкоцитами. Основна функція лейкоцитів – захисна, вони складають основну частину імунної системи гідробіонтів. Тому при інфекційних захворюваннях кількість лейкоцитів збільшується, що є показником підсиленої захисної реакції організму. Збільшення кількості лейкоцитів називають лейкоцитозом, а зменшення – лейкопенією.

Кількість лейкоцитів у гідробіонтів різна і залежить від статі, тривалості життя, наприклад, у коропа – 9 – 80 тис. в 1 мл, у краснопірки вона досягає 120 тис в 1 мл, у йоржа – 178 тис. в 1 мл (Голодець Г.Г., 1940).

В умовах антропогенного забруднення водойм виникають негативні зміни в екологічних взаємозв'язках, ускладнюється епізоотична ситуація, тому боротьба із захворюваннями гідробіонтів та зниженням їх продуктивності є одним з першочергових завдань спеціалістів, що

займаються водними біоресурсами (зниження продуктивності в господарствах при наявності хвороб коропових та лососевих риб досягає 25-30%). У водоймах ускладнена боротьба із забруднювачами багатьох небезпечних хвороб гідробіонтів, тому, що їх проміжні господарі постійно перебувають у воді рибоводних об'єктів чи джерел водопостачання та передаються від хворих організмів здоровим із водою.

Складні біохімічні перетворення, що відбуваються в організмах гідробіонтів протікають на атомно-молекулярному рівні і супроводжуються різними явищами, які змінюють біохімічну основу тканин і органів та суттєво впливають на метаболічні процеси.

1.2. Найважливіші властивості води

1.2.1. Вода та її властивості в організмах гідробіонтів

Вода – найпоширеніша на Землі речовина. Майже три чверті поверхні земної кулі покриті водою, що утворює океани, моря, ріки та озера, в яких мешкають гідробіонти.

Природна вода не буває цілком чистою. Найчистішою є дощова вода, але й вона містить незначні кількості різних домішок, які захоплює з повітря або ґрунту.

Кількість домішок у прісних водах звичайно лежить у межах від 0,01 до 0,1 вагових відсотків. Морська вода містить 3,5% розчинених речовин, основну масу яких становить хлорид натрію.

Вода має дуже велике значення у житті рослин і тварин. Згідно з сучасним уявленням, саме походження життя пов'язане з морем. У будь-якому живому організмі вода є середовищем, де відбуваються хімічні процеси, що забезпечують їх життєдіяльність.

Вода є природним незамінним середовищем, в якому постійно перебувають гідробіонти, в той же час вона є найбільш значущою і обов'язковою складовою частиною всіх видів тканин організмів тварин і рослин: нормальні функції живої протоплазми можуть здійснюватись тільки при достатньому вмісті в тканинах води. Вода має велике значення і як речовина, що приймає участь у більшості біохімічних реакцій.

Так при безпосередній участі води відбуваються біохімічні процеси обміну; з водою пов'язані процеси всмоктування, переміщення і розподілу поживних речовин в організмі гідробіонтів, а також виведення з організму кінцевих продуктів обміну.

Біологічна роль води дуже значна: якщо організми можуть переносити втрату майже всього жирового запасу або половину загального вмісту білків, то втрата 9-10% води викликає важкі патологічні зміни, а втрата 15-20% загального вмісту води приводить до загибелі організму. Навіть невеликий дефіцит води приводить до отруєння організму гідробіонтів кінцевими продуктами обміну. Тому вода в організмі гідробіонтів повинна постійно поповнюватись. Поповнення запасів води може здійснюватись екзогенним (вода потрапляє з їжею ззовні) та ендогенним (вода утворюється в самому організмі при окисненні складових частин їжі) шляхами. Основне значення має екзогенний шлях одержання води гідробіонтами.

Гідробіонти в порівнянні з наземними тваринами і рослинами мають більш гідратовані тканини, причому серед гідробіонтів найбільший вміст води міститься у медуз (95-99%); середні значення - у актиній, молюсків (86-97%) та у м'ясі риб (64-92%), найменша кількість води міститься у м'ясі морських ссавців (64-76%).

Вода – найбільш рухливий компонент складу тканин, тому вміст води в однотипних тканинах змінюється в досить значних межах, що викликано рядом причин біологічного характеру (вид, вік, стать, стадія розвитку статевих залоз, сезон вилову і т.п.). У риб, наприклад, вміст води у м'язах зменшується із зростанням віку та вгодованості організму; недостача їжі і голодування під час зимівлі, розвиток статевих залоз і нерест – причини, що викликають збільшення вмісту води у м'ясі гідробіонтів.

В живому організмі, що постійно перебуває у водному середовищі, 70-75% води входить до складу плазми, а 25-30% входить до складу сполучних тканин, яка забезпечує обмін речовин між кров'ю і клітинами організму.

Кількісний вміст води в різних тканинах гідробіонтів залежить від вмісту в них протоплазми. Наприклад, у риб високий вміст води (89-99%) мають біологічні рідини (кров, слиз, лімфа), а найменшу кількість води мають жирові тканини 2-25%.

В організмі водних тварин і рослин вода присутня не тільки у вигляді моноводу (H_2O), але й у вигляді ди-, три- і полігидру. Встановлено також, що в організмі гідробіонтів присутня незначна кількість важкої води, причому її вміст зростає із збільшенням глибини існування живих організмів.

Важкий гідроген (дейтерій), що міститься у важкій воді (D_2O) гальмує ферментативні процеси. Уповільнює зростання і поділ клітин, знижує активність дихання і т.п. Всі ці явища посилюються з підвищенням концентрації D_2O у воді.

В живому організмі постійно відбуваються процеси дифузії газів і солей, а також перерозподіл води. Наприклад, в плазмі крові розчинений кисень і вуглекислий газ, які дифундують в еритроцити і лімфу, а з лімфи – в протоплазму клітин. Швидкість процесів дифузії і осмосу крізь мембрани залежить від фізико-хімічних факторів (властивості речовин, різниці концентрацій розчинів на межі розподілу мембран, гідратація йонів, електричний заряд, температура і т.п.) та від фізіологічних факторів що визначають властивості і проникність живої мембрани. Цим, наприклад, пояснюється факт вибіркового проходження йонів через живі біологічні мембрани. Наприклад, через оболонку еритроцитів не проходять йони натрію Na^+ і калію K^+ , а йони хлору Cl^- і HCO_3^- гідрокарбонат-йон можуть проникати, тоді як вуглекислий газ CO_2 проникає через вологу мембрану скоріше за кисень O_2 і т.п.

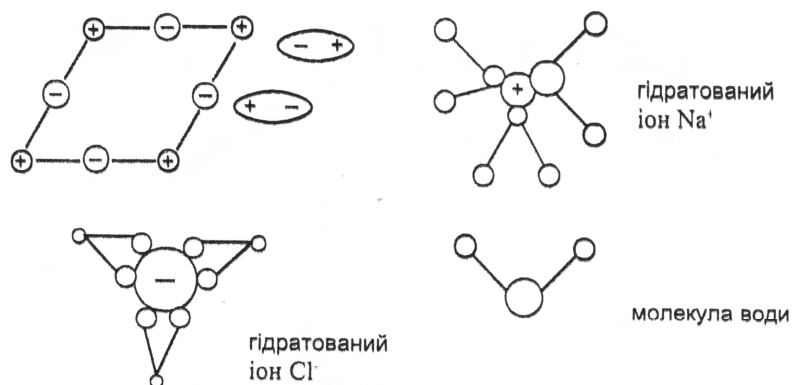
Процеси осмосу і дифузії відіграють значну роль в регуляції складу крові і процесів обміну, і мають значний вплив на хід всіх біохімічних процесів.

Велике значення у житті гідробіонтів має той факт, що воді властива аномально висока теплоємність (1 кал/г град). Тому в нічний час, а також у період переходу від літа до зими, вода охолоджується повільно, а вдень, або в період переходу від зими до літа, так само повільно нагрівається є, таким чином, регулятором температури на земній кулі.

Густина води при переході її з твердого стану в рідкий не зменшується, як майже в усіх інших речовин, а зростає. Оскільки найбільшої густини вода досягає при температурі $+4^{\circ}\text{C}$, то процес переміщення її шарів доходить лише до цієї температури, після чого більш охолоджений шар лишається на поверхні, замерзає і тим самим захищає шари, що лежать нижче, від подальшого охолодження і замерзання. Разом з водою циркулюють і поживні речовини, завдяки чому водойми можуть бути заселеними живими організмами на великій глибині. Якби вода не мала такої виняткової природної властивості, то багато форм життя у воді були б неможливими.

Окремі молекули води завдяки водневим зв'язкам утворюють асоціати, тобто сполучення їх у складніші агрегати. Водневі зв'язки слабші за ковалентні, але завдяки своїй чисельності забезпечують високу стійкість рідкої води і високі температури кипіння, топлення і теплоту випаровування.

Вода є значно кращим розчинником, ніж більшість інших рідин. Багато кристалічних солей, таких як хлорид натрію (основний компонент морської води), добре розчинні у воді завдяки біполярному характеру її молекул. Кристалічна ґратка солі стабілізована сильним електростатичним притягінням між позитивно і негативно зарядженими йонами, що чергуються один з одним. Коли кристал NaCl поміщають у воду, біполярні молекули води дуже сильно притягують йони Na^{+} і Cl^{-} , руйнуючи тим самим кристалічну ґратку солі. В результаті ці йони в гідратованій формі поступово переходять у розчин.



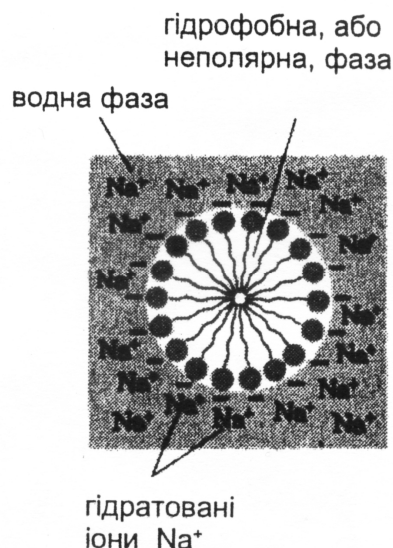
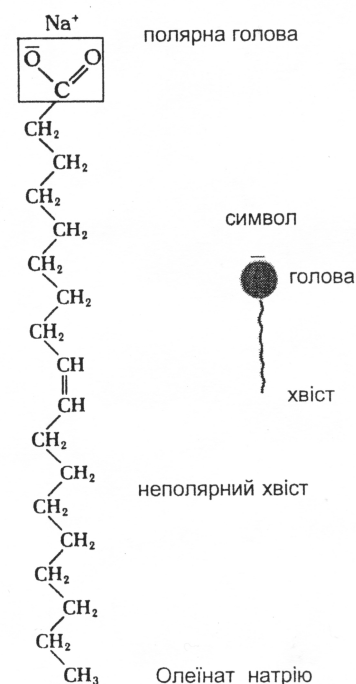


Вода, як полярний розчинник, розчиняє також багато нейтральних органічних речовин, що містять карбоксильні групи або аміногрупи, які здатні йонізуватися в процесі взаємодії з водою. Так, добре розчиняються у воді багато нейтральних органічних сполук, що містять полярні функціональні групи. Це — білки, вуглеводи, водорозчинні вітаміни, спирти, альдегіди, кетони тощо

Розчинність речовин обумовлена здатністю молекул води утворювати водневі зв'язки з гідроксильними групами цукрів, а також із карбонільними групами альдегідів і кетонів.

В природі існують речовини, що диспергуються водою. До них відносять сполуки, що містять гідрофобні (з грецької: "гідра" — вода, „фобіос” - ненавиджу), які мають дуже слабку взаємодію води і речовини, і гідрофільні („філос” - люблю) групи. Наприклад, натрієва сіль олеїнової кислоти з довгим вуглеводневим ланцюгом. Вуглеводневий ланцюг, як і вуглеводні, гідрофобний, не розчинний у воді. Проте якщо олеат натрію диспергований у воді, то утворюються системи (агрегати), що називають міцелами. У міцелах гідрофільні та негативно заряджені карбоксильні групи взаємодіють із молекулами води і звернені до водної фази. Гідрофобні неполярні вуглеводні ланцюги заховані всередині структури.

Міцели можуть містити сотні і навіть тисячі таких молекул. Вони залишаються рівномірно суспензованими у воді, тому

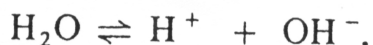


що всі мають однойменний негативний заряд і тому постійно відштовхуються одна від одної. Таке розташування неполярних груп у міцелах обумовлено властивістю молекул води, що оточують міцелу, утворювати водневі зв'язки між собою, а також зв'язуватися з гідрофільними карбоксильними групами. В результаті гідрофобні вуглеводневі ланцюги, що не здатні утворювати водневих зв'язків, ховаються від води всередину міцели.

Багато компонентів живих клітин, наприклад, фосфоліпіди, білки, нуклеїнові кислоти містять гідрофобні і гідрофільні групи і намагаються утворювати у водних розчинах структури, у яких неполярні гідрофобні ділянки їх молекул ізольовані від водної фази. Встановлено, що саме міцелярна організація ліпідних молекул складає основу біологічних мембран клітин.

1.2.2. Вода як електроліт, буферні системи живих організмів

Чиста вода дуже погано проводить електричний струм, на відміну від природної, але все таки має вимірну електропровідність, яка пояснюється невеликою дисоціацією води на йони. При цьому між недисоційованими молекулами води та йонами встановлюється рівновага:



Зворотна йонізація (дисоціація) води має дуже важливе значення у функціонуванні живої клітини. Насправді вільних йонів водню у воді не існує. Як і більшість інших йонів, вони гідратовані, тобто оточені гідратною оболонкою. Гідратну форму йона H^+ називають йоном гідронію або гідроксонію і позначають H_3O^+ . Для спрощення часто йони гідроксонію не вживають у реакціях.

Йонізація води відбувається дуже слабо. У будь-який момент при 25°C із 10 мільйонів молекул чистої води в дисоційованому стані знаходиться лише одна. Проте, незважаючи на дуже слабку дисоціацію, йони H^+ і OH^- , що при цьому утворюються, відіграють винятково важливу роль у біологічних процесах. Тому необхідно знати кількісну сторону дисоціації води. З рівноваги зворотної реакції можна записати константу дисоціації води :

$$K_d = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]}$$

Концентрація недисоційованих молекул у воді дуже висока порівняно з дисоційованою (вона дорівнює числу грамів води в 1л, поділеному на

молярну масу, тобто $1000 : 18 = 55,5\text{M}$) і являє собою практично сталу величину відносно дуже низьких концентрацій йонів H^+ та OH^- . Чисельне значення $K_{\text{д H}_2\text{O}}$ при 25°C дорівнює $1,8 \cdot 10^{-16}$. Підставивши відповідні значення одержимо:

$$1,8 \cdot 10^{-16} = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{55,5},$$

$$\begin{aligned} (55,5) \cdot (1,8 \cdot 10^{-16}) &= [\text{H}^+][\text{OH}^-], \\ 99,9 \cdot 10^{-16} &= [\text{H}^+][\text{OH}^-], \\ 1,0 \cdot 10^{-14} &= [\text{H}^+][\text{OH}^-]. \end{aligned}$$

Величину $1 \cdot 10^{-14}$ називають йонним добутком води. Вона означає, що добуток $[\text{H}^+][\text{OH}^-]$ у чистій воді при 25°C завжди дорівнює строго визначеній величині, а саме $1 \cdot 10^{-14}$. Оскільки $[\text{H}^+] = [\text{OH}^-]$, що має місце в чистій воді, то такий розчин називають нейтральним. Виходячи з чисельного значення йонного добутку води можна розрахувати концентрацію йонів H^+ і OH^- у воді.

$$\begin{aligned} K_{\text{д H}_2\text{O}} &= 1 \cdot 10^{-14} = [\text{H}^+] = [\text{OH}^-] = [\text{H}^+]^2 \\ [\text{H}^+] &= \sqrt{K_{\text{д H}_2\text{O}}} = \sqrt{1 \cdot 10^{-14}} = 10^{-7} \text{ г-іон / л} \\ [\text{H}^+] &= [\text{OH}^-] = 10^{-7} \text{ г-іон / л} \end{aligned}$$

Оскільки йонний добуток води є сталою величиною, то зрозуміло, що коли концентрація йонів H^+ вища за 10^{-7} моль/л, то концентрація йонів OH^- має бути менше 10^{-7} моль/л, і навпаки. Таким чином, коли концентрація йонів H^+ дуже висока, як у розчинах кислот, концентрація йонів OH^- буде дуже низькою, оскільки їх добуток завжди має залишатися рівним $1 \cdot 10^{-14}$. Також, навпаки, якщо концентрація йонів OH^- дуже висока, наприклад, у розчині лугу, то концентрація йонів H^+ буде дуже низькою. Отже, знаючи концентрацію йонів OH^- , із чисельного значення йонного добутку води можна обчислити концентрацію йонів H^+ і навпаки.

Кількісні значення йонів H^+ дуже малі і проводити з ними розрахунки не зручно. Тому користуються логарифмічним виразом їх концентрацій (це обернений десятковий логарифм концентрації йонів H^+), що позначають символом рН:

$$\text{pH} = -\lg [\text{H}^+]$$

У нейтральному розчині, де концентрація йонів H^+ становить $1,0 \cdot 10^{-7}$, розмір рН при 25°C дорівнює:

$$pH = -\lg 1,0 \cdot 10^{-7} = -(\lg 1,0 + \lg 10^{-7}) - (0 + (-7)) = 7$$

або

$$pH = \lg \frac{1}{1,0 \cdot 10^{-7}} = \lg(1 \cdot 10^7) = \lg 1,0 + \lg 10^7 = 0 + 7 = 7$$

Таблиця 1.1. Шкала рН та рОН

$[H^+]$, М	рН	$[OH^-]$, М	рОН
1,0	0	10^{-14}	14
10^{-1}	1	10^{-13}	13
10^{-2}	2	10^{-12}	12
10^{-3}	3	10^{-11}	11
10^{-4}	4	10^{-10}	10
10^{-5}	5	10^{-9}	9
10^{-6}	6	10^{-8}	8
10^{-7}	7	10^{-7}	7
10^{-8}	8	10^{-6}	6
10^{-9}	9	10^{-5}	5
10^{-10}	10	10^{-4}	4
10^{-11}	11	10^{-3}	3
10^{-12}	12	10^{-2}	2
10^{-13}	13	10^{-1}	1
10^{-14}	14	1,0	0

У табл.1.1. подана вся шкала рН у межах йонного добутку води. Значення 7,0 одержано з чисельного значення йонного добутку води при 25°C. Розчини, що мають рН більше 7,0, є лужними, оскільки концентрація йонів OH^- у таких розчинах більше за концентрацію йонів H^+ . І, навпаки, розчини, що мають рН менше 7,0, - це кислі розчини.

Необхідно пам'ятати, що шкала рН є не арифметичною величиною, а логарифмічною. Якщо говорять, що величина рН двох розчинів відрізняється на одну одиницю, то це означає, що концентрація йонів H^+ в одному з них у 10 разів більша, ніж в іншому.

Іноді для кількісної характеристики лужності, тобто концентрації OH^- у розчині, використовують величину рОН, яку визначають аналогічно рН виразом: $pOH = -\lg[OH^-]$. Наприклад, величина рОН розчину з 0,1М концентрацією йонів OH^- дорівнює 1 ($pOH = -\lg 10^{-1} = -(-1) = 1$), тоді як значення рОН розчину, у якому концентрація йонів OH^- дорівнює 10^{-7} моль/л, становить 7,0. Необхідно пам'ятати, що величини рН і рОН, як і концентрації йонів H^+ та OH^- , пов'язані між собою. У цьому випадку — виразом $pH + pOH = 14$. На практиці користуються величиною рН, але при цьому пам'ятають, що при збільшенні або зменшенні значення рН

відповідно зменшується або збільшується значення рОН, так що сума їх залишається постійною величиною, яка дорівнює 14.

Величину рН водних розчинів можна приблизно визначити за допомогою різних індикаторів, таких, як лакмус, метилоранж, фенолфталеїн. Точне значення рН визначають за допомогою приладу — рН-метру.

Від величини рН залежать структура та активність біологічних макромолекул, зокрема, активність ферментів. Так, активність пепсину шлункового соку максимальна при рН 1,5-2, каталази крові - при 7,0. Тканинні катепсини в нейтральному середовищі здійснюють синтез білків, у кислому — їх розщеплення. Зміна рН середовища приводить до зниження активності ферментів, порушення обміну речовин, зміни структури та осадження білків.

Значення рН використовують при діагностиці захворювань. Наприклад, у людей, що страждають на важку форму діабету, значення рН крові часто нижче порівняно з нормою. Такий стан називають ацидозом. При деяких інших захворюваннях величина рН може бути вище за норму. Такий стан називають алкалозом.

З властивостями води тісно пов'язані властивості кислот і основ. Розрізняють сильні кислоти та основи а також слабкі. Сильні кислоти — це хлороводнева, сульфатна, нітратна. Сильні основи — натрій гідроксид, калій гідроксид. У водних розчинах вони повністю йонізовані, тому і належать до сильних.

У біологічних системах присутні слабкі кислоти і основи. Прикладом слабких кислот можуть бути оцтова, карбонатна, фосфатна, слабкої основи - аміак (амоніак).

Кислоти визначаються як донори протонів, а основи — як акцептори протонів. Донор протона і відповідний йому акцептор протона складають сполучену кислотно-основну пару. Вони пов'язані між собою оберненими реакціями. Наприклад:

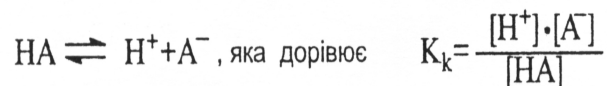


донори протонів
спряжені кислоти

протон

акцептори протонів
спряжені основи

У водному розчині кожна кислота намагається відщепити свій протон. Чим сильніша кислота, тим сильніше виражена ця тенденція. Здатність будь-якої кислоти НА відщеплювати протон і утворювати сполучену з нею основу А⁻ характеризується константою рівноваги зворотної реакції:



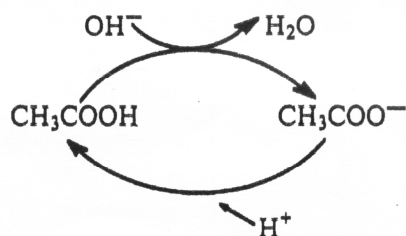
Константи рівноваги таких реакцій називають константами йонізації або константами дисоціації. Константа дисоціації характеризує силу кислоти. Малі значення константи дисоціації свідчать про низьку концентрацію йонів H^+ у розчині, про слабку йонізацію кислоти. Чим менше K_k , тим слабша кислота. Оскільки K_k виражаються дуже малими цифрами, то зручніше користуватися, як і у випадку з рН, логарифмічними виразами, що позначаються $\text{p}K_k$ кислоти або $\text{p}K_o$ основи ($\text{p}K = -\lg K$). У цьому разі чим більше $\text{p}K_k$, тим слабше кислота і навпаки. У табл. 3 наведені константи дисоціації і величини $\text{p}K$ деяких дуже поширених у живих організмах кислот.

Для більш сильних кислот, наприклад, мурашиної або молочної, характерні більш високі значення констант дисоціації (відповідно найбільш низькі значення $\text{p}K$). Найбільш слабка кислота, наведена в таблиці додатку А, це йон NH_4^+ , що дуже важко віддає протон. Про це свідчить дуже низьке значення константи дисоціації (високе значення $\text{p}K$). Тобто спряжена цій кислоті основа NH_3 дуже легко приєднує протон.

Дуже важливою властивістю водних розчинів є їх буферність або здатність зберігати сталі значення рН при додаванні розчинів кислот та лугів.

Суміші слабких кислот і спряжених з ними основ являють собою системи, що називають буферними. Вони мають дуже важливу властивість. При додаванні до такої суміші невеликих кількостей кислоти (H^+) або основи (OH^-), або при розведенні вони здатні підтримувати постійне значення рН.

Прикладом буферної системи може служити суміш оцтової кислоти та ацетат-йона (солі оцтової кислоти). Буферна система працює за такою схемою:



При додаванні до такої системи йонів H^+ (кислоти) один із її компонентів, а саме спряжена основа - аніон CH_3COO^- , зв'язується з протонами і перетворюється в оцтову кислоту, зменшуючи тим самим

концентрацію йонів H^+ . Якщо додати до такого розчину йони OH^- (луг), то частина вільної кислоти, звільняючи деяку кількість йонів H^+ , нейтралізують OH^- йони з утворенням нейтральних молекул води. Важливо відзначити, що насправді значення рН буферних систем хоч і слабо, але все ж змінюється при додаванні невеликої кількості йонів H^+ або OH^- . Проте ці зміни дуже незначні порівняно з тими змінами рН, які б мали місце при додаванні такої ж кількості йонів H^+ або OH^- до чистої води або розчину, наприклад NaCl , оскільки ні вода, ні розчини таких солей не мають буферних властивостей. За наведеною вище схемою працюють і інші буферні системи. Варто пам'ятати, що будь-яка буферна система успішно функціонує тільки за наявності в розчині слабкої кислоти (донора протонів) і спряженої з нею основи (акцептора протонів).

Якщо до буферного розчину додати велику кількість сильної кислоти (або сильної основи), то весь наявний у ньому акцептор протонів (або їх донор) перетвориться в слабку кислоту (або сіль), і буферна система перестане існувати. Є таке поняття, як буферна ємність. Вона, природно, буде тим більшою, чим вищими будуть концентрації слабкої кислоти і спряженої з нею основи. Буферні розчини з високими концентраціями спряжених пар можуть утримувати постійне значення рН при додаванні значних кількостей кислоти або лугу.

Кількісне співвідношення між величиною рН буферного розчину значенням рН слабкої кислоти і концентраціями спряжених пар описується рівнянням Хендерсона-Хассельбаха:

$$\text{pH} = \text{pK}_k + \lg \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]} \quad \text{pH} = \text{pK}_k + \lg \frac{[\text{акцептор протонів}]}{[\text{донор протонів}]}$$

З цього рівняння видно, що за рівних концентрацій акцептора і донора протонів (солі і кислоти), рН буферного розчину дорівнює pK .

$$\text{pH} = \text{pK}_k + \lg \frac{0,1}{0,1}; \quad \text{pH} = \text{pK}_k + \lg 1 = \text{pK}_k + 0 = \text{pK}_k$$

Для кожної спряженої кислотно-основної пари характерний свій інтервал рН, у якому вона може бути ефективною буферною системою. Наприклад, система “оцтова кислота — ацетат” ефективно працює, якщо $\text{pH} = 4,76$. Це значення рН оцтової кислоти. Таке значення рН одержуємо за умови рівних концентрацій у розчині оцтової кислоти й ацетату (її солі). Звідси випливає, що ацетатна буферна система не може служити буфером при рН крові (близько 7,4). Наприклад, пара $\text{H}_2\text{PO}_4^- - \text{HPO}_4^{2-}$ має $\text{pH} = 6,86$ і тому може бути ефективною в цій області рН, тоді як пара $\text{NH}_4^+ - \text{NH}_3$, для якої рН дорівнює 9,25, веде себе як буфер краще біля $\text{pH} = 9,25$. З наведених вище спряжених пар тільки пара $\text{H}_2\text{PO}_4^- - \text{HPO}_4^{2-}$ може бути використана як буфер при рН крові (рН 7,4).

У всіх живих організмах внутрішньоклітинні і позаклітинні рідини мають характерну і постійну величину рН, що підтримується в першу чергу буферними системами.

У людини і ссавців дві важливі буферні системи. Фосфатна - підтримує рН внутрішньоклітинної рідини.

Головною буферною системою плазми крові є бікарбонатна система. Вона являє собою спряжену кислотно-основну пару, яка складається з молекул карбонатної кислоти (H_2CO_3), що виконує роль донора протона, і бікарбонат-йона (HCO_3^-), що виконує роль акцептора протона.

В залежності від зовнішніх і внутрішніх факторів значення рН крові гідробіонтів змінюються від 6,6 до 8,2; найбільш високі значення рН характерні для пластинчатозябрових. У наземних тварин значення рН змінюються в більш вузькому інтервалі (7,2-7,95).

У риб їжа в ротовій порожнині майже не підлягає хімічним і біохімічним перетворенням внаслідок відсутності в них зубів. У шлунку їжа перетравлюється під впливом шлункового соку, який має кислу реакцію (рН від 0,8 до 4,0) і містить комплекс активних ферментів. Кисла реакція шлункового соку складається за рахунок хлоридної кислоти HCl (вміст її 0,1-0,6% в залежності від виду гідробіонту), що утворюється клітинами слизової оболонки шлунку з хлоридів, що приносяться током крові, та під час окислювально-відновних процесів, а також енергії макроенергетичних зв'язків АТФ.

1.2.3. Практична частина

Основні методи виконання біохімічних досліджень

В процесі проведення лабораторних робіт студенти повинні засвоїти великий об'єм фактичного матеріалу і виконати практичні експерименти з основних тем курсу біохімії. Виконання практичних робіт включає класичні біохімічні методики і нові методи біохімічних досліджень, особлива увага надається біохімічним дослідженням гідробіонтів. Практикум дозволяє студентам опанувати методи кількісного і якісного аналізу, які можуть бути використані для виконання курсових і дипломних робіт, а також для роботи з обраної спеціальності.

Студенти повинні почати роботу в лабораторії з вивчення правил техніки безпеки, що може запобігти випадкам травматизму. В зв'язку з цим ми наводимо коротку інструкцію з техніки безпеки, якої повинні суворо дотримуватись студенти. Після ознайомлення з нею, студенти зобов'язані розписатися в спеціальному журналі інструктажу з техніки безпеки.

Інструкція з техніки безпеки при роботі в біохімічній лабораторії

Хімічні речовини при невмілому і неправильному використанні можуть стати причиною отруєння осіб, які працюють, викликають пожежу, вибух чи хімічний опік.

З метою виключення випадків травматизму при роботі у хімічних лабораторіях необхідно виконувати наступні вимоги:

1. Кожен студент до початку досліду повинен добре ознайомитися з властивостями речовин, з якими прийдеться стикатися і необхідними умовами безпечного проведення роботи з урахуванням можливих побічних реакцій.

2. При роботі у витяжній шафі, з метою більш ефективної дії вентиляції, слід підняти дверцята витяжної шафи на $1/3 - 1/4$ її підйому. Після закінчення роботи їх необхідно щільно зачинити.

3. У випадку перерви дії вентиляції всі роботи у витяжних шафах, які пов'язані з виділенням шкідливих газів, парів, треба негайно припинити.

4. Не залишати ніяких речовин у посуді без етикеток. Не виконувати ніяких дослідів у нечистому посуді. Посуд мити одразу після досліду.

5. Не залишати увімкнених нагрівальних приладів, пальників, що горять, відкритих газових і водопровідних кранів.

6. При роботі з горючими і легкозаймистими рідинами (сірковуглець, ефір, бензол і т.д.) необхідно виконувати такі правила:

- а) не користуватись відкритим полум'ям для нагрівання;
- б) не тримати ці сполуки на столах у великих кількостях;
- в) переливати у віддаленні від вогню, а при переливанні великих кількостей всі нагрівачі (газові та інші пальники) у приміщенні загасити;

7. У випадку займання горючих рідин:

- а) треба негайно загасити всі пальники, вимкнути електронагрівальні прилади;
 - б) відставити посуд з вогненебезпечними речовинами;
 - в) прикрити полум'я мокрою ковдрою, а при потребі засипати піском;
 - г) увімкнути вентиляційні установки;
 - д) при необхідності використовувати вуглекислотний вогнегасник;
- терміново повідомити пожежну охорону (тел. 01).

Дослід №1. Методика відбору зразків крові у гідробіонтів для біохімічних досліджень.

Кров у риб для досліджень беруть різними способами: з серця, хвостової й зябрової артерії, за допомогою пастерівської піпетки або шприця, які попередньо промиті розчином гепарину, лимоннокислого

натрію, оксалата натрію, фторид натрію (найкращий антикоагулянт – гепарин 1000 ед/мл).

Кров беруть від голодної риби, яка витримана в добре аерованому водному середовищі протягом 5-10 хвилин після відлову. Якщо це неможливо, то рибу слід помістити у відро з водою з водоймища у співвідношенні 1:10, що містить релаксуючу концентрацію одного з анестетиків: пропаксат (0,6-0,8 мг/л), хінальдин (25-30 мг/л), сірчистий ефір (1-1,5%) та ін. Вода, в якій знаходиться анестезована риба, повинна постійно аеруватися.

В залежності від розмірів об'єкта і необхідної кількості крові її беруть різними способами: з серця, зябрової артерії, відсіканням хвоста і з хвостової артерії. Наприклад, у форелі місце взяття крові з серця знаходиться в середині відрізка між правим і лівим плавниками; у коропа – трохи вище цієї точки. В місці прокола видаляють слиз сухим ватним тампоном, потім протирають спиртом.

Місце взяття крові не треба стискати, щоб не потрапила тканинна рідина. Повторно брати кров з одного місця не рекомендується. Кров, що аналізується, повинна бути свіжою і рідкою. Для запобігання руйнування еритроцитів (гемоліз) кров беруть у підготовленні з антикоагулянтом пробірки (або часове скло), зливаючи обережно по стінці. Під час роботи з плазмою або сироваткою їх відділення повинно проводитись швидко (не довше 1 години) щоб уникнути зсідання крові; кров повинна бути оброблена в короткий термін.

Для реєстрації процесу утворення ниток фібрину (при зсіданні крові) краплину крові зондують препарувальною голкою та спостерігають (проводять голкою з одного боку в інший). Дослід виконують при температурі 20-25°C на протязі 10-90 с до утворення згустку крові. Записати спостереження, визначити антикоагулянти, умови для зсідання крові.

Дослід №2 Нейтралізація води.

Дуже важливу роль в біохімічних дослідженнях виконує рН води. Використовувати необхідно тільки дистильовану, нейтралізовану воду. Звичайно дистильована вода має слабокислу реакцію. Грубими методами (за допомогою лакмусового папірця) це встановити не можливо, тому необхідно використовувати рН-метр. Можна використовувати крупинки гематоксиліну. Для цього беруть в два стакана наливають дистильовану воду: в один – декілька крупинок гематоксиліну і збовтують; якщо через 5 хвилин вода стає рожево-фіолетовою, то вона нейтральна. Якщо вода кисла, то вона не забарвлюється; якщо лужна, то вона набуває рожево-фіолетового відтінку раніше ніж за 1 хвилину. В кислу воду додають розчин вуглекислого натрію (декілька краплин), в лужну – розчин оцтової кислоти.

Найчастіше використовують буферні розчини. Для цього в дистильовану воду додають суміш двоосновного фосфату натрію $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (17,814г на 1л – рН 8,302) й одноосновний фосфат калію KH_2PO_4 (13,638г на 1л – рН 4,529). Для того, щоб одержати необхідну суміш, необхідно змішати розчини в різних пропорціях згідно з розрахунками, що наведені в таблиці 1.2.

Таблиця 1.2. Приготування буферних розчинів

Буферний розчин з концентрацією йонів, рН	Кількість розчинів фосфатів на 1 л води, мл	
	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	KH_2PO_4
4,976	0,1	9,9
5,600	0,5	9,5
6,239	2,0	8,0
6,813	5,0	5,0
6,976	6,0	4,0
7,146	7,0	3,0
7,346	8,0	2,0
7,648	9,0	1,0
7,863	9,5	0,5
8,171	9,9	0,1
8,302	10,0	-

Хід роботи

Зважити на аналітичних терезах необхідну кількість фосфатів для одержання буферного розчину, якщо об'єм буферного розчину дорівнює 100 або 200, 300 мл, а значення водневого показника води відповідно - рН=4,976; рН=6,976; рН=7,648. Перевірити одержані розчини за допомогою лакмусового папірця та рН-метру на відповідність значень рН, визначити яке це буде середовище. Записати розрахунки, зробити висновки.

Дослід №3. Проведення фотометрії, розрахунки результатів дослідження .

При роботі з фотометричною апаратурою необхідно суворо виконувати вимоги методики проведення аналізу та умови вимірювань на фотоелектроколориметрі: товщина робочого шару фотометричної кювети ($b=5$ мм або $b=10$ мм), довжина світлової хвилі (для зеленого фільтра – 540 нм, для червоного – 670 нм), спосіб розрахунків результатів дослідження (за стандартними розчинами або за калібрувальним графіком).

За законом Ламберта-Бера логарифм відношення інтенсивності світлового потоку, що входить в розчин, до інтенсивності світлового

поток, що проходить через розчин, прямо пропорційний концентрації речовини й товщині шару, який поглинається розчином.

В спрощеному вигляді оптична густина розчину (екстинція) прямо пропорційна концентрації розчину: $E = K \times C$ (на графіку це пряма, проходить через 0 під кутом 45°).

Розрахунки за калібрувальним графіком виконують в такому порядку:

- на осі абсцис (E) відкладають значення оптичної густини аналізу;
- в цій точці встановлюють перпендикуляр до осі абсцис;
- в місці перетину його з калібрувальним графіком встановлюють перпендикуляр до осі ординат (C);
- визначається концентрація компонента в розчині за графіком;
- дані графіка записують у калібрувальну таблицю (інтерполяція).

Якщо немає калібрувального графіка, то розрахунки проводять за формулою:

$$E_{\text{ст}} / E_{\text{дос}} = C_{\text{ст}} / C_x, \quad \text{звідси:}$$

$$C_x = E_{\text{дос}} C_{\text{ст}} / E_{\text{ст}}.$$

Визначити оптичну густина (екстинцію) розчину білка, глюкози, сироватки крові, записати одержані дані в калібрувальну таблицю та побудувати калібрувальний графік (див. додаток В) .

Контрольні питання

1. Що таке біохімія? Які задачі вона виконує
2. Методи біохімічних досліджень.
3. Методи відбору біологічних зразків у гідробіонтів.
4. Роль і місце біохімії в системі біологічних і хімічних наук.
5. Які методи спектрофотометрії застосовують у біохімії?
6. Як визначають кислотність середовища? Що таке pH?
7. Які правила техніки безпеки ви знаєте?
8. Як необхідно виконувати зважування на аналітичних вагах?
9. Що таке буферний розчин?
10. Властивості крові, про що можуть свідчити аналізи крові?
11. Методи одержання гомогенату.
12. З яких хімічних елементів складаються біологічні об'єкти?
13. Які ви знаєте антикоагулянти?
14. Що таке зсідання крові? Від яких факторів залежить цей процес?
15. З яких компонентів складається кров гідробіонтів?
16. Які методики використовують під час роботи з гідробіонтами?
17. Які є запобіжні заходи при роботі з їдкими речовинами?
18. Правила зважування, які необхідно виконувати під час

- роботи з технохімічними та аналітичними терезами.
19. Яких правил треба дотримуватись при роботі з фотоелектроколориметром?
 20. Які класи органічних сполук ви знаєте? Які їхні властивості?

1. 3. Загальна характеристика білків в тканинах гідробіонтів

Серед органічних сполук, що входять до складу клітини, перше місце займають білки. Вони становлять у середньому 18-21% загальної сирової маси організму людини і до 50% його сухої маси, у гідробіонтів в залежності від виду організма та окремих тканин. Наприклад у медуз 0,1-0,5%, в м'ясі риб та молюсків 12-24%, в крові риб 2,5-7%, в кістках риб 10,5-21,5%, а в морських бурих водоростях всього 1,3-2,9%

Білки - це високомолекулярні органічні азотовмісні сполуки. Крім азоту до складу всіх білків входять Карбон, Гідроген і Оксиген, а також Сульфур. Деякі білки містять фосфор, залізо (Ферум), мідь (Купрум) і цинк. Молекулярна маса білків коливається в широких межах - від кількох тисяч до сотень мільйонів. Так, молекулярна маса міоглобіну м'язової тканини становить 16900, у той час як білок вірусів грипу має молекулярну масу 332 млн.

Білки виконують багато різних функцій. Найбільшу і найважливішу за своїм біологічним значенням групу білків представляють ферменти. На цей час відомо більше тисячі різних ферментів, кожний з яких каталізує певний тип хімічної реакції.

Білки є основними структурними елементами живих організмів. Вони входять до складу сполучної і кісткової тканини. До числа найбільш поширених клітинних білків належать білки мембран, які разом з ліпідами утворюють основу клітин.

Окремі типи білків є обов'язковими компонентами скорочувальних і рухових систем. Наприклад, актин і міозин - основні елементи скорочувальної системи м'язів. Інші білки виконують транспортну функцію. Вони можуть зв'язувати і переносити з током крові певні молекули. Гемоглобін, що міститься в еритроцитах хребетних тварин, переносить від легенів до тканин кисень, а з тканин до легенів - вуглекислий газ. Білок міоглобін утримує в м'язах кисень, створюючи таким чином його запаси.

Речовинами білкової природи є численні гормони, яким властива висока біологічна активність. До них належать соматотропін - гормон передньої долі гіпофіза, що стимулює ріст, інсулін, який утворюється в острівцевій тканині підшлункової залози і регулює вуглеводневий обмін в організмі, та ряд інших. Білки виконують в організмі енергетичну функцію. За їх рахунок забезпечується 10-15% енергії.

Серед багатьох різних білків, що містяться в живих організмах, є білки особливого типу, на яких вперше була показана їх видова специфічність. Ці білки називаються антитілами. Вони виробляються в організмі у відповідь на появу стороннього білка. Таким чином, білки виконують захисну функцію в організмі. Вони забезпечують також

зсідання крові, яке спостерігається при ушкодженні судин. Це обумовлено наявністю в складі крові специфічних білків - фібриногену і тромбіну.

Різнорізнотні отрути, що виділяються бактеріями та містяться в деяких рослинах, а також зміїній отруті являють собою речовини білкової природи і таким чином виконують токсичну функцію.

В результаті досліджень, проведених на початку XIX ст., було встановлено, що білки, які мають велику молекулярну масу, при кислотному гідролізі розпадаються на більш прості, низькомолекулярні органічні сполуки - амінокислоти, які відрізняються одна від одної за своєю будовою. На цей час відомо понад 180 амінокислот. Проте структурними елементами, або, як їх прийнято називати, "структурними блоками" тваринних білків можуть бути тільки 20 різних α -амінокислот.

Слід підкреслити, що всі білки, які виконують найрізнорізнотніші функції, у тому числі і білки, яким властива висока біологічна активність або токсична дія, містять один і той же набір з 20 амінокислот. Останні самі по собі не мають ні тієї біологічної активності, ні токсичності, яка властива білкам. Специфічну функцію білкам надає їх просторова конфігурація, яка, у свою чергу, обумовлена певною послідовністю амінокислот у білковій молекулі. Оскільки структура, фізико-хімічні і біологічні властивості білків залежать від природи амінокислот, що входять до їх складу, розглянемо будову цих „структурних блоків”.

Амінокислоти, виділені з білків, являють собою похідні насичених карбонових кислот, у яких один або два атоми водню в радикалі заміщені аміногрупою. Як правило, аміногрупою заміщується атом Гідрогену біля атома Карбону, розташованого поруч з карбоксильною групою (α -вуглецевого атома). Якщо в молекулі карбонової кислоти аміногрупами заміщується два атоми Гідрогену, то одна з них приєднується до α -вуглецевого атома, а інша - до останнього.

Амінокислоти поділяють на дві великі групи: *ациклічні* (амінокислоти жирного ряду) і *циклічні*.

При окисненні проліну утворюється оксипролін (4-оксипіролідін-2-карбонова кислота), виявлений у гідролізаті желатину в 1902 р. Він є складовою частиною колагену і еластину.

З двадцяти перерахованих амінокислот десять не синтезуються в організмі тварин і повинні надходити разом з їжею. Вони називаються *незамінними*. Наявність в їжі інших амінокислот не обов'язкова, оскільки організм здатний їх синтезувати. Такі амінокислоти називають *замінними*.

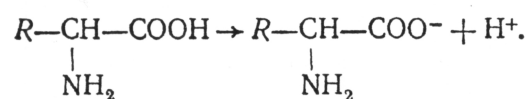
Замінні амінокислоти : гліцин, аланін, цистеїн, глутамінова й аспарагінова кислоти, тирозин, пролін, серин, глутамін, аспарагін.

Незамінні амінокислоти: валін, лейцин, ізолейцин, треонін, метіонін, фенілаланін, триптофан, флізін, гістидин, аргінін.

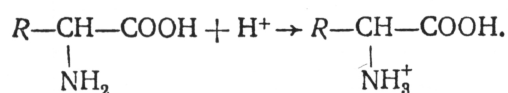
Харчовий білок, що містить всі незамінні амінокислоти, називається повноцінним. Амінокислоти мають велике біологічне значення. Вони не тільки виконують роль "будівельних блоків", з яких побудована молекула білка, але і є попередниками багатьох біологічно активних сполук - гормонів, медіаторів нервової системи і т.п. Окремі амінокислоти виконують регуляторну роль - між ними спостерігаються явища взаємної активації і пригнічення при включенні до складу білкової молекули. У деяких випадках вони служать енергетичним матеріалом або лікарською речовиною.

1.3.1. Хімічні властивості амінокислот

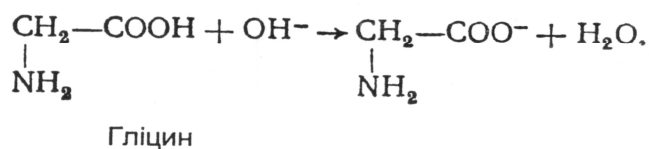
Оскільки властивості білків багато в чому визначаються хімічними властивостями амінокислот, доцільно більш докладно зупинитися на їх кислотно-основних властивостях. Амінокислоти мають досить високу хімічну активність. Як і карбонові кислоти, похідними яких вони є, амінокислоти дисоціюють у водному розчині. Відщеплюючи один іон Гідрогену (протон), карбоксильна група утворює аніон:



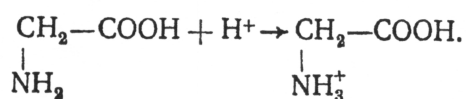
Водночас аміногрупа може приєднувати протон з утворенням катіона:



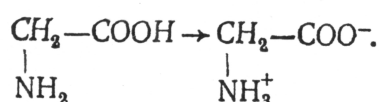
Проте характер іонізації амінокислот залежить від рН розчину. У лужному середовищі посилюється дисоціація карбоксильної групи, а аміногрупа практично не дисоціює:



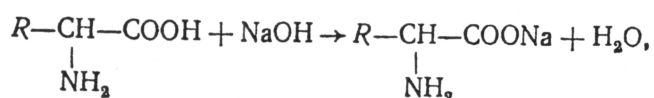
У кислому середовищі, навпаки, відбувається йонізація аміногрупи, у той час як карбоксильна група не дисоціює:



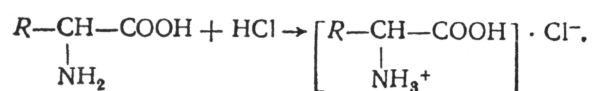
З наведених рівнянь бачимо, що в лужному середовищі амінокислота існує у вигляді аніона, у кислому — у вигляді катіона. В електричному полі аніони і катіони окремих амінокислот будуть рухатись відповідно до анода і катода. При деякому проміжному значенні рН може відбуватися одночасна дисоціація карбоксильної і протонізація амінної груп. В результаті утворюється біполярний іон (цвіттер-йон), загальний заряд якого дорівнює нулю:



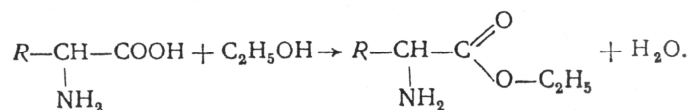
Такий змішаний іон не переміщується в електричному полі. *Значення рН, при якому молекула амінокислоти не має заряду, називається ізоелектричною точкою амінокислоти.* Виходячи з вищевикладеного, амінокислоти варто розглядати як *амфотерні електроліти*. Вони взаємодіють з лугами:



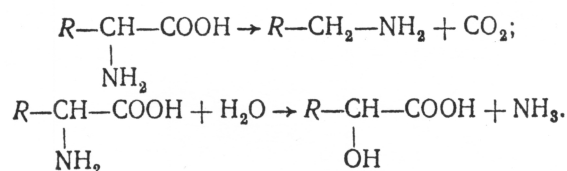
з кислотами:



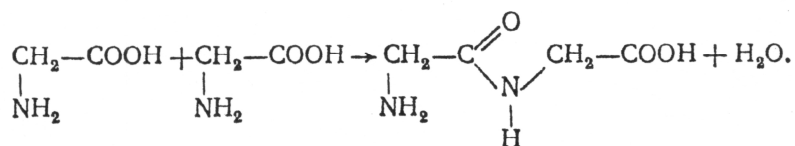
Крім того, вони можуть утворювати складні ефіри:



Характерними для амінокислот є реакції декарбоксилювання і дезамінування:



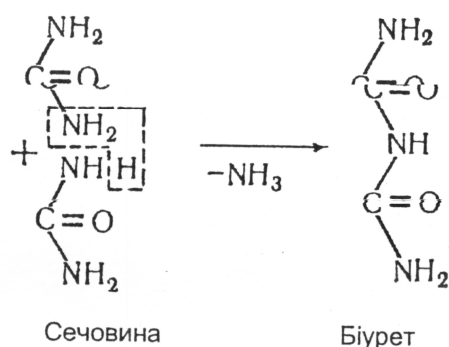
Вони також взаємодіють одна з одною з утворенням ди-, три- і поліпептидів:



Дипептид

З'єднуючись таким чином між собою, амінокислоти утворюють полімерні ланцюги, які і являють собою основу будови білкової молекули.

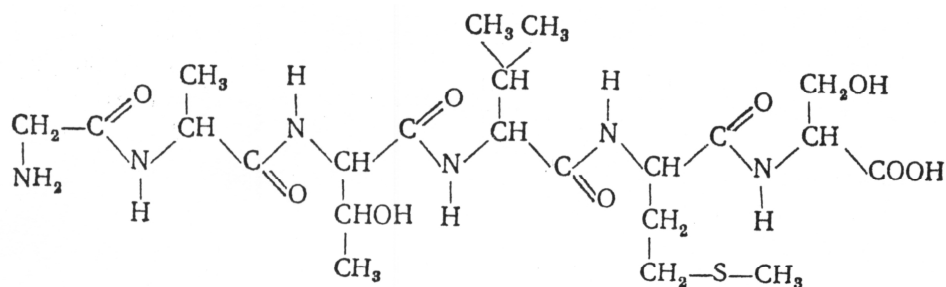
Вивчаючи білки та продукти їх гідролізу, О. Я. Данилевський (1888 р.) виявив, що лужні розчини білків при додаванні до них розчину сульфату міді забарвлюються у фіолетовий колір. Такий же колір дає і сполука, яка утворюється з двох молекул сечовини при відщепленні молекули аміаку, - біурет, звідки і сама реакція одержала назву *біуретової*. На підставі цих даних О. Я. Данилевський зробив припущення, що в основі будови білків лежить біуретова структура. Продукти повного гідролізу білків не давали біуретової реакції, що свідчило про руйнування біуретової структури.



Отже, можна припустити, що окремі амінокислоти з'єднуються між собою за допомогою зв'язку — CO — NH —, який пізніше стали називати *пептидним*. Він утворюється в результаті взаємодії карбоксильної групи (-COOH) однієї амінокислоти та аміногрупи (-NH₂) іншої.

Це припущення було підтверджено експериментально Е. Фішером і його учнями. Синтезувавши понад 200 пептидів, у тому числі поліпептид, що складається з 19 амінокислот, вони довели, що у білках справді існує зв'язок, подібний біуретовому. На початку XX ст. Е. Фішер створив *поліпептидну теорію будови білків*, відповідно до якої залишки амінокислот у молекулі білка з'єднуються між собою пептидними зв'язками, утворюючи довгі поліпептиди ланцюги. Для поліпептидів були введені повні та скорочені назви. При повному найменуванні пептидів у назві амінокислоти, що бере участь в утворенні пептидного зв'язку своєю карбоксильною групою, закінчення *-н* змінюється на *-л*. Закінчення амінокислоти, карбоксильна група якої залишається вільною, не змінюєть-

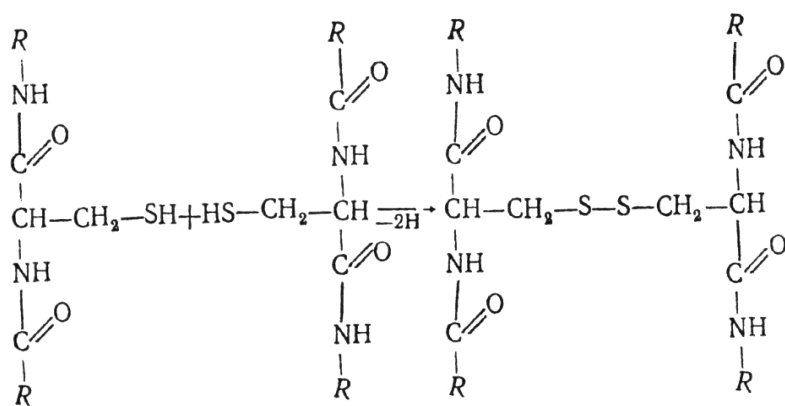
ся, наприклад, гексапептид, що складається з залишків гліцину, аланіну, треоніну, валіну, метіоніну і серину, має назву гліцилаланілтреонілвалілметіонілсерин:



При скороченому найменуванні кожний амінокислотний залишок називається першими трьома буквами його повної назви. Наведений вище гексапептид позначається в такий спосіб: Глі — Ала — Тре — Вал — Мет — Сер. Так само позначаються і вільні амінокислоти; амід аспарагінової і глутамінової кислот - відповідно Асп і Глн, ізолейцин — Іле, цистеїн - 1/2 Цис.

Таким чином, основним хімічним зв'язком у білковій молекулі є пептидний, або кислотоамідний, зв'язок між залишками амінокислот. Цей зв'язок міцний і належить до ковалентного типу.

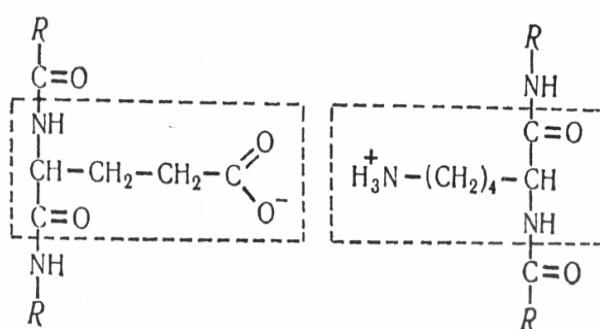
Іншим видом ковалентного зв'язку є *дисульфідні зв'язки*, що утворюються в результаті окиснення SH-груп залишків цистеїну:



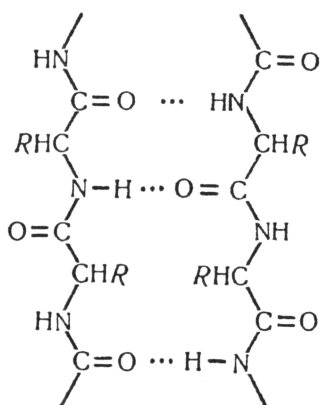
Дисульфідні зв'язки можуть виникати між окремими поліпептидними ланцюгами в місцях, де два залишки цистеїну розташовані один проти одного, а також між залишками цих амінокислот в одному ланцюзі, коли поліпептидний ланцюг утворює певні згини і спіралі. В іншому випадку дисульфідні зв'язки утримують специфічну конфігурацію поліпептидного ланцюга в просторі, що утворилася за певних умов існування білка. Стійкість багатьох білків значною мірою обумовлена кількістю і міцністю

цих зв'язків, які ніби "прошивають" молекули окремих білків, надаючи їм міцності, нерозчинності і т. д. Прикладами таких білків є колаген шкіри, білки волосся, шерсті, рогів, еластин і т.д.

Крім пептидного і дисульфідного, у молекулі білка існує *іонний*, або *сольовий*, зв'язок, який виникає між різнойменно зарядженими групами амінокислотних залишків аспарагінової і глютамінової кислот, аргініну, лізину і гістидину. Кінцеві і вільні - COOH і NH₂ - групи можуть знаходитися в іонізованому стані. В результаті електростатичного притягання утворюється іонний зв'язок, який може об'єднувати витки як одного, так і різних поліпептидних ланцюгів:



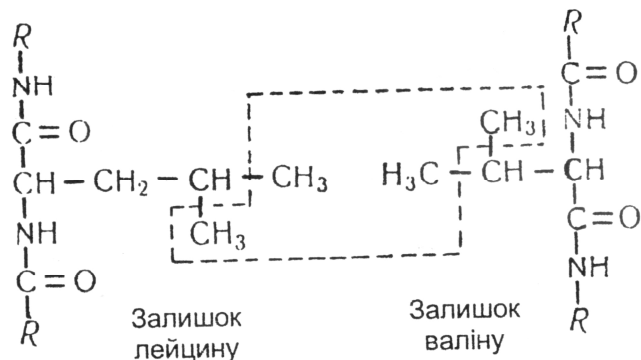
Поряд із загальними в молекулі білка існує *водневий зв'язок*, який утворюється між частково електронегативними атомами Оксигену карбонілу одного пептидного зв'язку і частково електропозитивним атомом Гідрогену імінної групи іншого. Водневий зв'язок, як і дисульфідний, з'єднує поліпептидні ланцюги або їх окремі ділянки:



Водневий зв'язок набагато слабший, ніж пептидний, дисульфідний та іонний. Але, оскільки в утворенні цього зв'язку беруть участь всі пептидні зв'язки, білкова система набуває максимального ступеня насиченості водневими зв'язками. Тому вони набувають дуже великого значення в стабілізації білкової молекули.

Розглянуті хімічні зв'язки мають чітко виражений полярний характер. Однак у білках існують вуглеводневі радикали таких амінокислот, як

аланін, валін, лейцин, ізолейцин, фенілаланін, триптофан, які не несуть електричного заряду і не розчиняються у воді. Радикали цих кислот називають гідрофобними групами ($-\text{CH}_3$, $-\text{C}_2\text{H}_5$ і т.д.). Між такими групами також можуть виникати сили взаємного притягіння, в результаті чого утворюється слабкий *гідрофобний зв'язок*:



Внаслідок того, що молекули води виштовхують гідрофобні радикали зазначених амінокислот з білкової молекули, утворюється система, що нагадує колоїдну частинку, всередині якої розміщена гідрофобна, зовні - гідрофільна частини молекули білка. Зближення цих радикалів обумовлено характером взаємодії гідрофобних груп з водою, молекули якої утворюють структуру, що нагадує кристали льоду.

Необхідно відзначити, що слабкі хімічні зв'язки (електростатична взаємодія між вільними і кінцевими NH_2 і COOH - групами, водневі зв'язки, а також гідрофобна взаємодія) відіграють важливу роль у підтриманні і стабілізації строго визначеної конфігурації білкової молекули в просторі.

В *нативному стані* (стані, при якому білки виконують свої біологічні функції) молекула білка має характерну для неї просторову структуру (конформацію). Залежно від конформації, тобто характеру розташування поліпептидного ланцюга в просторі, або, іншими словами, від форми молекул білки можна розподілити на дві великі групи — фібрилярні і глобулярні. Поліпептидні ланцюги *фібрилярних білків* розташовуються паралельно один одному уздовж однієї осі, створюючи довгі ниткоподібні волокна — фібрили. Вони є основними структурними елементами сполучної і кісткової тканин, колагена сухожиль, рогових утворень, шкіри, нігтів, пір'я, волосся. Це стійкі речовини, нерозчинні у воді і розведених сольових розчинах.

Глобулярні білки характеризуються сферичною, або глобулярною структурою, поліпептидні ланцюги яких згорнуті в компактні утворення, що нагадують форму кульки (глобули). Таких білків в організмі значно більше, ніж фібрилярних. До них належать майже всі відомі на цей час ферменти, а також антитіла, деякі гормони і білки, що виконують транспортну функцію (гемоглобін, альбумін сироватки і т.д.). Більшість глобулярних білків розчинні у воді і легко дифундують.

Деякі білки займають проміжне положення. Як і фібрилярні, вони складаються з ниткоподібних структур, в той же час, подібно глобулярним білкам, розчинні у водних сольових розчинах. Для визначення різних рівнів структури молекул білків користуються поняттями первинної, вторинної, третинної і четвертинної структур.

Первинна структура характеризує якісний амінокислотний склад поліпептидного ланцюга, кількість амінокислотних залишків у ньому, зв'язаних пептидними зв'язками, і порядок чергування цих залишків. Дана структура дає уявлення про розміщення молекули білка в площині. Проте знання первинної структури білка недостатньо для уявлення про його повну будову. Насправді молекула білка не лежить в одній площині.

Вторинна структура - форма білкового ланцюга, спосіб розміщення його в просторі — значною мірою визначається умовами середовища, у якому знаходиться білок, а також особливими властивостями і будовою пептидного зв'язку. Вивчаючи фібрилярні білки, Л. Полінг і Р. Корі встановили основні параметри пептидного зв'язку, який близький за своїм характером до подвійного і вільне обертання по ньому неможливе. Чотири атоми пептидного зв'язку (O, C, M, N) і два α -вуглецеві атоми розташовані в одній площині, а атоми Оксигену і Гідрогену - у *транс-положенні* відносно пептидного зв'язку. Крім того, були визначені також кути між окремими атомами.

Використовуючи отримані дані про структуру пептидного зв'язку, Л. Полінг і Р. Корі побудували моделі коротких пептидів і дійшли висновку, що поліпептидний ланцюг являє собою довгий ряд площин, розділених між собою α -вуглецевими атомами, або метиленовими містками. Тому первинну структуру білкової молекули більш точно можна зобразити як довгий ланцюг, що складається з великої кількості площин пептидних зв'язків, до яких під певними кутами приєднуються радикали відповідних амінокислот. (Рис.1.1)

Встановивши можливі місця обертань, Полінг і Корі дійшли іншого важливого висновку: найпростішою просторовою структурою пептидного ланцюга є спіраль. У структурі, названій α -спіраллю і характерній для α -кератинів, одиницею, що періодично повторюється, є виток. Він займає уздовж осі близько 0,54 нм і називається *великим періодом спіралі*. На один виток припадає 3,6 амінокислотні залишки. Один такий залишок займає 0,15 нм і являє собою *малий період* α -спіралі. Така α -спіральна структура пептидного ланцюга припускає утворення внутрішньоланцюгових водневих зв'язків між витками спіралі. Встановлено, що вони утворюються між атомами Гідрогену, зв'язаними з електронегативним атомом Нітрогену одного пептидного зв'язку і атомом Оксигену карбонільної групи четвертого за чергою залишку.

При цьому кожний пептидний зв'язок ланцюга бере участь в утворенні водневих зв'язків (перший з четвертим, другий з п'ятим, третій з шостим і т. д.), так що вся система максимально насичена цими зв'язками. (Рис.1.2)

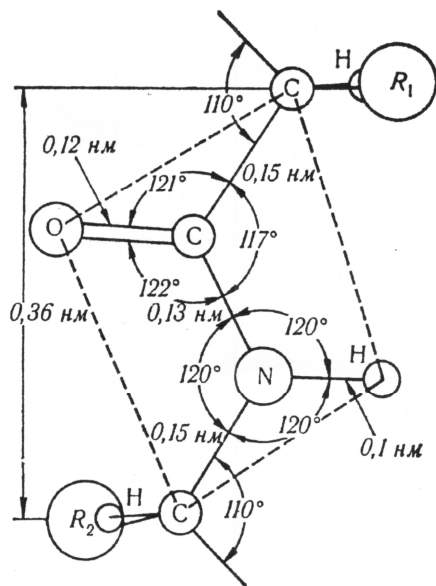
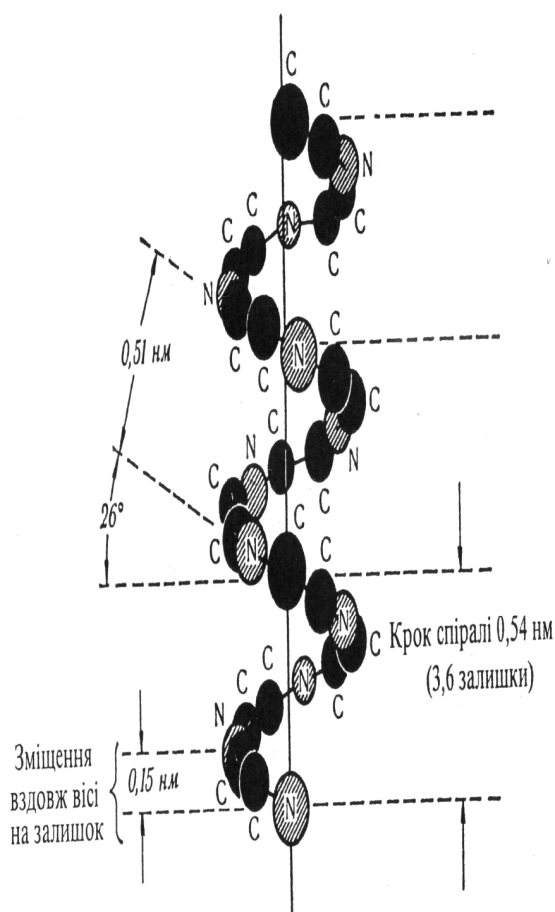


Рис. 1.1,

Рис.1.2

Можливі також і інші способи спірального упакування пептидних ланцюгів, проте α -спіральна конфігурація найбільш стабільна. Передбачається, що такої форми пептидні ланцюги набувають довільно, оскільки вона має найменшу вільну енергію. На цей час напевне визначено, що фібрилярні білки, які належать до α -кератинів (волосся, шерсть, рогові утворення, нігті, шкіра, пір'я і т.д.), складаються з паралельно розташованих пептидних ланцюгів, що мають α -спіральну конфігурацію. Слід зазначити, що утворення стійкої α -спіралі залежить від природи і послідовності амінокислотних залишків у ланцюзі та рН середовища.

Крок спіралі і зміщення у розрахунку на один амінокислотний залишок відповідають великому (0,54 нм) і малому (0,15 нм) періодам.



Добре вивчена й інша форма розміщення пептидного ланцюга в просторі. Вона одержала назву β -конформації і має витягнуту зигзагоподібну форму. Паралельні ланцюги, що знаходяться в β -конформації, зв'язуються між собою поперечними (Мал.1.3) міжланцюговими водневими зв'язками і утворюють *структуру складчастої спіралі*.

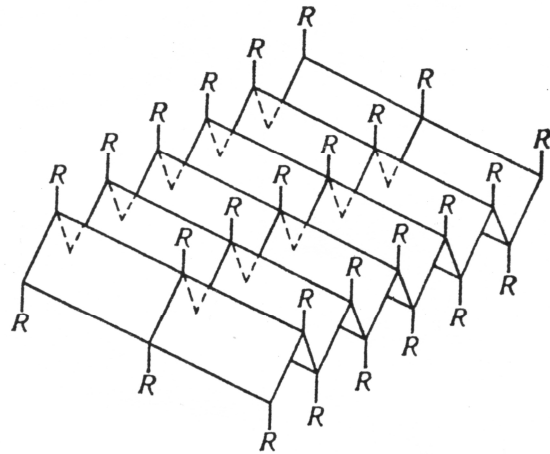


Рис.1.3

Таким чином, вторинна структура білкової молекули — це така конфігурація пептидного ланцюга в просторі, що являє собою форму спіралі або структуру складчастої спіралі. Вторинна структура є вищою формою організації для фібрилярних білків.

Спіралеподібну, або вторинну структуру білка можна по-різному розмістити у об'ємі. Спосіб упакування вторинної структури з утворенням клубків різноманітної форми називають третинною структурою. Це ще більш високий рівень організації молекул білків характерний для глобулярних білків. Третинна структура досить складна, і її вивчення має певні труднощі. Тому на цей час ця структура добре вивчена для невеликої кількості білків.

Істотну роль в утворенні третинної структури відіграють водневі і дисульфідні зв'язки, які сприяють її утворенню, а також наявність локально нестійких місць, у яких α -спіраль може згинатися. Як правило, у місцях згинів пептидного ланцюга знаходяться залишки проліну, а також амінокислоти, які не здатні легко утворювати α -спіральні структури, наприклад, ізолейцин або серин та амінокислоти, бічні ланцюги яких при $pH = 7,0$ мають однакові заряди. Радикали таких кислот, відштовхуючись один від одного, порушують спіралізацію ланцюга, унаслідок чого в цих місцях пептидний ланцюг легко згинається. Вважають, що третинна структура виникає автоматично в результаті взаємодії амінокислотних залишків з молекулами розчинника. При цьому гідрофобні радикали «втягуються» всередину білкової молекули, а гідрофільні групи орієнтуються в бік розчинника. В такий спосіб формується компактна молекула білка, всередині якого практично відсутні молекули води. Це призводить до створення енергетично вигідної конформації білкової молекули.

Білком з добре вивченою третинною структурою є міоглобін. Дослідження, проведені Дж. Кендрю разом із співробітниками, показали, що молекула міоглобіну складається з одного пептидного ланцюга,

закрученого в спіраль. У місцях згинів, де спіралізація відсутня, знаходиться пролін. Пептидний ланцюг міоглобіну нагадує довгу, химерної форми "ковбасу". Така специфічна структура, що виникає в результаті скручування і згинання, і називається третинною структурою міоглобіну(Рис.1.4; 1.5)

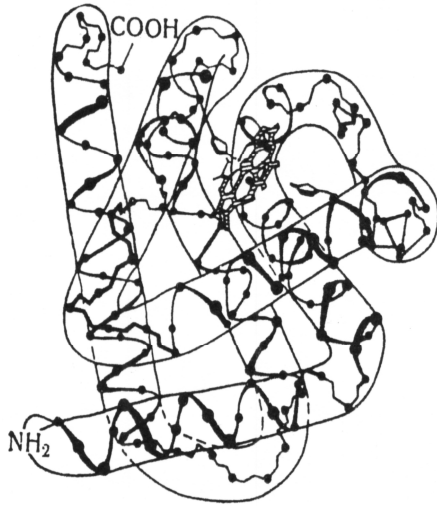


Рис.1.4

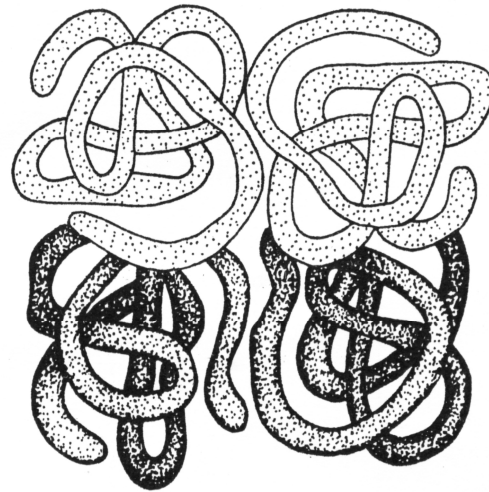


Рис.1.5

Ще більш високим рівнем організації білкової молекули є четвертинна структура. Вона виникає в результаті асоціації декількох пептидних ланцюгів, що мають первинну, вторинну і третинну структури. Іншими словами, даний рівень організації являє собою об'єднання декількох пептидних ланцюгів з третинною структурою в одну велику молекулу, молекулярна маса якої вже перевищує 50000. Такі білки називаються *олігомерами*. Кожний пептидний ланцюг, що входить до складу олігомерного білка, називається *протомером*, які об'єднуючись, утворюють *субодиниці*. Цим терміном позначають функціонально активну частину олігомерного білка. Таким чином, четвертинна структура характерна для олігомерних білків.

Класичним прикладом олігомера, або білка з четвертинною структурою, є гемоглобін. Білкова частина його молекули, яка називається глобіном, складається з чотирьох протомерів — двох ідентичних α -ланцюгів і двох ідентичних β -ланцюгів, α - і β -ланцюги, об'єднуючись попарно, утворюють дві пари субодиниць, на які може дисоціювати молекула гемоглобіну.

Таким чином, молекула гемоглобіну складається з чотирьох пептидних ланцюгів, які щільно упаковані разом і утворюють єдину глобулярну структуру. Між окремими ланцюгами немає міцних ковалентних зв'язків, проте вся молекула має високу стабільність.

(Мал.1.6)

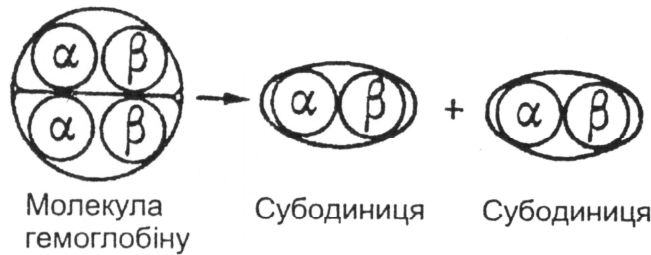


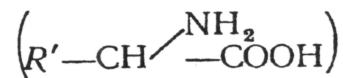
Рис.1.6

Встановлено, що за своєю третинною структурою α - і β -ланцюги дуже подібні третинній конфігурації єдиного ланцюга міоглобіну. Це свідчить про те, що дана біологічна функція цих двох білків, яка полягає в їх здатності зворотно зв'язувати кисень, пояснюється подібністю третинної структури їх пептидних ланцюгів. На закінчення необхідно ще раз підкреслити, що вторинна, третинна і четвертинна структури білкових молекул визначаються амінокислотною послідовністю пептидного ланцюга, тобто первинною структурою. Крім того, конфігурація пептидного ланцюга визначається також розміром, формою і послідовністю розташування R- груп амінокислот.

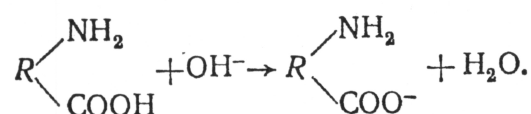
Для кожного білка характерна, принаймні, одна тримірна структура, в якій він стабільний і проявляє біологічну активність за фізіологічних умов (температура, рН). Ця структура називається *нативною конформацією білка*.

1. 3.2. Фізико - хімічні властивості білків

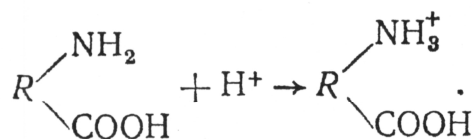
Окремі фізичні і хімічні властивості білків подібні до властивостей амінокислот. Більшість з них розчинні у воді і є амфотерними електролітами. Якщо взяти до уваги, що в складі білків завжди є вільна NH_2 -група першої амінокислоти і COOH -група останньої, то, схематично зобразивши молекулу $\text{NH}_2 - \text{R} - \text{COOH}$ білка, можна відзначити деяку подібність з будовою амінокислоти



радикал якої в молекулі білка замінено пептидним ланцюгом. В лужному середовищі вільна карбоксильна група білка легко відщеплює протон і білкова молекула набуває негативного заряду:



В електричному полі такий білок рухається в напрямку до анода. У кислому середовищі, навпаки, дисоціація карбоксильної групи пригнічується, але при цьому протон приєднується до NH_2 -групи:



В результаті молекула білка заряджається позитивно і переміщується до катода. Таким чином, білки можуть утворювати солеподібні сполуки як з кислотами, так і з лугами.

При деякому проміжному значенні pH групи $-\text{NH}_2$ і $-\text{COOH}$ можуть взаємодіяти між собою, тоді сума зарядів дорівнює нулю. Білки залишаються нерухомими в електричному полі і нестійкі в розчині. Як і для амінокислот, таке значення pH називається *ізоелектричною точкою* I_t . Ізоелектрична точка є однією з головних характеристик білків. Знаючи її, можна наперед визначити її якісний склад. Так, якщо I_t дорівнює 10, то білок містить значну кількість діаміномонакарбонових кислот (Ліз, Арг, Гіс) і має основний характер, навпаки, якщо I_t дорівнює 1, білок має кислотний характер, оскільки в його складі міститься більше моноамінодикарбонових амінокислот (Глу, Асп). Для більшості білків I_t знаходиться у межах від 4 до 7.

1.3.3. Осадження білків

Стійкість білкового розчину значною мірою обумовлена наявністю позитивного або негативного заряду на білковій молекулі, внаслідок чого молекули відштовхуються одна від одної і знаходяться в завислому стані.

Іншою важливою причиною стійкості білкових розчинів є гідрофільні властивості білків, зумовлені наявністю карбоксильних, аміних і гідроксильних груп. Полярні молекули води, приєднуючись до функціональних груп, що дисоціюють, утворюють навколо білкових частинок гідратну оболонку, яка перешкоджає їх злипанню.

Відсутність заряду і гідратної оболонки сприяє зближенню білкових молекул, в результаті чого вони злипаються між собою, збільшуються в розмірах і випадають в осад під дією власної ваги. Це явище називається *коагуляцією*.

Коагуляція може бути зворотною, якщо після припинення дії якогось чинника, що викликає коагуляцію, білок повертається до свого попереднього стану. Якщо білок, який прокоагулював, не може

повернутися у свій попередній стан, то говорять про незворотну коагуляцію.

Прикладом зворотної коагуляції може бути осадження білків розчинами нейтральних солей (NaCl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Na_2SO_4) різної концентрації, яке називається *висолюванням*. Зазначені електроліти нейтралізують електричний заряд білків і руйнують його гідратну оболонку, в результаті чого білок стає нестійким і випадає в осад. При додаванні до такого осаду води білок знову переходить у розчинений стан. Процес, зворотний коагуляції, називається *пептизацією*.

Незворотну коагуляцію викликає висока температура. При нагріванні білок згортається і випадає в осад. Таку ж дію викликають і солі важких металів (Cu , Hg , Ag , Pb і ін.). Вони, взаємодіючи з білками, утворюють нерозчинні у воді комплексні сполуки.

Концентровані неорганічні кислоти: хлоридна, нітратна, сульфатна - і такі органічні речовини, такі як сульфосаліцилова, трихлороцтова і пікринова кислоти, фенол, формалін, ацетон, також мають здатність викликати незворотну коагуляцію білків.

Зазначені чинники (температура, осадження солями важких металів, мінеральними кислотами й органічними речовинами) викликають глибокі внутрішні зміни в структурі білків. Порушується їх специфічна конфігурація, в результаті чого характерним чином згорнутий поліпептидний ланцюг розгортається і утворює випадкові, хаотичні, безладні петлі або клубки.

При цьому білок втрачає біологічну активність. Такі внутрішні зміни в будові білка, пов'язані з втратою його біологічної активності, називаються *денатурацією*. В більш широкому плані під денатурацією розуміють втрату білком його унікальної конфігурації, тобто вторинної, третинної і четвертинної структур.

Залишається лише первинна структура, яка утримується міцним ковалентним пептидним зв'язком. Характерною ознакою денатурації білка є зниження його гідрофільності та розчинності, в результаті чого він випадає в осад, тобто необоротно осаджується з розчину. Тому денатурацію можна розглядати як незворотну коагуляцію

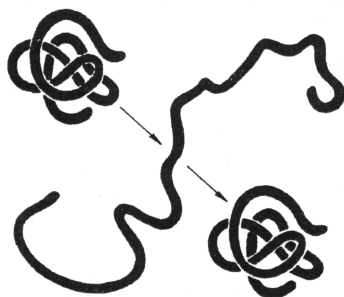


Рис.1.7

На рисунку 1.7 показано денатурацію глобулярного білка. Білки мають також і інші характерні властивості. Розчиняючись у воді, вони утворюють *колоїдні розчини*, які мають низький осмотичний тиск. Колоїдні розчини білків звичайно непрозорі, здатні розсіювати промені світла (ефект Тіндалля) і опалесцювати – в прохідному світлі вони набувають червонуватого забарвлення, у відбитому – синього.

Через великі розміри молекул білки майже не проникають через клітинну мембрану, а також через пори колодії і целофану. Білки мають великий ступінь набухання і зв'язують біля 80-90% усієї води в організмі.

Для білків характерний ряд кольорових реакцій, котрими користуються для їх виявлення і кількісного визначення (ксантопротеїнова, біуретова, нінгідрінова та інші).

1.3.4 . Класифікація білків

За хімічною структурою компонентів всі білки діляться на дві великі групи: *прості білки*, або протеїни, які побудовані тільки з залишків амінокислот, і *складні білки*, або протеїди, що складаються з простого білку і зв'язаної з ним якоїсь сполуки небілкової природи.

Протеїни поділяються на групи залежно від їх розчинності в різних розчинниках: альбуміни, глобуліни, гістони, протаміни, проламіни, глютеліни, а також фібрилярні білки: фібриноген, міозин і актин.

Альбуміни добре розчиняються у воді але не розчиняються в насиченому розчині сульфату амонію. Альбуміни характеризуються підвищеним вмістом лейцину і дуже малою кількістю гліцину. Дуже поширені у тваринному і рослинному світі, мають відносно невелику молекулярну масу, ізоелектрична точка цих білків становить приблизно $pH=5$. Вони є складовими компонентами крові, м'язів, молока, цитоплазми майже всіх клітин.

Глобуліни нерозчинні у воді і слабких кислотах, випадають в осад при 50% концентрації сульфату амонію, добре розчиняються у слабких розчинах нейтральних солей. Глобуліни містять більшу кількість гліцину ніж альбуміни. Вони також дуже поширені в організмі тварин і рослин, виконують роль захисних білків, з них утворюються антитіла.

Гістони – низько молекулярні білки, розчинні у воді і кислих розчинах, при додаванні аміаку легко випадають в осад. Мають лужний характер завдяки високому вмісту основних амінокислот – аргініну і лізину (25-30%). Гістони локалізовані в ядрі і відіграють важливу біологічну роль в організмі, забезпечуючи структуру, необхідну для біосинтезу білків. Ізоелектрична точка гістонів становить близько 10.

Протаміни за своєю розчинністю подібні до гістонів, причому 90% всього азоту в протамінах належить аргініну. Значна кількість протамінів знаходиться в спермі риб, печінці, селезінці, нирках і залозах внутрішньої секреції, їх біологічна роль аналогічна як у гістонів.

Проламіни – рослинні білки, які погано розчиняються у воді, але добре у 60-80% етиловому спирті. Ці білки містять 10-15% проліну і 20-50% глютамінової кислоти. Проламіни – цінні продукти харчування.

Фібриноген – фібрилярний білок, розчинний в концентрованих сольових розчинах і нерозчинний у воді. Є складовою частиною плазми крові і виконує захисну функцію. В результаті складних хімічних реакцій фібриноген перетворюється на фібрин, який утворює широку мережу розгалужених ниток, в яких осідають еритроцити крові та утворюється тромб, що перешкоджає втраті крові організмом.

Актин і міозин – водонерозчинні фібрилярні білки, в яких складаються мікрофібрили – скорочувальні елементи клітин м'язової тканини.

Протеноїди або склеропротеїди – дуже міцні й еластичні білки, не розчиняються у воді, розчинах кислот, лугів, солей, не розщеплюються ферментами. Входять до складу опорної і покривної тканин (кісток, хрящів сухожилля, волосся, шкіри) і належать до фібрилярних білків.

Колаген – основний білковий компонент шкіри, хрящів, сухожилля, який за своєю міцністю може зрівнятися зі сталевим дротом. У процесі тривалого кип'ятіння перетворюється на желатин.

Еластин міститься у великих артеріях, який багатий гліцином і проліном. Особливістю цього білка є здатність до розтягнення.

Протеїди або складні білки, до складу яких крім білкової частини, входить якась небілкова – простетична група, міцно зв'язана з білком. Всі протеїди поділяються на групи залежно від природи їхньої небілкової частини.

Хромопротеїди – складні білки, молекули яких містять простий білок і забарвлену простетичну групу. Білкова частина переважно представлена гістонами, а простетична група – різними кольоровими сполуками: вітаміном В₂, каротином, порфірином. Наприклад, гемоглобін – червоний залізовмісний білок, який має властивість переносити гази з током крові.

Нуклеопротеїди – складні білки, молекули яких побудовані з простих білків (гістонів, протамінів, альбумінів, глобулінів), зв'язаних з нуклеїновими кислотами.

Фосфопротеїди – складні білки, що містять фосфорну кислоту (0,4-0,88%), з'єднану ефірним зв'язком із серином або треоніном. До фосфопротеїдів відносяться казеїноген (казеїн), білки яєчних жовтків – вітелін, вітеленін, білки ікри, ферменти – пепсин, фосфорилаза, фосфоглюкомутаза.

Ліпопротеїди – складні білки, простетичними групами яких є ліпоїди. Ліпопротеїди є складовими компонентами біологічних мембран.

Кров гідробіонтів містить білки, вміст білків у сироватці крові риб використовують як експрес – тест для визначення рівня фізіологічного стану риб. Зниження вмісту білка в органах спостерігається при голодуванні, при ураженні печінки, при втратах білка організмом (кровотечах, пухлинах, хворобах нирок). Рівень білка в крові риб знижується під час зимівлі з 3,96 до 2,84 г%. При виході на зимівлю рівень білка в крові коропів повинен бути не нижче 3 г% (за Остроумовою, 1972). Концентрацію білка визначають в г% або в г/л; враховуючи що 1 г/л дорівнює 10 г%.

Вміст білків в тканинах тіла гідробіонтів знаходиться в оберненій залежності від суми вмісту води та ліпідів, а в кістковій тканині - води, ліпідів та попелу: чим більше відношення води до білку, а також жиру до білку, тим менший вміст білкових речовин в тканинах. (Табл. 1.3.)

Таблиця 1.3. Відношення кількості води до білку

Гідробіонти	Відношення величин В : Б
Морські пластинчатозяброві	3,1 - 5,2
Круглороті	3,5 - 5,2
Кистисті риби:	
прісноводні	3,5 - 4,9
прохідні(кета, нерка, горбуша)	2,3 - 4,7
після нересту	5,0 - 10,0
морські пелагічні	2,2 - 5,1
морські донні	3,8 - 18,4

Білки м'язів різних видів риб мають значний ступінь нативного зневоднення. В м'ясі наземних тварин величина відношення вмісту води (В) до вмісту білка (Б) досить стійко тримається на рівні 3,2- 4,4. В м'ясі риб різних родин величина цього відношення змінюється в більш широких межах (від 2,5 до 18,4), найбільше – у деяких донних риб.

В окремих видів риб величина відношення води : білку залежить від ряду біологічних причин (віку, статі, стадії розвитку статевих залоз, вгодованості та інше). Такі відміни свідчать про більш виражену лабільність живої речовини гідробіонтів, що пов'язане з особливостями азотистого обміну.

Вміст білків в організмі гідробіонтів залежить від біологічних особливостей виду, а також від призначення тканин. У різних видів гідробіонтів вміст білків коливається в межах від 0,2 до 28,8%, у морських рослинах 0,6 – 8,6%. Тільки у морських ссавців високий вміст білків. У риб, ракоподібних, морських ссавців, як і у наземних тварин, суха

речовина майже повністю складається з білків, а у голотурій, двостулкових молюсків, медуз, і особливо водоростей в залишку сухої речовини присутні тваринні та рослинні полісахариди.

Вміст білків в тканинах різних частин тіла гідробіонтів змінюється в широких межах, в залежності від роду тканини. Таким чином відносний вміст білків, в однотипних тканинах може змінюватись в значній мірі. Але, якщо порівняти вміст білків по відношенню до сухої речовини, то не залежно від виду гідробіонту та роду тканини, вміст білків тримається на рівні 83 - 100%, тобто вони є основною складовою частиною. (Див. табл.1.4.)

Таблиця 1. 4. Вміст білку в тканинах гідробіонтів

Частина тіла, тканина	Вміст білків в тканинах гідробіонтів, %				
	риби	ракоподі бні	Двост улкові молюс ки	ластоногі	Кити вусаті та зубаті
Слиз на поверхні тіла	0,5 -1,3				
Луска	10,4-36,5				
Шкіра	19,5-38,5			28,5-39,4	21,4-25,5
Підшкірне сало	0,8-4,3			1,2-3,2	1,3-48,5
Хрящі	10,2-17,7			19,4-24,3	18,5-21
Кості	10,5-21,5			21,7-36,5	7,6-24,3
Панцирний покрив		8,2-14,9			
Мушлі			0,9-3,1		
Плавники грудні та хвостові	11,8-21			20,4-22,9	27,2-32,3
Печінка	8,6-23,2	8,7-16,3		21,8-25	15,1-23,2
Ікра	25,5-30	15,3-31,3			
Кишечник, шлунок, серце, легені, нирки	4,0-23,5	4,3-5,3	6,0- 12,4	18,0-25,6	13,4-23,5
Плавальний міхур	18,5-37,0				
Кров	2,0-7,0	1,9-3,1		4,0-7,2	4,5-8,7

1.3.5. Практична частина

Якісне та кількісне визначення білків, дослідження властивостей

Білки - це високомолекулярні органічні азотовмісні сполуки, що розщеплюються при гідролізі з утворенням амінокислот. Крім азоту до складу всіх білків входять вуглець, водень і кисень, а також сірка. Деякі

білки містять фосфор, залізо, мідь і цинк. Молекулярна маса білків коливається в широких межах - від декількох тисяч до сотень мільйонів одиниць. Так, молекулярна маса міоглобіну м'язової тканини становить 16900, у той час як білок вірусів грипу має молекулярну масу 332 млн.

Білки виконують багато різних функцій. Найбільшу і найважливішу за своїм біологічним значенням групу білків становлять ферменти. На цей час відомо більше тисячі різних ферментів, кожний з яких каталізує певний тип хімічної реакції. Білки є основними структурними елементами живих організмів. Вони входять до складу сполучної і кісткової тканин. До числа найбільш поширених клітинних білків належать білки мембран, які разом з ліпідами утворюють основу клітин.

Слід підкреслити, що всі білки, які виконують найрізноманітніші функції, у тому числі і білки, яким властива висока біологічна активність або токсична дія, містять один і той же набір з 20 амінокислот. У білковій молекулі амінокислоти з'єднанні пептидними зв'язками. При утворенні пептидного зв'язку карбоксильна група однієї амінокислоти взаємодіє з амінною групою іншої, при цьому виділяється молекула води. А.Я.Данілевський (1888) виявив біурет при взаємодії двох молекул сечовини ($\text{NH}_2\text{-CO-NH-CO-NH}_2$), а потім Е.Фішер (1902) створив поліпептидну теорію будови білкових молекул за рахунок пептидних зв'язків.

Розмаїтість, специфічність існуючих у природі білків залежить від особливостей амінокислотного складу і порядку розташування амінокислот у поліпептидному ланцюзі. Амінокислотний склад і порядок чергування амінокислот визначають структуру білка.

У структурі білка велике значення має також просторова конфігурація поліпептидного ланцюга, що має назву вторинної (наприклад, визначена спіралізованість поліпептидного ланцюга), третинної (визначене укладання спіралізованого поліпептиду у просторі) і четвертинної (асоціація декількох поліпептидних ланцюгів-субодиниць) структури. З двадцяти перерахованих амінокислот десять не синтезуються в організмі людини і повинні надходити разом з їжею. Вони називаються *незамінними*. Наявність в їжі інших амінокислот не обов'язкова, оскільки організм здатний їх синтезувати. Такі амінокислоти називають *замінними*.

Замінні амінокислоти:

Гліцин, аланін, цистеїн, глутамінова й аспарагінова кислоти, тирозин, пролін, серин, глутамін і аспарагін.

Незамінні амінокислоти:

Валін, лейцин, ізолейцин, треонін, метіонін, фенілаланін, триптофан, флізин, гістидин, аргінін.

Харчовий білок, що містить усі незамінні амінокислоти, називається повноцінним. Амінокислоти мають велике біологічне значення. Вони не тільки виконують роль "будівельних блоків", з яких побудована молекула білка, але і є попередниками багатьох біологічно активних сполук -

гормонів, медіаторів нервової системи і т.п. Окремі амінокислоти виконують регуляторну роль - між ними спостерігаються явища взаємної активації і пригнічення при включенні до складу білкової молекули. У деяких випадках вони служать енергетичним матеріалом або лікарською речовиною.

Складна структурна організація пояснює високу специфічність білків. У просторовій конфігурації білкової молекули мають значення різні типи зв'язків: водневі, гідрофобні, іонні, дисульфідні, амінні та ін.

Білки відрізняються за розчинністю. Розчини білків мають амфотерні властивості, оскільки містять одночасно карбоксильні й амінні групи. При дисоціації карбоксильних й амінних груп вони здобувають електричні заряди. При дисоціації карбоксильних і амінних груп вони здобувають заряди. Значення рН, при якому сума негативних та позитивних зарядів білкової частки дорівнює нулю, називається ізоелектричною характеристикою.

Структура білків дуже лабільна і легко руйнується під впливом різних хімічних і фізичних впливів; при цьому змінюються біологічні і фізико-хімічні властивості білків.

Характеристика реакцій та хід роботи

1. Біуретова реакція (Піотровського) - це процес виникнення мідного комплексу, забарвленого в рожево-фіолетовий або синьо-фіолетовий колір, при взаємодії пептидів і білків з Купрум сульфідом у лужному середовищі. Реакція обумовлена присутністю в білку пептидних зв'язків, що з іонами міді утворюють забарвлені комплексні сполуки. Ця реакція не є специфічною, бо подібний комплекс утворюють не тільки пептиди і білки, а й біурет. Саме тому реакція отримала назву біуретової. Правильно було б сказати, що це реакція утворення пептидами і білками мідного комплексу – також, як і біуретом. Забарвлення біуретового комплексу залежить від кількості мідної солі і від структури речовини, з яким зв'язується координаційно іон міді. Біуретову реакцію дають білки, продукти розпаду білка – пептони і поліпептиди, які мають не менше двох пептидних зв'язків.

Хід роботи

До 1-2 см³ розведеного розчину білка додають подвійний об'єм розчину натрій гідроксиду ($\omega=30\%$), добре перемішують і вносять за допомогою скляної палички декілька крапель розчину Купрум сульфату ($\omega=1\%$). Знову ретельно перемішують. З'являється рожево-фіолетове забарвлення. Якщо було внесено велику кількість розчину Купрум сульфату, то надлишок Купрум гідроксиду, що при цьому утвориться, маскуватиме рожево-фіолетове забарвлення мідного комплексу білка, весь розчин набуде синього кольору. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

2. Нінгідринова реакція – це реакція ароматичного трикетону нінгідрину з речовинами, що мають вільні аміногрупи. Амінокислоти, пептиди і білки мають такі вільні аміногрупи і при взаємодії з нінгідрином утворюють барвник Руемана синьо-фіолетового кольору. Як і біуретова, нінгідринова реакція не є специфічною на амінокислоти, пептиди і білки. Будь-які речовини, що містять вільну аміногрупу, і навіть амоніак, дають позитивну реакцію. У нуклеїнових кислотах теж така реакція. Тому говорять про нінгідринпозитивні речовини.

При взаємодії нінгідрину з α -амінокислотами вони окислюються і розпадаються з утворенням аміаку, альдегіду і вугільної кислоти. Нінгідрин відновлюється і конденсується з іншою часткою нінгідрину й аміаком. У результаті утворюється складна сполука мурексидного типу, забарвлена в синій колір.

Хід роботи

До 2-3 см³ розведеного розчину білка додають розчину нінгідрину ($\omega=1\%$) в ацетоні ($\omega=95\%$). Перемішують і нагрівають на киплячій водяній бані при 70⁰С 15-20 хвилин. Розвиваються рожеве, червоне, а потім синьо-фіолетове забарвлення. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

3. Ксантопротейнова реакція – це реакція нітрування ароматичних амінокислот у складі пептидів і білків, у результаті якої утворюються нітропохідні жовтого кольору. Реакція не специфічна, бо нітропохідні вільних ароматичних вуглеводнів теж мають таке забарвлення. При нагріванні розчинів більшості білків з концентрованою нітратною кислотою рідина забарвлюється в лимонно-жовтий колір, який переходить у лужному середовищі в жовто - гарячий.

Реакція обумовлена присутністю в білку циклічних амінокислот – фенілаланіну, тирозину і триптофану, які при взаємодії з концентрованою нітратною кислотою утворюють нітропохідні жовтого кольору (реакція нітрування). Останні при додаванні лугу перетворюються в солі хіноїдної структури, забарвлені в жовтогарячий колір. Білки, у яких циклічні амінокислоти відсутні, не дають ксантопротейнової реакції. До таких білків відносяться: желатина, клупейн, сальмін та ін.

Хід роботи

До 1-2 см³ розчину білка додають 5-6 крапель концентрованої нітратної кислоти до появи білого осаду або помутніння, нагрівають на киплячій водяній бані. При цьому осад і розчин забарвлюються у жовтий колір, осад потім майже повністю розчиняється.

Охолоджують суміш і, не перемішуючи, додають краплинами до кислого розчину надлишок концентрованого розчину амоніаку або лугу до лужної реакції середовища. Вміст забарвлюється в яскравий жовтогарячий

колір, що обумовлено виникненням у лужному середовищі хромофорної групи. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

4. Реакція Адамкевича – це реакція на амінокислоту триптофан з гліюксалевою кислотою, у результаті якої відбувається конденсація двох залишків триптофану з утворенням сполуки, що має довгий ланцюг спряжених подвійних зв'язків, який зумовлює виникнення червоно-фіолетового забарвлення.

Хід роботи

У пробірку вносять приблизно $0,5\text{см}^3$ нерозведеного білка, додають 2см^3 льодяної оцтової кислоти, до якої внесено трохи гліюксалевої кислоти. Суміш нагрівають до розчинення осаду, який утворився. Охолоджують пробірку із сумішшю, а потім, нахиливши її, обережно по стінці приливають до 2см^3 концентрованої сульфатної кислоти так, щоб рідини не змішалися, а утворили два шари. На межі двох рідин з'являється червоно-фіолетове кільце. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

5. Реакція Паулі – це реакція нітросполучення *n*-сульфофенілдіазоній хлориду з ароматичними амінокислотами – як вільними, так і в складі пептидів і білків. Спочатку проводять на холоді діазотування сульфанілової кислоти, а потім реакцію нітро-сполучення з ароматичними амінокислотами у складі білків. З'являється оранжево-червоне забарвлення в результаті утворення азобарвника.

Хід роботи

До $1\text{-}2\text{см}^3$ розчину сульфанілової кислоти ($\omega=1\%$) в розчині хлоридної кислоти ($\omega=5\%$) додають 2см^3 розчину натрій нітрату (III), ($\omega=0,5\%$), ретельно перемішують і додають спочатку 2см^3 розведеного розчину білка, а потім (після перемішування вмісту пробірки) 6см^3 розчину натрій карбонату ($\omega=10\%$), знову перемішують. З'являється вишнево-червоне забарвлення. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

6. Нітропрусидна реакція – це реакція на амінокислоту цистеїн, що містить сульфгідрильну групу $-\text{SH}$. При взаємодії натрій нітропрусиду зі сполуками, що містять $-\text{SH}$ -групу або S^{2-} , з'являється пурпурове забарвлення. Ця реакція на білки теж не специфічна.

Хід роботи

У пробірку вносять $1\text{-}2\text{см}^3$ розведеного білка, додають рівний об'єм насиченого розчину амоній сульфату і 2-3 краплини розчину натрій нітропрусиду ($\omega=5\%$). Потім вносять декілька крапель концентрованого розчину амоніаку.

Якщо в білку є цистеїн, то відбувається реакція, у результаті якої з'являється пурпурове забарвлення. Загалом слід зазначити, що специфічних реакцій на білки немає, і тому для ідентифікації білків застосовується декілька реакцій. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

7. Висолювання білків – це процес виділення білків з водних розчинів розчинами концентрованих солей $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; MgSO_4 ; Na_2SO_4 ; NaCl та ін. У водному розчині білкові молекули заряджені і гідратовані, що забезпечує стійкість білкових розчинів. При високій концентрації солей, іони яких теж гідратовані, відбувається руйнування водних оболонок білкових молекул у результаті конкуренції за воду іонів солей. Крім того, іони солей адсорбуються на поверхні білкової молекули, унаслідок чого зменшується заряд молекули білка, частини білка менше відштовхуються, злипаються, випадають в осад. Різні білки осаджуються при різних концентраціях солей.

Амоній сульфат має різко виражену висолуючу здатність і осаджує білки в нейтральному середовищі, а ще краще – у слабо кислому. Інші солі, наприклад, натрій хлорид, осаджують білки лише при підкисленні розчину.

Для висолювання різних білків потрібна різна концентрація одних і тих же солей. Отже, білки можна висолювати фракційно. Так, глобуліни випадають в осад при напівнасиченні розчину амоній сульфатом, а альбуміни осаджуються при повному насиченні.

Хід роботи

Наливають у пробірку 1,5-2,0 см² розчину білка, додають рівний об'єм насиченого розчину амоній сульфату і струшують суміш. З'являється помутніння від утворення осаду глобулінів. Слід звернути увагу на те, щоб розчин амоній сульфату був дійсно насичений, тобто на дні посудини з розчином був осад.

Мутну рідину фільтрують крізь складчастий фільтр. Частину прозорого фільтрату нагрівають до кипіння і спостерігають згортання альбумінів, що знаходились у розчині. До іншої частини фільтрату додають при перемішуванні надлишок амоній сульфату у вигляді порошку до припинення його розчинення. З'являється помутніння, альбуміни випадають в осад.

Осадження білків солями лужних металів і амонію є оборотним процесом. При додаванні води білки знову розчиняються. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

8. Згортання білків при нагріванні. У п'ять пробірок наливають по 2 см³ розчину білка. Дослід виконують за схемою:

1. Нагрівають вміст першої пробірки. Осад білка з'являється ще до того, як рідина закипить.

2. Додають до другої пробірки одну краплину розчину оцтової кислоти ($\omega=1\%$), і нагрівають. Осад випадає швидше, внаслідок того, що при підкисленні рН розчину наближається до ізоелектричної точки білка.

3. У третю пробірку додають близько $0,5\text{см}^3$ розчину оцтової кислоти ($\omega=10\%$) і нагрівають. Осад білка не утворюється навіть при кип'ятінні. У даному випадку надлишок оцтової кислоти призводить до перезарядки молекул білка, молекули одержують позитивний заряд, взаємно відштовхуються, і осад не утворюється.

4. У четверту пробірку додають $0,5\text{см}^3$ розчину оцтової кислоти ($\omega=10\%$), декілька крапель насиченого розчину натрій хлориду і нагрівають. Утворюється осад білка. Записати рівняння реакцій, записати спостереження в таблицю і зробити висновки.

№	Умови нагрівання	Спостереження	Висновки
1			
2			
3			
4			

9. Осадження білків концентрованими мінеральними кислотами.

У три пробірки наливають по $1\text{-}2\text{см}^3$ концентрованих нітратної, сульфатної і хлоридної кислот. Потім, нахиливши кожен пробірку, по стінці доливають до неї з піпетки по $0,5\text{см}^3$ досліджуваного розчину білка так, щоб він не змішувався з кислотою. На межі двох рідин з'являється білий аморфний осад білка. При струшуванні осад, що утворився при дії хлоридної і сульфатної кислот, розчиняється у їх надлишку. Розчинення осаду білка у надлишку хлоридної кислоти пояснюється тим, що відбувається перезарядка білкової молекули і перехід із ізоелектричного стану у стан з позитивним зарядом білкової молекули.

	Додана кислота	Спостереження
1		
2		
3		

Збільшення осаду білка в надлишку нітратної кислоти відбувається внаслідок процесів нітрування ароматичних амінокислот білка і зшивання поліпептидних ланцюгів за рахунок продуктів реакції. У надлишку концентрованої сульфатної кислоти руйнуються молекули білка до найпростіших низькомолекулярних сполук, які не дають осаду. Записати рівняння реакцій, записати спостереження в таблицю і зробити висновки.

10.а) Осадження білків органічними кислотами. У дві пробірки наливають по 2-3см³ розчину білка і додають в одну з них декілька крапель розчину трихлороцтової кислоти ($\omega=5\%$), у другу – декілька крапель розчину сульфосаліцилової кислоти ($\omega=20\%$). В обох випадках випадають осадки білка.

Сульфосаліцилова і трихлороцтова кислоти є чутливими й специфічними реактивами на білок. Трихлороцтова кислота осаджує тільки білки і не осаджує продуктів розпаду білка і амінокислоти, нею користуються для повного вилучення білків з біологічних рідин.

10.б) Осадження білків солями важких металів. У дві пробірки наливають по 1-2см³ досліджуваного розчину білка і повільно, краплями при струшуванні додають в одну з них розчин Купрум сульфату(CuSO_4), а в іншу – розчин Плюмбум ацетату($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$). Випадають пластівчасті осадки із сіллю Купруму – блакитного кольору, із сіллю Плюмбуму – білого кольору.

Солі важких металів необоротно осаджують білки внаслідок зшивання поліпептидних ланцюгів багатовалентними атомами металів. Тому білки застосовують при отруєнні солями важких металів. Деякі з таких осадів (наприклад, із солями Купруму, Плюмбуму, Цинку) розчиняються в надлишку солі внаслідок адсорбції іонів цих металів на поверхні білкових частинок, у результаті цього білкові частинки набувають заряд і переходять у розчин. Розчинення осадів денатурованих білків у надлишку солі важких металів називається адсорбційною пептизацією. Записати рівняння реакцій, записати спостереження і зробити висновки.

11. Кількісне визначення вмісту білка біуретовим методом.

Хід роботи

З кожної пробірки із розведеним стандартним розчином білка – альбуміна беруть по 0,1 мл розчину і додають по 5 мл біуретового реактиву, перемішують або струшують. Через 30 хвилин вимірюють екстинцію кожної проби на ФЕК проти контрольного розчину (0,1мл 0,9% розчину хлориду натрію + 5,0 мл біуретового реактиву) в кюветі товщиною 10 мм, довжина хвилі 540-560 нм – зелений фільтр).

За одержаними даними будують калібрувальний графік, де на осі ординат – екстинція, на осі абсцис – концентрація.

Для побудови калібрувального графіку з калібрувального розчину білка готують ряд розведень, відповідно:

Калібр. точки	Розчин білка	Фіз. розчин	Концентрація білка
1	0,4 мл	0,6 мл	40
2	0,6 мл	0,4 мл	60
3	0,8 мл	0,2 мл	80
4	1,0 мл	-	100

Одержані розчини обробляють і будують калібрувальний графік на міліметровому папері за калібрувальними точками.

Беруть 2 пробірки – в одну наливають 0,1 мл сироватки, що досліджується, в другу (контрольну) – 0,1 мл розчину хлориду натрію. В обидві пробірки додають по 5 мл біуретового реактиву і струшують.

Через 30 хвилин вимірюють екстинцію (оптичну густину) розчину, що досліджується, на ФЕК в кюветі товщиною 10 мм, фільтр – зелений, проти контрольного розчину. Вміст білка у сироватці крові знаходять за калібрувальним графіком. Зробити необхідні розрахунки, графік, спостереження, висновки.

12 . Визначення концентрації білка методом Лоурі.

Цей метод заснований на фотокориметричному визначенні інтенсивності кольорового (синього) забарвлення, що утворюється при взаємодії ароматичних амінокислот з реактивом Фоліна та біуретовим реактивом. Метод досить чутливий і часто застосовується в біохімічних лабораторіях для визначення білка в біологічних середовищах.

Реактив А: 2% розчин Na_2CO_3 у 0,1Н NaOH (1,35г соди на 2мл 0,1Н NaOH).

Реактив В: 0,5% розчин у 1% розчині виннокислого натрію (125мг $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$ у 1% розчині виннокислого натрію в 25мл дистильованої води, причому сіль необхідно розчинити в малій кількості води окремо).

Реактив С: готується безпосередньо перед дослідом: зливаються реактиви А і В у співвідношенні 50:1.

Реактив Фоліна: 10г $\text{Na}_2\text{WO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$; 2,5г $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$; 5мл 85% розчину H_3PO_4 ; 10мл концентрованої HCl і 70мл дистильованої води кип'ятять із зворотним охолоджувачем на водяній бані на протязі 10 годин. Потім додають 15г безводного Li_2SO_4 та 5мл води і 1 краплю рідкого бром. Суміш нагрівається для видалення надлишку бром, фільтрується, доводиться водою до 100мл. Перед визначенням реактив Фоліна розводять у два рази.

Хід роботи.

У дві пробірки наливають по 2мл реактиву С. У першу пробірку додають 0,1 мл стандартного розчину білка, в іншу 0,1 мл розчину білка

невідомої концентрації. Через 10 хвилин в обидві пробірки додають 0,2 мл розведеного в два рази реактиву Фоліна, струшують і витримують 30 хвилин за кімнатною температурою до повного переходу жовтого забарвлення в синє. Аналіз закінчується визначенням екстинції на фотоелектроколориметрі (фільтр №4). Кількість білка можна розрахувати за калібрувальним графіком. Зробити необхідні розрахунки, графік, спостереження, висновки.

Контрольні питання

1. Що таке висолювання білків?
2. Чим відрізняється висолювання білків від денатурації?
3. Що таке ізоелектрична точка?
4. Що забезпечує стійкість білкових молекул в водному розчині?
5. Напишіть структурну формулу пептиду, який складається з амінокислот: аланіну, цистеїну, лізину. Який заряд має молекула цього пептиду у водному розчині?
6. Напишіть хімічні формули гетероциклічних білкових амінокислот, наведіть їх назви за міжнародною номенклатурою.
7. Лізин містить 19,17% Нітрогену. Розрахуйте відносну молекулярну масу лізину, якщо відомо, що в молекулі лізину міститься два атоми нітрогену.
8. Чим обумовлені кольорові реакції на білки й амінокислоти?
9. Яке практичне значення якісних реакцій на білки?
10. Які ви знаєте амфотерні властивості білків?
11. Як ведуть себе білки у водному розчині в присутності надлишку кислоти або лугу?
12. Чим обумовлені реакції осадження білків?
13. Що таке хроматографія? Які види її ви знаєте?
14. Якими ознаками характеризується денатурація?
15. Які види амінокислот і білків ви знаєте?
16. Характеристика методів визначення білка.
17. Яка концентрація білка в крові гідробіонтів? Від чого вона залежить?
18. Якісні і кількісні методи визначення білка.
19. Що таке пептидний зв'язок?
20. Напишіть рівняння реакцій утворення дипептидів і трипептидів з амінокислот: аланіну, гліцину, треоніну, цистеїну, лізину.

1. 4. Ліпіди гідробіонтів

1.4.1. Загальна характеристика ліпідів

Ліпідами називають органічні сполуки, до складу яких входять жири і жироподібні речовини. Вони мають одну спільну фізичну властивість – нерозчинні у воді, але розчинні в органічних розчинниках (ефірі, хлороформі, бензолі, толуолі, спиртах, ацетоні та ін.). Ліпіди поряд з білками і вуглеводами складають основну масу органічної речовини клітин і тканин рослин й тварин. В різних органах і тканинах вміст ліпідів неоднаковий. Утворюючи комплекси з білками, вуглеводами та іншими речовинами, ліпіди є структурними компонентами мембран (до 30% у перерахунку на суху масу мембрани).

В складі ліпідів виявлені стеарини, насичені і ненасичені вищі жирні кислоти, альдегіди, кетони, холестерин, азотисті основи, амінокислоти, вуглеводи, фосфатна кислота, гліцерин. Ці різноманітні компоненти сполучені в молекулах складних ліпідів різними зв'язками – простими ефірними, складноєфірними, фосфодієфірними та ін.

Ліпіди відіграють важливу роль у забезпеченні організму енергією. Відомо, що при окисненні жирів виділяється вдвічі більше енергії, ніж при окисненні такої ж кількості білків або вуглеводів. Будучи високоенергетичними сполуками, ліпіди використовуються організмом як резервний матеріал. Надлишок енергії спричиняє посилення їх синтезу і накопичення, а за умови дефіциту – починається використання їх організмом.

В живому організмі безперервно відбуваються процеси розпаду (в мітохондріях клітин) та синтезу (в цитоплазмі) ліпідів. Основна частина синтезованих ліпідів використовується в якості запасних (депозитних) речовин, які зосереджуються в спеціалізованих тканинах (підшкірна клітковина, внутрішнє сало, печінка, кістки та інше).

Крім депозитних ліпідів, в тканинах містяться плазматичні або структурні ліпіди, які входять до складу клітинних оболонок і протоплазми, утворюючи комплекси з білками.

Депозитні ліпіди є дуже лабільною складовою частиною тканин, в рівень їх накопичення знаходиться в прямій залежності від вгодованості організму. Вміст плазматичних ліпідів відрізняється значною стабільністю і практично не залежить від вгодованості чи виснаження організму.

В період нагулу організму гідробіонта значна маса ліпідів зосереджується в сполучній тканині, здавлюючи ядро та відтісняючи протоплазму до стінок. При голодуванні відкладені ліпіди використовуються для ендогенного живлення. При цьому жирова клітина перетворюється в звичайну з появою хондріосоми та збільшенням об'єму плазми.

В організмі ліпіди накопичуються вибірково, тому вміст їх залежить від роду тканини. В однойменних тканинах вміст ліпідів залежить від виду, статі, віку тварини, від кількості їжі, а також ряду інших причин біологічного характеру.(Табл.1.5.)

Таблиця 1.5. Вміст ліпідів в тканинах гідробіонтів

Види тканин	Вміст ліпідів в %			
	Наземні ссавці	Морські ссавці	Костисті риби	безхребетні
Кров, слиз	0,01- 0,2	-	0,01-0,05	0,02
М'язова	0,2-10,2	1,2-17,0	0,2-28	0,1-1,5
Кісткова	0,1-50	8-55	0,5-62	-
Панцирний покрив	-	-	-	0,1-0,3
Мушля	-	-	-	До 0,1
Жирова	50-85	30-80	42-92	-
Печінка	2-5	0,3-9	0,5-80	1,5-48

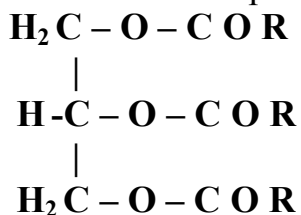
Розрізняють *резервні* (запасні) і *конституційні* (цитоплазматичні) ліпіди. Резервні ліпіди відкладаються переважно в підшкірній жировій тканині, сальнику, печінці, м'язовій тканині і можуть складати до 10-30% маси тіла. Вони являють собою енергетичний резерв організму, використовуючи його по мірі необхідності.

Конституційні ліпіди є структурними компонентами цитоплазми і змінюються в процесі життєдіяльності дуже мало, навіть у випадках крайнього виснаження організму. За хімічним складом і фізико-хімічними властивостями ліпіди поділяють на прості і складні.

1.4.2. Прості ліпіди

До простих ліпідів належать складні ефіри різних спиртів і вищих жирних кислот: жири, стериди, воски. Складні ліпіди крім залишків спиртів і вищих жирних кислот, містять і інші речовини: фосфатну і сульфатну кислоту, азотисті основи, вуглеводи та ін. До складних ліпідів належать фосфоліпіди, гліколіпіди, сульфоліпіди.

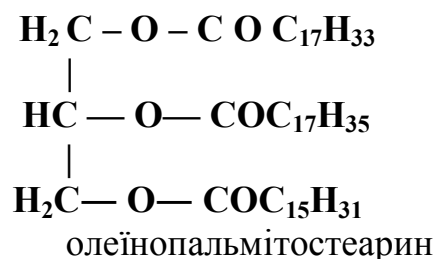
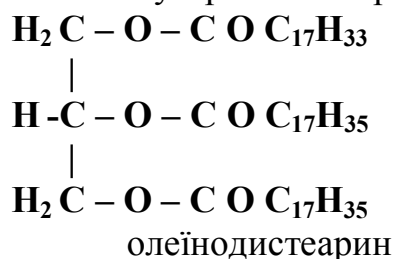
Жири являють собою ефіри трьохатомного спирту гліцерину і вищих жирних кислот, їх ще називають тригліцеридами, або нейтральними жирами:



Гліцерин є постійною складовою частиною всіх природних жирів. Кислоти ж, що входять до складу жирів, різні. Серед них є як насичені, так і ненасичені кислоти з одним або кількома подвійними зв'язками.

Майже всі жирні кислоти, що входять до складу жирів, містять парну кількість атомів Карбону і мають нерозгалужений вуглеводневий ланцюг. Найчастіше зустрічаються кислоти з 16 і 18 атомами Карбону: насичені – пальмітинова $C_{15}H_{31}COOH$ і стеаринова $C_{17}H_{35}COOH$; ненасичені – олеїнова $C_{17}H_{33}COOH$, лінолева $C_{17}H_{31}COOH$ і ліноленова $C_{17}H_{29}COOH$. Зустрічаються також і інші насичені кислоти: лауринова $C_{11}H_{23}COOH$ і міристинова $C_{13}H_{27}COOH$.

Залежно від кількості залишків жирних кислот і місця їхнього розташування в молекулі гліцеридів розрізняють моно-, ди- і тригліцериди. Моно- і ди- гліцериди зустрічаються як правило, у незначних кількостях. Основна маса гліцеридів в організмах людини і гідробіонтів представлена тригліцеридами, тобто похідними гліцерину, залишок якого сполучений з трьома залишками вищих жирних кислот, які частіше можуть бути різними. Тригліцериди, що містять три залишки якоїсь однієї жирної кислоти зустрічаються рідко.



Наприклад, олеїнодистеарин містить один залишок олеїнової кислоти і два – стеаринової, або олеїнопальмітостеарин, який містить залишки олеїнової, пальмітинової і стеаринової жирних кислот.

Жири досить поширені у тваринному і рослинному світі. В складі жирів тваринного походження переважають залишки насичених жирних кислот, тому вони при температурі тіла мають тверду консистенцію (наприклад, коров'ячий жир, свиняче сало, баранячий і яловичий жир та ін.) Жири рослинного походження і деяких гідробіонтів містять у своєму складі переважно залишки ненасичених жирних кислот і при звичайній температурі є рідинами, їх називають оліями (риб'ячий жир, соняшникова, оливкова, лляна, мигдальна олії тощо). Ліпіди риб та морських ссавців в порівнянні з ліпідами наземних тварин відрізняються більшим вмістом ненасичених жирних кислот, тому в них високі значення йодних чисел і при температурі $15-20^{\circ}C$ вони рідкі, але виділяють осад, який складається із кристалів твердих гліцеридів. Головні ліпіди морських дельфінів, які містять 25-35% гліцеридів валеріанової та ізовалеріанової кислот; загусають при температурі мінус $16-18^{\circ}C$, а головний жировіск кашалотів, що містить 35-50% твердого спермацету, загусає при $22-25^{\circ}C$.

Біологічна роль жирів досить різноманітна і важлива. Жири – цінні продукти харчування оскільки виконують ряд життєво важливих функцій. Вони є найважливішим джерелом хімічної енергії. (при окисненні 1г жиру виділяється 39 кДж енергії) і ендогенної води (при окисненні 100г жиру утворюється 107,1 г води), що особливо важливо для тварин, які живуть у пустелях, або для гідробіонтів, що впадають у сплячку. Жири беруть участь в терморегуляції організму і захищають його від механічних ушкоджень. Вони є також добрими розчинниками багатьох органічних сполук, особливо жиророзчинних вітамінів А, Д, Е, К. Жири, які одержують з печінки тріскових риб, застосовують у медицині, як джерело вітамінів Д і А.

При фізіологічних умовах збільшення вмісту ліпідів у крові риб (гіперліпемія) спостерігається через 1-4 години після годування багатою жирами їжою. Під час голодування рівень загальних ліпідів знижується (гіполіпемія). Гіперліпемія виявляється при багатьох патологічних станах гідробіонтів: при захворюваннях нирок (ліпоїдному нефрозі), при ураженні печінки (цирозі печінки і гострому гепатиті), при ожирінні.

В тілах гідробіонтів розміщення скупчень ліпідів, їх кількість та відносний вміст в тканинах безпосередньо залежить від багатьох факторів біологічного характеру (вид, стать, вік, нерест, стан кормової бази і таке інше); непостійний вміст ліпідів і в окремих тканинах риб, що належать до одного виду.

Інтенсивний синтез і накопичення ліпідів відбувається переважно в місцях, де розвинена мережа кровоносних судин.

У морських видів костистих риб (сазан, лящ, лосось) сполучна тканина, розміщена між шкірою та мускулатурою є головним місцем накопичення ліпідів.

У акул, скатів, тріски, мінтаю, наліма, макрурусів, та інших видів риб ліпіди накопичуються в печінці, а під шкірою та в м'язах їх вміст не перевищує 0,5- 1,0%. В морських окунів, палтусів, тунців в організмі відбувається активне депонування ліпідів як в печінці, так і в тканинах м'язів. Всі риби з високою ліпідоутворюючою здатністю відносяться до костистих риб (оселедцеві, коропові, скумбрія, палтус, сайра та інші). У осетрових риб лососевих і деяких коропових видів значна кількість ліпідів міститься в ікрі.

Мобілізація організмом депозитних ліпідів в перед нерестовий період є загальною біохімічною ознакою ліпідного метаболізму риб. Наприклад мойва в період нагулу містить 10-11% ліпідів, а період нересту становить 2-3%. В статевозрілого тихоокеанського оселедця в період нагулу вміст ліпідів досягає 25-33%, причому вони депонуються як в підшкірній клітковині, так і в кишечнику, шлунку. До періоду нересту у оселедця зникають ожирки, до мінімуму скорочується вміст ліпідів в м'язах до 2-3%. У безхребетних морських тварин печінка є головним

жировим депо. Серед морських рослин найбільш багаті ліпідами червоні водорості.

Ліпіди риб та морських ссавців в порівнянні з ліпідами наземних тварин відрізняються більшим вмістом ненасичених жирних кислот, тому в них високе значення йодного числа і при температурі 15-20 °С вони рідкі, але виділяють осад, який складається з твердих гліцеридів. (Табл. 1.6.)

Таблиця 1. 6. Характеристика різних жирів

Ліпіди	Температура плавлення, °С	Вміст ненасичених жирних кислот, %	Йодне число, од.
Рослинні олії:			
кокосова	20-30	40-65	12-25
кунжутна і бавовняна	15-20	12-18	100-120
лляна	5-12	10-16	150-160
Із підшкірного сала:			
великого рогатого скоту	40-52	50-67	30-47
морських ластоногих	12-15	8-17	145-216
морських дельфінів	15-20	-	83-137
вусатих китів	10-16	11-20	102-148
зубатих китів	25-35	13-19	80-123
Риб:			
прісноводних (коропів)	22-28	13-19	80-123
сардини тихоокеанські	18-22	18-24	170-185
лососі тихоокеанські	12-20	14-20	130-159

Ряд складних ліпідів утворюють комплекси з білками, вуглеводами та іншими речовинами і таким чином входять до складу організму як пластичний матеріал. В процесі обміну речовин із ліпідів утворюються різні біологічно активні речовини: чоловічі і жіночі статеві гормони, жовчні кислоти, простагландини і деякі вітаміни.

Дослідження останніх років показали, що ліпіди необхідні для забезпечення процесів активного транспорту речовин через біологічні мембрани, для передачі нервового імпульсу, біосинтезу білків, ферментативних процесів окиснення і фосфорилування.

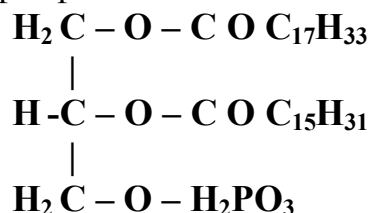
Окрім того, в природі доволі поширені стерини, стериди і воски, які входять до складу клітинних мембран, шкіри, їх похідними є багато гормонів, жовчні кислоти, вітаміни групи Д, алкалоїди, отрути й інші речовини.

Найбільший інтерес має холестерин і його похідні – холестериди. Холестерин – це високомолекулярний циклічний одноатомний

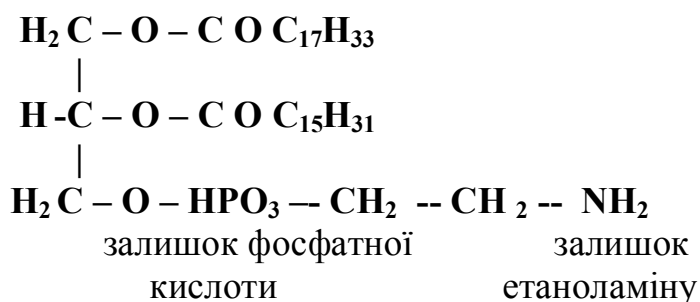
ненасичений спирт, похідний циклопентапергідрофенантрону. В тілі людини масою 70кг міститься до 140г холестерину (більше всього його в мозку 2,6 – 3,2 %).

1.4.3. Складні ліпіди

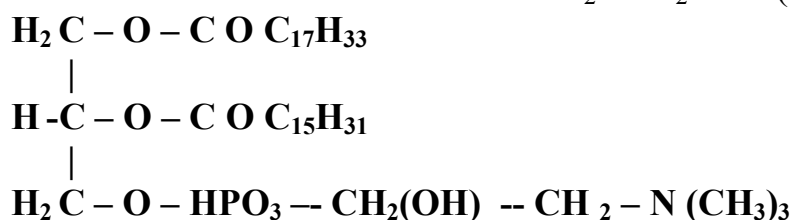
Фосфоліпіди містяться головним чином в клітинних мембранах і нервовій тканинній, в жирових відкладеннях вони виявляються в дуже невеликій кількості. Фосфоліпіди, або фосфатиди, містять, крім складних ефірів вищих спиртів і вищих жирних кислот, також залишки фосфатної кислоти й азотистої основи. Найпростішим фосфогліцеридом є фосфатидна кислота. До її складу входять залишки двох вищих жирних кислот, а також залишок фосфатної кислоти:



Фосфатидна кислота є вихідною речовиною, з якої побудовані інші гліцерофосфатиди. В клітинах фосфатидна кислота міститься в дуже малих кількостях, але є важливим проміжним продуктом в біосинтезі інших фосфогліцеридів, наприклад, *фосфатидилетаноламін*, або кефалін, який входить до складу тканин головного мозку людини, гідробіонтів, печінки риб і великої рогатої худоби, жовтка курячого яйця. З білками утворює ліпопротеїдні комплекси, він має таку будову:



Фосфатидилхолін, або лецитин, побудований аналогічно фосфатидилетаноламіну, проте в його молекулі фосфатидна кислота зв'язана з іншою азотистою основою – холіном $\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_2$



Багато фосфатидилхоліну міститься в тканинах спинного і головного мозку, жовтку курячого яйця, у нирках, легенях. Входить до складу субклітинних мембранних структур (близько 40-50% загальної кількості фосфоліпідів). Наприклад, фосфатидилсерин як азотиста основа містить амінокислоту серин, він входить до складу нервової тканини, печінки, нирок.

Між розглянутими вище фосфатидами існує тісний взаємозв'язок, тому що азотисті основи, що входять до їх складу, можуть переходити одна в одну.

Гліколіпідами називають сполуки, молекули яких містять ліпідний й вуглеводний компоненти, сполучені ковалентним зв'язком. Це як правило сполуки, що містяться в організмах тваринного, рослинного і бактеріального походження. Вони виконують як метаболічні, так і структурні функції: входять до складу клітинних мембран, мають антигенні властивості.

Цереброзиди за своєю будовою дещо нагадують сфінгомієліни, але замість фосфатної кислоти і холіну містять у молекулі залишок галактози або глюкози. Цереброзидами багаті тканини мозку. В організмі вони виконують структурну і метаболічну функції.

Гангліозиди – великий клас гліколіпідів дуже складної будови, їх молекули мають великі розміри і містять значну кількість вуглеводів. В їх складі міститься в середньому 40-43% галактози, 21% нейрамінової кислоти, 13% сфінгозину, 23-26% гексозамінів, глюкози, стеаринової кислоти. Структура гангліозидів подібна до структури цереброзидів, але замість галактози молекула гангліозидів містить складний олігосахарид.

Гангліозиди є структурними компонентами нейронів, знешкоджують отрути, беруть участь у проведенні нервових імпульсів.

Дуже цікаві результати дослідження були одержані під час вивчення процесу засвоєння мікроводоростей в стадії експоненціального росту мідіями при температурі 12°C на протязі 14 днів. Гідробіонти вибірково засвоюють насиченні жирні кислоти 70% і 22% поліненасичені жирні кислоти. *Mytilus edulis* – двостулковий молюск, що є найбільш поширеним для промислового вирощування (Clifton, 1980). Більшу частину мідії одержують внаслідок промислової культивуації (Hickman, 1992), але питання їх харчування, біохімії і енергетичного обміну в тканинах розкриті в літературі недостатньо повно. Було виявлено, що при харчуванні одноклітинними діатомовими водоростями композиція жирних кислот не має яскраво вираженої залежності від складу різних жирних кислот.

Молекулярний склад насичених і ненасичених жирних кислот ліпідів м'язів гідробіонтів в основному представлений кислотами C₁₆, C₁₈, C₂₀. Склад жирних кислот ліпідів різних груп гідробіонтів специфічний. Так, наприклад, тільки в ліпідах дельфінів містяться кислоти C₅ та значний вміст кислот C₁₂. По високому вмісту кислот C₁₄ виділяються ліпіди

морських пелагічних риб. Найбільш високий вміст кислот C_{18} і C_{22} присутній ліпідам пластинчатозябровим, а кислот C_{22} – ліпідам морських донних риб. Непостійність вмісту жирних кислот свідчить про значну лабільність складу ліпідів навіть у однієї групи гідро біонтів. Це залежить від умов існування, віку періоду та інше.

Інтенсивне депонування ліпідів є біохімічною особливістю особливо морських ссавців, причому запас ліпідів в організмі відображує специфіку кожної групи тварин. У безхребетних печінка є головним жировим депо.. Із морських водоростей найбільш багаті ліпідами червоні водорості.

Отже, ліпіди являються основним і найбільш концентрованим джерелом енергії, яка використовується для підтримки життєвих процесів. Вони сприяють обміну речовин, транспортують жиророзчинні вітаміни (A,D,E,K), захищають організм від перегрівання та втрати тепла в зовнішнє середовище. Тому мають надзвичайно важливе значення в життєдіяльності гідробіонтів.

1.4.4. Практична частина.

Дослідження властивостей ліпідів

Ліпіди (жири) – це низькомолекулярні сполуки з гідрофобними (водовідштовхуючими) властивостями. До їх складу входять вищі жирні кислоти, спирти, альдегіди, азотисті основи, амінокислоти, вуглеводи, фосфорна кислота тощо. Компоненти ліпідів мають різну довжину ланцюга, різний ступінь ненасиченості, різні функціональні групи, тому чітка класифікація ліпідів – відсутня, умовно вони поділяються на нейтральні, гліцерофосфоліпіди, сфінголіпіди. Наприклад, такі нейтральні жири як гліцериди, що утворюються під час етерифікації жирними кислотами гліцерину, їх найважливіші представники – холестерин та гліколіпіди, які накопичуються в жировій тканині.

Фосфоліпіди – це найбільша частина ліпідів, що входить у склад мембран. Головні представники фосфоліпідів – фосфогліцериди й фосфатидні кислоти, які не відіграють значної структурної ролі, але виступають як вихідний продукт для синтезу інших фосфоліпідів. Сфінголіпіди – ациклічні аміноспирти з різною довжиною та конфігурацією вуглеводневих ланцюгів, а також різною кількістю подвійних зв'язків та гідроксильних груп (цераміди й сфінгозини).

Нейтральні жири відносять поряд з жироподібними речовинами (ліпоїдами) до класу ліпідів. До ліпідів відносять різні по своїй хімічній природі речовини, що мають загальну фізичну властивість: вони нерозчинні в воді, але розчиняються в органічних розчинах (ефірі, хлороформі, ацетоні, толуолі і т.д.).

У воді ліпіди утворюють емульсії. Для цього їм необхідні емульгатори – речовини, гідрофобна частина молекул яких розчиняється в жирі, а гідрофільна – в воді, що протидіє (1) злипанню найдрібніших жирових крапель, які знаходяться в воді, і (2) розділенню водної і жирової фаз. Емульгаторами можуть бути солі жирних кислот (мила), жовчні кислоти і інші речовини.

Фізико-хімічні властивості жирів залежать від виду жирних кислот в їх складі. Чим більше в складі жирів ненасичених жирних кислот, тим нижчі їх $t_{\text{кип.}}$ і $t_{\text{плав.}}$. Такі жири відносяться до масел. Залишки ненасичених жирних кислот в складі жирів здатні до реакцій приєднання (H_2 , Br_2 , I_2) галогенів.

Реакція приєднання галогенів використовується для відкриття ненасичених жирних кислот в складі жиру і для кількісного визначення наявних в них подвійних зв'язків.

Жири підлягають гідролітичному розщепленню з утворенням гліцерину і вільних жирних кислот. В організмі гідроліз жирів відбувається під впливом ферментів ліпаз, а поза організмом – за допомогою мінеральних кислот і лугів при нагріванні.

Жири – цінні продукти харчування оскільки виконують ряд життєво важливих функцій. Вони є найважливішим джерелом хімічної енергії. (при окисненні 1 г жиру виділяється 39 кДж енергії) і ендогенної води (при окисненні 100 г жиру утворюється 107,1 г води), що особливо важливо для тварин, які живуть у пустелях, або для гідробіонтів, що впадають у сплячку.

Ліпіди беруть участь в терморегуляції організму і захищають його від механічних ушкоджень. Вони є також добрими розчинниками багатьох органічних сполук, особливо жиророзчинних вітамінів А, Д, Е, К. Жири, які одержують з печінки тріскових риб, застосовують у медицині, як джерело вітамінів Д і А.

При фізіологічних умовах збільшення вмісту ліпідів у крові риб (гіперліпемія) спостерігається через 1-4 години після годування багатою жирами їжею. Під час голодування рівень загальних ліпідів знижується (гіполіпемія).

Гіперліпемія виявляється при багатьох патологічних станах гідробіонтів: при захворюваннях нирок (ліпоїдному нефрозі), при ураженні печінки (цирозі печінки і гострому гепатиті), при ожирінні.

Ряд складних ліпідів утворюють комплекси з білками, вуглеводами та іншими речовинами і таким чином входять до складу організму як пластичний матеріал. У процесі обміну речовин із ліпідів утворюються різні біологічно активні речовини: чоловічі і жіночі статеві гормони, жовчні пігменти.

Дослід 1. Розчинність та утворення емульсій.

Хід роботи.

В 6 пробірок приливають 2 краплі риб'ячого жиру або соняшникової олії і розчинів різних речовин об'ємом 1-2 мл за схемою:

Пробірки	1	2	3	4	5	6
Розчини:	бензол	хлороформ	КОН	Na ₂ CO ₃	мило	спирт
Результати: розчинні утворюють емульсії						

Розчини перемішують і спостерігають за розчинністю жиру та утворенням стійких емульсій. Результати дослідів записують і роблять висновки.

Дослід 2. Відкриття ненасичених жирних кислот в жирі.

Хід роботи.

В 2 пробірки приливають бромну воду об'ємом 1мл. В першу добавляють 1-2 краплі риб'ячого або рослинного жиру, перемішують. Спостерігають за змінами. Друга пробірка служить контролем. Результати дослідів, рівняння реакції і висновки записують.

Дослід 3. Гідроліз жиру.

Хід роботи.

В пробірку наливають риб'ячого жиру або рослинної олії об'ємом 2мл і рівний об'єм спиртового розчину з масовою часткою КОН 40%. Пробірку закривають пробкою з холодильником ставлять в кип'ячу водяну баню і тримають там до утворення однорідного розчину.

Результати дослідів і рівняння реакції записують. В пробірку приливають 8-10мл води, збовтують і одержаний розчин використовують для визначення складових частин жиру.

Дослід 4. Відкриття в гідролізаті складових частин жиру.

Хід роботи.

А) Відкриття жирних кислот реакцією гідролізу.

В пробірку приливають 2 мл розчину, отриманого в досліді 3, додають рівний об'єм сульфатної кислоти з масовою часткою 10% і опускають в водяну баню ($t = 100^{\circ}\text{C}$). Спостерігають за змінами.

Б) Відкриття гліцерину.

До 2 мл гідролізату (дослід 4) додають 10 крапель розчину з $\omega(\text{NaOH})=10\%$ і 1-2 краплі розчину з $\omega(\text{CuSO}_4)=2\%$.

Записують рівняння реакції, спостереження і висновки.

Контрольні питання

1. Які з перелічених тригліцеридів будуть знебарвлювати бромну воду: триолеїн, тристерин?
2. Напишіть формули слідуєчих тригліцеридів: а) тристеарина; б) трипальмітина; в) триолеїна.
3. Молекули нейтральних жирів можуть містити три різні жирні кислоти. Напишіть формули двох таких тригліцеридів.
4. Під впливом каталізатора (Ni) залишки ненасичених кислот, що в складі жиру приєднують водень в результаті такої гідрогенізації рідкі жири стають твердими. Напишіть рівняння гідронування: а) олеодистеарина; б) диолеопальмітина.
5. Напишіть рівняння реакції гідролізу тристеарина в лабораторії під впливом мінеральних кислот і в організмі.
6. Обґрунтувати фізіологічну роль ліпідів в життєдіяльності організму.
7. Як відбувається біосинтез жирних кислот в організмі?
8. Якою є будова холестерину і його біологічна роль?
9. Як відбувається синтез холестерину в організмі?
10. Опишіть зв'язок між обміном білків, ліпідів і вуглеводів.
11. Класифікація ліпідів.
12. Будова і властивості гліцеридів.
13. Перетравлення жирів і роль жовчі в цьому процесі.
14. Жовчні кислоти їх будова і біологічна роль.
15. Будова і властивості фосфатидів.
16. В яких розчинниках розчиняються ліпіди (вода, бензол, кислоти).
17. Які функції виконують ліпіди?
18. Які сполуки відносяться до ліпідів (фосфатиди, холестерин, олія).
19. Який процес називають омилеанням жирів?
20. Який показник характеризує ступінь ненасиченості жирних кислот?
21. Який показник характеризує вміст вільних жирних кислот в нейтральних жирах?

1.5. Загальна характеристика і класифікація вуглеводів

Вуглеводи - це органічні сполуки, які утворюються в рослинах в процесі фотосинтезу. Зелені рослини можуть безпосередньо використовувати сонячну енергію, синтезуючи при цьому з вуглекислого газу і води вуглеводи - хімічні сполуки з великим запасом хімічної енергії. Організм людини і тварин не здатний безпосередньо поглинати сонячну енергію і використовує її у вигляді продуктів рослинного походження. Можна сказати, що своїм існуванням на Землі людина багато в чому зобов'язана рослинам.

Рослини містять в тканинах набагато більше цукрів, ніж тварини, причому суттєво відрізняється і якісний склад вуглеводів рослинного та тваринного світу. Порівняльний вміст вуглеводів в тканинах тварин та рослин наведено нижче. (Табл.1.7.)

Таблиця 1.7. Порівняльний вміст вуглеводів

Тканина	Вміст вуглеводів в сухій речовині, %
Зернові (жито, пшениця, рис, кукурудза)	89-98
Бобові (боби, соя, чечевиця, горох)	68-84
Морські водорості (бурі, червоні)	40-82
М'ясо наземних тварин (яловичина, баранина, конина)	0,8-3,8
М'ясо морських ссавців	0,8-4,2
М'ясо морських риб	0,9 – 4,4
М'ясо двостулкових молюсків	
м'яз – замикач	8- 24
мантія	12- 42
М'ясо морських ракоподібних	1,2 – 14,0

Вуглеводи входять до складу тіла людини і тварин в значно менших кількостях, ніж білки і жири (всього близько 2% в перерахунку на суху масу), проте вони є важливою складовою частиною всіх живих організмів.

В організмі людини і гідробіонтів вуглеводи є одним з основних джерел енергії. Добова норма для дорослої людини складає близько 450-500г вуглеводів, які окиснюючись до вуглекислого газу і води, виділяють приблизно 10кДж енергії. Вуглеводи виконують також структурну

функцію, а проміжні продукти їх окислення використовуються як вихідні речовини для синтезу багатьох інших органічних сполук.

Вуглеводи входять до складу нуклеїнових кислот, деяких ферментів, складних білків, гормонів, беруть участь в процесах зсідання крові.

Важливу роль в живому організмі відіграють вуглеводи глікозамінглікани (мукополісахариди), які є складовими частинами білків мукопротеїдів, слизів, шлункового соку, слини, міжклітинних рідин та ін. Мукопротеїди захищають органи і тканини від механічних і хімічних ушкоджень. Вуглеводи широко використовуються в харчовій, кондитерській промисловості і медицині.

Вуглеводи поділяють на три основні класи: моносахариди, олігосахариди і полісахариди. Загальна формула їх $C_n(H_2O)_n$.

Моносахариди містять в молекулі від трьох до дев'яти атомів вуглецю. Вони є первинними продуктами фотосинтезу зелених рослин. Залежно від кількості вуглецевих атомів в молекулі моносахариду розрізняють відповідно тріози, тетрози, пентози, гексози, гептози, октози і нонози.

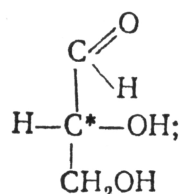
Олігосахариди - це олігомери моносахаридів. Вони утворюються шляхом з'єднання невеликої кількості моносахаридів (від двох до десяти). Велике значення мають такі дисахариди, як сахароза, мальтоза, лактоза, целобіоза і трегалоза, із трисахаридів - рафіноза, генціаноза і трифруктозан.

Полісахариди - високополімерні сполуки, побудовані з декількох десятків і навіть тисяч залишків моносахаридів. До них належать крохмаль, глікоген, целюлоза й ін

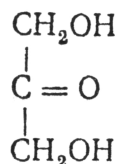
1. 5.1. Моносахариди

Класифікація, ізомерія і номенклатура. Моносахариди є похідними багатоатомних спиртів, містять альдегідну або кетонну групу і називаються відповідно *альдозами* або *кетозами*. Іншими словами, з хімічної точки зору моносахариди - це альдегідо- або кетонспирти.

Найпростішими моносахаридами є тріози - гліцериновий альдегід і діоксиацетон:



Гліцериновий альдегід
(альдоза)

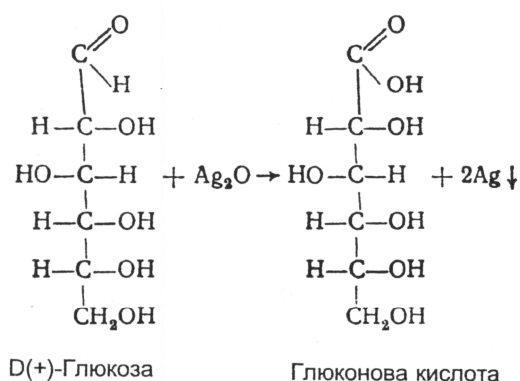


Діоксиацетон
(кетоза)

Гліцериновий альдегід містить один атом Карбону, сполучений з чотирма різними атомами і групами атомів (в формулі позначений зірочкою). Як відомо, такий атом вуглецю називають асиметричним. Атом Гідрогену і гідроксильна група біля такого атома Карбону можуть розташовуватися в просторі по-різному, тобто речовини, що містять асиметричний атом Карбону, мають просторову ізомерію, або стереоізомерію. Внаслідок цього існує два стереоізомери гліцеринового альдегіду, що позначаються як D- і L- форми

Хімічні властивості. В більшість хімічних реакцій моносахариди вступають, знаходячись в ациклічній (альдегідній) формі, незважаючи на те, що в даній формі вони містяться в розчинах в дуже малих кількостях. Це пояснюється тим, що альдегідна форма вуглеводів є найбільш реакційно здатною. По мірі витрати в хімічній реакції альдегідної форми моносахариду його циклічна форма негайно перетворюється в альдегідну, поки знову між цими формами не встановиться динамічна рівновага.

Однією з основних хімічних властивостей моносахаридів є їх здатність легко окиснюватись. При цьому вони відновлюють навіть такі дуже слабкі окисники, як Ag_2O і $\text{Cu}(\text{OH})_2$. При окисненні альдегідної групи моносахаридів утворюються *альдонові кислоти*:

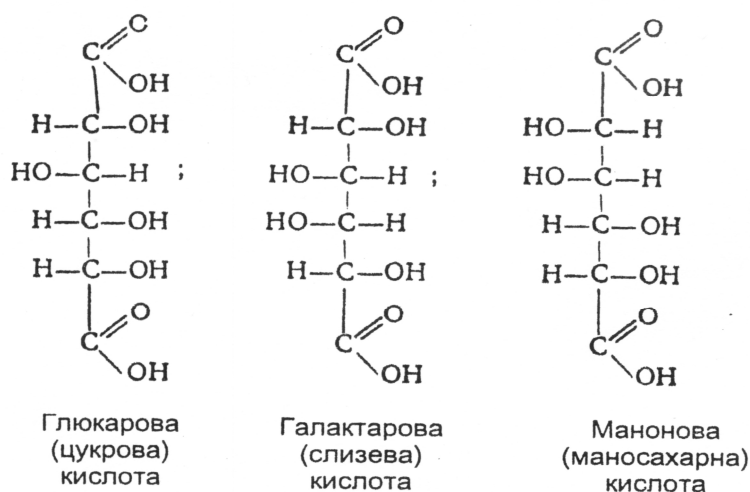


Альдонові кислоти галактози і манози називаються відповідно галактоною і мананою кислотами:

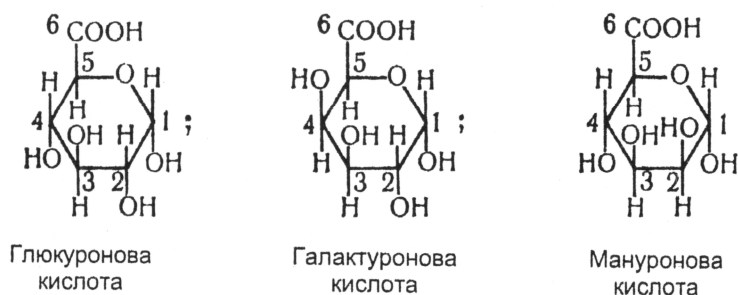


При більш енергійному окисненні, коли окиснюється і первинна спиртова група, утворюються двоосновні окисикислоти, які мають загальну назву

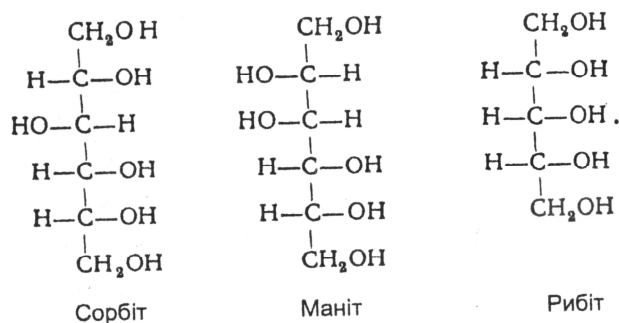
альдарових кислот. При такому окисненні глюкоза перетворюється в глюкарову (цукрову), галактоза - у галактарову (слизову) і маноза - у мананову (маносахарну) кислоти:



Найбільше біологічне значення мають *уронови* кислоти, які утворюються з моносахаридів при окисненні тільки первинної спиртової групи до карбоксильної. Уронова кислота, яка утворюється з глюкози, називається глюкуроною, з галактози — галактуроною, з манози - мануроною:



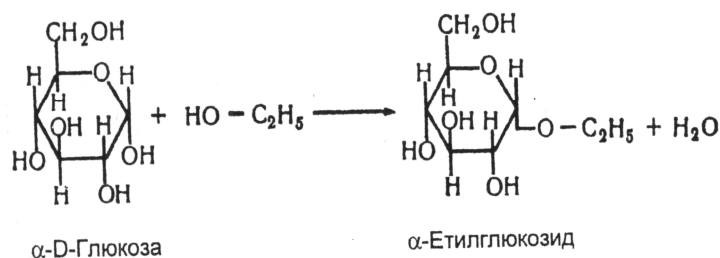
При відновленні моносахаридів утворюються відповідні багатоатомні спирти. В рослинах найчастіше зустрічаються *сорбіт*, який утворюється при відновленні глюкози або фруктози, *маніт* – при відновленні манози, *рибіт* – при відновленні рибози:



Моносахариди вступають в реакцію з кислотами, утворюючи складні ефіри. Деякі з них відіграють дуже важливу роль в обміні речовин.

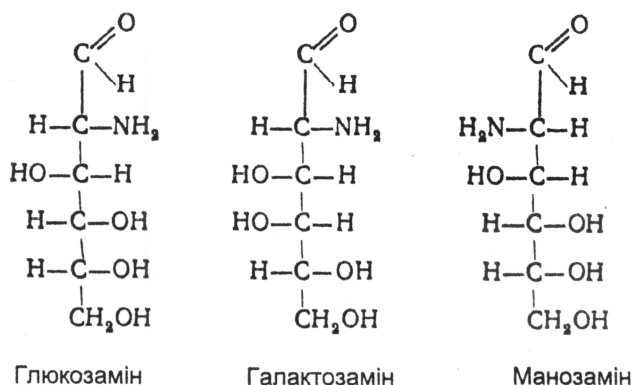
Особливо велике значення мають ефіри цукрів із фосфатною кислотою, так звані цукрофосфати, або фосфорні ефіри цукрів. Такі найважливіші процеси обміну речовин, як дихання, бродіння, синтез глікогену, крохмалю і багато інших, відбуваються за обов'язкової участі фосфорних ефірів цукрів. Найбільше значення мають фосфорні ефіри глюкози, фруктози і рибози.

Найважливішою властивістю моносахаридів є їх здатність до утворення *глікозидів*. Вони утворюються шляхом заміщення атома Гідрогену в напівацетальному гідроксилі (тому його називають ще *глікозидним гідроксилом*), який відрізняється підвищеною реакційною здатністю. Одними з найпростіших глікозидів є етилглюкозиди, які утворюються при взаємодії циклічних форм цукрів з етиловим спиртом:



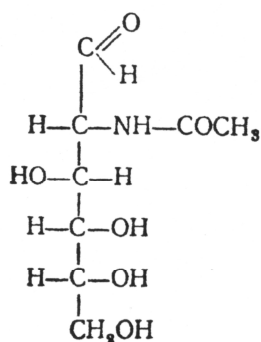
Шляхом заміщення в молекулі моносахариду одного з гідроксилів групою —NH_2 утворюються *амінопохідні* цукрів. Найбільш важливе біологічне значення в організмі людини мають амінопохідні глюкози, галактози і манози - відповідно глюкозамін, галактозамін (хондрозамін) і манозамін:

Зазначені гексозаміни відіграють важливу роль у життєдіяльності організму. Вони виконують специфічні функції, входячи до складу слизистих речовин, синовіальної рідини суглобів, регулюють зсідання крові і виконують захисну функцію при інфекційних захворюваннях.

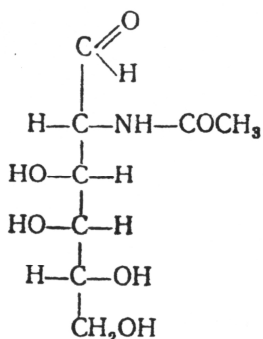


Гексозаміни знаходяться в організмі не у вільному стані, а головним чином у формі ацетильних похідних, які утворюються при заміщенні в молекулі аміноцукру атома Гідрогену в одній з гідроксильних груп або аміногруп на ацетил ($\text{CH}_3\text{CO}-$). Таким шляхом утворюються О-ацетил-і N-

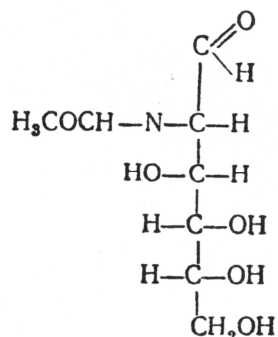
ацетиламіноцукри. Найчастіше утворюються N-ацетиламіноцукри, серед яких найбільш важливими є N-ацетилглюкозамін, N-ацетилгалактозамін і N-ацетилманозамін:



N-Ацетилглюко-
замін



N-Ацетилгалакто-
замін



N-Ацетилмано-
замін

Біологічне значення і знаходження в природі окремих моносахаридів. Біологічне значення простих вуглеводів полягає в тому, що вони є головним джерелом енергії, служать хімічною основою для побудови молекул біополімерів і є складовими частинами макроергічних сполук.

Глюкоза - найпоширеніша альдогексоза як у рослинному, так і у тваринному світі. У вільному стані вона в великих кількостях міститься в солодких плодах і меді. Виноград містить 17-20% глюкози (звідси ще одна назва глюкози - "виноградний цукор"). Особливо велику роль відіграє глюкоза в утворенні нерозчинних полісахаридів - крохмалю, глікогену і клітковини, побудованих із залишків молекул β-глюкози. Вона входить також до складу дисахаридів - мальтози, сахарози і лактози.

Глюкоза - обов'язкова складова частина крові, лімфи і цереброспінальної рідини в організмі людини і тварин. В крові людини завжди міститься 80-120 мг % глюкози. Незначні кількості її є в сечі (0,1%); при захворюванні цукровим діабетом вміст глюкози в ній збільшується іноді до 12%.

В клітинах і тканинах глюкоза знаходиться у фосфорильованому стані - у вигляді глюкозо-1-фосфату і глюкозо-6-фосфату, проміжних продуктів розпаду вуглеводів. В організмі людини і тварин знаходяться також похідні глюкози - глюконова і глюкуронова кислоти і глюкозамін.

Фосфорні похідні глюконової кислоти є проміжними продуктами пентозного циклу, а глюкуронова кислота бере участь у нейтралізації отрутих продуктів обміну речовин (фенолу, скатолу, індолу й ін.). Крім того, глюкуронова кислота входить до складу мукополісахаридів. Глікозамін є складовою частиною глікопротеїдів, мукополісахаридів і хітину.

В організмі окислювальний розпад глюкози відбувається або а анаеробних, або аеробних умовах. При цьому процесі виділяється енергія, яка накопичується у вигляді макроергічних зв'язків в молекулах АДФ та АТФ. При анаеробному та аеробному розпаді молекули глюкози утворюється 32 молекули АТФ, в яких акумулюється $1339,8 \cdot 10^3$ Дж; при повному ж окисненні молекули глюкози виділяється $2872 \cdot 10^3$ Дж. Енергія, яка звільняється при процесах біологічного окиснення частково розсіюється у вигляді теплоти, а в основному акумулюється в молекулах АТФ і в подальшому використовується для механічної роботи м'язів, біосинтезу, секреторної діяльності.

Галактоза у вільному стані не зустрічається. Біологічне значення її полягає в тому, що вона є складовою частиною багатьох полісахаридів і глікозидів. Разом з глюкозою галактоза входить до складу молочного цукру - лактози, а також трицукриду рафінози. В організмі людини і тварин галактоза входить до складу ліпоїдів нервової системи і головного мозку, а під дією ферментів перетворюється в глюкозу, що накопичується у вигляді глікогену — резервного матеріалу.

В рослинних тканинах галактоза виявлена в структурі полісахариду агар-агару, гуміарабіку і різноманітних слизів.

Маноза у вільному стані зустрічається рідко і міститься в основному в шкірках апельсинів. Входить до складу складних вуглеводів, які називаються мананами. Вона виявлена в сироватці крові людини і тварин у складі глікопротеїдів, в білках слини, слизу кишок і рідини суглобів.

Фруктоза - дуже поширений моносахарид. Зустрічається в основному в плодах, тому її називають ще плодовим цукром. Серед простих цукрів вона є найбільш солодкою, в 2,5 рази солодша, за глюкозу, і в 1,7 разу, за сахарозу. Міститься також в бджолиному меді (близько 42%), входить до складу дисахариду сахарози і полісахариду інуліну.

У невеликих кількостях фруктоза міститься в крові людини і тварин. Її фосфорні ефіри є проміжними сполуками обміну вуглеводів в організмі. В процесі обміну фруктоза може перетворюватися в глюкозу. Добре засвоюється організмом.

Рибоза та дезоксирибоза - пентози, значно поширені в тваринному і рослинному світі. На відміну від гексоз майже не зустрічаються у вільному стані. Рибоза - обов'язкова складова частина РНК, нуклеотидів і нуклеозидів. Входить до складу багатьох ферментних систем. Похідна рибози - спирт рибітол - є складовою частиною вітаміну В₂ (рибофлавіну). Фосфорний ефір рибози є проміжним продуктом обміну вуглеводів. В організмі рибоза утворюється в пентозофосфатному циклі, за рахунок чого значною мірою забезпечує організм людини пентозами.

Дезоксирибоза є обов'язковою частиною молекули ДНК, яка знаходиться в ядрі клітини і відіграє важливу роль в біосинтезі білків і передачі спадкової інформації.

1.5.2. Дисахариди

Дисахариди - група вуглеводів, молекули яких складаються з двох молекул моносахаридів. Загальна формула дисахаридів $C_{12}H_{22}O_{11}$. До складу дисахаридів можуть входити або тільки гексози, або гексоза і пентоза, або оптичні ізомери α - і β - форми моносахаридів.

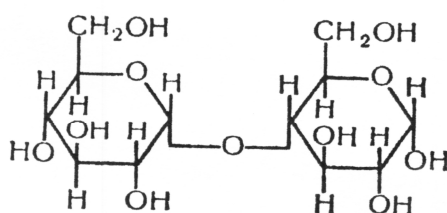
Утворення дисахаридів обумовлене здатністю циклічних форм цукрів утворювати глікозиди за рахунок напівацетального (глікозидного) гідроксилу.

При цьому утворення дисахаридів може здійснюватися двома способами: 1) за рахунок напівацетального гідроксилу одного моносахариду і якогось гідроксилу (здебільшого це гідроксил, що знаходиться біля четвертого атома Карбону) іншого; 2) за рахунок напівацетальних гідроксилів обох моносахаридів. В тому випадку, коли в утворенні зв'язку між двома моносахаридами бере участь напівацетальний гідроксил, в назві дисахариду закінчення *-оза* замінюються на *-озид*.

Розрізняють дисахариди двох типів: мальтозного і трегалозного.

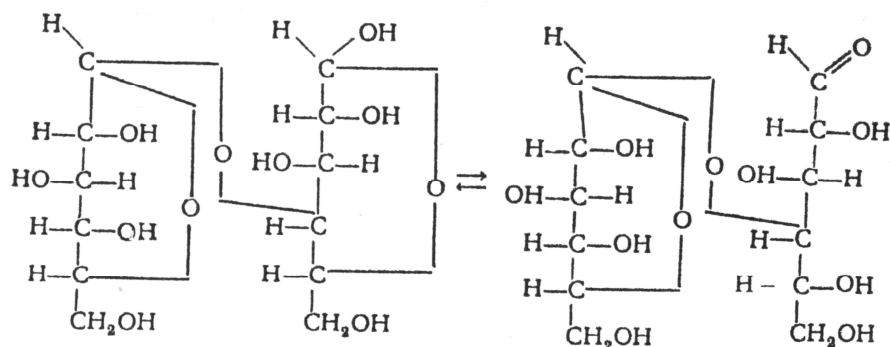
Дисахариди мальтозного типу. Утворення дисахаридів цього типу відбувається за першим способом, тобто зв'язок між двома моносахаридами виникає за рахунок напівацетального гідроксилу тільки одного моносахариду.

Мальтоза складається з двох молекул D-глюкози, сполучених між собою 1,4-зв'язком:



α -Глюкозидоглюкоза (мальтоза)

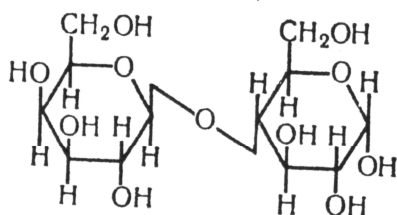
В результаті утворення молекули мальтози один напівацетальний гідроксил залишається вільним, тому мальтоза легко окиснюється, проявляючи відновні властивості. Ці властивості обумовлені тим, що у водному розчині існує рівновага між циклічною й альдегідною формами мальтози:



Оскільки в молекулі мальтози в утворенні зв'язку бере участь напівацетальний гідроксил тільки однієї молекули моносахариду, то за раціональною номенклатурою мальтоза називається глюкозидоглюкозою.

Мальтоза поширена в природі як складова частина крохмалю і глікогену.

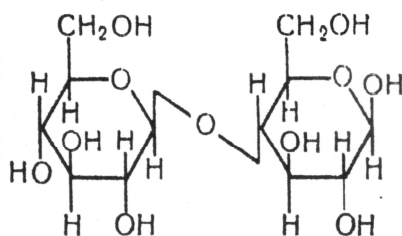
Лактоза. Молекула цього дисахариду утворена з молекул β -D-галактози і α -D-глюкози і побудована за типом мальтози. Лактоза є обов'язковою складовою частиною молока всіх ссавців і виявляє відновлювальні властивості:



Галактозидоглюкоза (лактоза)

Раціональна назва лактози - галактозидоглюкоза.

Целобіоза. Молекула цього дисахариду складається з залишків молекул α - і β -глюкоз також сполучених за типом мальтози:



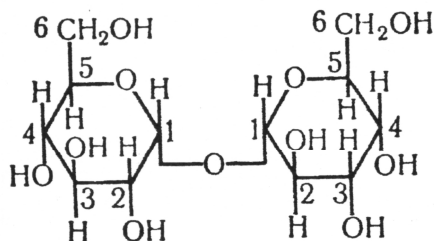
β -Глюкозидоглюкоза

Целобіоза (раціональна назва - глюкозидоглюкоза) утворюється як проміжний продукт гідролізу клітковини. Має відновні властивості.

Дисахариди трегалозного типу. Молекули цих дисахаридів побудовані за другим способом, тобто утворення зв'язку між двома

молекулами моносахаридів відбувається за рахунок двох напівацетальних гідроксилів обох молекул.

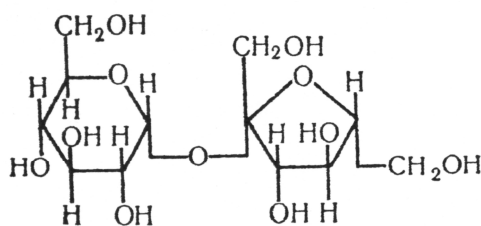
Трегалоза складається з двох залишків молекул α -D-глюкоз, сполучених зв'язком 1,1:



Глюкозидоглюкозид (трегалоза)

Оскільки в молекулі трегалози відсутній напівацетальний гідроксил, то відновних властивостей вона не має. Рациональна назва трегалози – глюкозид-оглюкозид. Трегалоза виявлена в грибах, водоростях і гемолімфі багатьох комах.

Сахароза складається з молекул α -D-глюкози і β -D-фруктози, сполучених між собою зв'язком 1,2:



Глюкозидофруктозид (сахароза)

Сахароза не має відновних властивостей. Рациональна назва - глюкозидофруктозид.

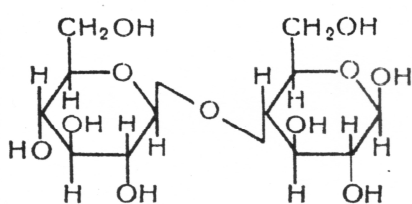
Сахароза - один із найпоширеніших у природі і практично найбільш важливих дисахаридів. Вона міститься у стеблах, коренях, бульбах і плодах рослин. В стеблах цукрової тростини її накопичується до 20%, а в коренеплодах цукрового буряку - до 24%. Сахароза - цінний продукт харчування і має велике енергетичне значення; при окисненні 1г її утворюється близько 16,7 кДж енергії. Розщеплюючись, сахароза утворює глюкозу і фруктозу, суміш рівних кількостей якої називається *інвертним цукром*. Розчин інвертного цукру обертає площину поляризації поляризованого світла ліворуч на $66,5^{\circ}$. Оскільки глюкоза обертає площину поляризації праворуч на $52,5^{\circ}$, а фруктоза - ліворуч на 92° , то суміш цих моносахаридів відхиляє площину поляризації світла у бік більш оптично активної фруктози. Така зміна напрямку оптичної активності називається *інверсією*.

1.5.3. Полісахариди

Полісахариди — високомолекулярні сполуки, полімери. Їх молекулярна маса вимірюється тисячами і мільйонами. Вони не розчиняються у воді і несолодкі на смак.

За хімічною будовою їх можна поділити на дві великі групи: гомополісахариди, побудовані з залишків якогось одного моносахариду (глюкоза, фруктоза й ін.) і гетерополісахариди, які складаються з залишків різних моносахаридів та їх похідних.

Гомополісахариди різняться природою моносахаридів, що входять до їх складу. Так, із залишків глюкози побудовані глюкани (крохмаль, глікоген, целюлоза й ін.), із залишків фруктози - поліфруктозиди (інулін та ін.).



β-Глюкозидоглюкоза

Шляхом сполучення великої кількості залишків галактуронової кислоти утворюються пектини, залишків глюкозаміну - хітин панцира членистоногих.

Гетерополісахариди діляться на геміцелюлози, мукополісахариди, камеді і слизі. Відповідно до фізіологічних функцій полісахариди можна поділити на структурні, які утворюють опорні тканини (целюлоза, пектинові речовини, хітин); резервні, що поступово споживаються в процесі обміну (крохмаль, глікоген, інулін); захисні, що утворюються у відповідь на ушкодження рослин (слизі та камеді).

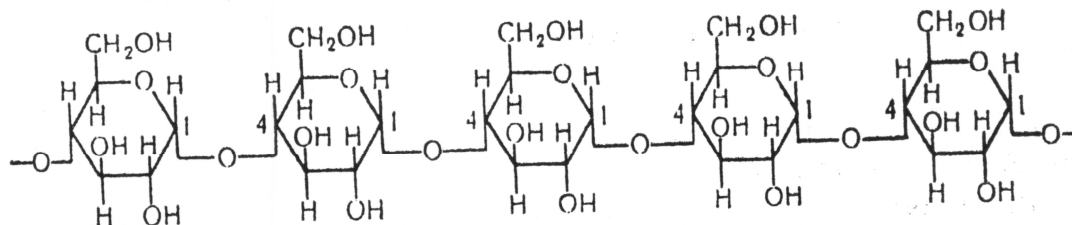
Дослідження полісахаридів пов'язане з великими труднощами. На цей час добре вивчені лише окремі гомополісахариди - крохмаль, глікоген і целюлоза.

Крохмаль - найважливіший гомополісахариди рослин із загальною формулою $(C_6H_{10}O_5)_n$. Це білий порошок, нерозчинний у воді, без смаку і запаху. В гарячій воді утворює колоїдний розчин, що забарвлюється йодом в синій колір.

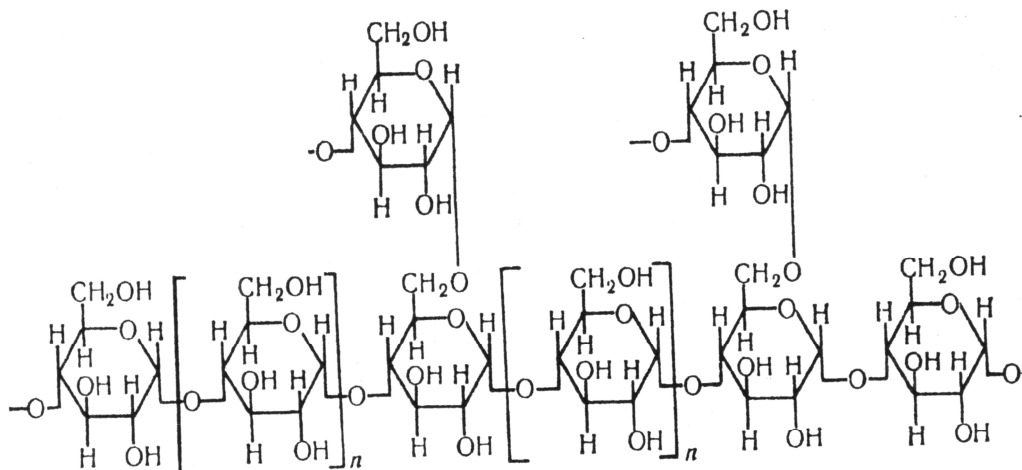
Крохмаль утворюється в процесі фотосинтезу в зеленому листі рослин і відкладається в насіннях, плодах і стовбурах. Особливо багато його міститься в зернах рису, пшениці, кукурудзи і бульбах картоплі. В організм людини і тварин крохмаль потрапляє з їжею (картопля, хліб і ін.).

Крохмаль побудований із великої кількості залишків α-глюкози, сполучених між собою 1,4-глікозидними зв'язками за типом мальтози. Таким чином, одиницею, що повторюється в молекулі крохмалю, є залишки α-глюкози. Крохмаль складається з двох різних фракцій - амілози

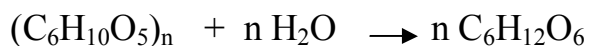
(близько 25%) і амілопектину (близько 75%), що різняться між собою будовою і властивостями. Амілоза розчинна в гарячій воді і добре забарвлюється йодом у синій колір. Молекула амілози складається з двох ланцюгів, скручених в спіраль. В кожному ланцюзі залишки глюкози пов'язані між собою тільки 1,4-глікозидними зв'язками, тому молекула амілози має лінійну будову:



В складі такого ланцюга нараховується 200-1000 залишків глюкози. Молекулярна маса амілози становить близько 60 тис. Амілопектин погано розчиняється в гарячій воді і утворює колоїдні розчини, що забарвлюються йодом в червоно-фіолетовий колір. Залишки глюкози в молекулі амілопектину сполучені не тільки 1,4-, але й 1,6-глікозидними зв'язками, якими приєднані бічні ланцюги. Співвідношення зв'язків 1,4 до 1,6 складає приблизно 25:1. Тому молекула амілопектину має розгалужену структуру, її можна уявити як клубок полісахаридних ланцюгів без чітко визначеного головного ланцюга:



Молекулярна маса амілопектину становить 100 тис. - 1 млн. і більше. При гідролізі під впливом кислот і ферментів амілоза і амілопектин розщеплюються, приєднуючи воду до глюкози:



При цьому крохмаль зазнає послідовних перетворень з утворенням проміжних, більш простих полісахаридів, які називаються *декстринами*.

Глікоген - важливий гомополісахарид, який міститься у тканинах людини і тварин і відіграє роль резервного вуглеводу, тому його ще називають тваринним крохмалем. Він міститься головним чином у печінці

(близько 10%) і м'язах (близько 2%). Це білий аморфний порошок, що легко розчиняється в гарячій воді, утворюючи колоїдні розчини. З йодом дає жовто-червоне забарвлення. Глікоген побудований із залишків α -глюкози. Молекулярна маса його складає від 400 тис. до 4 млн. Структура глікогену аналогічна структурі амілопектину, але на відміну від останнього глікоген має більше зв'язків 1,6; співвідношення 1,4 і 1,6 у його молекулі складає 12:1. Поряд з цим є також зв'язки 1, 3. Тому молекула глікогену має більш розгалужену форму, але більш щільніша і компактніша за молекулу амілопектину.

У тваринних організмах основна маса глікогену міститься в м'язах, біосинтез відбувається в печінці із глюкози, а також молочної кислоти, гліцерину, продуктів дезамінування амінокислот. У м'язах глікоген служить резервним джерелом енергії для роботи м'язів. В печінці глікоген є вуглеводневим резервом, із якого при дії ферментів утворюється глюкоза.

У риб та безхребетних природний вміст глікогену змінюється в межах, вказаних в таблиці. (Табл.1.8.)

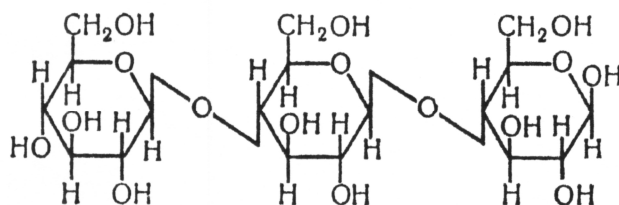
Таблиця 1.8. Вміст глікогену

М'язи	Межі вмісту глікогену, %	
	Натурал. речовина	Суша речовина
Риби костисті		
прісноводні (короп, лящ, лин)	0,9 - 1,8	2,7 - 4,9
прохідні (тихоокеанські лососі)	0,2 - 1,4	1,0 - 3,4
пелагічні (оселедцеві, сардини)	0,4 - 1,3	1,4 - 3,3
донні (камбала, тріскові)	0,1 - 1,2	0,4 - 3,8
Безхребетні морські ракоподібні		
креветки	0,2 - 2,2	1,0 - 11,2
краби	0,2 - 1,2	1,0 - 9,3
Двостулкові молюски (морські)		
м'яз - замикач	0,8 - 3,9	8,5 - 19,7
мантія	1,0 - 5,2	10,9 - 40,8
Прісноводні молюски (перлівниця, беззубка)	-	15 - 21
Головоногі молюски (кальмар, восьминіг)	0,7 - 1,4	3,5 - 6,8
Голонтурії (трепанг, кукумарія)	0,1 - 2,0	0,6 - 12,3

Целюлоза, або клітковина, є основним структурним полісахаридом оболонок клітин всіх рослин, що зумовлює їх міцність і еластичність. В листі рослин міститься близько 30% целюлози, у деревині – близько 70%, а

у волосках насіння бавовнику - близько 90%. В сухій речовині морських трав (тостера, філлоспадікс) міститься 12-24% целюлози, а в бурих водоростях (ламінарії, фукусі) 3,5-7,5% та в червоних водоростях (анфельції, філофорі, фурцелярії) 3,5-16,5%.

Молекула целюлози складається із залишків β -глюкози, зв'язаних між собою тільки 1,4-глікозидними зв'язками, тобто має лінійну будову:



Кількість залишків глюкози в молекулі целюлози досягає кількох тисяч, що відповідає молекулярній масі від 500 тис. до 20 млн.

Окремі ниткоподібні молекули целюлози при взаємодії одна з одною утворюють міцні міцели, які, в свою чергу, за допомогою водневих зв'язків об'єднуються у фібрили. В чистому вигляді целюлоза - волокниста речовина без запаху і смаку.

Така специфічна будова целюлози обумовлює її нерозчинність у воді, ефірі, спирті. В звичайних умовах на неї не діють розведені розчини лугів, кислот і слабких окислювачів. Розчиняється целюлоза в реактиві Швейцера (розведений розчин $\text{Cu}(\text{OH})_2$ в концентрованому аміаку), розчині хлориду цинку, в хлоридній кислоті при нагріванні та в концентрованій сульфатній кислоті.

Завдяки наявності вільних гідроксильних груп целюлоза вступає в окремі реакції з кислотами і спиртами з утворенням різних ефірів. Так, під дією нітратної кислоти утворюється нітроклітковина, при дії оцтового ангідриду - ацетилклітковина. За допомогою цих реакцій із целюлози виготовляють целофан, вибухові речовини, фото - і кіноплівку і т.д.

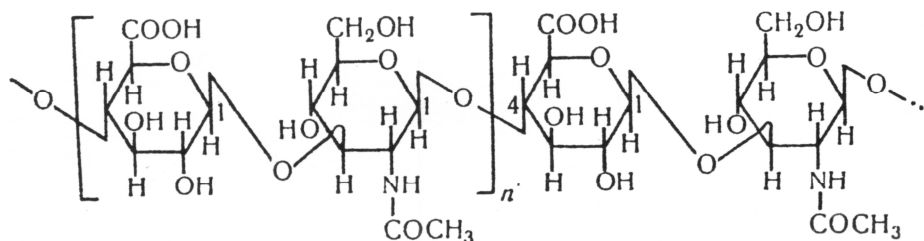
При гідролізі целюлози в присутності концентрованих кислот утворюється β -глюкоза. Організм людини і багатьох тварин не здатний перетравлювати клітковину. Таку здатність мають тільки мікроорганізми, які живуть в травному каналі травоядних тварин і харчуються в основному клітковиною.

Глікозамінглікани(мукополісахариди)

Глікозамінглікани (ГАГ) - це складні високомолекулярні гетерополісахариди. Їх молекули побудовані з залишків різних моносахаридів, їх похідних та інших сполук. Розчини ГАГ і їх комплекси з білками — мукопротеїди мають слизистий характер, за що й одержали свою назву (від лат. тисог - слиз).

Найбільше значення мають кислі ГАГ: гіалуронова і хондроїтинсульфатна кислоти та гепарин.

Гіалуронова кислота. Молекула цього гетерополісахариди побудована з великої кількості залишків глюкуронової кислоти і N-ацетилглюкозаміну в співвідношенні 1:1, зв'язаних між собою 1,3-глікозидними зв'язками, тобто структурною одиницею гіалуронової кислоти є дисахарид, який складається з глюкуронової кислоти і N - ацетилглюкозаміну:



Ці фрагменти, з'єднуючись один з одним зв'язком 1,4, утворюють високомолекулярну молекулу гіалуронової кислоти лінійної будови з молекулярною масою від 270 до 500 тис.

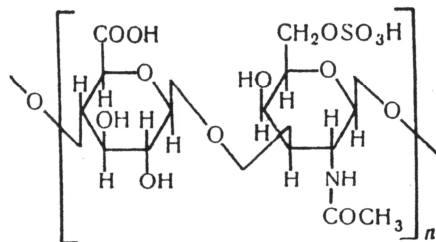
Ця кислота поширена в тканинах і органах людини і тварин. Особливо багато її в склоподібному тілі ока, сухожиллях, синовіальній рідині суглобів. Вона входить до складу оболонки клітин, зокрема жіночої статевої клітини - яйцеклітини. Тому проникнення в яйцеклітину, а отже і запліднення її можливе лише у випадку розщеплення гіалуронової кислоти. Таку здатність має чоловіча статеві клітина - сперматозоїд, який містить фермент гіалуронідазу (гіалуронатліазу), за допомогою якого і руйнується оболонка.

Гіалуронова кислота здатна зв'язувати воду і тим самим утримувати її в міжклітинному просторі. Вона надає також синовіальній рідині мастильні властивості, зменшуючи тертя при згинанні суглобів.

Гіалуронова кислота входить до складу основної речовини сполучної тканини, надаючи їй високу міцність і захисні властивості, оскільки одним із механізмів проникнення бактерій в організм людини або тварин є розщеплення бактеріальними ферментами гіалуронової кислоти клітинної оболонки.

Аналогічні процеси спостерігається також при дії на організм різних фізичних чинників, наприклад, радіоактивного випромінювання. В результаті посилюється розщеплення гіалуронової кислоти, що веде до підвищення проникності тканин і зниження опору організму інфекціям.

Хондроїтинсульфатна кислота також є гетерополісахаридом. Молекула цієї кислоти побудована з фрагментів глюкуронової кислоти і N-ацетилгалактозамінсульфату, сполучених між собою 1,3-глікозидними зв'язками:



Такі фрагменти, так само як і в гіалуронової кислоти, з'єднуються між собою 1,4-зв'язками, створюючи молекулу хондроїтинсульфатної кислоти з молекулярною масою 50-100 тис.

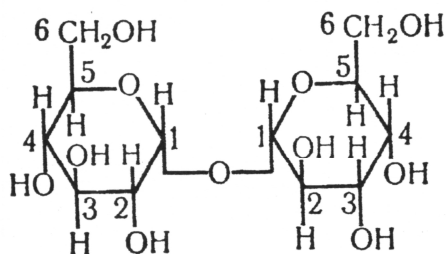
Хондроїтинсульфатна кислота — обов'язкова складова частина хрящів (до 40% в перерахунку на суху масу), кісток, основної речовини сполучної тканини, серцевих клапанів, стінок кровоносних судин, шкіри й ін., тобто в організмі вона виконує опорні функції. Крім того, хондроїтинсульфатна кислота бере участь в іонному обміні і регуляції надходження в клітину поживних речовин.

Гепарин - кислий гетерополісахарид, що складається із залишків глюкуронової кислоти і глюкозаміну, із молекулярною масою до 20 000. Він міститься у різних органах і тканинах тварин. Особливо багато його в печінці (до 100 мг на 1 кг тканини), легенях, серці, селезінці, щитовидній залозі, крові.

Гепарин є потужним антикоагулянт, в мізерно малих кількостях запобігає зсіданню крові. Його використовують в медицині для профілактики і лікування тромбозів, а також як стабілізатор крові при її збереженні і переливанні.

Хітини – природні лінійні полімери, утворені із залишків глюкозаміну, сполучених між собою глюкозидними зв'язками по типу 1,4.

Хітини нерозчинні у воді, молекулярна маса від 4500 до 20000; вони є структурною речовиною, із якої в комах та ракоподібних формується основа панцирних покривів. Вміст хітину в сухому панцирі ракоподібних (камчатський краб, креветки, раки) складає 14 – 36% в залежності від місця розміщення панцира та його сформованості. Хітин стійкий до дії травних ферментів тварин.



Глюкозидоглюкозид (трегалоza)

В складі морських водоростей присутні комплексні полісахариди, яких немає серед вуглеводів наземних рослин. Так, наприклад, в морських

травах міститься зостерин, в бурих водоростях – ламінарин, альгін та фукоїдин, в червоних водоростях – караген, агароїд, агароза.

1.5.4. Практична частина.

Дослідження властивостей вуглеводів у гідробіонтів.

До вуглеводів відносять групу органічних сполук, що містять альдегідну або кетонну: групи та декілька спиртових груп.

Загальна формула для всіх вуглеводів має вигляд $C_nH_{2n}O_n$.

В залежності від складу, будови і властивостей вуглеводи поділяються на дві групи: прості і складні. Прості вуглеводи не піддаються гідролізу і їх відносять до моносахаридів. Складні вуглеводи при гідролізі розпадаються з утворенням простих вуглеводів. В залежності від числа моносахаридів, що входять в молекулу, вони розподіляються на олігосахариди і вищі полісахариди.

Моносахариди за хімічними властивостями можуть бути охарактеризовані як поліоксиальдегіди або поліоксикетони. В розчині вони існують як в циклічній, так і ациклічній формах, що переходять одна в одну. Хімічні властивості моносахаридів визначаються вільними карбонільними (альдегідною чи кетонною) і спиртовими групами, а також властивостями продукту їх взаємодії – напівацетального гідроксиду.

Олігосахариди, що розпадаються при гідролізі на два моносахариди, називаються дисахаридами. За будовою молекул всі дисахариди – це прості ефіри моносахаридів, що мають загальну емпіричну формулу $C_{12}H_{22}O_{11}$.

Для всіх дисахаридів характерна реакція гідролізу. В розчинах вони проявляють властивості багатоатомних спиртів. Лактоза і мальтоза можуть існувати в циклічній і напівциклічній формах в розчині з вільною альдегідною групою, тому вони легко вступають в реакцію окиснення і відновлення. Сахароза існує тільки в циклічній формі і не вступає в реакції, що властиві альдегідній чи кетонній групам.

Полісахариди – високомолекулярні органічні речовини, які побудовані із сотень-тисяч залишків моносахаридів або їх похідних, які пов'язані між собою. Розрізняють гомо- і гетерополісахариди. З перших найбільш важливе біологічне значення мають крохмаль, глікоген та клітковина. Вони побудовані з моносахаридних залишків одного виду (залишків глюкози). До гетеро- полісахаридів відносять сполуки, що мають в своєму складі залишки різних моносахаридів. Вони входять до складу тканин і секретів організму. Найбільше значення для організму з цієї групи мають гепарин, гіалурова кислота та хондроїтинсірчана кислота.

Основна роль вуглеводів в організмі – енергетична. При окисненні вуглеводів масою 10г вивільнюється близько 4.1 кДж енергії.

Однією з основних хімічних властивостей моносахаридів є їх здатність легко окиснюватись. При цьому вони відновлюють навіть такі дуже слабкі окиснювачі, як Ag_2O і $\text{Cu}(\text{OH})_2$. При окисненні альдегідної групи моносахаридів утворюються *альдонові кислоти*:



При більш енергійному окисненні, коли окиснюється і первинна спиртова група, утворюються двоосновні окисикислоти, які мають загальну назву *альдарових кислот*. При такому окисненні глюкоза перетворюється в глюкарову (цукрову), галактоза - у галактарову (слизеву) і маноза - у манонову (маносахарну) кислоти:

Моносахариди вступають у реакцію з кислотами, утворюючи складні ефіри. Деякі з них відіграють дуже важливу роль в обміні речовин. Особливо велике значення мають ефіри цукрів із фосфатною кислотою, так звані сахарофосфати, або фосфорні ефіри цукрів. Такі найважливіші процеси обміну речовин, як дихання, бродіння, синтез глікогену, крохмалю і багато інших, відбуваються за обов'язкової участі фосфорних ефірів цукрів. Найбільше значення мають фосфорні ефіри глюкози, фруктози і рибози.

Дослід 1. Загальна реакція на вуглеводи з α -нафтолом.

Хід роботи

Реакція з α -нафтолом є чутливою реакцією на вуглеводи. Останні під впливом концентрованого розчину сульфатної кислоти (H_2SO_4) і спиртового розчину α -нафтолу утворюють забарвлену хіноїдну сполуку.

В 4 пробірки беруть по 1мл досліджуваних розчинів (глюкози, сахарози, мальтози, крохмалю), додають 2 краплі спиртового розчину з масовою часткою α -нафтолу, що дорівнює 10%, і дуже обережно, по стінці пробірки, не струшуючи, концентрованої сульфатної кислоти об'ємом 2мл. Аналогічну реакцію проводять з розчином білка чи іншої сполуки.

Записати спостереження та висновки.

Дослід 2. Реакція з Фелінговою рідиною.

Цю реакцію використовують для ідентифікації відновлюючих цукрів: моносахаридів та деяких дисахаридів, молекули яких містять вільну карбонільну групу. Окислюючись в лужному середовищі, ці молекули відновлюють мідь (II) в сполуках до міді (I) із зміною забарвлення.

Хід роботи

До розчинів глюкози, мальтози, сахарози, крохмалю об'ємом 1мл в окремих пробірках приливають по 1мл розчину Фелінга (мідний купорос перекристалізують і висушують: в I колбу на 1л беруть - 200г сегнетової солі, 150 г гідроксиду натрію; в II колбу на 1л беруть – 40г мідного купоросу, потім однакові об'єми розчинів змішують перед роботою). Пробірки з розчинами нагрівають до початку кипіння.

Записати спостереження та висновки.

Дослід 3. Реакція Барфед.

Дозволяє відкрити відновлюючі моносахариди при наявності відновлюючих дисахаридів. Реакцію слід проводити в середовищі, близькому до нейтрального, і уникати довгого кип'ятіння.

Хід роботи

До реактиву Барфед (13,3г ацетату міді розчиняють у 200 мл гарячої води, фільтрують і додають 1,9 мл льодяної оцтової кислоти) об'ємом 5 мл в 3 пробірках додаємо по 1мл розчинів глюкози, фруктози і мальтози. Пробірки з розчинами нагрівають на водяній бані на протязі 10 хвилин. Записати спостереження та висновки.

Дослід 4. Реакція крохмалю і глікогену з йодом.

Комплекси йод-крохмалю і йод-глікогену в результаті відмінності в структурах останніх, мають різне забарвлення.

Хід роботи

До 2 пробірок з розчинами крохмалю і глікогену об'ємами по 3мл додаємо 1-2 краплі розчину Люголя (1 г йоду, 2 г йодиду калія розчиняють в 15 мл води, потім доводять водою до 300 мл).

Спостереження. Висновки.

Дослід 5. Кількісне визначення глюкози у сироватці крові уніфікованим глюкозооксидазним методом

Глюкоза в присутності глюкозооксидази окислюється киснем повітря до глюконової кислоти та перекису водню, який у присутності пероксидази реагує з фенолом та 4-амінофеназолом з утворенням хіноніміна червоно-фіолетового забарвлення, який визначається фотометрично.

Хід роботи

З кожної пробірки із розведеним стандартним розчином глюкозооксидази беруть по 0,2 мл розчину і додають по 2 мл буферного розчину, перемішують або струшують. Витримують 12 хв. у термостаті або 20 хв. при температурі 20°C . Через 20 хвилин вимірюють екстинцію кожної проби на ФЕК проти контрольного розчину (0,1мл 0,9% розчину хлориду натрію + 2,0 мл буферного розчину) в кюветі товщиною 10 мм, довжина хвилі 540 нм – зелений фільтр).

За одержаними даними будують калібрувальний графік, де на осі ординат – екстинція, на осі абсцис – концентрація.

Беруть 2 пробірки – в одну наливають 0,1 мл сироватки, що досліджується, в другу (контрольну) – 0,1 мл розчину хлориду натрію. В обидві пробірки додають по 2 мл буферного реактиву і струшують.

Аналіз проводиться у відповідності зі схемою:

Відміряти в пробірку, мл	Дослідна проба
Розчин, що аналізують	0,04 (макро) - 0,02(мікро)
Буферний розчин	4,00 (макро) - 2,00 (мікро)

Через 20 хвилин вимірюють екстинцію (оптичну густину) розчину, що досліджується, на фотоелектроколориметрі в кюветі товщиною 10мм, фільтр – зелений, проти контрольного розчину. Вміст глюкози у сироватці крові знаходять за калібрувальним графіком. Зробити необхідні розрахунки, графік, спостереження, висновки.

Контрольні питання

1. Напишіть реакції гідролізу сахарози і мальтози, користуючись структурними формулами.
2. Якою буде реакція Феллінга з крохмалем і глікогеном?
3. Яку реакцію слід запропонувати для того, щоб пересвідчитись в повному гідролізі крохмалю до глюкози?
4. Які полісахариди є найбільш важливими для життєдіяльності людини і тварин?
5. Важливу роль в обміні вуглеводів відіграють фосфорні ефіри глюкози. Напишіть в циклічній формі формули: а) глюкозо-1-фосфата, б) глюкозо-6-фосфата.
6. При бродінні дріжджового соку накопичується ефір фруктозо-1-фосфату, який є обов'язковим продуктом розкладу глюкози. Напишіть його формулу.
7. Напишіть фрагмент молекули крохмалю (4-5 ланцюга) і рівняння гідролізу до мальтози.

8. Напишіть фрагмент (4-5 груп) молекул амілози, амілопектину і глікогену.
9. Яку класифікацію мають вуглеводи?
10. Біологічна роль вуглеводів у організмі гідробіонтів.
11. Метод кількісного визначення глюкози в крові гідробіонтів.
12. Якісні реакції на вуглеводи.
13. Розрахунки (формули) визначення цукру в крові.
14. Основні властивості вуглеводів.
15. Вплив на вуглеводи α -нафтолу, кислот, солей, йоду.
16. Які вуглеводи мають найбільше значення для організму?
17. Як впливає недостача вуглеводів на життєдіяльність гідробіонтів?
18. Які ви знаєте продукти окиснення вуглеводів?

РОЗДІЛ 2. ОБМІН РЕЧОВИН ТА ЕНЕРГІЇ У ГІДРОБІОНТІВ

2.1. Ферменти – біологічні каталізатори білкової природи

Всі хімічні процеси, що відбуваються в живому організмі, прискорюються специфічними каталізаторами, які одержали назву ферментів, або ензимів. Біохімічна роль ферментів у водних організмах надзвичайно різноманітна і велика та забезпечує нормальний хід процесів обміну; в їх організмах присутній певний „набір” ферментів, який забезпечує необхідну послідовність та інтенсивність ферментативних реакцій.

З ферментами людина знайома дуже давно: зсідання молока при виготовленні сиру, хлібопечення, пивоварство, виноробство, виробництво спирту і цілий ряд технічних процесів базуються на дії ферментів.

Речовини, стійкі при звичайних умовах, в організмі під дією ферментів легко розщеплюються. Наприклад, вуглеводи, жири і білки за звичайних умов можуть знаходитися без помітних змін протягом тривалого часу. Для їх розщеплення поза організмом потрібна висока температура (кип'ятіння) і застосування сильних реагентів (концентровані мінеральні кислоти, луги). Процес розщеплення при цьому триває декілька діб, іноді навіть кілька тижнів. Потрапляючи в організм, ці речовини під впливом відповідних ферментів дуже швидко (протягом кількох годин) підлягають розщепленню з утворенням більш простих сполук.

За своєю природою всі ферменти - білки. Вперше І.П. Павлов, вивчаючи здатність шлункового соку прискорювати розщеплення білків, звернув увагу на те, що чим він багатший білковими речовинами, тим швидше перетравлюється внесений білок. Доказом білкової природи ферментів є ряд їх фізико-хімічних властивостей, характерних для білків. Ферменти так само, як і білки, у розчині знаходяться в колоїдному стані, є амфотерними електролітами. При додаванні нейтральних солей, особливо сульфату амонію, ферменти випадають в осад, тобто висолюються. Під впливом високої температури, сильних кислот і лугів, солей важких металів і інших чинників, що викликають денатурацію білків, ферменти денатурують і втрачають каталітичні властивості. Важливим доказом білкової природи ферментів є розщеплення їх пепсином і трипсином - ферментами, що розщеплюють білки.

2.1.1. Властивості ферментів

Ферменти - термолабільні сполуки. Це означає, що під дією високих температур вони денатурують. Спочатку при підвищенні температури

активність їх різко знижується, потім зовсім припиняється. При 80°C ферменти руйнуються. Виняток становлять лише окремі ферменти, що витримують температуру 100°C і при цьому не руйнуються. За низьких температур (нижче 0°C) ферменти припиняють свою дію, але не руйнуються. Для більшості ферментів людини і ссавців оптимальною температурою дії є $37\text{--}40^{\circ}\text{C}$.

Підвищення температури до певних меж підсилює активність ферментів. Для кожного ферменту існує певний температурний оптимум (для амілази $50\text{--}60^{\circ}\text{C}$, пепсину і трипсину $37\text{--}40^{\circ}\text{C}$, температура $37\text{--}40^{\circ}\text{C}$ є оптимальною для багатьох ферментів тваринного походження), вище якого активність ферменту затухає. При нагріванні в присутності вологи до 100°C ферменти руйнуються, а при температурі $70\text{--}80^{\circ}\text{C}$ більшість ферментів не обернено ін активуються. Інактивація ферментів викликається денатурацією білкової частини ферментів, а не обернена денатурація деяких білків в розчинах починається уже при 30°C .

Таким чином, чутливість до температури - характерна властивість ферментів, що пояснюється їх білковою природою.

Кожний фермент проявляє свою максимальну дію при відповідній концентрації водневих іонів, тобто при певному значенні рН, яке одержало назву рН-оптимуму. Для більшості ферментів людини і ссавців оптимальне значення рН знаходиться в слабо-кислому або слаболужному середовищі. Проте відомі ферменти, що проявляють максимальну активність при рН = 1,5 – 2,5 (наприклад, пепсин шлункового соку) і при рН = 8,00 (наприклад, хімотрипсин дванадцятипалої кишки). Див. табл. 2.1.

Зміна каталітичної активності ферменту за різних значень рН пояснюється в першу чергу зміною тієї просторової конфігурації, за якої проявляються його каталітичні властивості.

Однією з найважливіших особливостей, що відрізняє ферменти від інших каталізаторів, є висока специфічність їх дії. Вона полягає в тому, що кожний фермент діє на певну речовину (субстрат) або на декілька близьких за своєю хімічною структурою речовин. Залежно від того, може фермент каталізувати одну реакцію (діяти тільки на одну речовину) чи декілька (діяти на групу близьких за будовою речовин), розрізняють абсолютну і відносну специфічність. Прикладом абсолютно специфічного ферменту може бути фермент уреаза, який розщеплює сечовину на вуглекислий газ і аміак. Навіть на таку близьку до сечовини речовину, як тіосечовина, уреаза вже не діє. Більшість ферментів має відносну специфічність. До таких ферментів належать естерази, які розщеплюють ефірні зв'язки, протеолітичні ферменти травного каналу, що розщеплюють пептидні зв'язки в білкових молекулах, ліпази та ін.

Таблиця 2.1. Значення рН ферментів

Фермент	Оптимум рН
Аргіназа	9,0 - 9,8
Трипсин	7,8 - 9,5
Ліпази	
шлункового соку	6,0 - 7,0
підшлункової залози	6,7 - 7,2
солоду	4,4 - 4,6
Уреаза	7,2 - 7,9
Амілази	
слинних залоз	6,8 - 7,2
підшлункової залози	6,7 - 7,2
солоду	4,4 - 4,6
Мальтази	
кишечнику	6,1 - 6,2
дріжджів	6,6 - 7,2
солоду	4,5 - 5,0
Сахароза, карбоксилаза	4,5 - 5,0
Пепсин	1,2 - 2,5
Фосфатаза	6,7 - 9,4

Серед ферментів є також і такі, що проявляють свою дію залежно від просторової конфігурації, тобто мають просторову специфічність. Так, ферменти, які окиснюють D-амінокислоти, не окиснюють їх L-форми. Слід підкреслити, що специфічність будь-якого ферменту завжди проявляється в чітко визначених умовах, зокрема, при певній концентрації іонів водню.

Ферменти прискорюють перебіг хімічних реакцій як убік розщеплення якоїсь речовини, так і вбік її синтезу, тобто діють в обох напрямках.

Крім температури і значення рН, на активність ферментів впливає ще цілий ряд чинників, серед яких велике значення має концентрація субстрату. За малих концентрацій субстрату реакція відбувається з малою швидкістю, з підвищенням концентрації швидкість реакції поступово зростає і за певних значень стає постійною. Відбувається процес так званого насичення ферменту субстратом. Подальше збільшення концентрації субстрату призводить до уповільнення реакції. Велике значення для швидкості реакції має і концентрація самого ферменту. За оптимальної концентрації речовини швидкість реакції прямо пропорційна концентрації ферменту в розчині.

На активність ферментів впливають хімічні сполуки, що знаходяться в реакційній системі. Одні з них підвищують активність ферментів і називаються активаторами. Ними можуть бути катіони металів і аніони кислот: Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Cl^- і ін. Активаторами ферментів можуть бути також органічні речовини. Наприклад, ліпаза підшлункової залози, яка розщеплює жири, активується жовчними кислотами. Відомі випадки, коли активність ферментів підвищується при додаванні до розчину невеликих кількостей білків, які самі по собі не мають властивостей ферментів. Речовини, що знижують активність ферментів, називаються інгібіторами. Ними є, наприклад, катіони важких метал

2.1.2. Будова ферментів

Ферменти як речовини білкової природи діляться на прості і складні, або, як їх ще називають, ферменти-протеїни і ферменти-протеїди.

Ферменти-протеїни складаються тільки з амінокислот. У більшості з них до складу молекули входить один поліпептидний ланцюг, який має характерну вторинну структуру у вигляді α -, β -спіралей (іноді вони мають третинну і четвертинну структури). За хімічними властивостями прості ферменти відносять до альбумінів, глобулінів та інших груп простих білків.

Ферменти-протеїди складаються з двох частин: термолабільної білкової і термостабільної небілкової. Білкова частина складного ферменту називається апоферментом, небілкова - кофактором. Комплекс кофактора з апоферментом називається холоферментом. Зв'язок між апоферментом і кофактором у молекулах складних ферментів неоднаковий. У багатьох випадках кофактори слабо зв'язані з апоферментом, з'єднуються з ним тільки під час ферментативної реакції і легко відокремлюються в процесі діалізу. В цьому разі кофактор називають коферментом. Деякі кофактори сполучені з апоферментом дуже міцним ковалентним зв'язком. Такий кофактор називають простетичною групою. Проте проводити чітку межу між коферментом і простетичною групою не можна, оскільки в складі одного ферменту-протеїду кофактор може бути міцно сполучений з апоферментом, у складі іншого — слабо. Тому такий розподіл є умовним.

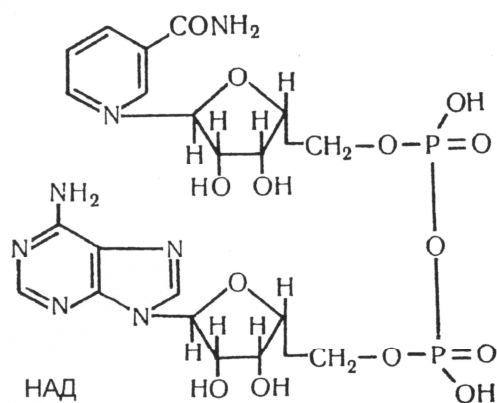
Особливо слід підкреслити, що апофермент каталітично не активний, кофактор має дуже слабку активність. Повноцінний фермент, або активний каталізатор, утворюється тільки як результат з'єднання коферменту з апоферментом. При цьому специфічні властивості ферменту і швидкість реакції обумовлюються тільки білковою частиною, а перетворення субстрату, перенесення атомів, електронів, різних функціональних груп здійснюються коферментом. Як правило, у ролі коферментів виступають

вітаміни і їх похідні. Крім вітамінів, роль коферментів виконують також йони деяких металів (Cu^{2+} , Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} і ін.).

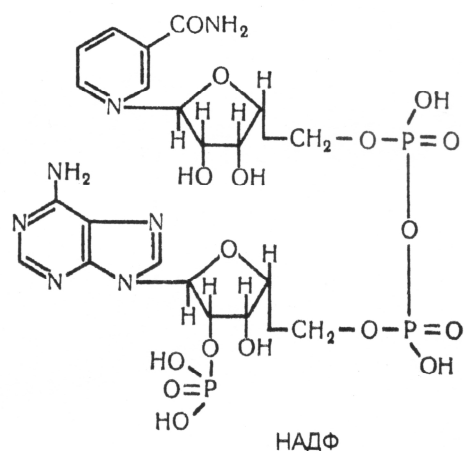
Функції коферментів різноманітні. Головною з них, як буде показано нижче, є формування так званого активного центру ферменту і здійснення контакту молекули ферменту з молекулою субстрату. Крім того, коферменти беруть участь у переносі електронів, протонів, атомів, аміних груп в процесі реакцій, а також виконують об'єднуючу функцію між окремими ферментами, забезпечуючи тим самим узгодженість їх дії.

Розглянемо найбільш важливі кофактори ферментів-протеїдів, які виступають у ролі коферментів.

Нікотинамідаденіндинуклеотид (НАД) складається з двох моонуклеотидів, сполучених між собою пірофосфатним зв'язком. До складу одного моонуклеотиду входить азотиста основа аденін, в складі іншого азотистою основою є амід нікотинової кислоти (водорозчинний вітамін РР):

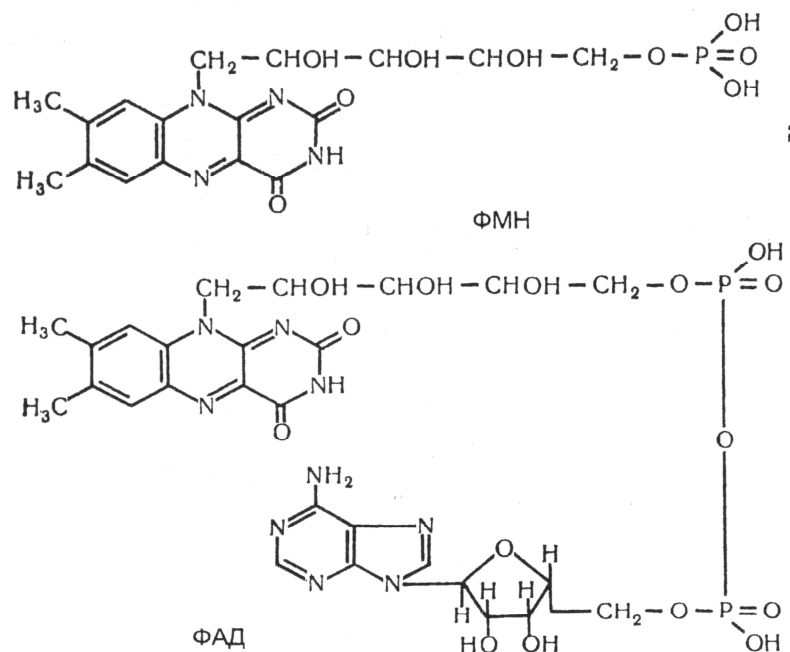


Нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (НАДФ). Цей кофермент також є динуклеотидом, проте містить у своєму складі ще один залишок фосфатної кислоти, сполучений ефірним зв'язком із другим атомом вуглецю рибози аденілової кислоти:



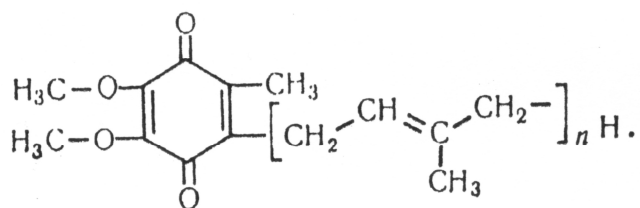
НАД і НАДФ входять до складу так званих дегідрогеназ-ферментів, що здійснюють окиснення субстратів шляхом відщеплення атомів водню й електронів.

Флавінмононуклеотид (ФМН) і флавінаденіндинуклеотид (ФАД) містять у своєму складі рибофлавін (вітамін В₂):



ФМН і ФАД входять до складу дегідрогеназ.

Убіхінон був уперше описаний англійським ученим Р.К. Муртоном, який і дав йому цю назву, що в перекладі означає "всюдисущий хінон", оскільки він зустрічається майже в усіх клітинах. Убіхінон має таку будову:



Цей кофермент здатний зворотно приєднувати атоми водню.

Коферменти - порфіринові комплекси. Порфіринові комплекси є складовою частиною ряду окисно-відновних ферментів, які здійснюють перенесення електронів, зокрема цитохромів. Активною частиною цих ферментів є залізо-порфіриновий комплекс. Найбільш вивченим коферментом порфіринової групи є цитохром с.

Спеціалізовані центри ферментів. Молекули ферментів мають великі розміри (загалом більші, ніж субстрати) і складну просторову конфігурацію. В молекулі ферменту розрізняють три спеціалізованих

центри: активний, субстратзв'язуючий і алостеричний. При цьому кожна частина молекули строго спеціалізована, тобто виконує певну роль.

Активний центр - це динамічне утворення. У простих ферментів він являє собою унікальне об'єднання залишків певних амінокислот, які розміщені в різних місцях поліпептидного ланцюга молекули білка. Такими залишками є радикали гістидину, серину, аргініну, триптофану, цистеїну, тирозину, аспарагінової і глутамінової кислот. У молекулах простих ферментів активний центр виникає в результаті того, що поліпептидний ланцюг молекули білка набуває такої конфігурації, за якої радикали зазначених вище амінокислот знаходяться поруч. Утворюється своєрідна «кишеня», в якій відбуваються каталітичні перетворення субстрату. Такою конфігурацією, як правило, є третинна структура поліпептидного ланцюга. Таким чином, активний центр ферментів протеїнів виникає в той момент, коли білкова молекула набуває характерної для неї третинної структури. Тому зміна цієї структури може викликати деформацію або руйнацію активного центру й ослаблення ферментативної активності.

В складних ферментів роль активного центру виконує його небілкова частина, тобто кофактор, а також прилягаючі до нього білкові функціональні групи: HS - цистеїну, OH⁻ - серину, COOH⁻ — аспарагінової і глутамінової кислот, імідазольне кільце гістидину й ін.

Активний центр, утворений радикалами зазначених амінокислот або кофактором, характеризується чіткою геометричною конфігурацією. В зв'язку з цим даний фермент може проявляти свою каталітичну дію на субстрат, який знаходиться в точній геометричній відповідності до структури активного центру, подібно до того як ключ підходить до замка.

Відповідністю будови активного центру ферменту і субстрату пояснюється висока специфічність ферментів. Тільки субстрат певної будови може ввійти в тісний контакт з активним центром ферменту.

У молекулах ферментів розрізняють також спеціалізовані ділянки, відповідальні за зв'язок із субстратом. Їх називають ще *субстратзв'язуючим (субстратним) центром*, або "якірною" площадкою. Як встановлено на даний час, прикріплення субстрату до цієї ділянки в одних ферментів відбувається в результаті взаємодії субстрату з ε-аміногрупою амінокислоти лізину, в інших - із ділянкою вільної COOH-групи глутамінової кислоти і HS- групою цистеїну, які розташовані, як правило, у субстратному центрі молекули ферменту.

Встановлювати чітку межу між активним і субстратним центром, проте, не можна, оскільки в природних ферментах субстратний центр може збігатися або перекриватися з активним. Уявлення про наявність у молекулах білків певних ділянок допомагає краще зрозуміти каталітичну функцію ферментів.

В молекулах ферментів є також ділянки, розташовані на деякій відстані від активного і субстратного центрів. Їх називають *алостеричними, або регуляторними*, центрами. До цих центрів можуть приєднуватися різні речовини, викликаючи при цьому зміну просторової конфігурації молекули ферменту. Як наслідок, відбувається зміна конфігурації й активного центру, що супроводжується збільшенням або зменшенням каталітичної активності ферменту. Через алостеричний центр на активність ферменту можуть впливати різні регуляторні чинники, якими виступають продукти ферментативних реакцій, гормони і продукти їх обміну, медіатори нервової системи й ін. Регуляторні чинники, що підвищують активність ферментів, називають алостеричними активаторами, що зменшують її — алостеричними інгібіторами.

На даний час виявлено десятки ферментів, що мають алостеричні центри. Такі ферменти називають алостеричними, або регуляторними, тобто ферментами, активність яких регулюється. У поліферментних системах регуляторні ферменти, як правило, першими починають каталітичне перетворення субстрату і припиняють свою дію під впливом кінцевого продукту ферментативних реакцій. У цьому разі регульований вплив на активність алостеричного ферменту кінцевим продуктом називається принципом зворотного зв'язку. Цей принцип лежить в основі молекулярної саморегуляції більшості ферментативних процесів (біосинтезу білків, глікогену, окиснення вуглеводів і т.д.).

2.1.3. Класифікація ферментів

Висока специфічність дії ферментів зумовлює дуже велику їх кількість. Майже кожна реакція, що відбувається в живому організмі, здійснюється за участю специфічно пристосованого до неї ферменту або групи ферментів. На даний час відомо біля 2000 різних ферментів, і кількість їх продовжує збільшуватися.

У 1961 р. у Москві на V Міжнародному біохімічному конгресі була затверджена Єдина класифікація і номенклатура ферментів. В основу класифікації було покладено принцип поділу всіх ферментів відповідно до типу хімічних реакцій, які вони каталізують. Тому всі відомі реакції, що відбуваються в організмі, були поділені на шість основних типів:

1. Окисно-відновні реакції.
2. Процеси перенесення окремих груп від одних субстратів до інших.
3. Реакції розщеплення субстратів за участю води (гідроліз).
4. Процеси відщеплення яких-небудь груп з утворенням подвійних зв'язків без участі води.
5. Реакції, за яких одні речовини перетворюються в інші при

незмінній кількості атомів (процеси ізомеризації).

6. Синтетичні процеси, у результаті яких утворюються нові речовини, з використанням енергії АТФ.

Відповідно до шести типів хімічних реакцій всі відомі ферменти діляться на шість класів:

1.Оксидоредуктази. 2.Трансферази. 3.Гідролази. 4.Ліази.

5. Ізомерази. 6. Лігази (синтетази).

Крім того, кожний клас поділяється на підкласи, які, у свою чергу, діляться на підпідкласи, останні складаються з окремих представників. Таким чином, кожний фермент має чотиризначний шифр, або код, в якому перша цифра позначає клас, до якого належить даний фермент, друга підклас ферменту в цьому класі, третя - підпідклас, четверта - порядковий номер ферменту в даному підпідкласі. На початку шифру ставиться дві літери - КФ (класифікація ферментів).

Відповідно до нової номенклатури назви ферментів складаються з двох частин. Перша частина вказує на назву субстрату, друга - на природу хімічної реакції, яку здійснює фермент, із додаванням суфіксу *-аза*. Якщо фермент каталізує реакцію між двома субстратами, то в першій частині назви ферменту дають назви обох субстратів, розділених двома крапками, в другій вказують тип хімічної реакції з додаванням суфіксу *-аза*,

Таким чином, згідно з прийнятою класифікацією і номенклатурою ферментів, у назві ферменту відображується тип хімічної реакції, яку вони каталізують, а сам фермент має свій шифр, який ставиться після назви ферменту в дужках.

Розглянемо на прикладах назви і шифри деяких ферментів.

1. Оксидоредуктази - ферменти, що каталізують окисно-відновні реакції, тобто перенесення електронів і атомів водню від однієї речовини (донора) до іншої (акцептора). В результаті реакцій, що каталізуються оксидоредуктазами, клітини одержують хімічну енергію.

Оксидоредуктази - це складні ферменти. Кофакторами в їх складі можуть бути нікотинамідні коферменти (НАД і НАДФ), флавіннуклеотиди (ФМН і ФАД), залізопорфіринові комплекси (гем) і багато катіонів (Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} і ін.). Зазначені кофактори спроможні виконувати роль акцепторів електронів і атомів водню і передавати їх іншим речовинам.

Назва ферментів будується за такою загальною схемою: донор: акцептор - оксидоредуктаза.

Поряд з цим застосовується також робоча номенклатура оксидоредуктаз, в основі якої лежить назва акцептора електронів і водню. Так, якщо акцептором є кисень або пероксид водню, такі Оксидоредуктази називають відповідно *оксидазами* і *пероксидазами*. Оксидоредуктази, що передають електрони і водень на якийсь інший акцептор, крім кисню і пероксиду водню, називають *дегідрогеназами*. Таких оксидоредуктаз переважна більшість.

Клас оксидоредуктаз містить цілий ряд підкласів і підпідкласів (у шифрі ферментів це відповідно друга і третя цифри). У підкласі оксидоредуктаз відображені групи речовин, що окиснюються (тобто донори електронів і атомів водню), кожна з яких має свій певний порядковий номер. Наприклад, цифрою 1 завжди позначається спиртова ОН-група, цифрою 2 - альдегідна або кетонна група. Підпідклас в аналізованому класі вказує на акцептори електронів і атомів водню (це не що інше, як кофактори оксидоредуктаз), які так само, як і донатори (групи, що окиснюються), мають свої певні номери. Цифра 1 у підпідкласі, наприклад, означає, що акцептором електронів і водню є нікотинамідні коферменти (НАД і НАДФ).

Скажімо, фермент спиртового бродіння алкогольдегідрогеназа відповідно до номенклатури має таку назву: алкоголь: НАД - оксидоредуктаза (КФ 1.1.1.1). Перша цифра шифру показує належність ферменту до класу оксидоредуктаз; друга - до підкласу оксидоредуктаз, що окиснюють спиртові групи; третя - до підпідкласу оксидоредуктаз, кофактором яких є НАД; четверта — порядковий номер ферменту в підкласі. Перелік підкласів, підпідкласів і порядкових номерів для будь-якого класу поданий у спеціальному довіднику за номенклатурою ферментів.

2. Трансферази - клас ферментів, що каталізують транспорт різноманітних хімічних груп від однієї речовини (донора) до іншого (акцептора). Назва ферменту будується за схемою:

донор: акцептор - група-трансфераза.

Наприклад, систематична назва ферменту гексокінази записується так: АТФ: D-гексозо-6-фосфотрансфераза (КФ 2.7.1.1). Це означає, що фермент належить до другого класу (трансфераз), сьомого підкласу (переносить фосфатні групи), до першого підпідкласу (акцептором є речовини зі спиртовою групою, у даному випадку гексоза), порядковий номер ферменту в підпід- класі - перший.

Клас трансфераз бере участь в обміні білків, ліпідів, вуглеводів, нуклеїнових кислот і налічує близько 800 ферментів.

3. Гідролази — ферменти, що каталізують реакції розщеплення речовин за участю води. Каталітична активність цих ферментів залежить від наявності в їх каталітичному центрі HS-груп. Відповідно до систематичної номенклатури назви гідро-лаз складаються за схемою: субстрат - гідролаза. Наприклад, фермент *АТФ-аза* називається АТФ-фосфогідролазою (КФ 3.6.1.3). Він належить до третього класу (гідролази), шостого підкласу (розщеплює кисло-ангідридні зв'язки), першого підпідкласу (ці зв'язки знаходяться в молекулі АТФ), порядковий номер даного ферменту в підпідкласі - третій.

Гідролази дуже поширені в природі і беруть участь в обміні вуглеводів, жирів, білків та інших сполук.

4. Ліази - ферменти, що каталізують реакції негідролітичного відщеплення певних груп з утворенням подвійних зв'язків або приєднання групи в місці подвійного зв'язку. Ці реакції здійснюються без використання енергії макроергічних сполук. Систематичні назви ферментів цього класу будуються так само, як і назви гідролаз, тобто за схемою: субстрат - відщеплювана група-ліаза. Наприклад, аспартат - аміак-ліаза за систематичною номенклатурою називається L-аспартат - аміак-ліаза (КФ 4.3 1.1). Це означає, що фермент належить до четвертого класу (ліаз), третього підкласу (каталізує розрив зв'язку між атомами вуглецю й азоту), до першого підпідкласу (відщеплює аміногрупу), а порядковий номер його в підпідкласі - перший.

Ліази, як правило, - складні ферменти, що містять як кофакторами фосфорні ефіри водорозчинних вітамінів.

5. Ізомерази - ферменти, що каталізують реакції внутрішньомолекулярного переміщення різних груп або реакції утворення ізомерів. Типовим прикладом ферментів цього класу є тріозофосфатізомераза, систематична назва якої D-гліцеральдегід-3-фосфат-кетол-ізомераза (КФ 5.3.1.1). Даний фермент зворотно перетворює 3-фосфогліцериновий альдегід у діоксиацетонфосфат.

6. Лігази (синтетази) - ферменти, за участю яких здійснюється приєднання одна до одної двох молекул із використанням енергії АТФ і утворенням нових зв'язків. Лігази називають ще синтетазами, оскільки вони є каталізаторами синтетичних реакцій. Це складні ферменти. Кофактором багатьох із них є вітамін Н, або біотин. Найбільш вивченими ферментами цього класу є карбоксилами, наприклад, ацетил-КоА - карбоксилаза, систематична назва – ацетил-КоА: CO_2 - лігаза (АДФ) (КФ 6.4.1.2). Фермент каталізує утворення даного малоніл-КоА - проміжної сполуки в біосинтезі вищих жирних кислот з ацетил-КоА і вугільної кислоти.

2.1.4. Внутрішньоклітинна локалізація ферментів

Переважає більшість ферментів діє всередині клітини, де вони утворилися, тобто являє собою так звані ендoferменти. При цьому для них характерна клітинна локалізація.

Локалізацію найважливіших груп ферментів всередині клітини можна уявити таким чином. У розчинній частині клітини у вигляді окремих молекул знаходяться численні важливі групи ферментів: ферменти, що каталізують процеси анаеробного дихання або спиртового бродіння, перетворення цукрів, розщеплення крохмалю - α -, β -амілази. У цій же частині локалізовані всі ферменти синтезу вищих жирних кислот,

багато ферментів, що каталізують синтез і взаємні перетворення амінокислот, а також численні гідролітичні ферменти.

Ряд ферментів локалізовано в органелах клітини - ядрі, мітохондріях, рибосомах і т.д. В ядрі в основному знаходяться ферменти, що каталізують утворення нуклеїнових кислот. Всі ферменти і кофактори дихального ланцюга, а також всі ферменти окислювального фосфорилування, які мають відношення до утворення АТФ у клітині, локалізовані в мітохондріях. Тут же міститься повний набір ферментів, що каталізують реакції циклу трикарбонових кислот, а також ферменти, що каталізують окиснення жирних кислот. Крім того, у мітохондріях локалізовано багато аміотрансфераз, що каталізують реакції переамінування, і такий ключовий фермент азотистого обміну - глутаматдегідрогеназа.

Ферменти біосинтезу білків зосереджені переважно в рибосомах. У них містяться також ферменти, що каталізують біосинтез рибонуклеїнових кислот.

Біохімічні процеси, що відбуваються в клітині, являють собою складні ланцюги реакцій, які послідовно каталізуються декількома ферментами. Багато ферментів у клітині діють одночасно. При цьому речовина, одержана під дією першого ферменту, є субстратом для наступного і т.д. Утворюються так звані мультиферментні системи.

За ступенем складності **мультиферментні системи** можна розділити на три групи. До першої групи належать системи, в яких окремі ферменти знаходяться в цитоплазмі і не зв'язані один з одним. У цих випадках молекули субстратів дифундують від одного ферменту до іншого і т.д., причому продукт дії одного ферменту є субстратом для іншого.

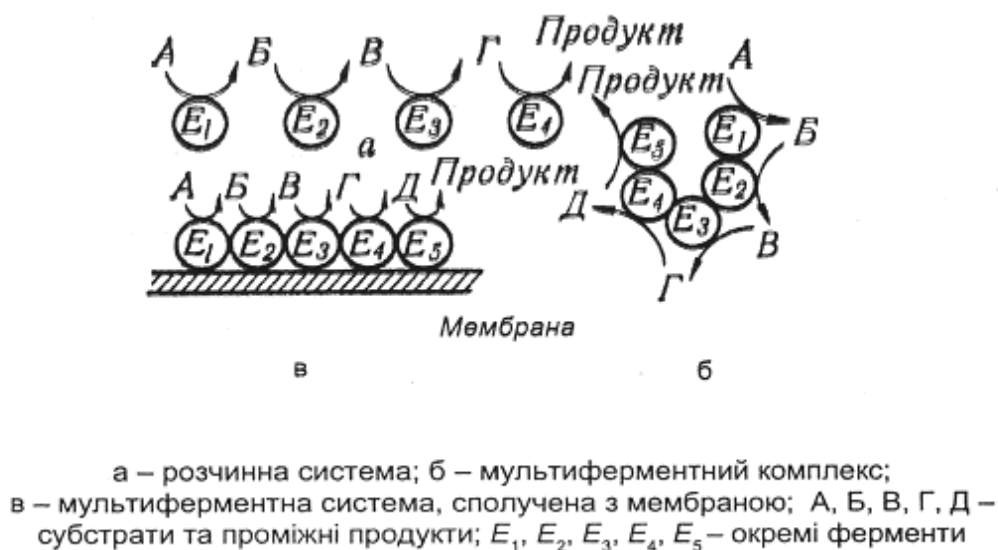


Рис.2.1. Основні групи мультиферментних систем

До другої групи відносять системи, що утворені у вигляді комплексів і важко розпадаються на окремі ферменти. При цьому продукт дії одного ферменту також є субстратом для іншого, однак проміжні продукти вже не залишають ферментного комплексу в результаті дифузії. Прикладом такої системи може бути комплекс ферментів, які каталізують синтез жирних кислот або окислювальне декарбоксилювання піровиноградної кислоти.

Найбільш високоорганізованими мультиферментними системами є комплекси ферментів, сполучені з мембранами клітинних органел. Прикладом такої системи може бути ланцюг дихальних ферментів, міцно зв'язаних мембраною мітохондрій. Речовини, що піддаються перетворенню, послідовно переміщуються уздовж ланцюга ферментів.

В таких системах швидкість ферментативних реакцій дуже висока, оскільки не витрачається час на переміщення субстратів від одного ферменту до іншого.

2.1.5. Практичне використання ферментів

Ферменти широко використовуються в народному господарстві. Так, в процесі випікання хліба застосовують ферментні препарати, що покращують якість і аромат хліба. Для збереження м'яса, фруктових соків, не пастеризованих пива і вина як антиокислювач використовується глюкзооксидоза. У шкіряному і хутряному виробництві застосовуються препарати пептидогідролаз, які в кілька разів прискорюють розм'якшення шкір і видалення з них шерсті.

Багато ферментів застосовуються в терапії. Так, препарат трипсину разом з антибіотиками використовується при лікуванні хронічних виразок кінцівок і фурункулів. Панкреатична ДНК-аза застосовується при лікуванні деяких респіраторних захворювань, гіалуронідаза - для прискорення всмоктування різних ліків, які вводяться підшкірно. Для руйнування тромбів часто застосовують фібринолізин. Аспарагіназа, яка розщеплює аспарагін, необхідна для синтезу білків раковими клітинами, застосовується при лікуванні злоякісних пухлин.

На думку вчених, еру антибіотиків і гормональних препаратів заступає ера ферментів. Проте широке використання ферментів обмежене їх малою стабільністю при зберіганні, швидкою інактивацією під впливом внутрішніх середовищ організму, сильними імунологічними реакціями, високою вартістю і нездатністю до регенерації. Тому вже на даний час значна кількість ферментів застосовується не у вільному стані, а будучи закріпленими на органічних і неорганічних носіях. Такого роду системи називають іммобілізованими ферментами. Іммобілізація ферментів, як правило, підвищує їх стабільність при зберіганні, стійкість до температурних змін агентів, які денатурують, дії мікроорганізмів. Часто у

ферментів, які зазнали іммобілізації, змінюється специфічність до субстрату. При розщепленні субстратів іммобілізовані ферменти можуть давати інші продукти, ніж ті самі ферменти, вміщені в розчин. У ряді випадків з'являється особлива субстратна специфічність. Таким чином, завдяки іммобілізації ферментів, тобто зв'язуванню їх із неорганічними або органічними носіями, значною мірою усуваються вади, які обмежують їх застосування.

Іммобілізовані ферменти широко використовуються для діагностики і лікування різних захворювань, а також для створення більш досконалих протезів і апаратів, які замінюють роботу найважливіших органів людини. Методи іммобілізації ферментів відкривають принципово нові підходи в конструюванні апаратів "штучна нирка" і "штучна печінка". Так, на основі іммобілізованої уреази створені і пройшли успішні випробування портативні апарати "штучна нирка".

Практична медицина застосовує різноманітні типи пов'язок і тампонів з іммобілізованими на їх поверхні ферментами. Із застосуванням іммобілізованих ферментів розроблені більш точні й економічні методи масових клінічних аналізів для визначення глюкози, молочної кислоти й інсуліну в крові, сечовини в сироватці крові, лактози в сечі, пеніциліну у фармацевтичних препаратах.

Прикладом іммобілізованих ферментів може бути уреаза, яку використовують для визначення сечовини в біологічних рідинах. Іммобілізована уреаза може "працювати" безупинно протягом чотирьох місяців, а зберігатися без втрати активності на протязі трьох місяців при температурі від 0 до 5°C. Іммобілізована на нейлоні уратоксидаза дозволяє визначати сечову кислоту з точністю до 10^{-5} - 10^{-4} моль. Система іммобілізованих ферментів для визначення піровиноградної і щавлево-оцтової кислот має велику стабільність для проведення 800-1000 аналізів, тоді як ферменти в розчині за той же період часу втрачають активність на 90%.

Іммобілізовані ферменти поступово впроваджуються також у практику для оцінки забруднення навколишнього середовища токсичними речовинами.

2.1.6. Практична частина

Визначення загальних властивостей ферментів.

Ферменти є високоспеціалізованим класом речовин білкової природи, що виконують функцію біологічних каталізаторів. Завдяки ферментам обмін речовин у живому організмі протікає з великою швидкістю при звичайній температурі тіла і без участі сильнодіючих

хімічних реагентів. Вони є основою молекулярних механізмів процесу обміну речовин – важливої властивості живого організму. Механізм дії ферментів зводиться до зниження енергетичного бар'єру, зменшення енергії активації, завдяки чому швидкість хімічної реакції значно прискорюється.

Характерними властивостями ферментів є: 1) термолабільність, температурний оптимум дії; 2) залежність активності від значення рН; 3) специфічність дії (абсолютна і відносна); 4) зміна активності під дією активаторів і інгібіторів.

Ферменти - термолабільні сполуки. Це означає, що під дією високих температур вони як і білки денатурують. Спочатку при підвищенні температури активність їх різко знижується, потім зовсім припиняється. При 80°C ферменти руйнуються. Виняток становлять лише окремі ферменти, що витримують температуру 100°C і при цьому не руйнуються. За низьких температур (нижче 0°C) ферменти припиняють свою дію, але не руйнуються. Для більшості ферментів людини і ссавців оптимальною температурою дії є 37-40° С, для риб 20-20°C.

Таким чином, чутливість до температури - характерна властивість ферментів, що пояснюється їх білковою природою.

Кожний фермент проявляє свою максимальну дію при відповідній концентрації водневих іонів, тобто при певному значенні рН, яке одержало назву *pH-оптимуму*. Для більшості ферментів людини і ссавців оптимальне значення рН знаходиться в слабо-кислому або слаболужному середовищі. Проте відомі ферменти, що проявляють максимальну активність при рН = 1,5 – 2,5 (наприклад, пепсин шлункового соку) і при рН = 8,00 (наприклад, хімо-трипсин дванадцятипалої кишки).

Зміна каталітичної активності ферменту за різних значень рН пояснюється в першу чергу зміною тієї просторової конфігурації, за якої проявляються його каталітичні властивості.

Однією з найважливіших особливостей, що відрізняє ферменти від інших каталізаторів, є висока *специфічність* їх дії. Вона полягає в тому, що кожний фермент діє на певну речовину (субстрат) або на декілька близьких за своєю хімічною структурою речовин. Залежно від того, може фермент каталізувати одну реакцію (діяти тільки на одну речовину) чи декілька (діяти на групу близьких за будовою речовин), розрізняють *абсолютну і відносну специфічність*. Прикладом абсолютно специфічного ферменту може бути фермент уреаза, який розщеплює сечовину на вуглекислий газ і аміак. Навіть на таку близьку до сечовини речовину, як тіосечовина, уреазу вже не діє. Більшість ферментів має відносну специфічність. До таких ферментів належать естерази, які розщеплюють ефірні зв'язки, протеолітичні ферменти травного каналу, що розщеплюють пептидні зв'язки в білкових молекулах, ліпази та ін.

Ферменти прискорюють перебіг хімічних реакцій як убік розщеплення якоїсь речовини, так і вбік її синтезу, тобто діють в обох напрямках.

Крім температури і значення рН, на активність ферментів впливає ще цілий ряд чинників, серед яких велике значення має концентрація субстрату. За малих концентрацій субстрату реакція відбувається з малою швидкістю, з підвищенням концентрації швидкість реакції поступово зростає і за певних значень стає постійною. Відбувається процес так званого насичення ферменту субстратом. Подальше збільшення концентрації субстрату призводить до уповільнення реакції. Велике значення для швидкості реакції має і концентрація самого ферменту. За оптимальної концентрації речовини швидкість реакції прямо пропорційна концентрації ферменту в розчині.

На активність ферментів впливають хімічні сполуки, що знаходяться в реакційній системі. Одні з них підвищують активність ферментів і називаються *активаторами*. Ними можуть бути катіони металів і аніони кислот: Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Cl^- і ін. Активаторами ферментів можуть бути також органічні речовини. Наприклад, ліпаза підшлункової залози, яка розщеплює жири, активується жовчаними кислотами. Відомі випадки, коли активність ферментів підвищується при додаванні до розчину невеликих кількостей білків, які самі по собі не мають властивостей ферментів.

Речовини, що знижують активність ферментів, називаються *інгібіторами*. До них відносять, наприклад, катіони важких металів.

За єдиною класифікацією і номенклатурою розрізняють 6 класів ферментів. В основі класифікації – типи хімічних реакцій, які відбуваються в організмі і які вони каталізують.

Класи ферментів: 1. Оксидоредуктази (каталізують окисно-відновні процеси). 2. Трансферази (прискорюють реакції перенесення окремих атомів і груп атомів від одних субстратів до інших). 3. Гідролази (каталізують гідролітичні реакції). 4. Ліази. 5. Ізомерази. 6. Лігази.

В період онтогенезу ферментативна активність може підвищуватися чи падати. Ферменти адаптуються до особливостей обміну речовин і функцій організму в різні періоди життя. Ця здатність ферментів лежить в основі пристосування реакцій організму на дію різних факторів.

Ферментативні системи в організмі здатні до адаптації. Під впливом активних фізичних навантажень збільшується, зокрема, активність і вміст оксидоредуктаз і лігаз.

Дослід 1. Термолабільність ферментів.

Ферменти відрізняються від неорганічних каталізаторів здатністю руйнуватись при нагріванні. Це явище зберігати активність лише в певному інтервалі температур носить назву термолабільності.

Хід роботи

В 2 пробірки налити по 15 крапель слини (джерело ферменту амілази), розведеної в 5 раз водою. В одній пробірці розчин слини прокип'ятити на протязі 2-3 хвилин і охолодити під струменем холодної води, а в іншій залишити без змін. В обидві пробірки додати по 10 крапель розчину крохмалю (1%), перемішати і залишити при кімнатній температурі. Через 5 хвилин провести реакцію, характерну на крохмаль. Спостерігати за змінами. Написати рівняння реакції і зробити висновок.

Дослід 2. Специфічність дії ферментів.

Хід роботи

В одну пробірку внести 10 крапель розчину крохмалю (1%), а в іншу – 10 крапель розчину сахарози (1%). В обидві пробірки внести по 5 крапель розведеної в 5 раз слини. Пробірки поставити на 10 хвилин в термостат ($t=40^{\circ}\text{C}$). Після цього в обох пробірках проробити реакції Феллінга із реактивом Люголя і переконатись, в якій з пробірок відбулося розщеплення крохмалю.

Спостереження записати в таблицю. Зробити висновки.

№ пробірок	№ 1	№ 2
Вміст пробірок	крохмаль слина	сахароза слина
Реактив Феллінга		
Реактив Люголя		

Дослід 3. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази слини.

Виконати дослід за схемою. Записати спостереження та зробити висновки.

пробірки реактиви	1	2	3	примітки
H ₂ O, дист., мл	10	8	8	
(NaCl, H ₂ O), 1%, мл	-	2	-	
(CuSO ₄ , H ₂ O), 1%, мл		-	2	
Розчин слини, мл	10	10	10	перемішати
Розчин крохмалю, 1% мл	5	5	5	перемішати, тримати 5хв.
Розчин йоду, краплі	1-2	1-2	1-2	

Дослід 4. Кількісне визначення амілази слини за Вольтгеймутом.

Цей метод ґрунтується на визначенні мінімальної кількості ферментів, що здатна за певних умов (38 °С, 30 хвилин) розщепити певну кількість крохмалю. Активність амілази виражають у кількості субстрату (крохмалю), що розщеплюється 1мл слини за певний проміжок часу (30 хвилин).

Хід роботи.

В десять пронумерованих пробірок налити по 1 мл 0,85% хлориду натрію: в першу – додають 1мл слини, розведеної в 10 разів водою. Перемішують вміст першої пробірки шляхом трикратного втягування піпеткою рідини з пробірки і наступного випускання з піпетки, 1 мл отриманого розчину переносять з першої пробірки в другу. Перемішують у такий же спосіб вміст другої пробірки і переносять 1 мл із другої пробірки в третю і т.п. З десятої пробірки 1 мл рідини виливають як зайвий.

Далі наливають в усі 10 пробірок (починаючи з десятої) – по 2мл 0,1% розчину крохмалю і перемішують вміст кожної пробірки. Одночасно поміщають кожну пробірку в нагріту до 45⁰С водяну баню. Через 15 хвилин виймають пробірки з бані, швидко охолоджують їх струменем холодної води, перемішують вміст кожної пробірки і ставлять їх в штатив.

Додають у кожну пробірку по 2 краплини йоду, перемішують і відзначають ту пробірку, у якій немає синього відтінку.

Контрольні питання

1. Наведіть приклади абсолютної та відносної специфічності ферменту.
2. Яку дію мають на ферменти солі важких металів і міцні мінеральні кислоти?
3. Напишіть схему дегідрування молочної кислоти в присутності ферментів класу оксидоредуктаз (лактатдегідрогенази).
4. Ферменти гексокінази каталізують перенос фосфатної групи:
$$\text{АТФ} + \text{глюкоза} \rightarrow \text{АДФ} + \text{глюкозо-6-фосфат}$$
5. Фермент уреаза гідролізує сечовину, утворюючи CO_2 і NH_3 . Напишіть рівняння цієї реакції.
6. Фермент амінопептидаза гідролізує ди- і три- пептиди, відщеплюючи N-кінцевий залишок. Напишіть формулу будь-якого трипептида і реакцію його гідролізу.
7. Напишіть рівняння реакції гідролізу крохмалю.
8. Фермент фосфофруктокіназа каталізує перетворення:
$$\text{Фруктозо-1-фосфат} + \text{АТФ} \rightarrow \text{фруктозо-1,6-дисфосфат} + \text{АДФ}$$
9. Класифікація ферментів.
10. Як виділяють і очищують ферменти?

11. Які методи класичного визначення ферментів ви знаєте?
12. Які ферменти відносяться до групи окислювально-відновних?
13. Який оптимум рН має фермент пепсин (1-2, або 4-5, або 6-7)?
14. Який оптимум рН має фермент амілаза (1-2, або 7-8, або 4-5)?
15. При якій температурі ферменти денатурують?
16. В чому полягає специфічність дії ферментів?
17. Що таке термолабільність ферментів?
18. Як визначають кількість амілази ?
19. Які умови є оптимальними для ферментів?
20. Що покладено в основу класифікації ферментів? Наведіть приклади.

2.2. Загальна характеристика вітамінів

2.2.1. Поняття про вітаміни

Вітаміни - низькомолекулярні органічні речовини, які в дуже малих кількостях (в міліграмах або навіть у мікрограмах) необхідні для нормального обміну речовин і життєдіяльності організму. Вони присутні в тканинах організмів гідробіонтів як рослинного так і тваринного походження та мають величезне біологічне значення, нормалізуючи процеси обміну речовин та функціональну діяльність ендокринних залоз.. Історія відкриття і вивчення вітамінів пов'язана з вивченням різних захворювань.

Коротка історія відкриття. Початок вивченню вітамінів було покладено російським лікарем М.І. Луніним, який у 1888 р. на основі тривалих дослідів встановив, що для нормального росту і розвитку тваринного організму, крім білків, жирів, вуглеводів, мінеральних речовин і води, необхідні ще якісь невідомі речовини, відсутність яких приводить до загибелі організму.

Працюючи на острові Ява, голландський лікар Х. Ейкман (1896 р.) виявив, що серед корінного населення острова в людей, що харчувалися очищеним рисом, захворювання бері-бері зустрічалось частіше, ніж у тих, що харчувалися неочищеним рисом. Симптоми цієї хвороби він виявив і в курей, що харчувалися очищеним рисом. Додаючи до їжі водний екстракт із висівків рису, Ейкман досягаввиліковування цього захворювання,

У 1912 р. польський вчений К. Функ вперше виділив в чистому вигляді з висівків рису речовину, яка мала в своєму складі аміногрупу і виліковувала від захворювання бері-бері. Цю речовину він назвав "вітаміном" (від лат. *vita* - життя).

На даний час відомо багато речовин, що не містять аміної групи, але нестача їх у їжі приводить до важких специфічних захворювань. За цими життєво необхідними речовинами збереглася назва "вітаміни". Вітаміни не виконують ні енергетичних, ні пластичних функцій. Свою дію вони проявляють, беручи участь в будові ферментів, які називають біологічними каталізаторами.

Роль вітамінів в організмі. Більшість вітамінів не синтезується в організмі людини або синтезуються в таких мізерно малих кількостях, що не можуть забезпечити його потреби. Джерелом вітамінів для людини і багатьох тварин є переважно продукти рослинного походження: овочі (картопля, морква, капуста, томати, щавель), фрукти, ягоди і соки з них (смородина, полуниця, шипшина, обліпіха й ін.). Проте окремі вітаміни містяться тільки в організмі тварин, наприклад, в печінці тріскових риб і жуйних тварин, молоці, яйцях.

Обов'язковою умовою для нормального розвитку, життєдіяльності, опору організму інфекційним захворюванням є вживання фізіологічних норм вітамінів. Особливо це важливо для вагітних жінок, матерів, що годують немовлят, дітей і підлітків, людей, що працюють з підвищеною напругою нервової і м'язової систем, в гарячих цехах, шахтах, а також після важких захворювань.

За недостатньої кількості вітамінів у їжі в людей розвиваються захворювання, які називають **гіповітамінозами**. Найчастіше вони виникають за умови одноманітного і неповноцінного харчування. Гіповітамінози легко виліковуються введенням в організм відповідних вітамінів.

Повна відсутність в їжі якогось вітаміну викликає **авітаміноз**, що на ранніх стадіях захворювання виліковується шляхом введення в організм відповідного вітаміну. Тривала відсутність цього вітаміну в їжі приводить організм до загибелі.

Хвороба, що виникає внаслідок відсутності декількох вітамінів, називається **полівітамінозом**. Проте типові авітамінози на даний час зустрічаються досить рідко.

Введення в організм великих доз деяких вітамінів також може викликати захворювання – **гіпервітамінози**. Це стосується переважно жиророзчинних вітамінів, які здатні накопичуватися в організмі і проявляти токсичну дію. Важкі гіпервітамінозні захворювання й отруєння виникають при вживанні великої кількості вітаміну А (отруєння печінкою палтуса й інших морських риб) і зловживанні препаратами вітаміну D.

Класифікація та номенклатура. Спочатку вітаміни позначалися великими буквами латинського алфавіту, оскільки їх хімічна природа залишалася деякий час нез'ясованою. З відкриттям нових вітамінів, близьких за своєю біологічною дією, літерні позначення розширювалися, до них стали приєднувати цифри. Так, замість одного вітаміну В з'явилася ціла група - від вітаміну В₁ до вітаміну В₁₅.

На даний час, коли хімічна будова більшості вітамінів відома, до них застосовують раціональну хімічну назву. В деяких випадках, де це можливо, до раціональної назви вітамінів приєднують біологічну характеристику. Поряд із цим для більшості вітамінів збереглися старі позначення літерами.

Існує декілька класифікацій вітамінів, проте загальновизнаною є класифікація, що ґрунтується на їх фізичних властивостях. Всі вітаміни поділяють на дві групи — жиророзчинні і водорозчинні.

Жиророзчинні вітаміни:

ретиноли і каротиноїди (вітаміни групи А), токофероли (вітаміни групи Е), філохінони (вітаміни групи К), кальцифероли (вітаміни групи D).

Водорозчинні вітаміни:

тіамін (вітамін B₁), рибофлавін (вітамін B₂), пантотенова кислота (вітамін B₃), нікотинова кислота (вітамін B₅, PP), піридоксин (вітамін B₆), ціанкобаламін (вітамін B₁₂), пангамова кислота (вітамін B₁₅), аскорбінова кислота (вітамін C), цитрин (вітамін P), біотин (вітамін H), параамінобензойна кислота, фолієва кислота, інозит, S-метилметіонін (вітамін U).

2.2.2. Жиророзчинні вітаміни

Жиророзчинні вітаміни нерозчинні у воді, але розчиняються в органічних розчинниках. Вони термостабільні, стійкі до зміни рН середовища. Особливістю всіх жиророзчинних вітамінів є здатність їх всмоктуватися в кишках тільки за наявності жирів, а також іноді накопичуватися в організмі у великих кількостях, викликаючи гіпервітамінози.

Жиророзчинні вітаміни виконують ряд функцій: сприяють формуванню, росту і розвитку ембріонів, утворенню і регенерації кісткової й епітеліальної тканин, зсіданню крові.

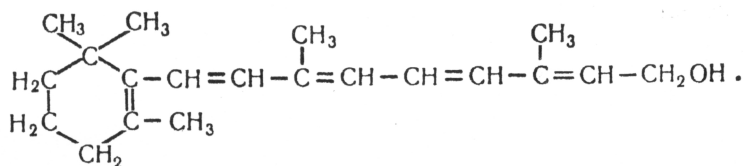
З хімічної точки зору вони мають одну загальну особливість: до складу їх молекули входять будівельні блоки ізопренового типу, що найбільш яскраво виражено в молекулах вітамінів A, E і K, які складаються з ізопренових одиниць (—CH=CH—C=CH—).



Вітамін А міститься тільки в тваринних тканинах. Рослини позбавлені цього вітаміну, проте вони містять групу речовин, що в організмі ссавців є попередниками вітаміну ***А-каротиноїди***. Вони досить поширені в природі. На каротин багаті стручковий перець, червона і кормова морква, зелена коношина.

Розрізняють α-, β- і γ - каротини, серед яких найбільш цінними в біологічному відношенні є β-каротини. В процесі вивчення хімічної структури вітаміну А виявилось, що в ньому міститься половина молекули β-каротину, тобто було встановлено, що попередником, або провітаміном, вітаміну А є молекула β-каротину. В організмі людини і тварин шляхом розщеплення молекули β-каротину під дією ферменту каротинази він легко перетворюється у вітамін А. Цей процес здійснюється в печінці.

До групи вітаміну А входить декілька вітамінів, основним з яких є вітамін А₁ (ретинол):



При недостатчі вітаміну А в організмі людини і тварин порушується діяльність слізних залоз, закупорюються слізні протоки, в результаті чого розвивається сухість роговиці ока - ксерофтальмія. Звідси походить й інша назва вітаміну А - *антиксерофтальмічний*. Ксерофтальмія приводить до пом'якшення рогівки - кератомалачії. Ксерофтальмія і кератомалачія є специфічними ознаками авітамінозу А. Вони можуть приводити до повної втрати зору.

Надзвичайно важливим є вітамін А для зору. Він бере участь в утворенні складного білку - *родопсину*, або зорового пурпуру, сітківки ока. Під дією світла відбувається фотоліз молекули родопсину, в результаті чого виникають електричні сигнали. По зоровому нерву вони передаються в середній і проміжний мозок, зорові центри великих півкуль, завдяки чому ми сприймаємо світло. Родопсин відіграє роль фотохімічного сенсibiliзатора, тобто змінює чутливість ока до різної інтенсивності освітлення. Чим більше світла потрапляє на сітківку ока, тим більше розпадається родопсин, і чутливість ока до світла при цьому знижується. У темноті, навпаки, відбувається його синтез, в результаті чого підвищується чутливість сітківки ока до сприйняття світла малої інтенсивності. Тому нестача вітаміну А в організмі знижує кількість родопсину і викликає захворювання, відоме як "курча сліпота".

При надлишковому надходженні вітаміну А в організм виникає гіпервітаміноз. Проявами гіпервітамінозу є нудота, випадання волосся, часті переломи кісток. Запобігти йому можна правильним харчуванням і додержанням суворого контролю за споживанням вітаміну А. Потреба у вітаміні А для дорослої людини складає на добу 1,5-2,5 мг (що складає 3-5 мг β -каротину).

Біологічно активний вітамін А знайдений тільки в організмах тварин. У наземних рослин, водоростях, фітопланктоні біологічно активного вітаміну А не міститься, зате присутні речовини (провітаміни), із яких в організмі тварин утворюється вітамін А. Для вітаміну А провітамінами являються α -, β -, γ -каротини.

Рослинні каротини, потрапляючи з їжею в організм, за участю ферменту каротинази, який знаходиться в печінці перетворюється на вітамін А.

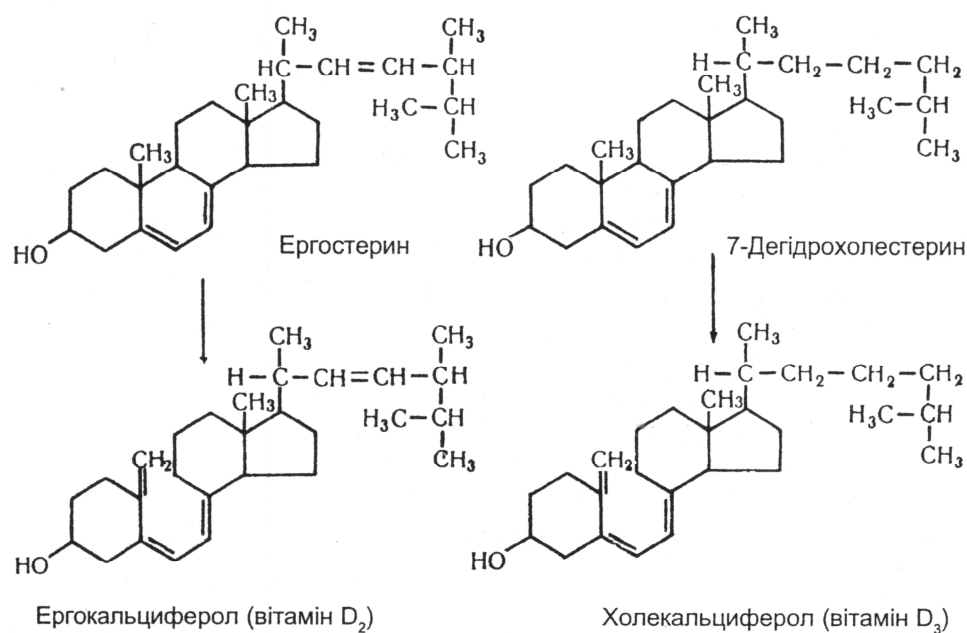
Багато видів морських риб, ластиногих та китоподібних накопичують великі кількості вітаміну А. В тканинах організму вітамін А накопичується вибірково, наприклад у пластинчатозябрових майже весь вітамін А міститься в печінці. У морських костистих риб головна частина запасу

вітаміну А знаходиться в м'язах, шлунку, кишечнику, а у прісноводних костистих – в печінці, кишечнику, шлунку.(Табл. 2.2.)

Таблиця 2.2. Розподіл вітаміну А у гідробіонтів

Риба	Розподіл загального запасу вітаміну А в організмі, %			
	тіло	печінка	кишечник та шлунок	статеві залози
Мінога	25-53	7-24	29-48	1,5-5,0
Колюча акула	1-3	91-95	2-4	-
Прісноводні : короп, лящ	1-2	30-45	54-68	0,5-2
Прохідні (лососі)	5-8	56-63	30-35	6-12
Пелагічні: оселедець, сардина, скумбрія	7-25	49-63	24-26	-
	3-5	69-70	21-22	5-6
Донні: тріска, мінтай, камбала, бички	0,5-2	69-85	12-30	-
	1-3	58-60	19-30	10-12
	0,5-1	87-89	10-13	-

Вітамін D. Відомо декілька вітамінів групи D (D₂, D₃, D₄, D₅, D₆, D₇), що мають подібну будову. Найбільшу біологічну активність проявляють вітаміни D₂ (ергокальциферол) і D₃ (холекальциферол).



Вітаміни групи D містяться переважно в організмі людини і тварин. В рослинах їх майже немає, в них знаходяться попередники вітаміну D - стерини, що є похідними циклопентанпергідрофенантрени.

Найбільш важливим представником стеринів є ергостерин, що міститься у великих кількостях в грибах і дріжджах. Іншим провітаміном є 7-дегідрохолестерин. Обидва попередники перетворюються у вітаміни в підшкірній жировій тканині під впливом ультрафіолетових променів. При цьому з ергостерину утворюється вітамін D₂, а з 7-дегідрохолестерину – D₃.

Основна біологічна дія обох вітамінів полягає в регулюванні фосфорнокальцієвого обміну, починаючи від всмоктування і розподілу цих іонів в тканинах і закінчуючи виділенням їх з організму.

При недостатці вітаміну D в організмі відбувається порушення процесів всмоктування кальцію з кишок і реабсорбція фосфору в нирках, внаслідок чого останній у великих кількостях виділяється з організму з сечею.

У зв'язку з цим змінюється співвідношення цих іонів і різко знижується рівень кальцію і фосфору в крові, який відновлюється за рахунок вимивання цих речовин із кісток, внаслідок чого вони стають м'якими, гнучкими і під дією ваги тіла скривлюються. При цьому в дітей розвивається рахіт (тому вітамін D називають ще антирахітним), у дорослих - остеомалія (захворювання, пов'язане з декальцифікацією кісток і порушенням утворення кісткової тканини). Недостача кальцію викликає також зміни в м'язах: вони втрачають здатність до скорочення, стають в'ялими.

Останнім часом одержано багато даних, які свідчать про те, що функція вітаміну D не обмежується тільки регулюванням обміну кальцію і фосфору, а більш багатогранна. Вітамін D активує діяльність ферменту лужної фосфатази в місцях окостеніння і тим самим сприяє утворенню кісткової тканини. Існує також зв'язок між регулюючою функцією вітаміну D і гормонами мінерального обміну - паратиріном (паратгормоном) і тиреокальцитоніном.

Вітамін D посилює затримку іонів Ca²⁺ кістковою тканиною, засвоєння сірки при утворенні хрящової тканини.

Вітамін D стимулює синтез білка, який зв'язує кальцій, і ДНК-залежний синтез РНК, що позитивно відбивається на біосинтезі білків-переносників, які відповідають за всмоктування кальцію. Він сприяє реабсорбції фосфатів, амінокислот і іонів Ca²⁺ із первинної сечі в плазму крові, посилює реакції окиснення вуглеводів, піровиноградної кислоти, а також прискорює реакції циклу трикарбонових кислот.

Надмірне надходження вітаміну D і продуктів харчування з високим його вмістом також призводить до гіпервітамінозу D. При цьому значно підвищується всмоктування кальцію і фосфору з кишок і відкладення їх

м'язах серця, стінці аорти, нирках. При гіпервітамінозі D спостерігаються нудота і блювота, головний біль, анемія, пригнічений стан.

Добові дози вітаміну D становлять в середньому 10-15 мкг для дітей і 20-25 мкг для дорослих.

Джерелом вітаміну D є риба, жир, печінка тріски, тунця, сардин, а також вершкове масло, молоко, яєчний жовток.

Для запобігання захворюванням, викликаним недостатньою кількістю вітаміну D, велике значення мають правильне і раціональне харчування, заняття спортом і застосування сонячних ванн. Останнє відіграє дуже важливу роль, оскільки в організмі людини і тварин немає ферментів, що перетворюють ергостерин і 7-дегідрохолестерин у вітаміни D₂ та D₃, це відбувається під дією ультрафіолетових променів. Цим провітаміни D₂ та D₃ відрізняються від провітаміну A (β - каротину), який перетворюється у вітамін A під дією каротинази печінки.

В організмах тварин та риби основна кількість вітаміну знаходиться в печінці, в м'язах вміст вітаміну D незначний. (Табл. 2.3.)

Таблиця 2.3. Вміст вітаміну D у гідробіонтів

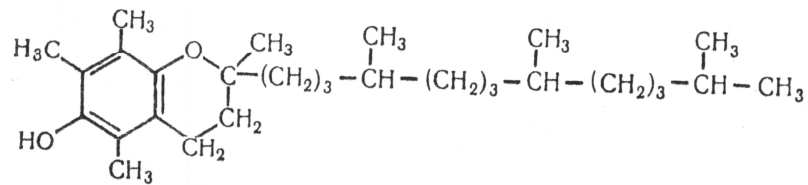
Група риби	Вміст ліпідів, %	Вміст вітаміну D, мг в 100г м'яса
Мінога	-	600
Вугор	-	4700
Тихоокеанські лососі	6-18	200-800
Оселедець, сардина	5-32	300-1700
Скумбрія	8-25	700
Тунець	-	100-300
Тріскові	0,2-1,2	сліди
Камбала	0,5-12,6	15-60

Вміст вітаміну D в печінці риби залежить від біологічних особливостей виду та змінюється в значних межах. Наприклад, пластинчатозяброві не накопичують в печінці значної кількості вітаміну D, а деякі види костистих риби пелагічних здатні накопичувати в печінці значні концентрації цього вітаміну (у полосатого та довгокрилого тунців в 1г печіночного жиру міститься вітаміну D до 250 000 м.о.). Серед донних риби концентрація вітаміну D виявлена в печінці палтусів до 20 000 м.о.

Вітамін E поданий цілою групою вітамінів, що містяться у великих кількостях в рослинних оліях і мають назву токофероли. Відсутність цих вітамінів в їжі негативно позначається на здатності організму до

розмноження. Тому вітамін Е називається також антистерильним вітаміном, або вітаміном розмноження.

На даний час відомо сім різних токоферолів, що позначаються як α -, β -, γ - і т.д. Найбільшу біологічну активність проявляє α -токоферол такої будови:



α -токоферол - триметилгідрокінон, який сполучений із залишком спирту фітолу.

За умови недостачі або відсутності вітаміну Е спостерігаються патологічні зміни в сім'яниках, що супроводжуються атрофією сім'яних каналців. Це приводить до дегенеративних змін сперматозоїдів і порушення здатності до запліднення. Поступово припиняється спермоутворення, вироблення статевих гормонів, спостерігається деградація вторинних статевих ознак. Самки втрачають здатність до нормального виношування плоду. Плід і плацента розсмоктуються, відбувається самовільне викидання.

Авітаміноз Е викликає також порушення білкового обміну, обміну ліпідів, а також деякі процеси вуглеводного обміну. Характерною ознакою авітамінозу є посилення окислювальних процесів в м'язах, що приводить до виснаження організму.

Посилення окислювальних процесів при Е-авітамінозі свідчить про те, що токоферол є антиоксидантом. Встановлено, що він затримує окиснення ненасичених жирних кислот, вітаміну А, тіолових груп ряду ферментів, зберігаючи тим самим ці біологічно активні речовини для організму.

У людей авітаміноз Е практично не зустрічається, оскільки вітамін Е дуже поширений в природі. На нього багаті насіння злаків, плоди шипшини, яблука й інші фрукти й овочі (2,5-19 мг%).

Трохи менше його міститься в м'ясі, вершковому маслі і жовтку яєць(40-100мг%), в зародках злаків (30-36мг%). Порівняно з великим рогатим скотом у риб вміст токоферолів у риби в м'язах незначний. Мало порівняно з наземними тваринами накопичується вітаміну Е в печінці у риби.(Табл.. 2.4.)

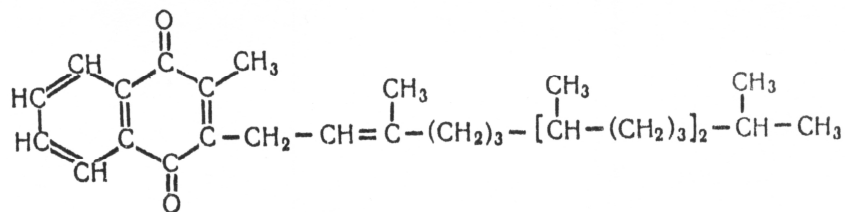
Потреба вітаміну Е для людини становить біля 30 мг природних токоферолів на добу.

Таблиця 2.4. Знаходження вітаміну Е в тканинах гідробіонтів

Тварини	Вміст вітаміну Е, мг %		
	М'язи	Печінка	
		тканина	печінковий жир
Акули, скати	0,7	0,41	8,5-31,9
Коропові	0,63	0,84	-
Лососі	1,6	-	-
Морські пелагічні:			
оселедець	0,1-0,5	-	14,5
сардина	4,5	-	-
скумбрія	0,4-1,8	1,0-1,5	-
Морські донні (тріска, хек, минтай)	0,35	-	8,5 -29,5
Камбала, палтуси	0,1-0,15	0,3-0,4	40-55
Великий рогатий скот	4-6	40-60	-

Вітамін К. В 1939 р. із листків люцерни була виділена речовина, що стимулює синтез протромбіну і підвищує зсідання крові. Ця речовина була названа вітаміном К, або вітаміном коагуляції.

На цей час відомо декілька вітамінів групи К. Всі вони мають подібну структуру і загальну назву — філохінони. Найбільш активним із цієї групи є вітамін К₁, виділений із люцерни:



Вітамін К необхідний для синтезу в печінці групи білків, що забезпечують процес зсідання крові. Крім того, він прискорює загоєння ран і регенерацію тканин після опіків, а також бере участь в окисно-відновних процесах.

У людини авітаміноз К зустрічається дуже рідко, оскільки цей вітамін в достатній кількості синтезується кишковою мікрофлорою. Крім того, потреба організму людини в цьому вітаміні забезпечується вживанням продуктів рослинного (капуста, томати, салат) і тваринного (печінка, м'ясо) походження.

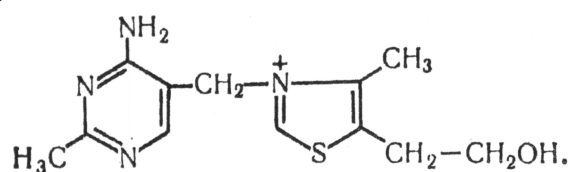
Потреба людини у вітаміні К точно не встановлена, проте відомо, що в разі його дефіциту швидкість зсідання крові після щоденного введення 1-5 мг вітаміну К через деякий час повертається до норми.

2.2.3. Водорозчинні вітаміни

Характерним для цієї групи вітамінів є добра розчинність у воді і нерозчинність в жирах і органічних розчинниках.

Як правило, вітаміни, розчинні у воді, містяться в продуктах рослинного походження; більшість із них в своєму складі мають Нітроген. На відміну від жиророзчинних вітамінів вони не накопичуються в тваринному організмі і проявляють свою біологічну дію, входячи до складу ферментів.

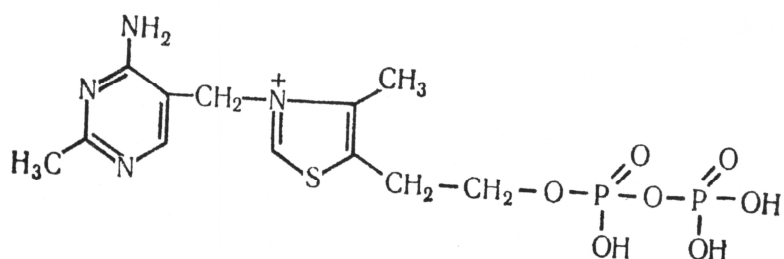
Вітамін В₁ (тіамін) є першим вітаміном, хімічний склад якого був докладно вивчений. Назву "тіамін" він одержав завдяки наявності в його молекулі сірки й азоту:



Відсутність в їжі вітаміну В₁ викликає важке захворювання поліневрит, або бері-бері, поширене в країнах, де основним продуктом харчування населення є очищений рис. Для захворювання характерні такі симптоми: специфічні враження нервових стовбурів, хворобливість в області серця, розвиток набряків нижніх кінцівок, живота, ослаблення секреції шлунку і перистальтики кишечника, судом і паралічі м'язів.

Хвороба виліковується після введення в організм тіаміну. Тому вітамін В₁ називають ще антиневрином.

В тваринних тканинах вітамін В₁ знаходиться переважно не у вільному стані, а у вигляді пірофосфорного ефіру - тіамінпірофосфату:



В такій формі вітамін В₁ (ТПФ, стара назва - кокарбоксилаза) входить до складу цілого ряду ферментів, що здійснюють в організмі процеси декарбоксилювання α -кетокислот, які є проміжними продуктами вуглеводного, білкового і жирового обмінів.

Особливо значна роль тіаміну у вуглеводному обміні. Відомо, що важливим джерелом енергії, необхідної для роботи м'язів і функціонування нервової системи, є вуглеводи. В процесі їх окиснення як проміжний продукт утворюється піровиноградна кислота, що є нормальним

продуктом обміну вуглеводів, проте у великих кількостях здійснює токсичну дію на організм. За відсутності або недостатнього надходження вітаміну В₁ в організм процес декарбоксилювання піровиноградної кислоти сповільнюється, а разом з цим порушується й увесь процес окиснення вуглеводів. Порушення вуглеводного обміну і накопичення піровиноградної кислоти при недостатці вітаміну В₁ відбувається насамперед у мозку. Це приводить до розладу функцій центральної і периферичної нервової системи, в результаті чого з'являються судоми, м'язова слабкість, втрата чутливості, паралічі і т.д.

Таким чином, причиною захворювання бері-бері є порушення подальших перетворень піровиноградної кислоти.

Організм людини не синтезує тіамін і має одержувати його з їжею. В значних кількостях вітамін В₁ міститься у висівках злакових, хлібі грубого помелу, дріжджах. З продуктів тваринного походження на вітамін В₁ багаті печінка, нирки і серце. Добова потреба людини у вітаміні В₁ складає 1-3 мг.

Вітамін В₁ синтезується та накопичується в тканинах вищих рослин та мікроорганізмів. В організмі тварин в шлунково-кишковому тракті відбувається бактеріальний синтез вітаміну В₁.

Вміст вітаміну В₁ в м'язах тварин і в рослинах залежить від належності до певного виду (Табл.2.5.)

Таблиця 2.5. Розподіл вітаміну В₁ у різних живих організмах

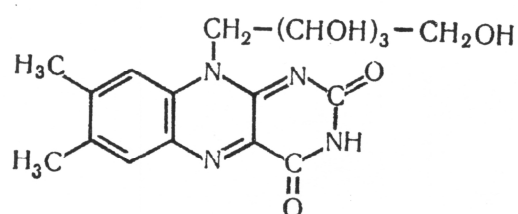
Тварини, рослини	Вміст вітаміну В ₁ ,мг %	
	м'язи	печінка
Мінога	-	0,05 - 0,42
Акули	0,03 - 0,40	-
Лососі	0,03 - 0,17	0,07 - 0,24
Оселедець	0,01 - 0,04	-
Тунці, скумбрія	0,046 - 0,52	0,6 - 1,0
Тріскові	0,09 - 0,71	0,06 - 0,14
Камбал, палтус	0,02 - 0,14	0,06 - 0,24
Окунь	-	0,26 – 0,48
Молюски	0,06 – 0,70	-
Ракоподібні	0,02 – 0,18	-
Голонтурії(трепанг)	0,03 – 0,04	-
Великий та дрібний рогатий скот	0,07 – 0,30	-
Пшениця, жито	0,2 – 0,4	-

Дуже багато вітаміну В₁ (0,4 – 0,5мг %) міститься в пекарських та пивних дріжджах. У морських риб в світлих м'язах набагато менше вітаміну В₁, ніж в бурих (0,04 – 0,015 та 0,25 – 0,52 мг %) відповідно.

Серед морських пелагічних риб за високим вмістом вітаміну В₁ в печінці виділяються тунці, скумбрія, серед донних – окуні.

Вітамін В₂ (рибофлавін). Було виявлено, що для росту молодих пацюків необхідна речовина, що міститься в сироватці молока. Ця речовина була також виділена із сирого яєчного білка й одержала назву вітаміну В₂.

За хімічною природою вітамін В₂ являє собою похідне азотистої основи — ізоалоксазину, сполученого із залишком спирту - рибітолу:



За відсутності вітаміну В₂ у тварин спостерігається затримка росту, у людини - випадання волосся. Характерною ознакою авітамінозу В₂ є захворювання очей, що супроводжується васкуляризацією рогівки (проростання кровоносними судинами). Потім відбувається запалення рогівки і помутніння кришталика.

Іншою ознакою недостатчі вітаміну В₂ у людини є запалення слизових оболонок ротової порожнини, губ і ділянок шкіри, які знаходяться поруч, що приводить до утворення тріщин.

Важливою хімічною властивістю вітаміну В₂ є здатність його ізоалоксазинового кільця зворотно приєднувати водень, тобто брати участь в окисно-відновних реакціях. Цю важливу біологічну функцію рибофлавін виконує в складі двох коферментів - ФМН і ФАД, що входять до складу складних ферментів - флавопротеїдів. Відомо більше 60 флавопротеїдів, що каталізують дезамінування амінокислот, синтез і розпад жирних кислот, здійснюють перенос водню в процесі тканинного дихання і т.д. Таким чином, вітамін В₂ контролює важливі процеси обміну речовин в організмі. Це дозволяє зрозуміти, чому при його недостатчі сповільнюється швидкість окисно-відновних реакцій, гальмується ріст і посилюється розпад тканинних білків.

Основним джерелом рибофлавіну є м'ясні і рибні продукти, молоко, зелені овочі. Щоденна потреба людини у вітаміні В₂ складає 2-4 мг.

У м'язах деяких видів риб міститься більше вітаміну В₂, ніж в м'язах рогатого скоту, видно з таблиці 2.6.

Багато вітаміну B₂ (0,3 - 2,3 мг %) міститься в тканинах шлунку та кишечника , де протікає мікробіологічний синтез цього вітаміну , а також в ікрі (від 0,2 до 1,4 мг %) і в тканинах пілоричних придатків (0,2 - 0,8 мг %).

Таблиця 2.6. Вміст рибофлавіну

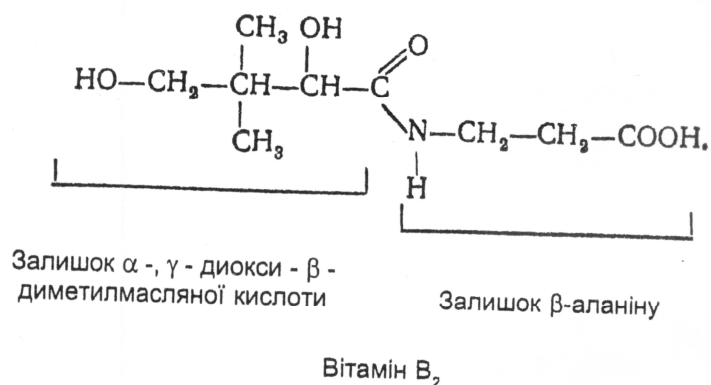
Тварини, рослини	Вміст вітаміну B ₂ , мг %	
	у м'язах	в печінці
Мінога	0,16 – 0,69	0,6 – 0,93
Акула	0,03 – 0,1	0,3 – 0,72
Коропові	0,06 – 0,1	1,0 – 2,3
Лососі	0,04 – 0,13	0,72 – 2,38
Оселедець	0,18 – 0,35	0,58 – 0,74
Сардина	0,08 – 0,23	1,56 – 1,88
Скумбрія, тунці	0,04 – 0,16	-
Тріскові	0,1-0,37	-
Окуні	0,35 -0,8	0,65 – 2,46
Камбала, палтус	0,04 -0,1	0,73 – 0,97
Двостулкові молюски	0,01 – 0,29	-
Ракоподібні	0,06 -0,35	-
Голотурії (трепанг, кукумарія)	0,08 – 0,1	-
Ламінарія	0,001 – 0,018	-
Червоні водорості	0,001 -0,11	-
Рогатий скот	0,16 -0,32	2,6 – 4,2
Зелені овочі, коренеплоди	0,1 -0,16	-

До 1 - 1,2 мг % вітаміну B₂ зосереджується в шкірі та підшкірних тканинах, де він приймає участь в утворенні жовто – коричневого забарвлення, яке часто приймають за пожовтінні жиру на поверхні мороженої та соленої риби.

Вітамін B₃ (пантотенова кислота). При вивченні умов, необхідних для росту дріжджів, в рисових висівках була відкрита речовина, що виявилася чинником росту. Вона була названа пантотеновою кислотою (від грец. *pantothen* - скрізь присутній). Таку назву вітамін B₃ одержав за своє поширення в природі.

Відсутність пантотенової кислоти в їжі викликає ряд розладів в організмі людини: порушується діяльність серця, нервової системи, нирок, травного каналу, розвиваються дерматити, знебарвлюється волосся, знижується апетит і т.д.

В утворенні пантотенової кислоти беруть участь β -аланін і масляна кислота, що містить дві метильні і дві окси-групи:



Біологічне значення пантотенової кислоти полягає в тому, що вона входить до складу коферменту ацилювання (коензиму А, або скорочено КоА) - складної сполуки, що являє собою динуклеотид. До його складу входить аденозин, у 5-положенні рибози якого є пірофосфатна група. Ця група, в свою чергу, зв'язана із сполукою, що нагадує дипептид, і складається з пантотенової кислоти і тіоетаноламіну.

Активною частиною КоА є сульфгідрильна (HS-) група тіоетаноламіну. Тому в хімічних рівняннях КоА скорочено записують HS - КоА.

Основна функція коферменту А полягає в переносі ацильних груп (одновалентних залишків жирних кислот), які сполучаються складноефірним зв'язком з його сульфгідрильною групою.

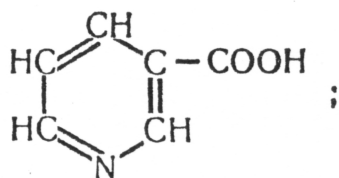
Особливе значення має сполучення ацилу оцтової кислоти з КоА, тобто ацетил-КоА, що являє собою активну форму оцтової кислоти. Оцтова кислота в формі ацилу використовується в організмі як джерело енергії, матеріал для синтезу вищих жирних кислот, холестерину, гемоглобіну, гормонів, а також в інших реакціях, які відбуваються за участю коферменту ацилювання. Звідси стає зрозумілим важлива роль вітаміну B₃ в синтезі цього коферменту і біокаталізі всіх цих процесів.

Джерелом пантотенової кислоти є продукти, тваринного походження - м'ясо, яйця, молоко. Рослинні продукти містять дещо менше цього вітаміну. Проте овочі (капуста, картопля, морква) також є важливим джерелом пантотенової кислоти для людини. Добова потреба організму у вітаміні B₃ складає 10 мг.

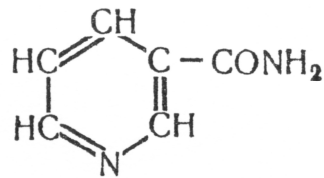
Вітамін B₅, РР (нікотинова кислота). Відкриття вітаміну РР, або нікотинової кислоти, пов'язане з вивченням хвороби пелагри (від італ. *pelle agra* - шерехата шкіра). Хвороба супроводжується появою специфічних дерматитів (запалення шкіри), що розвиваються симетрично на кистях рук, щокках і інших відкритих місцях тіла. Пелагра супроводжується сильними поносами (діареєю) і короткочасною втратою

пам'яті (деменцією). Тому пелагру часто називають хворобою "трьох Д", маючи на увазі три її основні симптоми: дерматит, діарею і деменцію.

Пелагра є наслідком відсутності в їжі вітаміну РР, який поєднує дві хімічні сполуки - нікотинову кислоту і її амід:



Нікотинова кислота



Амід нікотинової кислоти

Біологічне значення вітаміну РР полягає в тому, що він є складовою частиною коферментів НАД і НАДФ. Останні входять до складу багатьох дегідрогеназ — ферментів, що каталізують реакції біологічного окиснення. Цю функцію ферменти (їх відомо близько 100) виконують завдяки наявності в складі їх молекул вітаміну РР, здатного зворотно приєднувати атоми Гідрогену.

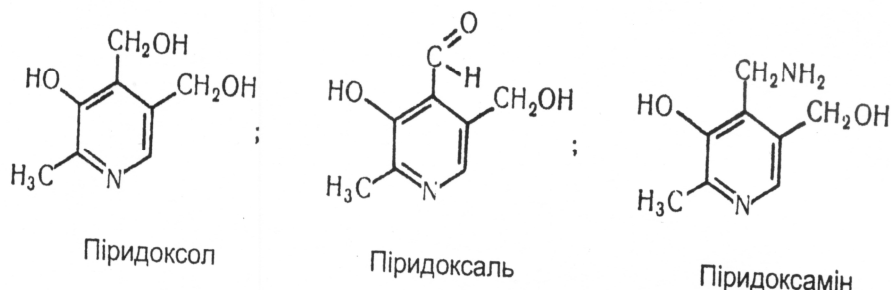
При недостатці або відсутності в організмі людини нікотинової кислоти порушується синтез небілкових компонентів (коферментів НАД і НАДФ) ряду дегідрогеназ, що приводить до порушення процесів дегідрування та всіх окисно-відновних реакцій тканинного дихання. Одночасно спостерігаються й інші зміни в обміні речовин і загальному стані організму. Таким чином, порушення окислювальних процесів можна вважати первинною ознакою появи авітамінозу РР. Інші ознаки - дерматит, діарея і деменція - є наслідком порушення окислювальних процесів.

Нікотинова кислота дуже поширена в продуктах харчування. Вона міститься в хлібі з муки грубого помелу, гречаній крупі, рисі, картоплі, моркві, м'ясі й рибі. Вміст РР у риб безхребетних тварин коливається в межах від 0,7 до 9 мг %. Найбільш високий вміст відмічений у скумбрії та тунців (до 24,5 мг %). Порівняно з печінкою великого та дрібного рогатого скоту в печінці риб накопичується помітно менше вітаміну РР (15 -28 та 2,3 – 8,4 мг % відповідно). В печінці морських пелагічних видів риб вміст вітаміну РР більш стійкий, ніж у морських донних риб(5,0 -8,4 та 2,3 – 8,0 мг % відповідно). У безхребетних (кальмар) в печінці міститься 4-6 мг % вітаміну РР. Багато цього вітаміну до 10 мг % у внутрішніх тканинах устриць. Добова потреба для людини складає 15-25 мг залежно від виду трудової діяльності, віку і статі.

Вітамін В₆ (піридоксин). Відкриття цього вітаміну пов'язане із з'ясуванням причин "пацюкової пелагри" - захворювання, яке додаванням в корм пацюкам вітаміну РР не виліковувалося. Потім було виявлено, що така ж форма захворювання спостерігається не тільки в пацюків, але й в інших тварин, особливо поросят і дорослих свиней.

Дерматити, що нагадують пелагру і не піддаються лікуванню нікотиною кислотою, незабаром були виявлені і у людей. Вони супроводжувалися враженням селезінки і зобної залози. Гіповітаміноз характеризується втратою пам'яті, невритами, нудотою, слабкістю.

Термін „піридоксин” об'єднує три сполуки: піридоксол, піридоксаль і піридоксамін:



Біологічно активними є піридоксаль і піридоксамін, які утворюються з піридоксолом, який через це можна розглядати скоріше як провітамін В₆.

В організмі піридоксаль і піридоксамін легко перетворюються у фосфорильовану форму, утворюючи піридоксальфосфат і піридоксамінфосфат.

Біологічна роль вітаміну В₆ полягає в тому, що він є коферментом так званих трансаміназ або амінотрансфераз. Це ферменти, що беруть участь у білковому обміні, в реакціях перетворення α -амінокислот. В складі амінотрансфераз вітамін В₆ знаходиться у формі піридоксальфосфату, який здатний зворотно реагувати з аміаком і іншими амінами. Під час цих реакцій піридоксальфосфат зворотно переходить в аміновану форму - піридоксамінфосфат. Переходячи з альдегідної форми в аміновану і навпаки, вітамін В₆ діє як переносник аміногруп.

Останнім часом виявлено, що піридоксальфосфат є простетичною (небілковою) групою не тільки трансаміназ, що здійснюють перенос аміногруп, але й ряду інших ферментів, що переносять самі α -амінокислоти.

Вітамін В₆ міститься у великих кількостях в пшеничних висівках, пивних дріжджах, ячмені, кукурудзі, печінці, м'ясі.

Вміст вітаміну В₆ у м'язах риб перевищує його вміст у м'язах сільськогосподарських тварин. Якщо у великого рогатого скоту його вміст 0,08 - 0,38 мг %, то у коропа 0,03 - 0,2, а тихоокеанських лососів 0,3- 0,35 мг %, у морських пелагічних риб 0,13 - 1,71, а у морських донних – 0,02 - 0,62, у креветок і крабів 0,19 – 0,6 мг %.

Значний вміст вітаміну В₆ виявлений в печінці риб (1,2 – 2,8 мг %) та великого рогатого скоту (0,17 - 0,73 мг %) в печінці кальмарів знайдено всього 0,3 – 0,35 мг % В₆. Добова потреба людини у вітаміні складає всього 2-3 мг.

Вітамін В₁₂ (ціанкобаламін). Було виявлено, що в печінці тварин міститься речовина, яка в кількості мільйонних часток грама, викликає поліпшення кровотворної функції кісткового мозку. Ця речовина одержала назву антианемічного вітаміну, або вітаміну В₁₂. Вивчення його хімічної структури показало, що вона дуже складна. Елементарний хімічний склад його молекули – C₆₃ H₉₀ N₁₄ PCo. Молекулярна маса - 1400. До складу молекули вітаміну В₁₂ крім кобальту входять також аміногрупи і група - CN, у зв'язку з чим його ще називають ціанкобаламіном.

Варто підкреслити, що ціанкобаламін - єдиний відомий на даний час вітамін, що містить у своїй молекулі метал і практично не утворюється ні в рослинах, ні в тканинах тварин.

Вітамін В₁₂ синтезується переважно мікроорганізмами, в тому числі тими, що живуть в кишках людини. Дуже багаті на цей вітамін стоячі і стічні води, ґрунт, мул. Анаеробні бактерії, що живуть у них, відрізняються високим вмістом вітаміну В₁₂.

За достатньої кількості кобальту в раціоні жуйних тварин ціанкобаламін синтезується мікроорганізмами, що живуть в передшлунках і кишках, а потім відкладаються в резерв в печінці цих тварин. Особливо багата вітаміном печінка великої рогатої худоби. В меншій кількості він міститься в печінці курчат, молоці, яйцях, нирках і грибах. Тому в організм людини ціанкобаламін надходить тільки з продуктами тваринного походження. Добова потреба людини в ціанкобаламіні складає 10-20 мкг.

Недостача вітаміну В₁₂ в організмі викликає в людини зловиясну анемію—хворобу Аддісона-Бірмера. Це нервово-дістрофічне захворювання з враженням травного каналу, органів кровотворення і нервової системи. Головними симптомами хвороби є різке зменшення кількості еритроцитів, зниження рівня гемоглобіну, поява незрілих формених елементів крові, слабе утворення лейкоцитів. Захворювання супроводжує зменшення або навіть повну відсутність в шлунку хлоридної кислоти.

Причиною захворювання, на відміну від інших видів авітамінозу, є не відсутність вітаміну В₁₂ в їжі, а порушення процесу всмоктування його в кишках. У шлунковому соці здорових людей є особливий мукопротеїд апоеритеїн, що утворює із В₁₂ комплексну сполуку - еритеїн. Утворення цього комплексу захищає ціанкобаламін від впливу на нього мікроорганізмів кишок, що споживають його у вільному стані. Якщо в шлунковому соці людини апоеритеїн відсутній, то ціанкобаламін, який надходить з їжею, залишається незахищеним і використовується кишковими мікробами, що приводить до недостатчі його в тканинах організму. Як наслідок цієї недостатчі з'являються симптоми хвороби Аддісона-Бірмера.

Вітамін В₁₂ відіграє важливу роль в процесах стимуляції і регулювання кровотворення. Встановлено також, що ціанкобаламін покращує засвоєння

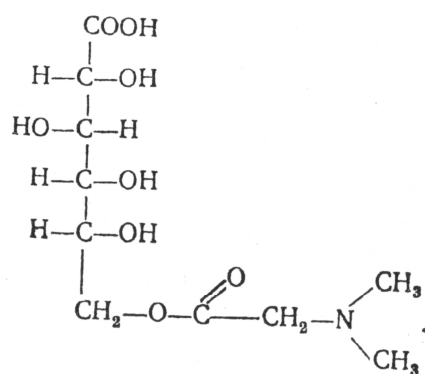
білків в організмі, бере участь в біосинтезі біологічно активних речовин, ряду амінокислот і нуклеїнових кислот.

Для людини добова норма вітаміну B_{12} визначена в 10 -20 γ ; з лікувальною метою дозу збільшують до 1000 γ . В морській воді міститься 0,03- 0,2 γ \л вітаміну B_{12} ; досить значний вміст цього вітаміну знайдено у фітопланктоні (20-30 γ \кг) та зоопланктоні (60-90 γ \кг).

У м'язах деяких видів риб (скупбрія, тихоокеанські лососі та інших) накопичується значно більше вітаміну B_{12} ,ніж у м'язах наземних тварин. Особливо значні концентрації вітаміну B_{12} знайдені у двостулкових молюсків та тканинах червоних водоростей.

Найбільш високі концентрації вітаміну B_{12} виявлені в печінці морських донних риб (у камбал). В цілому печінка риb накопичує більше вітаміну B_{12} , ніж печінка сільськогосподарських тварин. В кишечнику риb відбувається інтенсивний бактеріальний синтез вітаміну B_{12} , тому в тканинах кишечника риb виявлені значні концентрації цього вітаміну: до 150 γ \кг у скупбрії, 210- у оселедця та сардин та до 1900 γ \кг у тунців. В серці риb міститься значно більше цього вітаміну, ніж в серці наземних тварин (40-4200 та 10- 100 γ \кг відповідно), причому найбільш значний вміст (1900- 4250) вітаміну B_{12} знайдено в серці тріскових (тріска, мінтай).

Вітамін B_{15} (пангамова кислота) належить до нещодавно відкритих вітамінів. За хімічною будовою пангамова кислота являє собою ефір глюконової і диметиламінооцтової кислот:



Пангамова кислота (вітамін B_{15})

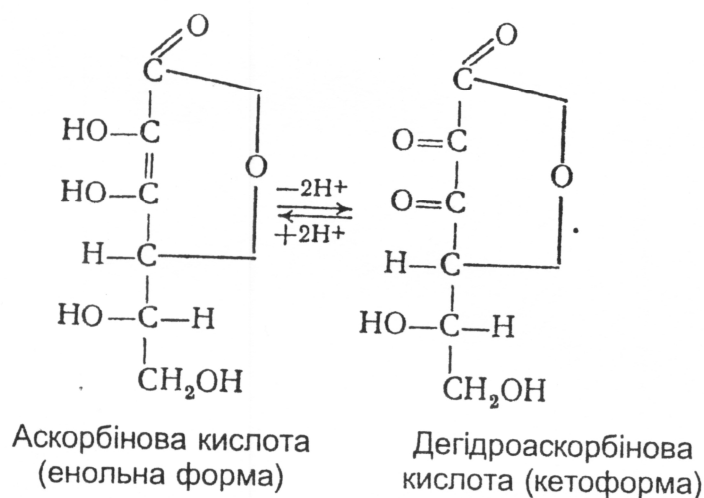
Авітаміноз B_{15} зустрічається дуже рідко. Проте пангамову кислоту застосовують при лікуванні захворювань, пов'язаних із порушенням процесів метилювання ряду сполук. Вона бере участь у біосинтезі холіну, метіоніну, стерину стероїдних гормонів. Пангамова кислота підвищує активність деяких ферментів тканинного дихання, впливає на синтез АТФ і креатинфосфату.

Цей вітамін синтезується в рослинах і мікроорганізмах. В найбільшій кількості вона міститься в оболонках зерен рису і дріжджах, серед

продуктів тваринного походження - в печінці, нирках, дещо менше - в м'язах. Добова потреба людини у вітаміні В₁₅ складає близько 2 мг.

Вітамін С (аскорбінова кислота). Відкриття вітаміну С пов'язане з захворюванням під назвою "цинга", або "скорбут", характерною ознакою якого є враження кровоносних судин, особливо капілярів, що супроводжується підвищенням їх ламкості і проникності. Внаслідок цього на тілі і внутрішніх органах людини з'являються точкові крововиливи. Характерною ознакою скорбуту є також захворювання зубів і кровоточивість ясен. В далекому минулому цинга була однією з найпоширеніших хвороб, яка набувала характеру епідемії. Особливо сильно страждали від неї мореплавці.

За своєю хімічною будовою аскорбінова кислота близька до вуглеводів гексоз. В складі молекули аскорбінової кислоти немає вільної карбоксильної групи, проте вона має кислий смак. Її кислотні властивості зумовлені наявністю двох єнольних гідроксилів, здатних до дисоціації. Внаслідок цього даний вітамін С може існувати в двох формах - аскорбінової кислоти (єнольна форма) і дегідроаскорбінової кислоти (кетоформа):



Ці дві форми утворюють окисно-відновну систему, яка може приєднувати і віддавати атоми Гідрогену. Основна маса вітаміну С в організмі знаходиться в єнольній формі, через що вважають, що основна роль цього вітаміну — відновлення різноманітних сполук.

Дослідженнями ряду вчених встановлено, що вітамін С є необхідним чинником для нормального білкового обміну. Він сприяє перетворенню білка сполучної тканини проколагену в колаген, всмоктуванню заліза з кишок, бере участь в обміні нуклеїнових кислот і ароматичних амінокислот. Аскорбінова кислота пов'язана із синтезом і обміном гормонів кори надниркових залоз і щитовидної залози; здатна

знешкоджувати токсини (дифтерійний, туберкульозний, дизентерійний та ін.) і підвищувати опір організму до інфекційних захворювань.

Багатими джерелами вітаміну С є шипшина, чорна смородина, цитрусові, свіжі овочі, картопля. Одна склянка томатного соку, наприклад, забезпечує добову потребу організму у вітаміні, яка складає 50-100 мг.

Оскільки особливістю вітаміну С є його швидка окислювальність, необхідне щоденне введення його з їжею.

Вітамін С найбільш активно синтезується і накопичується тільки рослинами, у наземних тварин високий вміст вітаміну С виявлений в тканинах надниркової залози, а у риб – в ікрі(Табл. 2.7.):

Таблиця 2.7. Розподіл вітаміну С в тканинах гідробіонтів

Група тварин	Тканина	Вміст аскорбінової кислоти, мг%
Морські костисті риби	м'язи ікра	2,0 - 3,5 5,0 - 180,0
Ракоподібні (краби, креветки, омари)	м'язи	2,5 - 3,5
Двостулкові молюски	м'яз –замикач мантія	3 - 8 5 - 17
Кальмар	мантія, кінцівки	2 - 3
Голотурії	оболонка тіла	2 - 3,5
Великий рогатий скот	мязи печінка наднирники	0,9 - 1,3 25 - 50 130 - 150
Рослинні продукти	огірки, морква, картопля кріп, хрін, перець, смородина, хвоя плоди шипшини	4 - 15 150 - 250 200 - 450 1000-5000
Морська бура водорість (ламінарія)	слоєвище	3 - 50

Існує ще цілий ряд вітамінів, які тією чи іншою мірою впливають на різні сторони обміну речовин. Між окремими вітамінами існує тісний взаємозв'язок, деякі з них входять до складу інших, більш складних, вітамінів. Наприклад, **цитрин (вітамін Р)** тісно взаємозв'язаний із вітаміном С. Він має здатність підтримувати еластичність капілярів, зміцнювати їх стінки і зменшувати проникність.

В процесах біосинтезу вищих жирних кислот і пуринових основ при використанні CO₂ необхідний **біотин (вітамін Н)**.

2.2.4. Практична частина

Методи визначення вітамінів

I. Методи якісного визначення вітамінів

Вітаміни – це низькомолекулярні органічні речовини, що мають різноманітну хімічну природу; вони відносяться до незамінних факторів харчування, оскільки в організмі не синтезуються. Вітаміни перебувають в невеликих кількостях у їжі, забезпечують нормальне протікання хімічних процесів і беруть участь у регуляції ряду фізіологічних функцій організму.

Вітаміни відрізняються від інших органічних харчових речовин двома ознаками: вони не входять до складу структури органів і тканин та не використовуються організмом як джерело енергії.

Роль вітамінів в організмі. Більшість вітамінів не синтезується в організмі людини або синтезуються в таких мізерно малих кількостях, що не можуть забезпечити його потреби. Джерелом вітамінів для людини і багатьох тварин є переважно продукти рослинного походження: овочі (картопля, морква, капуста, томати, щавель), фрукти, ягоди і соки з них (смородина, полуниця, мореля, шипшина, обліпіха й ін.). Проте окремі вітаміни містяться тільки в організмі тварин, наприклад, у печінці тріскових риб і жуйних тварин, молоці, яйцях.

Обов'язковою умовою для нормального розвитку, життєдіяльності, опірності організму інфекційним захворюванням є вживання фізіологічних норм вітамінів. Особливо це важливо для вагітних жінок, матерів, що годують немовлят, дітей і підлітків, людей, що працюють з підвищеною напругою нервової і м'язевої систем, у гарячих цехах, шахтах, а також після важких захворювань.

За недостатньої кількості вітамінів у їжі в людей розвиваються захворювання, які називають *гіповітамінозами*. Відсутність вітамінів або недостатній їхній вміст у їжі призводить до розвитку ряду важких захворювань. Так, цинга, рахіт, бері-бері і ін., виникають унаслідок повної відсутності вітамінів у їжі; такий стан називають авітамінозом. Недостатній вміст вітамінів у їжі призводить до гіповітамінозів. Практично зустрічається саме ця форма захворювання, якщо з їжою організм одержує вітаміни, але в недостатній кількості. Знання клінічної картини авітамінозів сприяє запобіганню і лікуванню цих захворювань, тому знання біологічної ролі кожного вітаміну є дуже важливим.

Багато порушень обміну при авітамінозах і гіповітамінозах розглядаються як наслідки порушення діяльності чи активності

ферментативних систем, тому що багато вітамінів входить до складу простетичних груп ферментів.

Найпростіша класифікація вітамінів заснована на фізико-хімічних властивостях, зокрема, на розчинності. Тому розрізняють вітаміни, які розчинні у воді (вітаміни групи В і С), і вітаміни, розчинні в жирах (вітаміни А, D, Е, К, F).

Більшість вітамінів міститься в достатніх кількостях у звичайних продуктах харчування тваринного і рослинного походження, таких, як овочі і фрукти, соняшникова олія, риб'ячий жир, печінка, нирки, мозок, молоко, вершкове масло, яйця, хліб, крупа та ін. Деякі вітаміни синтезуються мікрофлорою кишечника людини або тварини в достатній кількості.

Для з'ясування вмісту вітамінів у різних біологічних об'єктах і організмах користуються якісними і кількісними методами їх визначення.

Дослід №1. Якісні реакції на вітаміни:

А) На вітамін Е.

При дії концентрованою азотною кислотою на спиртовий розчин вітаміну Е останній забарвлюється в червоний колір у результаті окислювання а-токоферолу до пофарбованих продуктів хіноїдного ряду.

Хід роботи.

У сухій пробірці змішують при енергійному струшуванні 5 крапель 0,1% спиртового розчину вітаміну Е і 10 крапель концентрованої нітратної кислоти. Верхній масляний шар емульсії забарвлюється в червоний колір.

Б) На вітамін А.

При взаємодії вітаміну А з концентрованою сульфатною кислотою, як водовіднімаючою речовиною цей вітамін перетворюється в забарвлений комплекс. Відмітити колір одержаного комплексу.

В) На вітамін В₆.

До 1мл розчину піридоксину додати 0,5 мл розчину хлориду заліза (III). Відмітити зміну забарвлення, записати рівняння реакції.

Г) На вітамін РР.

До розчину вітаміну РР (нікотинової кислоти) додати концентрованого розчину оцтової кислоти та нагріти до кипіння, або ацетату міді. Спостерігати зміну забарвлення розчину, записати рівняння реакції, якщо вступає в реакцію дві молекули нікотинової кислоти.

Д) На вітамін D.

Провести реакцію вітаміну D, що входить до складу риб'ячого жиру, розчиненого в хлороформі з аніліном в присутності з хлоридною кислотою, або з бромною водою. Записати спостереження.

Дослід 2. Якісні реакції на інші вітаміни.

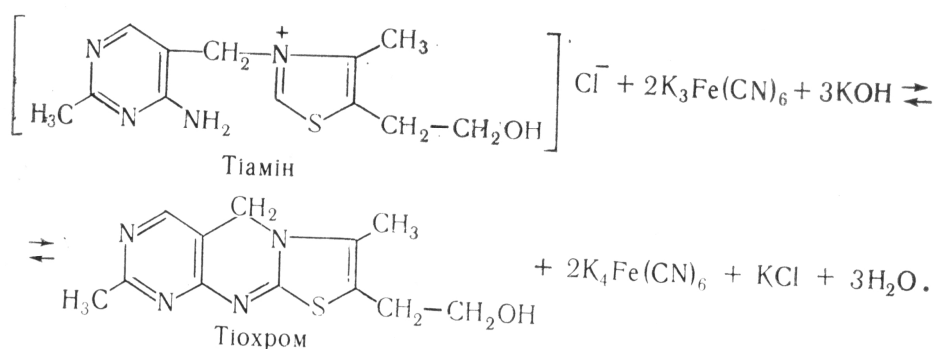
А) Реакції на вітамін В₁ — тіамін—(антиневритний). *Реакція з діазореактивом.* При взаємодії тіаміну з діазореактивом, який утворюється при змішуванні солянокислого або сірчанокислого розчину сульфанілової кислоти з розчином нітриту натрію, у лужному середовищі утворюється забарвлена сполука.

Хід роботи.

До 1мл 1%-ного солянокислого або сірчанокислого розчину сульфанілової кислоти додають 1 мл 5%-ного розчину нітриту натрію. Утворюється діазореактив. До нього додають невелику кількість (на кінчику скальпеля) тіаміну і доливають 1мл 10 %-ного розчину соди. Рідина забарвлюється в оранжевий або червоний колір. Якщо розчин соди додавати обережно по стінці нахиленої пробірки, то на межі двох рідин утворюється червоне кільце.

Реакція окислення тіаміну до тіохрому.

Вітамін В₁ у лужному середовищі під впливом K₃[Fe(CN)₆] перетворюється в тіохром, який в ізобутиловому спирті дає інтенсивно-синю флуоресценцію.



Хід роботи.

До 1 мл розчину вітаміну В₁ (5 мкг) додають 2 мл суміші 1 мл 1 %-ного розчину K₃[Fe(CN)₆] з 1 мл 30%-ного розчину NaOH, добре перемішують і залишають на 3 хв. Потім тіохром екстрагують 5 мл ізобутилового спирту енергійним і рівномірним струшуванням протягом двох хвилин. Ізобутиловий екстракт тіохрому в ультрафіолетовій частині спектру має інтенсивно-синю флуоресценцію. Ця реакція дуже чутлива і специфічна. Вона використовується для кількісного визначення тіаміну.

Б) Реакція вітаміну В₂ (рибофлавіну) з цинком зумовлена відновленням рибофлавіну спочатку в родофлавін (проміжну сполуку)

...або 1 мл розчину

-10 мг вітаміну С.

Рідина стає каламутною, забарвлюється в блакитний колір, а при стоянні випадає осад синього кольору.

Реакція з гідросульфідом натрію. Вітамін РР відновлюється гідросульфідом натрію з утворенням сполуки жовтого кольору.

Хід роботи.

У пробірку кладуть 5—10 мг вітаміну РР, додають, 5мл 10%-ного розчину гідрокарбонату натрію, перемішують і додають 1,5 мл свіжоприготовленого 5%-ного розчину гідросульфіту натрію. Рідина забарвлюється в жовтий колір.

Реакція з 2,4-динітрохлорбензолом. Вітамін РР при нагріванні з 2,4-динітрохлорбензолом при наявності лугу утворює забарвлену сполуку.

Хід роботи.

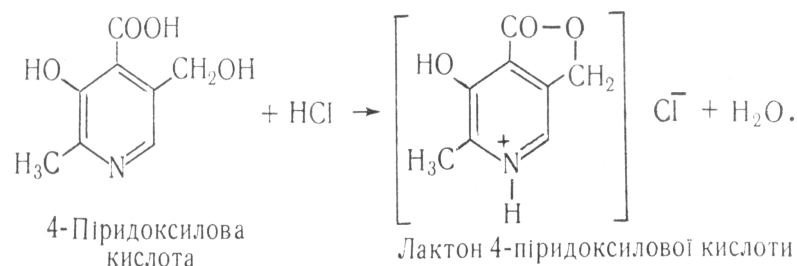
У фарфорову чашку для випарювання наливають 1 мл 0,1%-ного спиртового розчину нікотинової кислоти або нікотинамід, розчин випарюють досуха на водяній бані. До сухого залишку додають 1 мл 1%-ного спиртового розчину 2,4-диніт-рохлорбензолу і старанно перемішують скляною паличкою. Утворений розчин знову випарюють на водяній бані досуха (випарювати у витяжній шафі!), після чого нагрівання продовжують 10—15 хв. Чашку охолоджують до кімнатної температури і до осаду додають 5мл спиртового розчину гідроксиду натрію. Виникає червоно - фіолетове забарвлення, яке при стоянні світлішає і поступово зникає.

Г) Реакції на вітамін В₆(піридоксин). *Реакція з хлоридом заліза (III).* При взаємодії піридоксину з розчином хлориду заліза (III) рідина забарвлюється в червоний колір внаслідок утворення комплексної сполуки.

Хід роботи.

До 1 мл 5%-ного водного розчину вітаміну В₆ додають 2 краплини 5%-ного розчину хлориду заліза (III).Розчин струшують. Спостерігають забарвлення рідини в червоний колір.

Виявлення піридоксилової кислоти в сечі. Вітамін В₆ виділяється з організму у вигляді піридоксилової кислоти. Розчин лактону піридоксилової кислоти має синю флюоресценцію після ультрафіолетового опромінення.



Хід роботи.

У мікрохімічну пробірку наливають 0,5 мл сечі і 0,5 мл 10%-ного розчину соляної кислоти. Пробірку ставлять на 20 хв у киплячу водяну баню для утворення лактону піридоксилової кислоти. Пробірку охолоджують, додають 3 краплини 10%-ного розчину гідроксиду натрію (рН = 9,0) і 1%-ний розчин тетраборату натрію до половини об'єму пробірки. Перемішують. Спостерігають появу синьої флюоресценції після ультрафіолетового опромінення.

Д) Реакція на вітамін В₁₂ — ціанкобаламін — (антианемічний). При сплавленні вітаміну В₁₂ з гідросульфідом калію або при дії сильного окислювача відбувається його руйнування. Кобальт, який при цьому вивільнюється, виявляють за допомогою α-нітрозо-β-нафтолу, з яким він утворює комплексну сполуку оранжево-червоного кольору. При високій концентрації цієї солі вона може випадати в осад яскраво-червоного кольору.

Хід роботи.

Половину вмісту вітаміну В₁₂ з ампули переносять у фарфоровий тигель, випарюють досуха і прокалюють на невеликому полум'ї. Після охолодження додають 1 мл концентрованої азотної кислоти і 3 мл концентрованої соляної кислоти і кип'ятять у витяжній шафі до повного випаровування рідини. Після охолодження розчиняють осад у краплині води, додають 1 краплину 1%-ного ацетонового розчину α-нітрозо-β-нафтолу і краплями 10%-ний розчин гідрофосфату натрію до слабколужної реакції (за лакмусом). При наявності іонів Со⁺² з'являється буро-червоне забарвлення; якщо іонів Со⁺² немає, забарвлення — жовто-зелене.

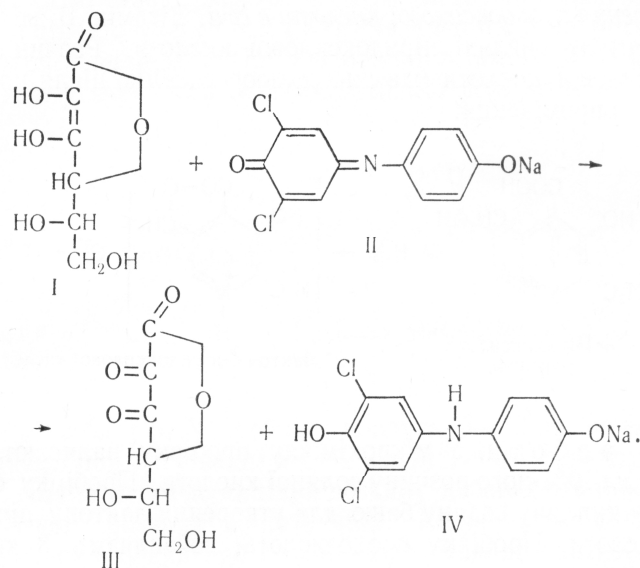
Е) Реакції на вітамін С (аскорбінову кислоту). Реакція з 2,6-дихлорфеноліндофенолом. Реакція ґрунтується на здатності аскорбінової кислоти (I) відновлювати забарвлену в синій колір окислену форму 2,6-дихлорфеноліндофенолу (II) в безбарвну лейкосполуку (IV), через

утворення дегідроаскорбінової кислоти (III). Ця реакція використовується для кількісного визначення аскорбінової кислоти.

Хід роботи.

У пробірку наливають 0,5 мл 0,1%-ного розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу, 1—2 краплини 10%-ного розчину HCl і краплинами 0,1%-ний розчин аскорбінової кислоти. При доливанні аскорбінової кислоти розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу знебарвлюється.

Рівняння реакції відбувається за схемою:



Реакція з метиленовим синім. Під дією аскорбінової кислоти розчин метиленового синього знебарвлюється.

Хід роботи.

У дві пробірки, що містять по 1 краплині 0,01 %-ного розчину метиленового синього і по 1 краплині 10%-ного розчину соди, додають: в одну пробірку — 5 краплин 0,1 %-ного розчину аскорбінової кислоти, у другу — 5 краплин води і одночасно нагрівають обидві пробірки. У пробірці з розчином аскорбінової кислоти рідина знебарвлюється.

Реакція з гексаціано-(III)фератом калію. Аскорбінова кислота відновлює $K_3[Fe(CN)_6]$ до $K_4[Fe(CN)_6]$, який з іонами заліза (III) дає сіль $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ з синього або зеленуватого кольору.

Хід роботи.

До 1 мл 0,1%-ного розчину аскорбінової кислоти додають 1 мл 1%-ного розчину $K_3[Fe(CN)_6]$ і 0,5 мл 1%-ного розчину $FeCl_3$. Спостерігають утворення синьо-зеленого забарвлення $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$

Ж) Реакції на біофлавоноїди (вітамін Р). *Реакція рутину з хлоридом заліза (III) $FeCl_3$* , який утворює з рутином комплексну сполуку, забарвлену в ізумрудно-зелений колір.

Хід роботи.

До 2 мл насиченого водного розчину рутину додають кілька краплин 1%-ного розчину $FeCl_3$. Спостерігають появу зеленого забарвлення.

Реакція рутину з концентрованою сульфатною кислотою. Концентрована сірчана кислота утворює з флавонами і флавонолами флавілієві солі, розчини яких мають яскраво-жовте забарвлення.

Хід роботи.

До 2 мл насиченого водного розчину рутину обережно по стінкам пробірки додають 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. На межі двох рідин виникає забарвлене в жовтий колір кільце.

Реакція рутину з реактивом Феллінга. При кислотному гідролізі рутину відщеплюється молекула рутинози. Вона далі розщеплюється на глюкозу і рамнозу, які мають відновні властивості.

Х і д р о б о т и.

До 0,5г рутину додають 5 мл 0,5%-ного розчину соляної кислоти. Суміш нагрівають до кипіння, кип'ятять 1 хв, після чого фільтрують. До 5 мл фільтрату додають 3 мл 10%-ного розчину гідроксиду натрію і 3 мл свіжоприготовленого реактиву Феллінга. Знову нагрівають до кипіння. Спостерігають утворення червоного осаду геміоксиду міді.

З) Реакція на вітамін А. *Реакція з трихлорацетатом сурми.* Хлороформовий розчин вітаміну А або риба'чий жир при наявності трихлорацетату сурми забарвлюється в синій колір.

Хід роботи.

У суху пробірку, що містить 1 краплину свіжого риба'чого жиру або хлороформового розчину вітаміну А, додають 4—5 краплин 3%-ного хлороформового розчину сурми і перемішують. Спостерігають появу інтенсивного синього забарвлення.

Реакція Друммонда. Вітамін А в бензольному розчині з концентрованою H_2SO_4 дає синє забарвлення.

Хід роботи.

До 1—2 краплин хлороформового розчину вітаміну А добавляють 1—2 краплини концентрованої H_2SO_4 . Рідина забарвлюється в синій колір, який швидко змінюється на фіолетовий, а потім поступово переходить у бурий.

Реакція з сульфатом заліза (II) FeSO_4 . Вітамін А з сульфатом заліза (II) в кислому середовищі дає сполуку, забарвлену в рожево-червоний колір.

Хід роботи.

До 1—2 краплин риbachого жиру або 0,05%-ного хлороформового розчину вітаміну А добавляють 5—10 краплин льодяної оцтової кислоти, насиченої сульфатом заліза (II), і 1—2 краплини концентрованої сірчаної кислоти. З'являється блакитне забарвлення, яке поступово переходить у рожево-червоне (каротини дають зеленувате забарвлення).

К) Реакції на вітамін D — кальциферол — (антирахітичний).
Реакція з SbCl_5 . Вітамін D в хлороформовому розчині з насиченим розчином SbCl_5 набуває жовтого забарвлення.

Хід роботи.

У суху пробірку, що містить 2 мл хлороформового розчину вітаміну D, добавляють 0,2 мл насиченого хлороформового розчину SbCl_5 . Спостерігають появу жовтого забарвлення.

Реакція з аніліном. При нагріванні хлороформового розчину вітаміну В або риbachого жиру з сумішшю аніліну і концентрованої соляної кислоти розчин забарвлюється в червоний колір.

Хід роботи.

У суху пробірку, що містить 1 краплину риbachого жиру або 2 краплини хлороформового розчину вітаміну D, добавляють 5 краплин хлороформу (до риbachого жиру) і 1 краплину анілінового реактиву. Нагрівають. Спостерігають забарвлення розчину в червоний колір.

Реакція з бромом. Розчин вітаміну D (або риbachий жир) з розчином броду в хлороформі набуває зеленувато-блакитного забарвлення.

Хід роботи.

У суху пробірку, що містить 3—5 краплин риbachого жиру або 2—3 краплини хлороформового розчину вітаміну D, добавляють 4—6 краплин

розчину бром у хлороформі (1 : 60). Виникає зеленувато-блакитне забарвлення.

Л) Реакції на вітамін К — філлохінон — (антигеморагічний).
Реакція з діетилмалоновим ефіром. Спиртовий розчин вітаміну К в лужному середовищі (при додаванні гідроксидів натрію або калію) з діетилмалоновим ефіром дає різні відтінки фіолетово-червоного забарвлення.

Хід роботи.

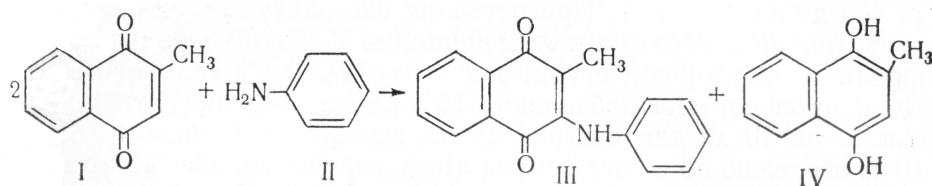
До 2 мл спиртового розчину вітаміну К додають 0,5 мл 1%-ного розчину діетилмалонового ефіру і 0,1 мл 1%-ного розчину КОН. Спостерігають появу фіолетово-червоного забарвлення.

Реакція з діетилдитіокарбаматом. Спиртовий розчин вітаміну К в лужному середовищі з розчином діетилдитіокарбамату утворює сполуку, забарвлену в блакитний колір.

Хід роботи.

До 2 мл розчину вітаміну К в 96%-ному спирті додають 2мл 5%-ного розчину діетилдитіокарбамату і 0,5 мл 4%-ного розчину NaOH у 96%-ному спирті. Розчин забарвлюється в блакитний колір.

Реакція вітаміну К з аніліном. Спиртовий розчин 2-метил-1,4-нафтохінону (I) при наявності аніліну (II) забарвлюється в червоний колір, що зумовлене утворенням 2-метил-3-феніламіно-1,4-нафтохінону (III). При цьому утворюється також 2-метил-1,4-діок-синафталін (IV).



Хід роботи.

До 1 мл 0,05%-ного спиртового розчину вікасолу додають 2 краплини розчину аніліну і струшують. Рідина забарвлюється в червоний колір.

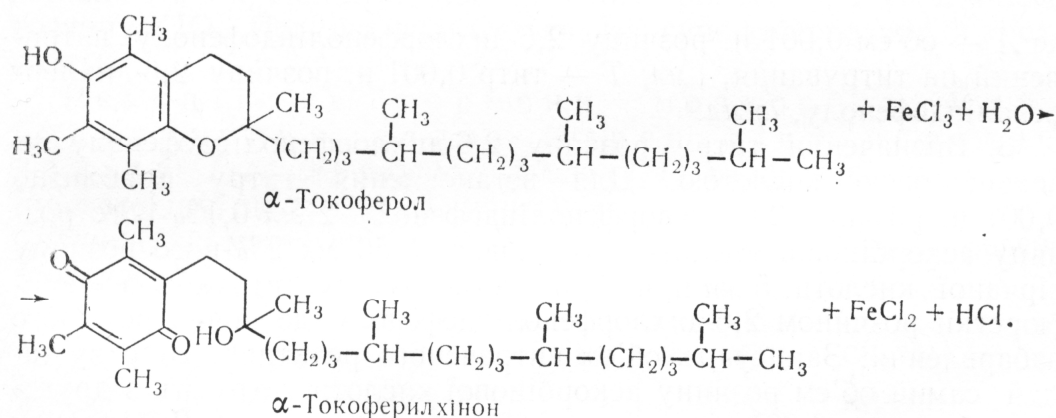
М) Реакції на вітамін Е — α -токоферол — (антистерильний). *Реакція з концентрованою нітратною кислотою.* α -Токоферол з концентрованою

нітратною кислотою утворює сполуку, забарвлену в червоний колір. Цю реакцію використовують для кількісного визначення α -токоферолу.

Хід роботи.

У суху пробірку, що містить 5 краплин 0,1М спиртового розчину α -токоферолу, додають 1 мл концентрованої нітратної кислоти. При струшуванні утворюється емульсія, яка поступово забарвлюється в червоний колір.

Реакція з хлоридом заліза (III). α -Токоферол окислюється хлоридом заліза (III) до α -токоферилхінону, який має червоне забарвлення.



Хід роботи.

У суху пробірку наливають 0,5 мл 0,1%-ного спиртового розчину α -токоферолу, додають 0,5 мл хлориду заліза (III) і старанно перемішують. Спостерігають за появою червоного забарвлення.

II. Методи кількісного визначення вітамінів.

Дослід №3. Кількісне визначення вітаміну Е.

Метод заснований на колориметричному вимірюванні інтенсивності забарвлення, що виникає при окислюванні токоферолів нітратною кислотою.

Хід роботи.

У 2 мірні пробірки поміщають по 2,5 мл спиртового розчину вітаміну Е, доливають по 0,5 мл 70% азотної кислоти і витримують у кип'ячій водяній бані 3 хвилини. Потім пробірки охолоджують і ставлять у темне місце на 15 хвилин. Об'єм рідини в кожній пробірці доводять абсолютним етиловим спиртом до 5 мл і перемішують. Розчини, забарвлені в результаті реакції в рожевий колір фотометрують на фотоелектроколориметрі із синім світлофільтром (470 нм).

Концентрацію вітаміну Е в досліджуваному розчині знаходять за графіком, де кожному значенню знайденої екстинції відповідає певний вміст вітаміну Е в 1 мл розчину.

Для побудови калібрувального графіку використовують препарат, що містить у 1 мл 100 мг α -токоферолацетату. Для цього 0,5 мл такого препарату розчиняють абсолютним спиртом у мірній колбі на 50 мл. У 4 мірні пробірки відміряють по 0,5; 1; 1,5; 2 мл цього спиртового розчину, що містить на 1 мл 1 мг α -токоферолацетату, і додають абсолютний спирт по 2; 1,5; 1; 0,5 мл відповідно, щоб загальний об'єм рідини складав 2,5 мл.

У пробірках проводять визначення вітаміну Е, як зазначено вище, і одержані дані оптичної густини розчинів використовують для побудови калібрувального графіку. На вісь ординат наносять значення екстинції. На вісь абсцис – концентрацію вітаміну Е.

Дослід №4. Кількісне визначення вітаміну С .

Кількісне визначення аскорбінової кислоти за Тільмансом. Метод ґрунтується на здатності аскорбінової кислоти окислюватись 2,6-дихлорфеноліндофенолом до дегідроаскорбінової кислоти. За кількістю 2,6-дихлорфеноліндофенолу» витраченою на титрування, визначають кількість аскорбінової кислоти в досліджуваному матеріалі.

Хід роботи.

1. Приготування екстракту з рослинного матеріалу (ламінарії або хвої): 0,5г шипшини або хвої старанно подрібнюють у фарфоровій ступці з 2 мл води і 0,1 скляного піску, До подрібненої маси додають 10 мл води, перемішують і залишають на 10 хв для екстрагування аскорбінової кислоти. Через 10 хв обережно по паличці через лійку переносять (без втрат) вміст ступки в мірну колбу місткістю 50 мл. Ступку і товкачик ополіскують водою, промивну рідину переносять у мірну колбу і доливають водою до риски. Колбу закривають пробкою і вміст її кілька разів перемішують, після чого фільтрують.

2. Визначення аскорбінової кислоти в рослинному матеріалі. У дві колби місткістю 25 мл наливають піпетками: в одну — 1 мл екстракту шипшини, до якого додають 4 мл 2%-ного розчину соляної кислоти, у другу — 5 мл екстракту хвої (соляну кислоту не додають).

Вміст колб титрують 0,001 н. розчином 2,6-дихлорфеноліндо-фенолу до появи рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 30 сек.

1 мл 0,001 н. розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу відповідає 0,088 мг аскорбінової кислоти. Кількість аскорбінової кислоти С для ламінарії або хвої дорівнює:

$$C = \frac{A \cdot T \cdot 0,88}{50 \cdot 100}, \text{ мг}$$

де А —об'єм 0,001 н. розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу, витрачений на титрування, мл; Т—титр 0,001н.розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу, г/мл.

3. Визначення титру розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу за аскорбіноюю кислотою. Для встановлення титру приблизно 0,001 н. розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу 2 мл 0,1%-ного розчину аскорбінової кислоти розчиняють у 50 мл 2%-ного розчину сірчаної кислоти. 5 мл приготовленого розчину титрують з мікробюретки розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу до появи рожевого забарвлення. Записують об'єм витраченого реактиву. Відразу такий самий об'єм розчину аскорбінової кислоти титрують з другої мікробюретки 0,001 н. розчином гіпойодату калію. До розчину аскорбінової кислоти перед титруванням додають 100 мг йодиду калію і 5 краплин 1%-ного розчину крохмалю, після чого титрують обережно до появи ледве помітного синього забарвлення і записують витрачений на титрування об'єм гіпойодату калію. Оскільки в першому і другому випадках були відтитровані однакові об'єми розчину аскорбінової кислоти, то об'єми витрачених розчинів гіпойодату калію і 2,6-дихлорфеноліндофенолу еквівалентні один одному. Оскільки 1 мл 0,001 н. розчину гіпойодату калію еквівалентний 0,088 мг аскорбінової кислоти, то титр розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу дорівнюватиме:

$$T = \frac{0,088 \cdot V_2}{V_1}, \text{ мг}$$

де V_1 і V_2 — об'єми розчинів 2,6-дихлорфеноліндофенолу і гіпойодату калію, витрачені на титрування рівних об'ємів розчину аскорбінової кислоти.

Контрольні питання

1. Наведіть класифікацію вітамінів.
2. Які захворювання розвиваються за нестачі вітамінів А, С, D?
3. Які захворювання розвиваються за нестачі вітамінів групи В?
4. Напишіть формули тіаміну, ретинолу, аскорбінової кислоти.
5. Які вітаміни є жиророзчинними, а які водорозчинними?
6. Що є джерелом вітаміну С?
7. В яких речовинах міститься вітаміни групи В?
8. Якою є добова потреба у вітаміні В₆ для людини?
9. Який вітамін визначається за допомогою реакції з 2,6-дихлорфеноліндофенолом, що приводить до його знебарвлення?
10. Який вітамін є безбарвною олійстою рідиною добре розчинною у спирті, оліях, ефірах?
11. Які вітаміни є похідними стеролів?
12. Головні джерела вітаміну D?
13. Хто вперше дослідив роль вітамінів у харчуванні?
14. Який з вітамінів є одним з сильніших природних антиоксидантів?

15. Який вітамін забезпечує нормальний зоровий процес?
16. Що таке гіпо - і гіпервітаміноз?
17. Який стан називають авітамінозом?
18. Про що свідчить нестача вітамінів у організмі гідробіонтів?
19. Які вітаміни містяться в організмах риб?
20. Які вітаміни містяться в морських водоростях?

2.3. Загальна характеристика гормонів

Гормонами називаються речовини, що виробляються залозами внутрішньої секреції. Це біологічно активні речовини, здатні в кількості 10^{-3} навіть 10^{-6} мг викликати зміни метаболічних процесів в організмі. Протягом доби в організмі людини синтезується всього декілька міліграмів або часток міліграмів окремих гормонів. Концентрація їх у крові складає 10^{-6} – 10^{-9} г на 100 мл. Більшість гормонів діють короткочасно і швидко руйнуються. В організмах нижчих тварин гормони виробляються в клітинах тканин тіла, а у вищих тварин – в залозах внутрішньої секреції.

Багато гормонів не проникають всередину клітин, а проявляють свою дію через інші речовини-посередники. Деякі ж гормони проникають усередину клітин і далі через ядерну мембрану в ядро клітин.

У людини і вищих тварин гормони є важливою ланкою регуляторних механізмів. Потрапляючи в кров, вони впливають на всі функції організму. Регуляторна роль гормонів спрямована в основному на підтримку й активування найголовніших процесів обміну. Свою біологічну дію вони проявляють шляхом впливу на активність ферментів, оскільки впливати на обмін можна саме шляхом зміни ферментативних процесів.

З хімічної точки зору гормони можна розподілити на чотири групи:

- 1) гормони білкової природи (гормони гіпофізу, гіпоталамусу, підшлункової залози й ін.);
- 2) гормони - похідні амінокислот (гормони мозкової частини наднирників, щитовидної залози);
- 3) гормони - похідні жирних кислот (простагландини);
- 4) стероїдні гормони - похідні холестерину (жіночі і чоловічі статеві гормони, гормони кори надниркових);

За характером дії всі гормони можна розділити на дві групи. Першу складають гормони, які не проникають у клітину і здійснюють свій вплив через посередників. Діють вони швидко, миттєво змінюючи один або декілька метаболічних процесів. Сюди відноситься більшість гормонів перших трьох груп.

Гормони другої групи проникають у ядра клітин і дія їх проявляється на рівні генів. Вони стимулюють синтез специфічних РНК і білків. До них відносять стероїдні гормони.

Гормони, що діють через посередника, доставляються плазмою крові у вільному або зв'язаному зі спеціальними білками плазми стані до клітин тканин. При цьому гормонам характерна певна специфічність стосовно клітин - кожний із них діє тільки на певні типи клітин, які називають "клітинами-мішенями". Досягнувши цих клітин, гормони фіксуються клітинною мембраною. Як встановлено останнім часом, на мембранах клітин-мішеней є рецептори, специфічні для кожного з гормонів. Зафіксувавши відповідний гормон, рецептор клітинної мембрани активізує потім розміщений у клітинній мембрані фермент — аденілатциклазу. Аденілатциклаза у свою чергу каталізує синтез речовини, яка називається циклічним АМФ (цАМФ), вона і здійснює подальший вплив усередині клітини. Іншими словами, усередині клітини гормональну дію продовжує не сам гормон, а його посередник - цАМФ. Ця сполука сприяє здійсненню всіляких реакцій фосфорилування білків, у результаті чого їх властивості змінюються саме в тому напрямку, який відповідає характеру дії гормону.

Яким чином здійснюється взаємозв'язок між рецептором гормону й аденілатциклазою, поки що невизначено. Передбачається, що гормон, приєднуючись до рецептора, змінює його конформацію, що й викликає активацію ферменту аденілатциклази.

2.3.1. Гормони гіпофізу

Гіпофіз - одна з найменших залоз внутрішньої секреції (масою 0,5- 0,7 г), проте його гормонам належить головна роль у регуляції багатьох процесів.

Гормони, що виділяються гіпофізом (на даний час їх відомо дев'ять), регулюють основні процеси росту і розвитку організму. Особливістю дії гормонів гіпофізу є те, що вони впливають не тільки безпосередньо на обмін речовин певних тканин, але і на інші залози внутрішньої секреції, активізуючи їх діяльність. Серед дев'яти гормонів гіпофізу п'ять стимулюють розвиток і активність інших залоз внутрішньої секреції.

Гіпофіз складається з трьох долей : передньої, середньої і задньої. До гормонів передньої долі гіпофізу належить велика група різних як за біологічною дією, так і за хімічною будовою гормонів: соматотропін, пролактин, тиреотропін, кортикотропін і гонадотропні гормони.

Соматотропін, або **гормон росту**, стійкий до дії підвищеної температури, має властивості глобулінів. Молекула його складається з одного поліпептидного ланцюга.

Соматотропін здійснює багатогранну дію на всі види обміну речовин. Він активізує діяльність ферментів синтезу РНК і інтенсивність

білкового синтезу. Посилює проникність клітин для амінокислот, мітотичний поділ клітин, біосинтез глікогену і мобілізацію жирів із жирових депо, а також відкладення кальцію і фосфору в кістках.

Підвищена продукція соматотропіну в ранньому віці призводить до гігантизму, недостатня - до нанізму (карликового росту). У дорослих людей надмірне виділення цього гормону викликає захворювання акромегалію, яка виражається в непропорційному збільшенні виступаючих частин тіла (стіп, кистей, щелеп, губ, носа).

Під контролем соматотропіну знаходиться ріст кісткової тканини, тісно пов'язаний із синтезом білків.

Пролактин, або лактогенний гормон, відноситься до білків. Регулює розвиток і функціонування молочних залоз і материнського інстинкту. Після пологів вміст цього гормону завжди збільшується і залишається підвищеним протягом усього періоду секреції молока.

Функція пролактину в організмі тісно пов'язана з дією гонадотропних гормонів, під впливом яких посилюється ріст залозистої тканини і вивідних протоків молочної залози. У свою чергу пролактин необхідний для продукування статевих гормонів і в такий спосіб доповнює дію гонадотропних гормонів. Пролактин бере участь також у регуляції водно-сольового обміну.

Тиреотропін, або тиреотропний гормон, стимулює розвиток і діяльність щитовидної залози. Тиреотропін належить до складних білків глікопротеїдів, що містять 3,5% гексози, 2,5% глюкозаміну і близько 1% сірки. Під впливом цього гормону посилюється виділення гормонів щитовидної залози. Вплив тиреотропіну на щитовидну залозу полягає в тому, що він сприяє накопиченню йоду цією залозою і включенню його в молекулу тирозину.

При захворюванні передньої долі гіпофізу синтез тиреотропіну сповільнюється, що призводить до переродження залозистої тканини щитовидної залози, яке супроводжується появою зоба.

Кортикотропін, або **адrenокортикотропний гормон (АКТГ)**, стимулює діяльність кори наднирників. За своєю хімічною природою молекула кортикотропіну - нерозгалужений поліпептид.

Кортикотропін сприяє підвищенню вмісту холестерину в корі надниркових залоз і перетворенню його в кортикостероїди - гормони наднирників. Крім того, він підвищує проникнення глюкози в клітини наднирників і активізує процеси, пов'язані з утворенням відновлених форм НАДФ • Н₂. Атоми водню НАДФ • Н₂ використовуються потім при синтезі гормонів у корі надниркових залоз із оцтової кислоти і холестерину. Кортикотропін є також активатором ліпаз, фосфорилаз і інших ферментів.

Гонадотропні гормони є стимуляторами функцій чоловічих і жіночих статевих залоз.

Фолітропін, або фолікулостимулюючий гормон, стимулює ріст і дозрівання фолікулів яєчника самок і утворення сперми в самців. Фолітропін належить до складних білків глікопротеїдів, які містять сірку, азот, глюкозу і глюкозамін. Інтенсивність виділення гормону залежить від фаз статевого циклу.

Лютропін, або лютеїнізуючий гормон, стимулює в самок ріст і дозрівання фолікулів, овуляцію й утворення жовтого тіла. У самців лютропін викликає розвиток інтерстиціальної тканини сім'яників і синтез тестостерону. Гормон належить до глікопротеїдів. Його молекула містить тирозин, триптофан і глюкозаміну.

Після прояву своєї біологічної дії фолітропін і лютропін руйнуються.

Препарати гонадотропних гормонів (пролан А та пролан В) стимулюють відтворення та використовуються для стимуляції ікрOMETання.

Гормони середньої долі гіпофізу. У цій частині гіпофізу виявлено лише один гормон — меланотропін, або меланоцитстимулюючий гормон, який регулює пігментацію шкіри. Його молекула являє собою поліпептид, що складається з 18 різних амінокислот. Під впливом цього гормону амінокислота тирозин перетворюється в меланін.

Останнім часом встановлено, що меланотропін активізує біосинтез родопсину - світлочутливого пігменту сітківки ока, чим сприяє підвищенню гостроти зору.

Гормони задньої долі гіпофізу. Вазопресин, або антидіуретичний гормон, впливаючи на рецептори кровоносних судин, викликає їх звуження, у результаті чого підвищується кров'яний тиск. Поряд із цим відбувається зворотне всмоктування води в капілярах ниркових каналців, завдяки чому вазопресин одержав ще одну назву - антидіуретичний гормон.

Вазопресин бере участь у підтриманні постійного водно-сольового обміну в організмі.

Якщо функції гіпофізу порушені, продукція вазопресину послаблюється, що призводить до посиленого діурезу. Кількість сечі на добу може сягати десяти літрів і більше. Таке захворювання називається нецукровим діабетом.

Окситоцин підвищує тонус гладкої мускулатури, особливо матки. Механізм дії окситоцину полягає в тому, що він підвищує проникнення калію в клітини м'язів матки і тим самим пригнічує активність ацетилхолінестерази. У результаті цього підвищується збуджуваність і скорочення м'язів. Тому Окситоцин застосовують в акушерсько-гінекологічній практиці для стимулювання мускулатури матки при слабких потугах під час родів, а також для стимуляції м'язових скорочень молочної залози.

На закінчення слід зазначити, що вплив гормонів гіпофізу на залози внутрішньої секреції здійснюється двома шляхами: нервовим і гуморальним. Циркулюючи в крові, гормони досягають відповідних ендокринних залоз і спричиняють тим самим певні зміни в їхніх функціях. Одночасно з цим гіпофіз є частиною мозку, тобто функціонально і структурно з ним пов'язаний. Завдяки цьому гормони гіпофізу досягають мозку і тоді вплив їх на органи відбувається через нервову систему. Таким чином, існує єдиний нейрогуморальний механізм впливу гіпофізу на залози внутрішньої секреції.

2.3.2. Гормони підшлункової залози

Гормони білкової природи виробляються також підшлунковою залозою. Її гормонами є інсулін, глюкагон, ліпокаїн і ваготонін. Всі вони виробляються в основному в клітинах острівців Лангерганса.

Інсулін. Відкриття цього гормону пов'язане із з'ясуванням причин хвороби під назвою "цукровий діабет". Інсулін одержаний із залоз різних тварин має різне розміщення амінокислотних залишків в поліпептидах. Мономери інсуліну за допомогою атомів цинку сполучаються в димери. Молекулярна маса інсуліну 24000, 36000 та 48000.

Інсулін впливає на багато ланок обміну речовин, проте, насамперед, він сприяє використанню вуглеводів. Як регулятор інсулін підтримує активність ферменту гексокінази, стимулюючи тим самим процеси фосфорилування цукрів - першого обов'язкового етапу, без якого в організмі не може використовуватися глюкоза.

Одночасно з цим він гальмує функцію глюкозо-6-фосфатази (наступного ферменту в процесі перетворення глюкози), захищаючи фосфорильовані гексози від подальшого розщеплення. Таким чином, інсулін сприяє підвищенню кількості глюкозофосфорних ефірів і тим самим затримці і використанню вуглеводів у клітині.

Роботами С.З. Гжицького, М.Ф. Гулого й інших встановлено, що інсулін необхідний також для дії цілого ряду ферментів, які беруть участь в обміні вуглеводів, жирів і білків. Зокрема, він необхідний для активації цитратсинтетази — ферменту, що каталізує реакцію конденсації активної оцтової кислоти (Ацетил-КоА) з щавлево-оцтовою кислотою. Ця реакція є початковим етапом циклу трикарбонових кислот - загальної ланки обміну вуглеводів, жирів і білків.

Інсулін ефективно стимулює перехід глюкози з крові до скелетних м'язів і жирової тканини, прискорює біосинтез глікогену в печінці. Він бере участь у біосинтезі клітинних мембран, а також змінює їх проникність відносно глюкози, стимулює процеси клітинного дихання і їх спряження з фосфорилуванням. У зв'язку з цим стає зрозумілим, що відсутність

інсуліну може призвести до порушення багатьох найважливіших реакцій, що відбуваються в організмі.

За умови дефіциту або відсутності в організмі інсуліну, насамперед, слабо використовується глюкоза. У результаті цього підвищується її рівень у крові (гіперглікемія) і збільшується виділення із сечею (глюкозурія). Ці явища є симптомами, що супроводжують хворобу під назвою "цукровий діабет".

Завдяки широкому діапазону дії, інсулін застосовується для лікування різноманітних захворювань. Насамперед, він використовується як основний засіб лікування цукрового діабету. Його застосовують при різних формах виснаження організму для стимуляції обміну речовин (для біосинтезу білків, глікогену і жирів), а також для посилення репаративних процесів після опіків і травм.

За своєю хімічною природою інсулін - білок. Він утворюється з проінсуліну, що синтезується Р-клітинами підшлункової залози.

Інсулін є одним із перших гормонів білкової природи, для якого добре вивчена первинна структура його ланцюгів і зроблено штучний синтез.

Глюкагон за своєю біологічною дією протилежний інсуліну. Глюкагон посилює розщеплення глікогену в печінці і тим самим сприяє поповненню глюкози в крові. Таким чином, разом з інсуліном він утворює єдину систему регуляції вмісту глюкози в організмі. Тому підвищений вміст глюкози в крові може бути наслідком незбалансованості цієї системи. Підвищений вміст глюкози в крові, що спостерігається при цукровому діабеті, може бути викликаний не тільки нестачею інсуліну, але і посиленою дією глюкагону.

Необхідно відзначити, що за своєю дією глюкагон подібний до адреналіну, проте на відміну від останнього розщеплює глікоген тільки в печінці.

За хімічною природою глюкагон є поліпептидом, що складається з 29 залишків амінокислот.

Ліпокаїн стимулює окиснення жирів, жирних кислот і їх надходження з печінки до тканин, запобігає і усуває жирову інфільтрацію печінки, сприяє біосинтезу фосфоліпідів.

Препарати цього гормону застосовуються при лікуванні цукрового діабету, жирової дистрофії і цирозу печінки, атеросклерозу і т.д.

Ваготонін одержано з екстрактів підшлункової залози нещодавно і ще недостатньо вивчено. Припускають, що ваготонін стимулює процеси кровотворення, затримує розщеплення глікогену до глюкози, викликаючи тим самим зменшення кількості цукру в крові. Передбачається також, що цей гормон має білкову природу.

2.3.3. Інші гормони білкової природи

Гастрин утворюється в слизовій оболонці шлунка. Цей гормон стимулює секрецію хлороводневої кислоти, пепсину, впливає на секрецію панкреатичного соку і тонус травного каналу. Існує два види гастрину: гастрин I і гастрин II. За своєю фізіологічною дією вони практично ідентичні. Гастрин I - поліпептид, що складається з 17 амінокислот.

На відміну від гастрину I структура гастрину II відрізняється тим, що його молекула містить ще залишок сульфатної кислоти і називається гастринсульфат. Механізм дії цього гормону майже не вивчений.

Паратирин (паратгормон) є одним з основних регуляторів обміну кальцію і фосфору. Він виробляється навколощитовидними залозами, підвищує вміст кальцію і знижує вміст фосфору в крові.

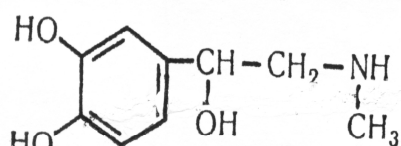
Місцем дії паратирину є скелет і нирки. У кістках він викликає різку активацію резорбтивних процесів, які посилюють деструкцію мінеральних і органічних компонентів цієї тканини, від чого підвищується вміст кальцію в крові. У нирках паратирин зменшує реабсорбцію фосфатів, що призводить до зниження їх рівня в крові.

Паратирин діє в клітинах кісткової тканини і нирок шляхом активації аденілатциклази, стимулюючи утворення цАМФ усередині клітин, які чутливі до цього гормону.

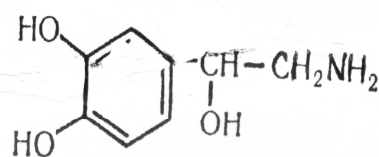
Хімічна природа й особливості будови паратирину повністю ще не визначені.

2.3.2. Гормони – похідні амінокислот

До таких гормонів належать гормони мозкової речовини надниркових залоз - адреналін і норадреналін, а також тироксин і його похідні, які виробляються щитовидною залозою. Адреналін і норадреналін синтезуються в клітинах мозкової речовини наднирників і симпатичних відділів нервової системи. Джерелом біосинтезу цих гормонів є амінокислота тирозин:



Адреналін



Норадреналін

Згідно з формулами, адреналін і норадреналін є похідними діоксибензолу - катехолу, або пірокатехіну, тому ці гормони називають ще катехоламинами.

Обидва гормони виконують функції медіаторів нервового збудження. Підвищене виділення гормонів в організмі викликає гіперглікемію і глюкозурію. На відміну від глюкагону, який прискорює розщеплення глікогену тільки в печінці, адреналін сприяє розщепленню його як у печінці, так і в м'язовій тканині. Механізм дії адреналіну пов'язаний зі зміною активності фосфорилази — ферменту, що розщеплює глікоген до глюкозофосфату. Як і ряд інших гормонів, адреналін током крові доставляється до своїх клітин-мішеней і взаємодіє з рецепторами, розміщеними на їх поверхні. Рецептори, взаємодіючи з аденілатциклазою, сприяють утворенню цАМФ, який і є посередником, що здійснює подальший вплив на активність фосфорилази. Остання викликає фосфороліз глікогену, перетворюючи його в глюкозо-1-фосфат - проміжний продукт окиснення глюкози.

Обидва гормони збільшують швидкість розщеплення білків у тканинах і виділення азотистих продуктів обміну із сечею.

При введенні в організм адреналіну (навіть у дозах 0,0001-0,00001 г на 1 кг живої маси) підвищується кров'яний тиск, частішає і посилюється серцебиття, сповільнюється перистальтика кишок, підвищується температура тіла і збільшується споживання тканинами кисню; нормально в крові міститься 0,015мг% адреналіну, при більшому вмісті його він діє як сильна отрута. На відміну від адреналіну, норадреналін не збільшує частоти пульсу і не посилює споживання кисню тканинами.

Захворювання наднирників іноді викликає гіперфункція мозкової речовини, що супроводжується підвищеною продукцією гормонів. Вміст їх у крові збільшується, у результаті чого посилюються реакції обміну, з'являються гіпертонія (із тахікардією), глюкозурія, гіперглікемія, розвивається атеросклероз, нефрит, пригнічується діяльність кори надниркових залоз. У таких випадках може настати смерть.

В корі надниркової залози знайдено декілька десятків індивідуальних стероїдів, багато з яких є біологічно активними та входять до групи кортикальних стероїдів гормонів або кортикостероїдами. В біосинтезі стероїдних гормонів приймають участь холестерин, вміст якого в корковому шарі наднирників досягає 5%. Кортикостероїди регулюють вуглеводний, ліпідний, білковий, сольовий, водний обміни; вміст в крові іонів натрію, калію, глюкози, сечовини та інше. 75-80% кортикостероїдів представлені альдостероном, кортикостероном, кортизоном.

Кортикальні гормони проявляють різну активність при регулюванні ходу однойменних процесів. Наприклад, альдостерону належить головна роль в регулюванні вмісту натрію та калію в крові, а кортикостерон

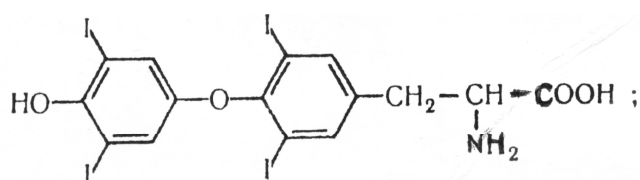
відіграє головну роль в регуляції утворення в організмі глюкози із білкових сполук.

Тироксин і трийодтиронін - гормони щитовидної залози, впливають на окисно-відновні ферменти мітохондрій, регулюючи тим самим процеси тканинного дихання.

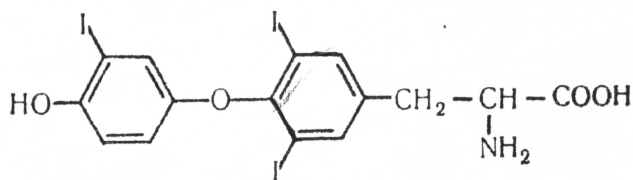
За своєю хімічною будовою обидва гормони являють собою йодовані форми похідного тирозину.

Встановлено, що трийодтиронін має більшу гормональну активність, ніж тироксин, у зв'язку з чим передбачається, що, можливо, саме він є основним гормоном щитовидної залози.

Потрапляючи в кров, ці гормони досягають клітин, де впливають на мітохондрії, в яких зосереджені окисно-відновні ферменти тканинного дихання. Деформуючи мембрану мітохондрій, вони тим самим регулюють процеси складних взаємозалежних окислювальних процесів, зокрема, окислювальне фосфорилування.



Тироксин (3, 5, 3', 5'-тетраіодтиронін)



3, 5, 3'-Трийодтиронін

Як відомо на цей час, тироксин стимулює синтез великої кількості ферментів, підвищує активність ферменту, що каталізує реакцію окислювального дезамінування глутамінової кислоти-глутаматдегідрогеназу, активізує обмін нуклеїнових кислот, білків, ліпідів, мінеральних речовин, прискорює процеси росту і розвитку організму. Тироксин і трийодтиронін підвищують активність гексокінази — першого ферменту при окисненні глюкози, а також забезпечують адаптацію організму до низьких температур, роз'єднуючи реакції клітинного дихання й окислювального фосфорилування, у результаті чого зменшується утворення АТФ і виділяється більше тепла.

За умови гіперфункції щитовидної залози і посиленої продукції гормонів в організмі інтенсифікуються окислювальні процеси, роз'єднується окислювальне фосфорилування, у результаті чого підвищується температура організму, спостерігається підвищена

збуджуваність і втрата маси тіла. Це відбувається внаслідок того, що надлишок тироксину порушує окислювальне фосфорилування в мітохондріях, окиснення не супроводжується синтезом макроергічних зв'язків і здійснюється "вхолосту", незважаючи на інтенсивний загальний обмін. Посилення окислювальних процесів супроводжується розщепленням тканинних білків, жирів і вуглеводів, що призводить до виснаження організму і розвитку базедової хвороби.

За нестачі в їжі йоду спостерігається збільшення розмірів щитовидної залози з утворенням так званого зоба, звідки назва хвороби "зобна". Зобна хвороба виникає в людей, що живуть у гірських районах, де в питній воді міститься недостатня кількість йоду. У зв'язку з цим хвороба називається також "ендемичним зобом". Для лікування ендемічного зоба у питну воду і їжу додають сіль йоду.

Переродження щитовидної залози призводить до зниження продукції гормонів, що викликає послаблення основного обміну, ожиріння і передчасне старіння.

У 1963 р. у тканинах щитовидної залози був відкритий ще один гормон — кальцитонін, або тиреокальцитонін. Механізм його біологічної дії досліджено ще недостатньо. Відомо, що гормон сприяє переходу кальцію з крові в кісткову тканину. Він активізує діяльність ферменту лужної фосфатази і посилює виділення фосфатів із сечею, підтримуючи таким чином постійний рівень у крові не тільки кальцію, але й фосфору.

2.3.5. Гормони – похідні жирних кислот

Простагландини були вперше виявлені в сім'яній рідині простати. Проте, як стало відомо, у невеликих кількостях вони містяться в багатьох органах і тканинах. За своєю біологічною дією простагландини можна віднести до клітинних гормонів. Вони впливають на активність аденілатциклази, яка регулює в клітинах вміст цАМФ — посередника між гормонами і ферментами. Простагландини звичайно утворюються з поліненасичених жирних кислот, з лінійним ланцюгом із 20 атомів вуглецю. Попередниками їх виступають ненасичені жирні кислоти: лінолева, ліноленова, арахідонова й ін. Під впливом спеціалізованої ферментної системи в мікросомах клітин відбувається окислювальна циклізація вуглецевого ланцюга з утворенням циклопентанового або циклопентенового кільця в середині ланцюга жирної кислоти:

Простагландини поділяють на декілька груп, що позначаються літерами А, В, С, Д і т.д. Всередині кожної групи окремі представники різняться між собою кількістю подвійних зв'язків у бічних ланцюгах.

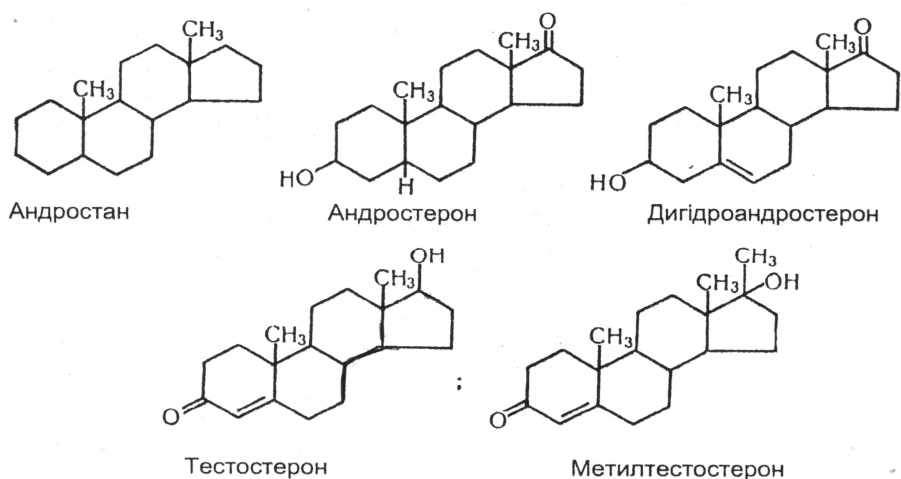
На відміну від інших гормонів біосинтез простагландинів не має чіткої локалізації; вони утворюються в різних органах і тканинах і мають

короткочасну біологічну дію. Простагландини служать модуляторами гормональної активності. Різні представники цієї групи сполук стимулюють скорочення гладких м'язів, знижують кров'яний тиск і пригнічують активність таких гормонів, як вазопресин.

2.3.6. Гормони – похідні холестерину, або стероїдні гормони

До стероїдних гормонів належать гормони статевих залоз і кори надниркових залоз.

Гормони чоловічих статевих залоз. Чоловічі статеві гормони, або андрогени, синтезуються в основному в сім'яниках, деяка частина - в яєчниках і корі надниркових залоз. Всі андрогени є похідними циклічного вуглеводню циклопентанпергідрофенантрону, точніше його метильованого похідного - андростану. З андростану утворюються чоловічі статеві гормони андростерон, дегідроандростерон, тестостерон і їх штучний аналог — метилтестостерон:



Біосинтез цих гормонів регулюється гормонами передньої долі гіпофізу - фолітропіном і лютропіном.

Діяльність чоловічих статевих гормонів спрямована на розвиток і прояв вторинних статевих ознак. Секреція їх відбувається безупинно. Будучи стероїдними гормонами, вони дуже легко проникають через мембрани клітин-мішеней і зв'язуються зі специфічними білками, створюючи гормон-білкові комплекси. Останні проникають в ядро, де здійснюють свій вплив на біосинтез ДНК і РНК, а потім на клітинний синтез білку.

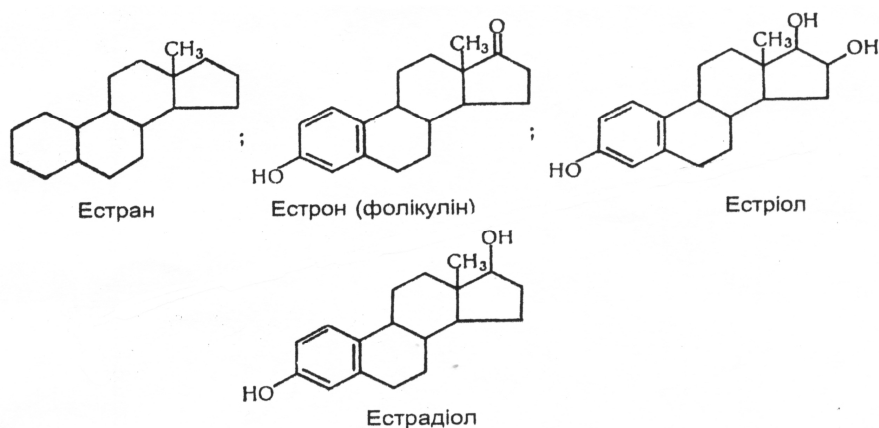
Андрогени впливають на різноманітні види обміну, стимулюють біосинтез білку в м'язовій тканині, сприяють накопиченню в організмі азоту, фосфору, калію, натрію, хлору.

Якщо продукції андрогенів недостатньо, відбувається переорієнтування обміну речовин на відкладення надлишкової кількості жиру.

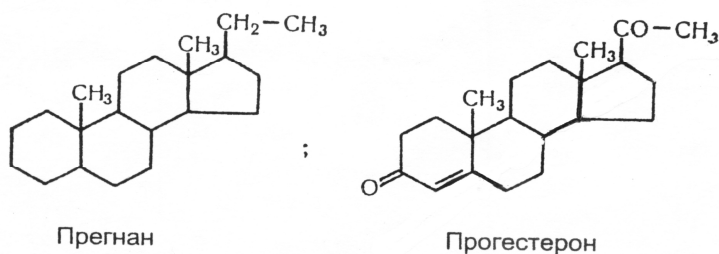
Гормони жіночих статевих залоз. Жіночі статеві гормони впливають на розвиток органів дітородіння і стимулюють їх нормальну функцію. Вони здійснюють також вплив на формування вторинних статевих ознак жіночого організму - характерна будова тіла, особливість голосу і волосяний покрив. Синтезуються жіночі статеві гормони в яєчниках, у корі надниркових залоз, а також у плаценті.

Всі жіночі статеві гормони можна поділити на п'ять груп: естрогени, прогестерон, релаксин, андрогени і гормони плаценти. Найбільш важливими з них є естрогени, прогестерон і гормони плаценти.

Естрогени і прогестерон є похідними циклопентанпергидрофенантрону. Естрогени синтезуються у фолікулах яєчника. В основі їх молекул міститься ядро естрану, тому вони називаються естроном, або фолікуліном, естріолом і естрадіолом:



Прогестерон - це гормон жовтого тіла, в основі молекули якого лежить похідне прегнану:



Утворення цих гормонів відбувається циклічно. Спочатку в яєчнику в клітинах фолікулів утворюються естрогени. Після овуляції, тобто після розриву фолікул і виходу яйцеклітини, утворюється жовте тіло, що виробляє прогестерон. За відсутності вагітності жовте тіло розсмоктується. Потім знову у фолікулах синтезуються естрогени, і цикл повторюється.

Таке циклічне утворення естрогенів і прогестерону регулюється по черзі гормонами гіпофізу - фолітропіном і лютропіном.

Під час вагітності в жіночому організмі розвивається новий орган, в якому продукуються гормони - плацента. У плаценті синтезується гормон хоріонгонадотропін. За своєю хімічною природою він є глікопротеїдом, і його біосинтез відбувається так само, як типовий синтез білку.

Між дією естрогенів і прогестерону існує тісний взаємозв'язок. Естрогени зумовлюють розвиток у жінок вторинних статевих ознак, створюють оптимальні умови для запліднення яйцеклітини, готують матку для імплантації заплідненої яйцеклітини. У період вагітності на місці фолікула, який лопнув, розвивається жовте тіло, що виробляє прогестерон. Цей гормон стимулює подальший розвиток маткових залоз і виділення ними секрету, який є поживною і захисною речовиною для яйцеклітини, що розвивається. Під час вагітності прогестерон сприяє розвитку молочних залоз, уповільнює синтез лютропіну і цим попереджує овуляцію нових фолікулів. Хоріонгонадотропін сприяє нормальному перебігу вагітності.

Крім репродуктивних функцій, статеві гормони стимулюють процеси тканинного дихання, регулюють фосфорно-кальцієвий і жировий обмін. Вони активують ряд ферментів циклу трикарбонових кислот. У чоловіків андрогени посилюють утворення білків у скелетних м'язах, зумовлюючи тим самим міцність і масу м'язової і кісткової систем. У жінок естрогени посилюють переважно процеси біосинтезу білків у матці.

За останні роки одержано ряд даних, які свідчать про те, що андрогени та естрогени активізують біосинтез інформаційної, транспортної і рибосомної РНК і посилюють синтез білків.

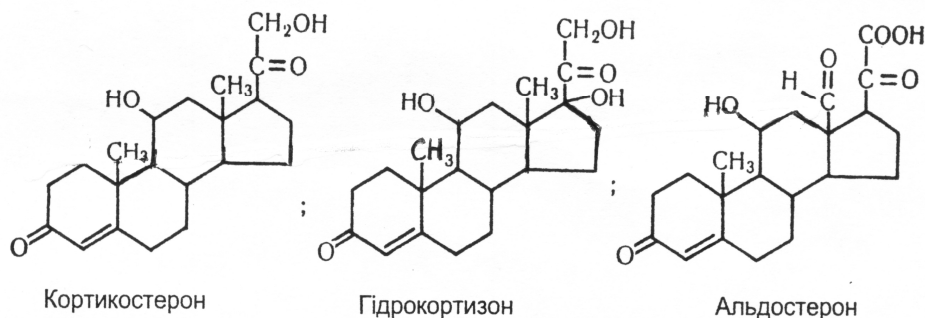
Порушення функцій статевих залоз або їх видалення (кастрація) викликає зниження збудження, затрудняє утворення умовних рефлексів, веде до деградації вторинних статевих ознак, послаблює інтенсивність окислювальних процесів та стимулює відкладення ліпідів в організм

2.3.7. Гормони кори надниркових залоз

Відкриття гормонів кори надниркових залоз пов'язано із з'ясуванням причин бронзової хвороби, що виникла в результаті переродження клітин цього органа. На цей час відомо шість гормонів кори надниркових залоз, але найбільш важливими з них є гідрокортизон, кортикостерон і альдостерон — гормони стероїдної природи (кортикостероїди).

Під впливом кортикостерону і гідрокортизону збільшується розпад білків і уповільнюється їх синтез, через що зменшується маса тіла. Виявлено також, що ці гормони знижують активність ферменту гексокінази і тим самим гальмують фосфорилування цукрів, у результаті чого зменшується їх окиснення і використання для біосинтезу полісахаридів. Одночасно кортикостерон і гідрокортизон активують

ферменти, які розщеплюють фосфорні ефіри цукрів на вільні цукри і фосфатну кислоту.



Завдяки цьому в клітинах печінки і м'язів накопичується глюкоза, збільшується вихід її в кров, звідки вона надходить у мозок, нирки й інші органи, де використовується. Кортикостероїди є регуляторами процесів, при яких відбувається перехід вуглеводів і білків у жири: вони послаблюють декарбоксилювання піровиноградної кислоти і перетворення її в ацетил-КоА — проміжний продукт, який зв'язує обмін вуглеводів, білків і жирів.

Дія кортикостероїдів спрямована не тільки на розщеплення вуглеводів, але і на процеси їх біосинтезу. Зокрема, вони стимулюють утворення глікогену в печінці і м'язах. Вони активують також ряд ферментів білкового обміну, наприклад, аспартат і аланін аміотрансфераз, сприяючи тим самим перетворенню амінокислот у кетокислоти і навіть у вуглеводи. Установлено також, що вони стимулюють і біосинтез сечовини, активуючи весь комплекс ферментів, що каталізують цей процес.

Альдостерон впливає на водно-сольовий обмін. Він сприяє затримці в тканинах натрію і хлору, створюючи тим самим умови для утримання організмом води. За нестачі цього гормону вміст натрію і хлору в тканинах знижується, в результаті чого падає осмотичний тиск і настає зневоднення організму.

Таким чином, гормони як важливі регулятори різноманітних процесів обміну речовин впливають на формування особливостей будови і функцій організму. Оскільки універсальними регуляторами хімічних процесів у всіх живих організмів є ферменти, то регуляторна дія гормонів на обмін речовин здійснюється впливом їх на ферментативні процеси.

2.3.8. Практична частина

Дослідження властивостей деяких гормонів.

Гормони належать до біологічно активних органічних речовин, невеликі кількості яких викликають глибоку відповідну реакцію організму.

Вони виробляються залозами внутрішньої секреції. До залоз внутрішньої секреції відносять щитовидну залозу, паращитовидні залози, надниркові залози, підшлункову залозу, статеві залози, гіпофіз, епіфіз, зобну залозу. Діяльність ендокринних залоз не автономна, а знаходиться під контролем центральної нервової системи.

За своєю хімічною природою гормони можна поділити на такі основні групи: гормони поліпептидної природи, білкової природи, похідні деяких амінокислот та гормони стероїдної природи.

До гормонів поліпептидної та білкової природи відносяться залози пара щитовидних залоз, гіпофізу, підшлункової залози. До гормонів стероїдної природи відносяться гормони коркового шару надниркових залоз, статевих залоз. Похідними амінокислот є гормони мозкового шару надниркових залоз, щитовидної залози, епіфізу. За останні роки була виділена в хімічно чистому виді велика кількість гормонів, вивчена їх хімічна структура та розроблені методи синтезу. Механізми дії багатьох гормонів і на сьогоднішній день залишаються недостатньо вивченими.

Захворювання, що виникають у гідробіонтів на ґрунті порушення функцій тієї чи іншої залози, переважно розглядаються як наслідок гіпофункції залози або гіперфункції. При цьому окремі ендокринні залози через свої гормони впливають не тільки на функцію різних органів та тканин тіла, але і на функцію інших залоз внутрішньої секреції і на нервову систему. Таким чином вони впливають на діяльність всього організму в цілому.

За характером дії всі гормони можна розділити на дві групи. Першу складають гормони, які не проникають у клітину і здійснюють свій вплив через посередників. Діють вони швидко, миттєво змінюючи один або декілька метаболічних процесів. Гормони другої групи проникають у ядра клітин і дія їх проявляється на рівні генів. Вони стимулюють синтез специфічних РНК і білків. До них відносять стероїдні гормони.

Гормони, що діють через посередника, доставляються плазмою крові у вільному або зв'язаному зі спеціальними білками плазми стані до клітин тканин. При цьому гормонам характерна певна специфічність стосовно клітин - кожний із них діє тільки на певні типи клітин, які називають "клітинами-мішенями". Як встановлено останнім часом, на мембранах клітин-мішеней є рецептори, специфічні для кожного з гормонів. Зафіксувавши відповідний гормон, рецептор клітинної мембрани активізує потім розміщений у клітинній мембрані фермент — аденілатциклазу. Аденілатциклаза у свою чергу каталізує синтез речовини, яка називається циклічним АМФ (цАМФ), вона і здійснює подальший вплив всередині клітини. Іншими словами, всередині клітини гормональну дію продовжує не сам гормон, а його посередник - цАМФ.

Гормони білкової природи виробляються підшлунковою залозою. Її гормонами є інсулін, глюкагон, ліпокаїн і ваготонін. Всі вони

виробляються в основному в клітинах острівців Лангерганса. Інсулін впливає на багато ланок обміну речовин, проте, насамперед, він сприяє використанню вуглеводів. Як регулятор інсулін підтримує активність ферменту гексокінази, стимулюючи тим самим процеси фосфорилування цукрів - першого обов'язкового етапу, без якого в організмі не може використовуватися глюкоза. Одночасно з цим він гальмує функцію глюкозо-6-фосфатази (наступного ферменту в процесі перетворення глюкози), захищаючи фосфорильовані гексози від подальшого розщеплення. Таким чином, інсулін сприяє підвищенню кількості глюкозофосфорних ефірів і тим самим затримці і використанню вуглеводів у клітині.

До гормонів, похідних амінокислот належать гормони мозкової речовини надниркових залоз - адреналін і норадреналін, а також тироксин і його похідні, які виробляються щитовидною залозою. Адреналін і норадреналін синтезуються в клітинах мозкової речовини наднирників і симпатичних відділів нервової системи. Джерелом біосинтезу цих гормонів є амінокислота тирозин. Обидва гормони збільшують швидкість розщеплення білків у тканинах і виділення азотистих продуктів обміну із сечею.

На цей час відомо шість гормонів кори надниркових залоз, але найбільш важливими з них є гідрокортизон, кортикостерон і альдостерон — гормони стероїдної природи (кортикостероїди):

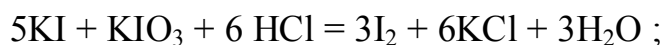
Під впливом кортикостерону і гідрокортизону збільшується розпад білків і уповільнюється їх синтез, через що зменшується маса тіла. Виявлено також, що ці гормони знижують активність ферменту гексокінази і тим самим гальмують фосфорилування цукрів, у результаті чого зменшується їх окиснення і використання для біосинтезу полісахаридів. Одночасно кортикостерон і гідрокортизон активують ферменти, які розщеплюють фосфорні ефіри цукрів на вільні цукри і фосфатну кислоту. Завдяки цьому в клітинах печінки і м'язів накопичується глюкоза, збільшується вихід її в кров, звідки вона надходить у мозок, нирки й інші органи, де використовується.

Дослід 1. Реакція на гормони щитовидної залози.

Виявлення йоду.

Гормони щитовидної залози є йодовмісними сполуками. При їх руйнуванні утворюється йодид калію, який окислюється KIO_3 в кислому середовищі з утворенням молекулярного йоду, який дає з крохмалем синє забарвлення.

Хімізм реакції:



I_2 + крохмаль = синє забарвлення.

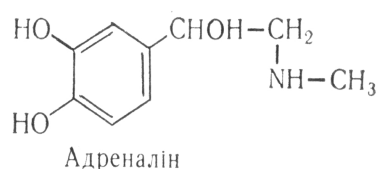
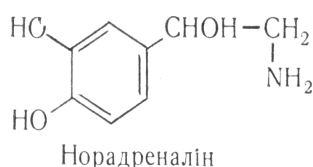
Хід роботи.

У ступку кладуть 5 таблеток тиреоїдину або 100—200 мг подрібненої і висушеної тканини щитовидної залози і старанно розтирають. Утворену масу переносять у колбу для гідролізу, додають 5 мл 10%-ного розчину NaOH і 5 мл води. Кип'ять на азбестовій сітці 10—15 хв.

До 3 мл охолодженого гідролізату додають 10%-ний розчин сірчаної кислоти до кислої реакції на лакмус. Після підкислення додають 5 краплин 1%-ного розчину крохмалю і 1 мл 2%-ного розчину KIO_3 . Йод, що виділяється, дає синє забарвлення з крохмалем.

Дослід 2. Реакції на гормони мозкового шару надниркових залоз (адреналіну, норадреналіну).

Реакція з хлоридом заліза (III) характерна для кільця пірокатехіну, що входить до молекули адреналіну і норадреналіну. Сполуки, які мають це кільце, з хлоридом заліза (III) дають зелене забарвлення.



Хід роботи.

А) У пробірку наливають 1 мл розчину адреналіну, додають 1 краплину розчину $FeCl_3$ і перемішують. Спостерігають появу зеленого забарвлення. Після цього додають 1 краплину 10%-ного розчину NaOH—виникає вишнево-червоне забарвлення.

Б) *Реакція з діазореактивом.* При наявності діазореактиву розчин адреналіну забарвлюється в червоний колір.

Хід роботи.

У пробірку наливають 1 мл 1%-ного розчину сульфанілової кислоти, 1 мл 5%-ного розчину нітриту натрію, 1,5 мл розчину адреналіну, 1 мл 10%-ного розчину Na_2CO_3 і перемішують. Спостерігають забарвлення розчину в червоний колір.

В) *Реакція з KIO_3 .* Адреналін у кислому середовищі з KIO_3 утворює сполуку червоно-фіолетового кольору. У пробірку, що містить 2—3 краплини розчину адреналіну, додають 2 краплини 10%-ного розчину KIO_3 і 2 краплини 10%-ного розчину оцтової кислоти. Рідину злегка підігрівують. Виникає червоно-фіолетове забарвлення.

Г) *Реакція з нітритно-молібденовим реактивом.* Адреналін з нітритно-молібденовим реактивом у кислому середовищі дає сполуку забарвлену в оранжевий колір.

Хід роботи.

У пробірку наливають 1 мл водного розчину адреналіну, 1 мл 5%-ного розчину соляної кислоти, 1 мл нітритно-молібденового реактиву і суміш перемішують. Розчин забарвлюється в жовто-оранжевий колір. При добавлянні кількох краплин 10%-ного розчину гідроксиду натрію виникає малиново-червоне забарвлення, яке при добавлянні кількох краплин концентрованої соляної кислоти переходить у лимонно-жовте.

Дослід 3. Кількісне визначення адреналіну за методом Фоліна.

Цей метод ґрунтується на колориметричному визначенні інтенсивності синього забарвлення, що утворюється при взаємодії адреналіну з реактивом Фоліна. Реактив Фоліна складається з солей фосфорновольфрамової і фосфорномолібденової кислот. Ці солі при взаємодії з фенолами і поліфенолами відновлюються з утворенням оксидів металів, з нижчим ступенем окислення, комплекси яких забарвлені в синій колір.

Хід роботи.

У дві мірні сухі пробірки місткістю 10 мл відмірюють піпеткою: у першу — 1 мл стандартного розчину адреналіну, у другу — 1 мл досліджуваного розчину. Для приготування стандартного розчину адреналіну в мірну колбу місткістю 25 мл наливають піпеткою 1 мл розчину адреналіну (1 : 1000) і доливають водою до риски. 1 мл стандартного розчину містить 0,04 мг адреналіну. У кожену пробірку добавляють по 4 мл 10%-ного свіжоприготовленого розчину Na_2CO_3 і по 0,5 мл реактиву Фоліна. Вміст пробірок струшують. Рідина поступово забарвлюється в синій колір, максимум інтенсивності забарвлення настає через 3—5 хв. Через 5 хв об'єм рідини у пробірках доливають до риски 10%-ним розчином Na_2CO_3 . Вміст пробірок перемішують і забарвлення досліджуваної рідини порівнюють у фотоколориметрі з забарвленням стандартного розчину адреналіну.

Кількість адреналіну в досліджуваному розчині C_1 розраховують за формулою:

$$C_1 = \frac{0,04h \cdot 100}{h_1} \quad \text{мг \%}$$

де h — висота шару стандартного розчину; h_1 — висота шару досліджуваного розчину.

Дослід 4. Реакції на гормон підшлункової залози (інсулін).

Для інсуліну, який є білком, характерні реакції на білки. Реакції, що свідчать про білкову природу інсуліну. З розчином інсуліну проводять такі якісні реакції: Біуретову, Мілона, тощо.

Реакція інсуліну з розбавленим розчином гідроксиду натрію. До 1-1,5мл розчину інсуліну додають краплями 0,1%-ний розчин гідроксиду натрію до появи осаду, який розчиняється при додаванні 0,5%-ного розчину оцтової кислоти.

Дослід 5. Якісні реакції на фолікулін (естрон).

А) Реакція з сірчаною кислотою. Фолікулін із сульфатною кислотою забарвлюється в жовтий колір, який при нагріванні переходить в оранжевий.

Хід роботи.

У пробірку наливають 3мл спиртового розчину фолікуліну і ставлять її в киплячу водяну баню на 10—15 хв для видалення спирту. До фолікуліну, що залишився в пробірці, додають 20мл концентрованої сірчаної кислоти і пробірку знову ставлять у киплячу водяну баню на 10 хв. Рідина в пробірці забарвлюється в жовтий колір, який при нагріванні переходить в оранжевий із зеленою флюоресценцією.

Б) Реакція з діазореактивом. Фолікулін з діазореактивом утворює сполуку, що має світло-жовте забарвлення.

Хід роботи.

До 3 мл спиртового розчину фолікуліну додають 2 мл 10%-ного розчину карбонату натрію і 2—3 мл діазореактиву. Спостерігають появу світло-жовтого забарвлення.

В) Утворення феноляту фолікуліну. У лужному середовищі фолікулін утворює розчинний у воді фенолят фолікуліну.

Хід роботи.

У дві сухі пробірки наливають по 0,5 мл розчину фолікуліну. В одну пробірку додають 1 мл води, перемішують, спостерігають утворення емульсії фолікуліну. У другу пробірку додають таку саму кількість 30 % - ного розчину гідроксиду натрію — емульсія не утворюється.

Г) Реакція на фенольну групу. Наявність фенольної групи в молекулі фолікуліну можна виявити за допомогою реактиву Фоліна.

Хід роботи.

До 2 мл розчину фолікуліну додають 1 мл 30%-ного розчину гідроксиду натрію і 1 мл реактиву Фоліна. Виникає характерне для фенольної групи синє забарвлення.

Д) Реакція на 17-кетогрупу. Фолікулін у лужному середовищі з м-динітробензолом утворює сполуку, забарвлену в червоний колір.

Хід роботи.

У суху пробірку наливають 1 мл розчину фолікуліну (виготовлений з риб'ячої ікри), 1 мл 30%-ного розчину гідроксиду натрію і 1 мл 2%-ного спиртового розчину м-динітробензолу. Через 5—8 хв. спостерігають появу червоного забарвлення.

Дослід 6. Якісні реакції на кортизон.

Реакція з сірчаноокислим фенілгідразином. Реакція зумовлена утворенням фенілгідразину, а потім оазону за рахунок карбонільних груп кортизону.

Хід роботи.

1 мг кортизон-ацетату розчиняють в 1 мл метилового спирту, додають 5 мл розчину сірчаноокислого фенілгідразину і нагрівають на водяній бані. Через кілька хвилин з'являється жовте забарвлення.

Реакція з реактивом Феллінга. Карбонільні групи кортизону відновлюють сіль міді (II) до солі міді (I), відбувається зміна забарвлення до червонувато-оранжевого коліру.

Хід роботи.

10 мг кортизон-ацетату розчиняють в 1 мл метилового спирту і проводять реакцію з реактивом Феллінга. Випадає червонувато-оранжевий осад геміоксиду міді.

Контрольні питання

1. Що таке гормони?
2. Чим відрізняються гормони від вітамінів і ферментів?
3. Які гормони виробляються щитовидною залозою?
4. Що таке кортикостероїди?
5. Що таке інсулін і яка його хімічна природа?
6. Який вплив гормонів на обмін речовин у гідробіонтів?
7. Яка природа жіночих і чоловічих статевих гормонів?

8. Які гормони виділяються передньою та задньою долями гіпофізу?
9. Вкажіть якісні реакції на гормон надниркової залози – адреналін.
10. За допомогою якого реактиву можна встановити наявність йоду в гормонах щитовидної залози?
11. Як кількісно можна визначити наявність адреналіну? Як називається цей метод?
12. Вкажіть якісні реакції на гормон підшлункової залози – інсулін.
13. Які ви знаєте якісні реакції на кортизон?
14. Класифікувати гормони за їх хімічною природою.

2.4. Мінеральні речовини в складі гідробіонтів

2.4.1. Вміст та елементарний склад

На відміну від представників наземного світу гідро біонти постійно знаходяться в середовищі, що має високий вміст солей: 50-290 мг/л в прісній воді та 15000- 38000 мг/л у морській воді та незначний вміст газоподібного кисню, що значно впливає на кількісний вміст та якісний склад мінеральних речовин, що входять до складу тканин гідробіонтів.

Загальний вміст мінеральних речовин в тканинах гідробіонтів залежить від фізіологічного та анатомічного призначення тканини, та від біохімічних особливостей виду. Ці особливості розкриває таблиця 2.7.

Таблиця 2.7. Вміст мінеральних речовин в тканинах гідробіонтів

Група організмів, тканина	Вміст золи, %	
	Нативна речовина	Суша речовина
Риба		
кров	1,0 - 1,8	12,4 - 24,3
м'язи	0,4 - 4,1	1,9 - 16,6
кістки	5,0 - 15,6	20,4 - 34,7
луска	16,5 - 32,0	38,6 - 48,3
Морські ссавці		
кров	0,8 - 0,95	8,0 - 12,4
м'язи	1,0 - 1,4	3,5 - 4,8
кістки	12,5 - 28,4	30,6 - 48,6
Молюски двостулкові		
м'яз-замикач	1,2 - 2,8	5,2 - 14,0
мантія	1,6 - 3,6	14,5 - 20,2
мушля	92,6 - 96,8	97,4 - 98,9
Ракоподібні		
м'язи	1,1 - 2,2	4,9 - 10,4
панцир	8,0 - 12,6	27,6 - 38,4
Морські зірки	10,9 - 24,5	42,1 - 60,2
Губки м'які	4,2 - 6,7	28,3 - 43,0
Губки кремнієві	8,6 - 14,6	47,0 - 65,1
Водорості		
зелені	2,8 - 4,7	13,6 - 22,4
бурі	6,2 - 8,2	36,4 - 49,2
червоні	5,0 - 6,9	25,4 - 37,6

Серед костистих морських риб найбільш високий вміст мінеральних речовин виявлений в сухій речовині деяких видів камбал (до 16,6%), а найменший (до 6,8%) – у оселедцевих, у прісноводних костистих риб більше всього мінеральних речовин в сухій речовині у коропових.

Суттєво змінюється вміст мінеральних речовин в м'язах риб в залежності від їх біологічного стану. Наприклад, у оселедців в період нересту вміст мінеральних речовин коливається від 4,2 до 9,5%, а у жируючих оселедців значно менше від 3 до 6,8%. У тихоокеанських лососів вміст мінеральних речовин знижується тоді, коли риби йдуть на нерест та заходять в прісну воду.

Відносний вміст солей в сухій речовині знаходиться в прямій залежності від складу води. (Табл. 2.8.)

Таблиця 2.8. Залежність вмісту солей від води в організмах риб

Костисті риби	Вміст , %	
	води в речовині	солей в сухій речовині
Прісноводні:		
нагул	52,4 - 53,5	2,0 - 2,6
нерест	70,0 - 72,2	3,7 - 5,9
Морські :	75,5 - 80,6	5,3 - 7,2
нагул	68,0 - 70,1	4,2 - 5,6
нерест	72,6 - 73,9	4,2 - 6,6
	78,0 - 81, 0	8,5 - 8,9

Відміни в загальному вмісті солей в сухій речовині м'язів морських та прісноводних видів пов'язані з особливостями процесу осморегуляції.

У двостулкових молюсків (гребінець, мідія, устриця, мактра) в м'язах накопичується набагато більше мінеральних речовин, ніж у м'язах риб. Особливо високий вміст мінеральних речовин є в мантиї, в якій продукуються мінеральні компоненти для побудови мушлі. Вміст мінеральних речовин в м'язах молюсків залежить від ряду причин біологічного характеру. Наприклад, у молодих мідій вміст мінеральних речовин в мантиї значно вищий ніж у старих. В мантиї гребінця в період відкладання ікри вміст мінеральних речовин значно менший, а до осені – різко зростає, що пов'язано з інтенсифікацією процесів формування мушлі.

Вміст мінеральних речовин в м'ясі ракоподібних (камчатський, синій краби, креветки) пов'язаний з біохімічними змінами крові в період линьки. Спочатку відбувається демінералізація старого панцира, а потім відкладення вапнякових відкладень в хітинову основу нового панцира.

Вміст в тканинах гідробіонтів деяких елементів може в сотні разів і навіть в десятки тисяч разів перевищувати їх концентрацію в гідросфері, а вміст інших елементів може бути більш низьким, ніж у гідросфері.

Наприклад, в тканинах тіла морських риб відбувається вибіркова концентрація Нітрогену, Сульфуру, Фосфору, Кальцію, Йоду та інших елементів, проте вміст Хлору, Магнію, Натрію набагато нижчий ніж у воді.

Деякі види бурих водоростей, навпаки, здатні вибірково концентрувати в тканинах калій, натрій, хлор, особливо йод, бром та ряд інших елементів. Гідробіонти, що мають сильно мінералізовані тканини, навпаки мають здатність акумулювати величезні кількості кальцію, кремнію. Якщо для риб біохімічно специфічним є накопичення в крові заліза, то ракоподібних в крові акумулюється мідь.

2.4.2. Біологічна роль мінеральних елементів та їх вміст в тканинах гідробіонтів.

Мінеральні солі відіграють важливу роль в життєдіяльності тварин та рослин, приймаючи участь в обміні речовин.

В тканинах живих організмів мінеральні елементи присутні в формі електролітів, розчинених в тканинних рідинах, в формі нерозчинних солей, що відкладаються в твердих тканинах, та в складі молекул деяких біологічно активних речовин (вітаміни, гормони, ферменти, гемоглобіни, коферменти, лецитини, кефаліни та інші).

Розчинні в тканинних рідинах електроліти необхідні для забезпечення умов нормальної життєдіяльності організмів. Вони мають сильний вплив на стан гідрофільних колоїдних систем, концентрацію водневих іонів та осмотичний тиск в біологічних рідинах. Серед цієї групи мінеральних речовин основна роль належить хлористим солям натрію та калію.

Від хімічної природи, валентності та концентрації катіонів та аніонів залежать такі важливі властивості білкових систем, як ступінь дисперсності, гідратації та розчинності. Наприклад, йони натрію сприяють набухання білків, а іони калію і особливо кальцію – дегідратації білкових колоїдів; йони натрію підвищують збудливість клітин кори головного мозку, а йони кальцію знижують її. Тому на життєдіяльність клітин, крім величин осмотичного тиску та рН, великий вплив має концентрація йонів і особливо співвідношення між окремими йонами в біологічних рідинах.

В процесі обміну в клітинах утворюються кислоти (піровиноградна, молочна оцтова) і продукти з лужними властивостями (наприклад, аміак), це супроводжується зміною рН. Однак присутні в організмі бікарбонати та фосфати попереджують зміну рН тканинних рідин за рахунок утворення буферних систем.

Бікарбонати та фосфати при взаємодії з H^+ та OH^- йонами утворюють солі, що мають слабо виражені кислі та основні властивості, або малодисоційовані кислоти.

Якщо в організмі відбувається накопичення аміаку, його нейтралізація здійснюється або дикарбоновими кислотами (аспарагінова, глутамінова) з утворенням амідів, або вугільною чи фосфатною кислотами

Кінцеві продукти реакцій обміну в людини видаляються сечею, а CO_2 - при диханні.

Нерозчинні солі, в основному вуглекислий та фосфорнокислий кальцій, складають основу твердих тканин (луска, кістки, мушлі, панцир), що утворюють опорні системи в організмі. Особливо важливу біологічну роль відіграють мінеральні елементи, що входять до складу біологічно активних речовин.

Солі, що входять до складу їжі, напоїв, всмоктуються через слизову оболонку кишечника та разом з кров'ю поступають до печінки. В потоці крові вони розподіляються по органах та тканинах організму.

Одночасно з надходженням солей відбувається постійне виділення їх із організму через нирки, слизову оболонку кишечника, шкіру (із слизом), а у теплокровних – з потом. Для того, щоб в організмі не створювалось сольового дефіциту, надходження солей разом з їжею та напоями повинно якісно та кількісно компенсувати втрати мінеральних речовин.

Участь мінеральних елементів в обміні досить специфічна. Наприклад, для формування та росту кісткової тканини необхідні солі кальцію, фосфорної кислоти, магнію, фтору. Для формування плазми крові та міжклітинної рідини в першу чергу необхідні натрій, калій у вигляді хлоридів, карбонатів, гідро фосфатів. Причому, якщо в плазмі крові вміст йонів калію невеликий, основними є йони натрію, то в еритроцитах концентрація натрію низька, а калію висока.

Суттєво відрізняється якісний склад солей всередині та зовні клітинних рідин: якщо в перших переважають іони калію, фосфору, то в других – натрію, хлору, вуглекислого газу. Здатність організму регулювати концентрацію мінеральних солей в тканинних рідинх забезпечує можливість створювати постійний осмотичний тиск клітинного соку та міжклітинної рідини та дозволяє змінювати напрямок руху води як всередині організму, так і між організмом та зовнішнім середовищем (осморегуляція).

2.4.2.1. Натрій та калій.

Йони натрію, калію, хлору відіграють основну роль в створенні та регуляції осмотичного тиску.

У теплокровних тварин і костистих риб йони натрію (Na^+) в основному зосереджуються в біологічних рідинх (плазма крові, міжклітинна рідина, сік підшлункової залози), присутні головним чином у

вигляді хлориду натрію, який регулює осмотичний тиск цих біологічних рідин.

Йони калію (K^+) зосереджені в клітинах, причому присутні не тільки у вигляді хлоридів, але і білкових сполук (гемоглобін). Якщо в сироватці крові міститься 140-150 моль/л натрію і тільки 5-8 моль/л калію. То в еритроцитах вміст йонів калію досягає 100-115 моль/л.

В м'язах йони натрію підтримують нормальну м'язову збудливість, а йони калію пригнічують їх дію. Йони натрію та калію приймають участь в підтриманні кислотно - лужної рівноваги в організмі. Калій активує деякі ферменти в організмі, що приймають участь у вуглеводному обміні.

В регуляції вмісту калію та натрію приймають участь гормони коркової речовини наднирників. Тому при порушенні гормональної діяльності підсилюється виведення із організму іонів натрію та концентрація його в плазмі крові зменшується, а концентрація іонів калію – зростає; причому при збільшенні концентрації йонів калію в плазмі до 60 мг % настає токсикоз організму.

Надлишок хлориду натрію також має токсичну дію. У нативних тканинах гідробіонтів вміст натрію коливається від 30 до 870, а калію – від 60 до 1560 мг % (табл. 2.9.)

Таблиця 2.9. Вміст калію та натрію в тканинах гідробіонтів

Тканина	Вміст калію та натрію , в мг %			
	Нативна речовина		Суша речовина	
	калій	натрій	калій	натрій
М'ясо костистих риб прісноводних морських	60-420	30-130	320-2100	150-670
	104-975	90-130	520-2900	450-670
М'ясо двостулкових моллюсків	80-200	340-380	400-1000	1700-1990
М'ясо головоногих морських моллюсків	180-480	-	650-2400	-
М'ясо ракоподібних морських	120-520	110-140	590-2560	530-720
Морські водорості:				
бурі	1300-1560	520-780	6400-7800	2600-3800
червоні	460-730	610-870	2400-3700	3200-4500

Вміст йонів натрію у морській воді найбільш високий. Але в тканинах тварин гідробіонтів накопичення солей натрію обмежене.

По відношенню до йонів калію проявляється більш виражена акумулятивна здатність, особливо у деяких видів бурих водоростей.

Наприклад, у нативній тканині бурій водорості ламінарії япономорської міститься у 80-100 разів більше калію, ніж у морській воді.

2.4.2.2. Кальцій та магній.

Особливо важливу роль виконує кальцій у гідробіонтів. Основним депо кальцію в організмі є кісткова тканина, мушля, панцир. Кальцій депонується в основному у виді карбонатів та гідро фосфатів кальцію CaCO_3 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ і в меншій мірі у виді CaF , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ і CaSO_4 .

У молодих організмах весь кальцій, що поступає з їжею використовується для формування кісток скелету, а у дорослих – для постійного оновлення кальцію у сформованій кістковій тканині. Недостача кальцію порушує нормальне формування кісткової тканини, в результаті чого вона стає ламкою.

В рідких тканинах (лімфа, кров, слина, підшлунковий сік) частина кальцію присутня у виді іонізованих сполук, частина – у виді розчинних але не іонізованих сполук, а частина у виді білково - кальцієвих комплексів.

Видаляється кальцій із організму у виді карбонатів та гідро фосфатів частково через нирки з сечею, але в основному через слизову оболонку товстої кишки з калом. При недостатці вітаміну D порушується процес засвоєння організмом кальцію та затримується процес мінералізації (окостеніння) кісткової тканини.

Магній входить до складу деяких білків та ряду біологічно активних речовин; є обов'язковим елементом кісткової тканини. Йони калію, кальцію, магнію здійснюють вплив на активність актоміозину та міозину; йон магнію відіграє велику роль в реакції гідролізу АТФ.

В м'язах більша частина всього кальцію та 10% магнію сполучені з акином та міозином.

Вміст катіонів кальцію та магнію (Ca^{2+} , Mg^{2+}) у м'ясі молюсків та ракоподібних значно вищий вмісту цих елементів у м'ясі риб та наземних тварин.

Серед двостулкових молюсків м'ясо устриць має найбільш високий вміст кальцію та магнію, що пов'язано з наявністю в устриць більш міцних мушлів, для формування яких в організмі повинен бути великий запас цих елементів.

2.4.2.3. Фосфор.

Цей елемент є незамінним. Він входить до складу різноманітних фосфор – органічних сполук: нуклеопротейдів, фосфоліпідів, коферментів, АТФ, АДФ, коензиму А та інших. В складі АТФ фосфор обумовлює утворення макроергічних зв'язків, які є передатчиками енергії від однієї

речовини до іншої. В сполученні з кальцієм фосфор утворює опорну тканину кісткового скелету; приймає участь в підтримці кислотно – лужного балансу, так як входить до складу мінеральних солей.

Основна маса фосфору, що присутній в організмі (85%) зосереджена в кістковій тканині. Деяка частина фосфору присутня в крові в іонному виді та приймає участь в підтримці реакції середовища.

Із організму фосфор видаляється у виді кислих гідрофосфатів через нирки сечею. Недостатня кількість фосфору в їжі тварин викликає захворювання кісток (остеопороз), а у рослин пригнічує ріст.

Вміст фосфору в нативних тканинах гідробіонтів коливається від 50 до 680 мг % (табл.2.10.)

Таблиця 2.10. Вміст фосфору у гідробіонтів

Тканина	Вміст фосфору , мг %	
	нативна речовина	суха речовина
М'ясо прісноводних риб	110-150	500-2700
М'ясо морських риб	150-680	700-3200
М'ясо двостулкових молюсків	110-370	500-1700
М'ясо морських ракоподібних	180-350	820-1740
Морські водорості	50-100	300-550

Із загального вмісту фосфору в м'язах різних риб на долю мінерального фосфору припадає від 60 до 95%. Основна частина фосфору зв'язана з органічними сполуками, як правило сполучена з креатином та аденозином. Склад фосфатидів специфічний для окремих видів риб. Наприклад, якщо в м'язах камбал серед фосфатидів переважає креатин фосфат і міститься мало пентозо - і аденілфосфатів, то в м'язах мінтаю знаходиться майже вдвічі менше креатин фосфату та виключно високий вміст фосфатидів, що мають в молекулі пентози та аденілову кислоту. У м'язах морського окуня міститься ще менше креатин фосфату, але є багато фосфатидів, що містять фруктозу, глюкозу і пентози.

2.4.2.4. Сульфур.

До сполук білкової природи, що містять двохвалентний Сульфур у формі сульфгідрильних груп (SH-), відносяться амінокислоти (метіонін, цистин, цистеїн), трипептид глютаціон, коензим А. При біологічному окисненні із Сульфур утворюється сульфатна кислота, яка відіграє роль паралізатора токсичних продуктів розпаду білків.

В деяких нативних речовинах, що входять до складу хрящів, слизу (мукополісахариди, муцини, мукоїди та інші), присутній окислений Сульфур, шестивалентний у виді залишку сульфатної кислоти.

Із організмів Сульфур виділяється переважно у формі сульфатів. Вміст зв'язаного Сульфору в нативних тканинах гідробіонтів коливається від 25 до 450 мг % (табл.2.11.)

Таблиця 2.11. Вміст Сульфору в тканинах гідробіонтів

Тканина	Вміст Сульфору, мг %	
	нативна речовина	суха речовина
М'ясо костистих прісноводних риб	25-220	120-1120
М'ясо костистих морських риб	100-280	520-1390
М'ясо двостулкових моллюсків	320-450	1600-2200
М'ясо морських ракоподібних	94-300	480-1610
Морські водорості	150-430	700-2120

2.4.2.5. Хлор.

Серед хлоридів, що беруть участь в обміні хлору, основним є хлорид натрію. Добова потреба в хлорі дорослої людини визначається як 6-9г; приблизно така ж кількість хлору виводиться із організму з сечею та потом. Недостатня кількість хлоридів в їжі викликає зменшення виведення хлору з організму. Проте при інтенсивному виведенні поту та недостатньому вмісті хлоридів в їжі може виникнути збіднення організму хлоридами і, як наслідок, скорочується виділення шлункового соку, настає загальна слабкість та судома, втрачається працездатність.

2.4.2.6. Залізо(Ферум), алюміній.

Іони заліза входять до складу ряду біологічно активних речовин, що приймають участь в транспорті кисню(гемоглобін) та тканинному диханні(окислювальні ферменти: каталаза, пероксидаза, цитохроми); залізо є обов'язковим учасником всіх окиснювально – відновних процесів.

Кількість заліза в організмі невелика: в крові морських та прісноводних риб – від 20 до 45 мг %. В організмі людини неорганічні солі двохвалентного заліза всмоктуються через слизову оболонку кишечника і у виді комплексного гідрату оксиду заліза з білком β-глобулі нової фракції (ферити) відкладається в печінці та селезінці.

Залізо утримується в організмі довго, тому добова потреба людського організму в залізі невелика(10-15 мг).

В організмі відбувається безперервний обмін заліза: залізо у формі трансферитину в плазмі крові переноситься до кісткового мозку та використовується для синтезу гемоглобіну, який разом з еритроцитами поступає в кров.

На протязі 100-120 діб еритроцити виконують функції переносників кисню, потім вони розпадаються в селезінці, залізо звільняється і у формі феритину депонується в печінці, а в міру потреби переноситься до кісткового мозку для синтезу гемоглобіну і ферментів тканинного дихання. На обмін заліза та синтез гемоглобіну суттєво впливає вітамін В₁₂.

Вміст заліза в нативних тканинах гідробіонтів коливається від 0,3 до 40,0 мг % (табл.2.12.).

Таблиця 2.12. Вміст заліза в тканинах гідробіонтів

Тканина	Вміст заліза , мг %	
	нативна речовина	суха речовина
М'ясо костистих прісноводних риб	0,3-4,6	1,8- 22,3
М'ясо костистих морських риб	0,3 – 19,3	1,2 – 62,0
М'ясо двостулкових молюсків	1,0 – 8,0	5,0 – 40,0
М'ясо морських ракоподібних	0,7 – 4,0	3,8 – 23,0
М'ясо вусатих китів	0,9 – 4,6	4,0 – 27,6
Морські бурі водорості	15 - 40	90 -190

Біологічна роль хімічного елементу – алюмінію не зовсім з'ясована. Вміст алюмінію в сирих тканинах гідробіонтів коливається від 0,1 до 20,0 мг %. Найбільше алюмінію містять морські гідробіонти такі, як двостулкові молюски та морські костисті риби, достатньо великий вміст цього елементу у морських водоростях. А найменше у морських ракоподібних.

2.4.2.7. Мікроелементи.

Встановлено, що в багатьох біологічних процесах величезну роль відіграють мікроелементи, що входять до молекулярного складу ряду біологічно активних речовин. Наприклад, цинк, мідь, молібден, магній, кобальт, марганець входять до складу ферментів, кобальт – до складу ферменту В₁₂, йод – до складу гормонів (тироксину, трийодтираніну), мідь – до складу гемоціаніну – дихального пігменту крові безхребетних.

Мікроелементи впливають на ріст, розвиток, відтворення організмів, на процеси кровотворення, приймають участь в окисно – відновних процесах, в формуванні спеціалізованих тканин.

Для організмів єдиним джерелом мікроелементів є їжа; вони всмоктуються через слизову оболонку шлунково - кишкового тракту, попадають до крові та транспортуються в печінку, яка є головним депо для мікроелементів. Ще акумулюються мікроелементи в статевих залозах (цинк), гіпофізі (цинк, хром), підшлунковій залозі (цинк, нікель), в білій речовині мозку (молібден), щитовидній залозі (йод).

Недостатня кількість або надлишок мікроелементів супроводжується порушеннями в обміні речовин та викликає специфічне захворювання.

Йод.

Цей елемент входить до складу гормонів щитовидної залози (тирозин, трийодтиронін) та відіграє велику роль в її фізіології. При недостатній кількості йоду порушується діяльність щитовидної залози, її сполучна тканина розростається та виникає "ендемичний зоб" .

Вміст йоду в тканинах гідробіонтів коливається від 0,002 до 190 мг % . Найбільш значний вміст йоду знайдений в тканинах бурих водоростей та фітопланктоні.

Вміст йоду в тканинах залежить від виду гідробіонту, а також фізіологічної ролі тканини. Наприклад, серед морських риб найбільш високий вміст йоду (до 0,76 мг %) в м'ясі тріскових риб. Серед тихоокеанських лососів – у м'ясі нерки та чавичі (до 0,52 мг %). Серед морських рослин найбільш активно накоплюють йод бурі водорості : в порівнянні із вмістом йоду в морській воді в тканинах ламінарій накоплюється в сотні тисяч разів більше йоду. Причина цієї цікавої особливості досі не встановлена . Вміст йоду в тканинах різних частин тіла не залишається постійним: якщо в м'ясі морських риб його вміст не перевищує 0,8 мг % , то в ікрі він досягає 1,5- 2 мг % , а в печінці 2,5 – 3,0 мг %.

Мідь (Купрум).

У ракоподібних та моллюсків мідь входить до складу основного дихального пігменту – гемоціаніну і багатьох окислювальних ферментів (аскорбіноксидаза, тирозиназа, поліфенолоксидаза та інші), активізує гонадотропні гормони гіпофізу.

При недостатній кількості міді в їжі послаблюється синтез гемоглобіну та цитохромів, виникає анемія; порушується нормальний сольовий обмін, функції нервової, м'язової, кровоносної систем, затримується формування кератину та пігментів.

Найбільш значний вміст міді встановлений у м'ясі морських молюсків та ракоподібних. Цей вміст в десятки та сотні разів більший, ніж в м'ясі двостулкових молюсків та м'ясі риб.

У м'ясі хворих ("зелених") устриць встановлений дуже високий вміст (44-40 мг %) міді, що пов'язано з порушенням процесів обміну.

Марганець(Манган).

Елемент входить до складу коферменту аргінази, що приймає участь в розщепленні аргініну; недостача марганцю викликає хлороз та інші захворювання у тварин та рослин; особливо він необхідний організмі, що росте. Марганець активує ферменти (аргіназу, карбоксилазу, пептидазу, козимазу, фосфатазу та інші); у тварин недостача марганцю в кормах сповільнює ріст та формування скелету, порушує діяльність статевих залоз та нормальний розвиток ембріону. Вміст марганцю в тканинах гідробіонтів коливається від 0,14 до 6,5 мг % (табл. 2.13.)

У риб найбільш високий вміст такого мікроелементу, як марганцю встановлений в тканинах печінки.

Таблиця 2.13. Вміст марганцю в тканинах гідробіонтів

Тканина	Вміст марганцю , мг %	
	Нативна речовина	Суша речовина
М'ясо костистих прісноводних риб	0,016-0,044	0,08 - 0,25
М'ясо костистих морських риб	0,014-0,900	0,07 - 4,30
М'ясо двостулкових морських молюсків	1,20 - 6,50	2,40 - 12,3
Оболонка тіла кальмара	0,08 - 1,60	-
М'ясо морських ракоподібних	0,20 - 1,50	1,00 - 7,50
Морські водорості	0,10 - 0,30	0,60 - 1,50

Цинк.

Відіграє вирішальну роль в нуклеопротейдному обміні, приймає участь в ліпідному, білковому, вуглеводному обмінах; входить до складу ферментів (карбогідрази, уреази, депептидази) та гормонів (інсуліну); активізує статеві гормони та адренокортикотропний гормон гіпофізу.

При недостатній кількості цинку затримується ріст, прогресує схуднення, втрачається блиск волосся та посилюється його випадіння, виникають захворювання шкіри Вміст цинку в тканинах гідробіонтів коливається від 0,11 до 34,5 мг % (табл.2.14.)

Таблиця 2.14. Вміст цинку у гідробіонтів

Тканина	Вміст цинку , мг %	
	Нативна речовина	Суша речовина
М'ясо прісноводних риб	0,11 - 0,60	0,60 - 3,1
М'ясо морських риб	0,25 - 0,70	1,25 - 3,5
М'ясо двостулкових морських моллюсків	2,60 - 34,5	13 - 172,5
М'ясо морських ракоподібних	1,20 - 15,5	15,5 - 77,5
Морські водорості	0,30 - 0,50	1,80 - 2,70

Кобальт.

Елемент входить до складу вітаміну B₁₂, бере участь в синтезі гемоглобіну. Недостатня кількість кобальту в їжі призводить до розвитку зловиякої анемії, погіршує білковий та вуглеводний обміни, викликає зменшення кількості еритроцитів в крові, погіршення апетиту, зниження маси та інше.

В організмі теплокровних тварин кобальт локалізується в тканинах ендокринних залоз, печінки, серця, легенів. Засвоюється кобальт тільки через слизову оболонку кишечника.

В м'язах морських риб міститься від 0,005 до 0,21 мг % кобальту; більш високий вміст кобальту виявлено (до 0,67 мг %) в печінці риб. В м'язах безхребетних міститься від 0,03 до 0,25 мг % Co, причому у ракоподібних в м'язах міститься більше кобальту, ніж в тканинах тіла двостулкових моллюсків.

Молибден.

Цей мікроелемент входить до складу ксантиноксидази; якщо недостатня кількість його викликає пригнічення росту тварин та рослин, то надлишок призводить до захворювання, що виникає в результаті утворення в організмі надлишку сечової кислоти. В м'язах морських костистих риб вміст молибдену не перевищує 0,08 мг %.

Фтор(Флуор).

Флуор забезпечує нормальне формування твердих тканин (емалі зубів, дентину, кісток). Недостача фтору в їжі викликає у людини захворювання зубів (каріес); а надлишок викликає токсичну дію.

Арсен (Миш'як).

Вміст Арсену в тканинах гідробіонтів коливається від 0,001 до 0,25 мг %. Найбільше його міститься в морських водоростях, до 1,7 мг %.

Встановлено, що найбільша біологічна активність мікроелементів проявляється у людини тільки при певному їх поєднанні. Наприклад, марганець активізує пептидази тільки в присутності цинку і кобальту; карбогідрази активізується марганцем тільки в присутності заліза; для нормального процесу кровотворення необхідна спільна присутність кобальту, марганцю, міді та заліза; спільна присутність міді та марганцю стимулює діяльність молочних залоз, сприяє росту, попереджує безпліддя. Вивчення вмісту мікроелементів в різних гідробіонтів має важливе значення, бо дозволяє робити судження про фізіологічну повноцінність їх як продуктів харчування .

Крім перерахованих вище мікроелементів до складу м'язів входять свинець (плюмбум), олово, нікель, срібло, ванадій та інші, біологічні функції яких поки не розкриті.

Елементарний хімічний склад мінеральних речовин м'язової тканини в загальному відображує елементарний склад солей морської води, але рівень накопичення окремих елементів та кількісне співвідношення між ними досить специфічне для окремих груп гідробіонтів та відображує особливості сольового обміну.

2.4.3. Особливості елементарного складу різних частин тіла гідробіонтів.

Склад мінеральних мікроелементів тканин різних частин тіла і органів гідробіонтів, визначається їх біологічними особливостями, в результаті чого в тканинах відбувається вибіркове накопичення окремих елементів (табл. 2.15.; 2.16.)

Таблиця 2.15. Розподіл елементів в різних тканинах гідробіонтів

Елемент	Вміст в нативній речовині , мг %				
	крові	м'язах	ікрі	лусці	кістках
Калій	16 - 42	150-500	125-230	3 - 15	6 - 20
Натрій	275-450	90-150	80-195	15 - 25	25 - 45
Кальцій	9 - 25	7-120	40 - 95	1300-3200	1500-5700
Магній	2 - 4	15 - 185	15 - 40	30 - 60	15 - 35
Хлор	520-960	20 - 65	150-295	25 - 45	30 - 35
Фосфор	-	120-430	290 -370	300-8000	680-2400

Таблиця 2.16. Вибіркове накопичення мікроелементів в тканинах

Елемент	Відносне накопичення мікроелементів в тканинах				
	м'ясо	печінка	ікра	молоко	кістки
Залізо	1	12,5	2,0	42,2	0,9
Алюміній	1	14,5	11,5	96,1	0,1
Мідь	1	26,5	7,6	3,5	5,9
Марганець	1	5,6	5,6	55,0	2,0
Цинк	1	2,1	2,6	22,3	0,2
Свинець	1	1,6	1,1	4,1	6,6
Олово	1	2,1	2,5	1,2	23,3
Нікель	1	10,0	27,0	250,0	60,0
Молибден	1	4,5	7,0	43,0	-
Срібло	1	1,6	0,5	4,1	5,0
Барій	1	99,0	2,1	22,1	1,0
Стронцій	1	0,01	0,45	9,8	0,7
Літій	1	2,0	1,7	16,6	2,5

Особливо виразно проявляється вибіркова здатність різних органів тіла накопичувати в їх тканинах мікроелементів. Наприклад, якщо прийняти середнє значення вмісту даного елемента в м'ясі костистих риб за умовну одиницю, то рівень вмісту цього елемента в тканинах інших частин тіла можна охарактеризувати цифрами наведеними в таблиці.

Отже, для гідробіонтів вміст та елементарний склад мінеральних речовин, специфічний залежить від середовища проживання, виду живого організму, типу тканини .

2.4.4. Практична частина

Методи визначення вмісту мінеральних речовин.

Мінеральні речовини – неодмінна складова частина живого організму. Вони відіграють важливу роль в обміні речовин, побудові тканинних і клітинних структур.

Гідробіонтам для будови і розвитку їх організмів необхідний ряд хімічних елементів, що носять назву *біогенів*. До них відносяться: N; C; H; O; Na; Ca; P; Cl; S; Fe; Mg; Si; в меншій кількості також Cu; Zn; I; Co; Mn; F; As та інші. У водойми біогени потрапляють у вигляді солей або органічних сполук – залишків тварин і рослин.

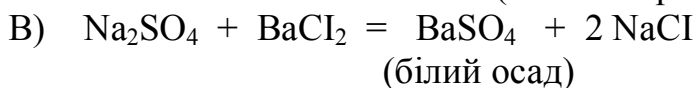
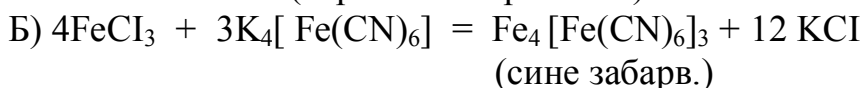
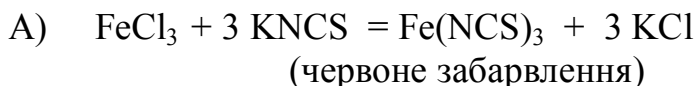
У залежності від вмісту в організмі і продуктах харчування мінеральні речовини розділяються на дві групи: мікроелементи і макроелементи. До макроелементів відносяться кальцій, фосфор, калій, сірка, натрій, хлор, залізо, фтор.

Багато елементів виявлені в дуже невеликих кількостях ($10^{-3} - 10^{-12} \%$), і тому їх називають *мікроелементами*. До них відносяться йод, кобальт, цинк, мідь, стронцій марганець, молібден, нікель та інші.

Мікроелементи належать до біологічно активних речовин, а їх нестача викликає важкі захворювання.

Мінеральні речовини беруть участь у побудові макроструктур і мікроструктур (в утворенні кісткової тканини, побудові клітинних мембран тощо), у регулюванні осмотичного тиску в біологічних рідинах, у підтриманні кислотно-лужної рівноваги, реакції середовища (pH) на певному рівні завдяки участі їх в утворенні буферних систем біологічних рідин і тканин. Вони впливають на проникність клітинних мембран і судин. Мінеральні речовини активують ряд ферментних систем і можуть входити до складу активного центра (металоферменти).

До складу всіх клітин і тканин організму входять Карбон, Оксиген, Гідроген, Нітроген, а також Сульфур, Хлор, Фосфор, Натрій, Калій, Магній, Залізо та інші елементи. Для їх виявлення досліджувану тканину або кров мінералізують спочатку до утворення вуглеподібного залишку та повного озолення, потім екстрагують гарячою водою, фільтрують через фільтрувальний папір, одержаний фільтрат використовують для наступних реакцій:



Наприклад, в нормі вміст кальцію в сироватці крові складає у риби 2,25-2,75 ммоль/л, гіперкальцемія спостерігається при гіпервітамінозі D (визначення вмісту кальцію проводять мурексидним методом, заснованим на здатності мурексиду утворювати з іонами кальцію в лужному середовищі комплексні сполуки, які мають червоно-фіолетове або рожеве забарвлення).

Досліди показали, що діатомові водорості потребують більше заліза, ніж інші представники фітопланктону. Кількість розчинених у воді сполук заліза в значній мірі визначається кількістю кальцію, що тут присутній. При збільшенні концентрації кальцію залізо випадає в осад. Кількість

розчинених сполук заліза залежить від вмісту у воді фосфору, це виникає тому, що залізо з фосфором утворюють важко розчинні сполуки.

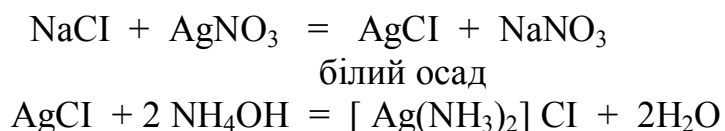
У водах, збіднених на кальцій розвивається велика кількість мікроскопічних десмідієвих водоростей. В „твердій” воді переважають харові і зелені нитчасті водорості: кладофора, хетофора та інші. Мінеральний (сольовий) склад в залежності від кількості і набору біогенів, що до нього входять, може бути сприятливим або навпаки пагубним для розвитку тих чи інших гідробіонтів. Це має дуже велике значення під час внесення добрив у водойми.

Дослід №1. Якісне визначення хлоридів

Хлориди виділяються із сечею у вигляді хлористих солей калію, натрію, кальцію, магнію. З загальної кількості 15-25 г неорганічних сполук сечі на долю хлоридів припадає 10-15 г. Кількість хлоридів у сечі людини приблизно відповідає вмісту кухонної солі в їжі. При деяких захворюваннях (крупозна пневмонія, рак, виразка нирок і ін.) спостерігається затримка хлоридів в організмі, але після видужання виведення хлоридів із сечею збільшується. Визначення вмісту хлоридів у сечі важливо при призначенні хворим безсольової дієти.

Хід роботи

До 20 краплин сечі додають 2 краплі 1% розчину азотнокислого срібла й 2 краплини 10% розчину азотної кислоти. Випадає білий осад хлориду срібла, що темніє на світлі, нерозчинний в нітратній кислоті, але розчинний в аміаці. Вміст пробірки перемішують, частину мутної рідини переливають в іншу пробірку і додають 1-2 краплини 10% розчину аміаку; осад хлориду срібла розчиняється. До іншої частини рідини додають по краплям 10% розчин нітратної кислоти; розчинення осаду не відбувається:



Записати рівняння реакцій та спостереження, зробити висновки.

Дослід №2. Якісне визначення фосфатів.

Фосфорнокислі солі утворюються в організмі в результаті розпаду органічних речовин, які містять фосфор: нуклеопротейдів, фосфопротейдів, фосфатидів, фосфорних ефірів, аденозинтрифосфорної кислоти та ін.

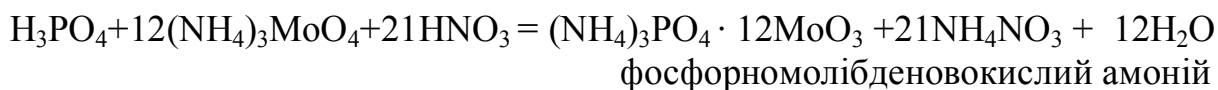
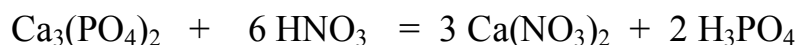
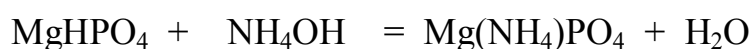
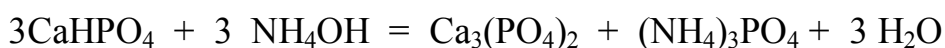
Фосфор виділяється із сечею у вигляді однозаміщених та двозаміщених солей калію, натрію, амонію, кальцію та магнію.

Кількість солей фосфорної кислоти, виділених із сечею відображає інтенсивність обміну речовин, що містять фосфор, і в нормі у дорослої людини у середньому складає 1,5 – 6,0г на добу в розрахунку на P_2O_5 . Підвищений вміст фосфору в сечі буває при лейкемії, інфекційних захворюваннях; знижений – при рахіті.

Хід роботи

До 20 крапель сечі додають 2-3 краплі 10% розчину аміаку. Утворюється осад фосфорнокислих солей кальцію і магнію. Осад відокремлюють фільтруванням і розчиняють на фільтрі в 2-3 краплях 10% розчину азотної кислоти. До отриманого розчину додають 10-15 крапель молібденового реактиву і кип'ятять.

При нагріванні рідина забарвлюється в жовтий колір, а при охолодженні випадає специфічний кристалічний жовтий осад фосфорномолібденовокислого амонію. Реакції протікають за такими рівняннями:



Записати рівняння реакцій, зробити спостереження і висновки.

Дослід № 3 Визначення вмісту нітратів (нітритів) у різних біологічних об'єктах

Кількісне визначення остаточного Нітрогену в крові фотоколориметричним методом заснований на здатності аміаку, що утворюється в наслідок мінералізації безбілкових нітрогеновмісних сполук крові, утворювати з реактивом Несслера сполуки жовтого кольору, інтенсивність якого пропорційна концентрації остаточного азоту (реактив Несслера – 150г йодиду калію, 110г йоду, 100 мг води 140-150г металічної ртуті – суміш сильно струшувати протягом 15 хвилин).

Мінеральні добрива на основі нітратів відносяться до одного з небезпечних типів політантів, для окислення яких необхідний кисень.

Відходи, для розкладання яких потрібний кисень, при скиданні у природні водойми окиснюються розчиненим в них киснем, що призводить до різкого збільшення його витрати, зниження вмісту кисню у воді до рівня, недостатнього для підтримання життя.

Нітрати у вигляді добрив і промислових відходів значно насичують живильними речовинами водні системи, тому в них відбувається накопичення органічних відкладень, підсилюється ріст водяних рослин, тобто водойми заболочуються і міліють. Прийнято говорити, що система піддалася *еутрофікації*.

Наслідками накопичення нітратів є вичерпання кисню: аеробні бактерії поступово заміщуються анаеробними. У результаті такі продукти окисних реакцій, як: CO_2 , HNO_3 , H_3PO_4 , тощо замінюються продуктами відновних реакцій – CH_4 , H_2S , NH_3 .

З води зникають морські водорості, фітопланктон, риби, поступово вода набуває неприємного запаху. Отруєння нітратами має місце вже при концентрації 0,2-0,3 %; показники ГДК (гранично допустима концентрація) нітрат-йонів – 45 мг/л

Хід роботи

В основі методу лежить забарвлення розчинів у рожево-червоний колір в залежності від концентрації нітриту під дією реактиву Грісса-Ілосвая (рожеве забарвлення характерне для хромофорів, що утворюються під дією реактиву). Для цього до 50 мл проби додають 2 мл реактиву Грісса - Ілосвая, ретельно перемішують.

Через 40-60 хвилин проводять вимірювання на ФЕК в кюветі довжиною 3 см із зеленим світлофільтром (540 нм), у кювету порівняння заливають дистильовану воду, до якою доданий реактив Грісса - Ілосвая (нульова колба еталонних розчинів).

Спочатку готують основний стандартний розчин нітриту натрію (0,4927г на 1л), відібрати з нього 1 мл розчину, помістити в колбу на 100 мл і довести до мітки дистильованою водою.

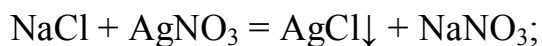
Для приготування еталонних розчинів в 6 мірних колбочок (на 50 мл) додати відповідно: 2 мл; 1,6 мл; 1,2 мл; 0,8 мл; 0,4 мл; 0 мл робочого розчину, довести до мітки дистильованою водою, додати в кожен колбу по 2 мл реактиву Грісса- Ілосвая, закрити пробкою і ретельно перемішати.

Розчин у нульовій колбі служить у якості порівняння при визначенні оптичної густини і заливається в кювету порівняння, оптична густина такого нульового розчину автоматично відраховується з оптичної густини еталонних розчинів і цифрове значення D висвічується на електронному табло приладу.

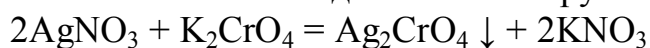
За одержаними даними будують калібрувальний графік і розраховують вміст нітратів у пробі, що досліджується.

Дослід 4. Методи кількісного визначення деяких мінеральних речовин.

Визначення хлоридів у сечі методом Мора ґрунтується на осадженні хлору титрованим розчином нітрату срібла при наявності індикатора хромоту калію, який реагує з нітратом срібла після осадження всього хлору сечі і утворює з сріблом осад оранжево-червоного кольору. Реакція відбувається за рівнянням:



Осад білого кольору



Осад оранжево-червоного кольору

Кількість нітрату срібла, витраченого при титруванні на утворення осаду хлориду срібла, еквівалентна кількості хлору.

Хід роботи.

У дві колби наливають: в одну — 1 мл сечі, що не повинна містити білків і вуглеводів, і 5 мл води (досліджувану пробу); у другу (контрольну пробу) — 6 мл води. В обидві колби додають по 3 краплини 5%-ного розчину хромоту калію як індикатора і титрують 0,1 н. розчином нітрату срібла. Випадає білий осад хлориду срібла. Продовжують титрування до утворення оранжево-червоного осаду.

1 мл 0,1 н. розчину нітрату срібла відповідає 3,55 мг хлору або 5,85 мг хлориду натрію (молекулярна маса хлору 35,5, а хлориду натрію 58,5).

Кількість хлоридів С (хлориду натрію) в сечі розраховують за формулою :

$$C = \frac{(A - B) f \cdot 3,55 (5,85) 1000}{1000} \text{ г},$$

де А — об'єм 0,1 н. розчину нітрату срібла, витрачений на титрування досліджуваної проби, мл; В — об'єм 0,1 н. розчину нітрату срібла, витрачений на титрування контрольної проби, мл; f — коефіцієнт поправки на 0,1 н. розчин хлориду срібла.

Дослід 5. Визначення кальцію молока комплексометричним методом.

Комплексометрія, розроблена Шварценбахом у 1945 р., широко застосовується для визначення кальцію в різних біологічних об'єктах. Цей метод ґрунтується на властивостях групи органічних сполук (комплексонів) утворювати з деякими іонами дво- і тривалентних металів недисоційовані, але розчинні безбарвні комплекси (комплексонати).

Комплексонометричне титрування проводять при наявності комплексонометричних Індикаторів, які також утворюють комплекси з металами, причому забарвлення вільного і зв'язаного в комплекс індикатора різне. Комплекси металу з індикатором лабільніші, ніж з комплексами. Тому при титруванні комплексної солі індикатора комплексом іони металу починають зв'язуватись з останнім і в точці еквівалентності, коли цей процес закінчується, з'являється забарвлення або проявляються інші властивості вільного індикатора. При цьому кількість витраченого комплексону пропорційна концентрації іонів металу, оскільки іон комплексону реагує з металом у молярних стехіометричних співвідношеннях. При визначенні кальцію як комплексон найчастіше використовують етилендіамінтетраацетат натрію (Na_2 -ЕДТА, трилон Б, або версен), а як індикатор для встановлення точки еквівалентності застосовують мурексид (пурпурат амонію). Вільний мурексид при $\text{pH} > 11$ забарвлений у фіолетовий або ліловий колір, а в комплексі з кальцієм — у червоно-оранжевий, або малиновий.

Трилонометричний метод ґрунтується на утворенні іонами кальцію з мурексидом слабкодисоційованої стійкої при $\text{pH} = 10$ сполуки малинового кольору. При титруванні трилоном Б іони кальцію, що не зв'язалися з мурексидом, зв'язуються в менш дисоційований комплекс. Тому, коли всі вільні іони кальцію зв'яжуться, трилон почне зв'язувати кальцій з комплексної сполуки з мурексидом. Поява при цьому фіолетового або лілового забарвлення розчину зумовлюється кольором вільного мурексиду.

Хід роботи.

У стакан місткістю 250—300 мл наливають, 5лм молока, 95 мл води, 5 мл 8%-ного розчину гідроксиду натрію, 8,5 мл 0,1 н. розчину трилону Б, перемішують скляною паличкою, і залишають на 2 хв. Потім вносять на кінчику скальпеля 0,04 а сухої суміші індикатора мурексиду з хлоридом натрію (1 : 50). При цьому розчин забарвлюється в ліловий колір. Розчин титрують 0,1 н. розчином хлориду кальцію, який добавляють краплями, до появи стійкого рожевого забарвлення. Потім з бюретки добавляють краплями 0,1 н. розчин трилону Б до появи стійкого лілового забарвлення з синюватим відтінком. Через 1 хв (якщо, лілове забарвлення змінилося) добавляють ще краплину розчину трилону Б. Від загального об'єму розчину трилону Б, витраченого, на перше і друге титрування, віднімають об'єм 0,1 н. розчину хлориду кальцію, використаного на зворотне титрування, і дістають. об'єм трилону Б, зв'язаного з кальцієм молока.

Вміст кальцію С розраховують за формулою:

$$C = \frac{(A - B) \cdot 2 \cdot 100 f}{V d} \text{ мг\%}$$

де А — об'єм 0,1 н. розчину трилону Б, витрачений на титрування, мл; В — об'єм 0,1 н. розчину хлориду кальцію, витрачений на зворотне титрування, мл; 2 — кількість міліграмів кальцію, який відповідає 1 мг 0,1 н. розчину трилону Б; f — коефіцієнт поправки на 0,1 н. розчин трилону Б; V—об'єм досліджуваного молока, мл; d — густина молока.

Нормальність розчину трилону Б встановлюють за 0,1 н. розчином CaCl_2 . Для цього 5 мл 0,1 н. розчину хлориду кальцію титрують розчином трилону Б так само, як пробу.

$$f = \frac{x}{y}$$

де x — об'єм 0,1 н. розчину хлориду кальцію, мл; y — об'єм 0,1 н. розчину трилону Б, витраченого на титрування, мл.

Дослід 6. Визначення неорганічного фосфору м'язової тканини

Це визначення ґрунтується на добуванні безбілкового екстракту м'язової тканини і визначенні в ньому неорганічного фосфору. В основі методу лежить здатність неорганічного фосфору утворювати з розчином молібдату амонію в кислому середовищі амонійну сіль фосфорномолібденової кислоти $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Остання при відновленні аскорбіною кислотою, гідрохіноном тощо перетворюється в фосфорномолібденову синь, інтенсивність забарвлення якої пропорційна вмісту фосфору в досліджуваному матеріалі. Забарвлення рідини, яке утворилося, порівнюють із забарвленням стандартного розчину фосфору за допомогою фотоелектроколориметра.

Хід роботи.

2,5г подрібненої на холоді м'язової тканини розтирають у ступці з 10 мл 10%-ного розчину трихлороцтової кислоти. Утворену суспензію кількісно переносять у мірну колбу місткістю 50 мл, ополіскуючи ступку 20 мл 10%-ного розчину трихлороцтової кислоти і потім 10 мл води. Об'єм рідини в колбі доливають водою до риски і після старанного перемішування вміст колби центрифугують протягом 10 хв при 3000 об/хв або фільтрують. У пробірку місткістю 10 мл (досліджувана проба) наливають 2 мл фільтрату, у другу пробірку (контрольну пробу) 2 мл води. Потім у пробірки додають по 0,5 мл розчину молібдату амонію і по 1 мл 0,1%-ного розчину аскорбіною кислоти. Вміст пробірок добре перемішують і через 10 хв фотометрують за допомогою фотоелектроколориметра з червоним світлофільтром.

Вміст неорганічного фосфору С розраховують за формулою:

$$C = \frac{x \cdot 50 \cdot 100}{a \cdot 2 \cdot 1000} \quad \text{мг\%,}$$

де x — концентрація фосфору в досліджуваному розчині, знайдена за калібрувальною кривою; 50 — об'єм суспензії тканини, мл; 2 — об'єм фільтрату, узятого для визначення, мл; a — наважка м'язів, г.

Вміст фосфору визначають за допомогою калібрувальної кривої. Для цього наливають у мірні пробірки місткістю 10 мл по 2 мл стандартних розчинів, що містять від 2—20 мкг фосфору, і додають усі потрібні для кольорової реакції реактиви. Одночасно ставлять контрольну пробу. Вміст пробірок перемішують і через 10 хв фотометрують, після чого будують калібрувальну криву.

На осі абсцис відкладають значення концентрації фосфору в стандартних розчинах і проводять прямі лінії паралельно осі ординат, а на осі ординат — відповідні значення екстинкції відносно контролю і також проводять прямі лінії паралельно осі абсцис. Точку перетину проведених ліній сполучають. Утворюється калібрувальна крива. Для визначення вмісту фосфору в розчині невідомої концентрації знаходять екстинкцію його і відкладають цю величину на осі ординат. Потім проводять пряму лінію паралельно осі абсцис до перетину з калібрувальною кривою. З точки перетину проводять лінію, паралельну осі ординат. У точці перетину з віссю абсцис знаходять концентрацію фосфору, відповідну певній екстинкції.

Контрольні питання

1. Яка біологічна роль мінеральних солей?
2. Яка потреба організму в солях?
3. Механізм всмоктування мінеральних солей.
4. Шляхи виділення солей з організму.
5. Основні функції мінеральних речовин у клітині.
6. Які ви знаєте макроелементи? Яка їх біологічна роль?
7. Які елементи відносяться до мікроелементів?
8. Як впливає мінеральний склад на життєдіяльність гідробіонтів?
9. Як можна визначити в розчині хлорид-йон?
10. Яким методом визначають кількість нітратів?
11. Як визначити фосфат-йон?
12. Що таке біогени?
13. Що таке „тверда” вода?
14. Які ви знаєте методи пом'якшення води?
15. Які сполуки азоту входять до складу харчових добавок?
16. Чи накопичуються вони в організмах? В чому їх токсичність?
17. В якій кількості калійної селітри міститься стільки ж калію, скільки його в 5 моль хлориду калію?
18. Значення мінералів для обміну речовин і енергії.
19. Які ви знаєте методи визначення вмісту мінеральних речовин?
20. Які значення водневого показника води оптимальні для гідробіонтів?

2.5. Метаболізм в організмах гідробіонтів

2.5.1. Обмін речовин у гідробіонтів

Життя – це спосіб існування білкових тіл, який супроводжується постійним обміном речовин з навколишнім середовищем. Гідробіонти постійно перебувають у водному середовищі і постійно одержують ззовні воду, кисень, харчові речовини, внаслідок чого вони одержують необхідну енергію і відбувається тканинний обмін речовин – *метаболізм*. Одночасно з цим також синтезуються нові органічні речовини й будуються речовини клітин (цей процес називають асиміляцією), що сприяє збільшенню живої маси гідробіонтів та накопиченню біоорганічної маси речовин з високим енергетичним рівнем. Поряд з цим відбувається процес дисиміляції (розпад засвоєних речовин та виведення з організму продуктів цього розпаду). У молодих гідробіонтів процес асиміляції перевищує дисиміляцію на протязі всього онтогенезу, а в зрілому віці – навпаки.

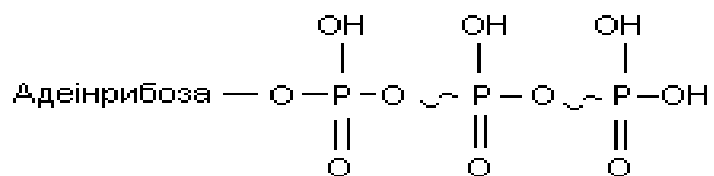
В залежності від способу засвоєння їжі всі живі організми поділяють на автотрофи і гетеротрофи. Серед гідробіонтів до автотрофів можна віднести водорості, які під дією сонячної енергії і хлорофілу - здатні синтезувати органічні речовини:



цей процес носить назву фотосинтезу.

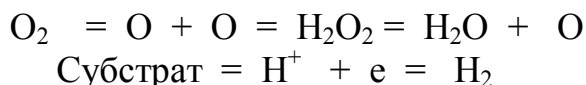
Гетеротрофи – це водні тварини, гриби, рослини без хлорофілу, бактерії, які вживають готові органічні речовини, а енергія, що необхідна для їх життєдіяльності, виділяється при їх окисненні в процесі дихання, відбувається виділення вуглекислого газу і води.

В природі існує замкнутий цикл обміну речовин. Харчові речовини в процесі травлення гідробіонтів всмоктуються через слизову оболонку шлунку та кишечника, далі потрапляють в кров та транспортуються до різних органів і тканин де беруть участь в процесах тканинного обміну (метаболізму). Енергія, що виділяється при окисненні харчових речовин використовується для утворення в організмі гідробіонтів макроенергетичних сполук (аденозинтрифосфатна кислота – АТФ, аденозиндифосфатна кислота – АДФ, ацетил фосфат, фенол фосфат, креатин фосфат та інші).



Акумуляована енергія витрачається на біохімічні процеси без її перетворення в теплову енергію, енергія зв'язку має дуже високі значення ($E_{\text{зв.}} = 12-16$ тис кДж/моль) при дуже незначних температурах тіла, для цих

процесів необхідна присутність цитохромів, які переносять електрони, та таких ферментів як пероксидаза і дегідраза. В спрощеному вигляді цей процес можна відобразити такою схемою:

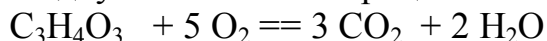


Спільним та зв'язуючим ланцюгом для білково-ліпідно-вуглеводного обміну речовин в організмах всіх живих істот є цикл трикарбонових кислот ЦТК – цикл Кребса, який лежить в основі тканинного дихання, схематично його можна зобразити в спрощеному вигляді, як поступове перетворення глюкози у вуглекислий газ і воду, що супроводжується виділенням 36 молекул АТФ:



У циклі трикарбонових кислот через ацетильні групи додаються продукти розпаду білків, ліпідів, вуглеводів та через кетоглютарову й щавлевооцтову кислоти встановлюється тісний зв'язок між обміном дикарбонових, трикарбонових кислот й обміном ліпідів та вуглеводів. Окрім того, відбуваються реакції перефосфорилування (додавання фосфатів або фосфатної кислоти), переамінування (приєднання аміногруп), переметилування (взаємодія з метильними радикалами). Об'єднуючим ланцюгом для вуглеводного, білкового і ліпідного обмінів є піровиноградна кислота (CH_3COCOON – альфа – кетопропіонова кислота), яка утворюється в якості проміжного продукту при обміні речовин.

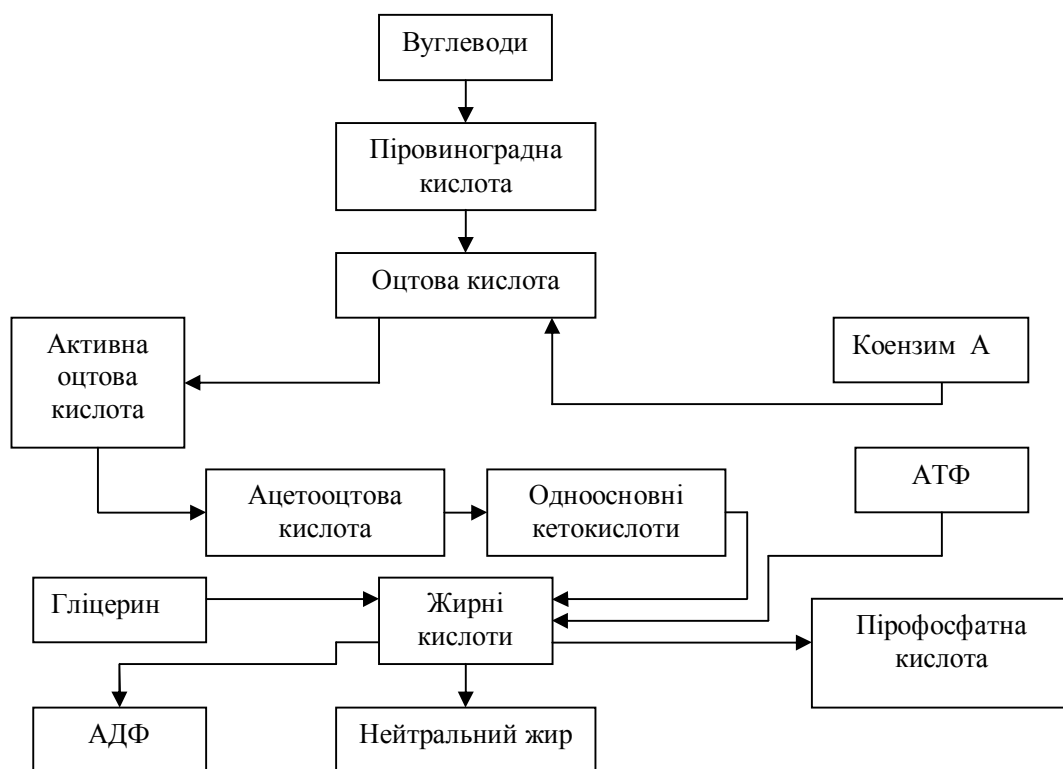
Якщо до складу поживних речовин входять такі амінокислоти, як аланін, аспарагінова і глютамінова кислоти, валін, гістидин, які дають при розпаді піровиноградну кислоту, то з неї потім синтезується тваринний крохмаль - глікоген. Утворення глікогену з амінокислот збільшується при голодуванні тварин (взимку) та при деяких захворюваннях. Під час дихання в організмах відбувається такий процес:



У більшості організмів гідробіонтів з одного грама білка в залежності від складу амінокислот може утворитись 0,5- 0,8 г вуглеводів. Якщо білки містять такі амінокислоти як лейцин, тирозин, фенілаланін, то як проміжний продукт утворюється ацетооцтова кислота, з якої під час біохімічних перетворень відбувається в синтезі ліпідів утворення жирних кислот.

Проміжний продукт вуглеводного обміну – оцтова кислота при участі коензиму А перетворюється у вищі жирні кислоти, які вступають у взаємодію з гліцерином при участі АТФ відбувається реакція етерифікації, внаслідок чого утворюється нейтральний жир.

Схема взаємозв'язку обміну вуглеводів, ліпідів та білків



Поряд з утворенням ліпідів із вуглеводів в організмах гідробіонтів під час зимового періоду, що часто супроводжується сплячкою, депозитні жири мають здатність перетворюватись на вуглеводи, що вкрай необхідно для покриття енергетичних затрат в холодний зимовий час. Через центральну нервову систему залози внутрішньої секреції у вищих тварин відбувається регуляція метаболічних процесів. Штучне введення гормонів використовують для підвищення продуктивності в рибних господарствах, а також для прискорення темпів зростання й досягнення високої плодючості.

У риб одного виду, статі, віку, сезону вилову хімічний склад м'яса залежить від умов існування та харчування: в районах з рясною та достатньою кормовою базою в організмах риб міститься більше жирів, менше води.

Суттєво впливає на темпи і рівень накопичення білків, ліпідів хімічний склад м'яса у риб в період нересту тому, що міграція, дозрівання гонад, нерест потребують великих енергетичних витрат. У зв'язку з цим в цей період екзогенне харчування у риб замінюється на ендогенне, тому в організмі значно збільшується вміст води, в той же час зменшується вміст ліпідів, протеїнів, м'яса. Нерестове голодування також супроводжується зміною складу білків, ліпідів, рибонуклеїнових кислот (РНК в ікрі при

цьому збільшується в 1,5 – 2 рази). Після нерестового голодування настає період відновлення втрат протеїнів, ліпідів (окрім тихоокеанських лососів, які гинуть під час нересту).

Однак, у річних раків влітку м'ясо містить менше ліпідів, ніж весною, але під час зміни хітинового покриву (линьки) спостереження виявили, що м'ясо раків стає більш водянистим, зменшується вміст білків і ліпідів. Але також відмічено, що у ракоподібних спостерігається на протязі всього їхнього життя високий вміст міді (гемоціаніну крові), вітамінів B₁₂, B₂, PP та незамінних амінокислот.

Необхідно також відзначити, що кров більшості гідробіонтів виконує транспортну, дихальну, захисну, регуляторну функції. Кров гідробіонтів складає від 1 до 9% маси тіла. Склад крові дуже залежить від віку, статі та фізіологічного стану гідробіонтів. Кров також стабілізує водневий показник середовища рН за рахунок присутності в ній карбонатних, фосфатних та гемоглобінових буферних систем:

$$\begin{array}{ll} \text{Карбонатна система} & \left[\frac{H_2CO_3}{NaHCO_3} = \frac{1}{20} \right] \\ \text{Фосфатна система} & \left[\frac{NaH_2PO_4}{NaHPO_4} = \frac{1}{4} \right] \\ \text{Гемоглобінова система} & [K - H\hat{a}] \end{array}$$

Органічні кислоти, що утворюються при біологічному окисненні зв'язуються лужними компонентами буферних систем, що підтримує лужно-кислотну рівновагу (рН-оптимум). В залежності від зовнішніх та внутрішніх факторів сутності рН у гідробіонтів майже стабільне і складає 6,6 – 8,2 (найбільші значення рН у пластинчатозябрових). Для наземних тварин значення рН змінюються в більш вузьких межах 7,2 - 7,95.

В крові є протромбін, який в присутності іонів Ca²⁺ та ферментів тромбокінази утворює тромбін, який в свою чергу діє на фібриноген, що приводить до утворення фібрину та потім стає дуже щільним і утворює тромб. Цей процес згортання крові прискорюється присутністю вітаміну K, іонів Ca²⁺, специфічними глобулінами. В той же час в організмі є антикоагулянт крові – гепарин, який запобігає згортанню крові під час пошкоджень.

Важливою функцією крові гідробіонтів є підтримання сталого осмотичного тиску, значення його строго специфічні для окремих груп гідробіонтів. Величину осмотичного тиску крові характеризує температура її замерзання: у морських риб найбільш низьку температуру замерзання має кров пластинчатозябрових (- 1,92 - 2,44 °C). Температура замерзання крові для наземних тварин складає – 0,56 - 0,63 °C; для костистих риб вона дорівнює – 0,66 - 1,12 °C , при цьому температура замерзання морської води приблизно дорівнює -1,9 - 2,3 °C, а прісної (річкової) -0,02 - 0,03 °C.

Для кожного виду риб існують летальні межі осмотичного тиску, за яким настає загибель організму гідробіонтів або від гемолізу крові (в гіпотонічному розчині еритроцити набухають, а потім лопаються), або при надмірному ущільненні еритроцитів (внаслідок їх зневоднення в гіпертонічному розчині).

У костистих риб осмотичний тиск регулюється зміною концентрації в крові електролітів, а у пластинчатозябрових риб у створенні необхідного осмотичного тиску в крові приймає участь сечовина і оксид три-метиламіну, що присутні в крові акул і скатів в значній кількості. У створенні осмотичного тиску також беруть участь такі білкові колоїди як глобуліни і альбуміни.

При зниженні вмісту кисню у воді до межі, при якій не утворюється мінімально необхідної кількості в крові оксигемоглобіну, риба гине від асфіксії. Збільшення температури супроводжується зменшенням вмісту кисню у воді, що одночасно прискорює окислювальні процеси і збільшується потреба організму в кисні. Якщо збільшення температури настільки зменшує вміст кисню у воді, що прискорений до максимуму ритм дихання не компенсує недостатність утворення в крові оксигемоглобіну, риби гинуть також від асфіксії.

Карбонатна кислота, що утворюється під час тканинного дихання, переноситься до органів дихання еритроцитами і кров'яною плазмою. У тканинах, де парціальний тиск вуглекислоти збільшений, відбувається насичення плазми вуглекислотою, утворення бікарбонатів, а також зв'язування вуглекислоти з гемоглобіном і білками плазми крові. В таких різних формах зв'язку вуглекислота транспортується кров'ю до органів дихання, де парціальний тиск вуглекислоти низький і відбувається її виділення.

Кровообіг гідробіонтів тісно пов'язаний з диханням, яке забезпечує організму окислювальні процеси, які є найбільш ефективними у енергетичному відношенні. Порівняно з наземними тваринами гідробіонти більш чутливі до кисневої недостатності. Основним джерелом кисню для гідробіонтів є вода; вміст кисню у воді знаходиться у зворотній залежності від її температури.

Вміст кисню у воді при однаковій температурі зменшується при збільшенні вмісту солей і органічних речовин, при збільшенні глибини і т.п. Наприклад, при однаковій температурі в морській воді порівняно з прісною міститься на 22-25% менше кисню.

У водних тварин буває водне дихання (через зябра і шкіру) та повітряне (при допомозі кишечника, плавального міхура, лабіринту та інших органів). В зябрах газообмінним апаратом є зяброві пелюстки, в епітеліальному шарі яких є дуже розгалужена капілярна система. Через зябровий апарат з організму риб видаляється значна частина кінцевих продуктів тканинного обміну.

Присутність у воді аміаку, солей міді, фенолів, кислот, лугів та інших хімічних речовин. викликає денатурацію білків зябрових пелюсток, інактивує поверхню газового обміну і викликає загибель риби внаслідок асфіксії.

Для видів риб, що мешкають в чистих водоймах, роль шкіряного дихання незначна, а для риб, що перебувають в умовах кисневого дефіциту, вона дуже значна і забезпечує від 17 до 80 % кисневого обміну. Через шкіру відбувається інтенсивне видалення продуктів обміну і вуглекислоти.

При недостатчі кисню у воді риба починає захоплювати повітря ротом. В найпростішому випадку повітря змішується в ротовій порожнині з водою і кисень потрапляє до організму через зябра (у в'юнів, шипівок повітря потрапляє до кишечника, а потім через систему капілярів кисень потрапляє в кров).

Більшість риб використовує кисень повітря через розвинуту кровоносно-капілярну систему, що знаходиться на внутрішній поверхні плавального міхура, який виконує в основному функцію гідростатичного органа. Кисень з плавального міхура використовується в організмі риби для пом'якшення кисневої недостатності і асфіксічного стану.

Розвиток і зростання гідробіонтів також дуже залежить від забезпечення кормовою базою. Кількість їжі, що необхідна для повноцінного існування гідробіонтів залежить від фізіологічного стану та повноцінності харчування, при цьому необхідно слід враховувати показник засвоєння їжі :

$$\begin{array}{lcl} 1 \text{ г вуглеводів} & 17,165 \times 0,98 & = 16,82 \text{ кДж} \\ 1 \text{ г білків} & 18,212 \times 0,92 & = 16,755 \text{ кДж} \\ 1 \text{ г ліпідів} & 39,565 \times 0,95 & = 37,587 \text{ кДж} \end{array}$$

Для підтримання нормальної життєдіяльності організм повинен отримувати з їжею необхідну кількість білків, вуглеводів, ліпідів; процеси обміну речовин можуть нормально протікати тільки при наявності достатньої кількості води, в присутності комплексу мінеральних речовин і при оптимальній температурі. Неодмінними учасниками процесів обміну є біологічні каталізатори (ферменти) а також біологічні активні сполуки – коферменти, вітаміни, гормони.

Розкриття закономірностей процесів обміну речовин у гідробіонтів відкриває великі можливості для здійснення управління цими процесами в з метою інтенсифікації деяких важливіших біологічних явищ. Наприклад, під час штучного розведення риби шляхом підбору відповідних композицій кормів можна підсилювати темпи накопичення в організмі корисних речовин (жирів, білків) та прискорювати збільшення маси тіла або стимулювати розмноження, збільшувати живучість організмів шляхом використання біологічно активних речовин.

Сучасний рівень розвитку науки і біохімічних методів дослідження (використання технології мічених атомів, молекулярної спектроскопії, радіоспектроскопії і т.п.) дозволяють вивчати біохімічні процеси на клітинному і молекулярному рівнях (молекулярна біологія) і це відкриває великі можливості для більш глибокого проникнення до таємниць процесів життя.

2.5.2. Ієрархія молекулярної організації клітини

Для живого організму характерна певна ієрархія біологічних молекул, що входять до його складу. Всі біомолекули зрештою походять від дуже простих низькомолекулярних попередників, що надходять в організм з навколишнього середовища: вуглекислого газу, води й атмосферного азоту. У живому організмі, взаємодіючи між собою, вони утворюють проміжні сполуки. Останні утворюють будівельні блоки. Це прості цукри, амінокислоти, жирні кислоти й ін.

Надалі ці будівельні блоки сполучаються один з одним різноманітними ковалентними зв'язками, утворюючи білки, нуклеїнові кислоти, полісахариди і ліпіди. Це вже макромолекули. На такому рівні організації макромолекули об'єднуються за допомогою слабких ковалентних сил у надмолекулярні комплекси. Це рибосоми (комплекси нуклеїнових кислот з білками), ферментні комплекси і скорочувальні системи.

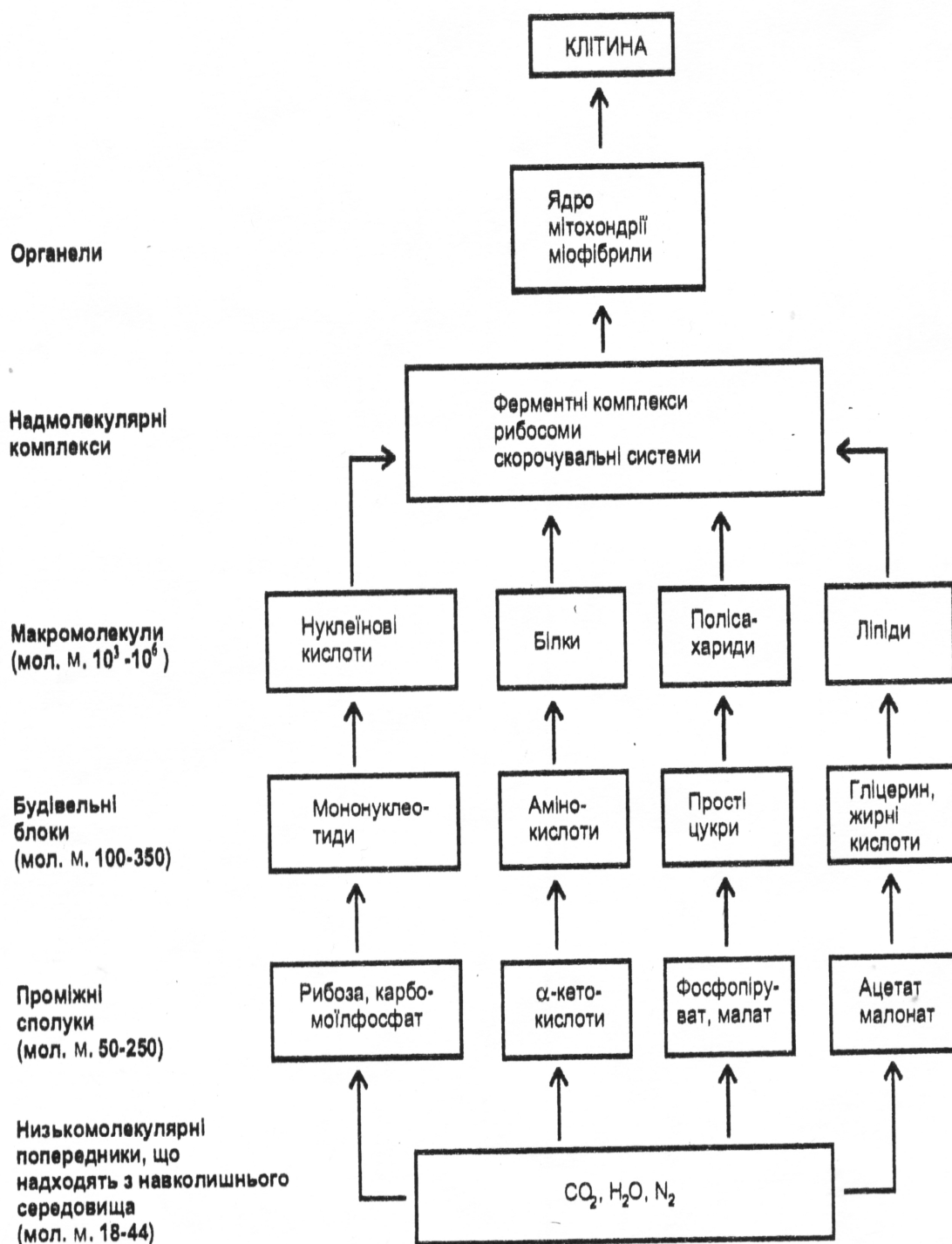
На вищому, уже клітинному рівні організації, надмолекулярні комплекси об'єднуються в клітинні органели ядра, мітохондрії, мембрани, міофібрили і т.п. Оточені клітинною мембраною, органели утворюють клітину. Основні класи біомолекул у клітинах і в організмі в цілому є досить великими молекулами. Це білки, нуклеїнові кислоти (ДНК, РНК, полісахариди, ліпіди).

Між білками і нуклеїновими кислотами, з одного боку, полісахаридами і ліпідами - з іншого, існують суттєві відмінності. Білки і нуклеїнові кислоти - інформаційні молекули. Білки побудовані з 20 будівельних блоків (амінокислот), розташованих у тій чи іншій лінійній послідовності. Нуклеїнові кислоти у всіх організмів, подібно до білків, утворюють довгі ланцюги з чотирьох типів нуклеотидів у різній послідовності.

Кожний білок і кожна нуклеїнова кислота несуть певну інформацію, закодовану в послідовності будівельних блоків. У всіх клітинах білки і нуклеїнові кислоти виконують одні й ті ж функції.

ДНК зберігає генетичну інформацію, різноманітні типи РНК сприяють її реалізації в процесах біосинтезу білків. За допомогою останніх реалізується генетична інформація.

Молекулярна організація клітини



Полісахариди складаються з великої кількості однакових будівельних блоків тільки одного типу, а саме цукру глюкози. Тому вони не можуть нести задовану генетичну інформацію. Вони виконують в

основному дві функції. Одні з них, наприклад, крохмаль, являють собою різні форми запасного "пального", що дають клітині енергію. Інші, наприклад, целюлоза, використовуються як будівельний матеріал клітин. Ліпіди, до яких належать жири і жироподібні речовини, виконують роль основних структурних компонентів мембран, а також служать як запасна форма "пального". Вони, як і полісахариди, не є інформаційними молекулами, оскільки побудовані тільки з двох компонентів (гліцерин і вищі жирні кислоти).

Різноманітність і складність біохімічних процесів, які відбуваються при обміні речовин, участь цих процесів різних органів та тканин потребує наявності в організмі єдиної системи управління цими процесами.

В організмах тварин центральна нервова система відіграє ведучу роль в регулюванні процесів обміну. Схематично процес регулювання здійснюється наступним шляхом. В усіх тканинах та органах розміщена велика кількість рецепторів, які інформують центральну нервову систему про стан обмінних процесів. ЦНС одержавши інформаційний сигнал, через периферичну нервову систему направляє необхідний імпульс у відповідний орган чи тканину, які забезпечують нормальний рівень обміну.

Класичним прикладом такого регулювання є забезпечення стабільного рівня вмісту цукру в крові. На дні четвертого серцевого шлуночка є група нервових клітин (інформаторів), дуже чутливих до концентрації глюкози в крові.

При самому найменшому зменшенні вмісту цукру в крові ЦНС, одержавши інформацію, направляє нервові імпульси до надниркової залози, викликаючи при цьому посилення виділення гормону адреналіну. Адреналін досягає печінки, де посилюється розпад глікогену до глюкози, яка потрапляє в кров і підвищує до нормального вмісту в ній глюкози.

Таким чином, ЦНС через відповідні залози внутрішньої секреції регулює хід процесів в організмі. Така загальна схема гормональної регуляції обміну речовин в організмі.

Процеси обміну речовин можна регулювати шляхом штучного введення окремих гормонів в організм. Цей прийом знаходить широке застосування при профілактиці та лікуванні ряду захворювань, а також для підвищення продуктивності рибництва (підвищення темпів росту, досягнення плодючості, збільшення репродуктивності та інше).

Як відомо, життєдіяльність любого організму нерозривно пов'язана з навколишнім середовищем: живим організмам потрібні кисень, вода, поживні речовини, мінеральні солі, вітаміни та інше.

Органічні та мінеральні речовини, які поступають в організм із зовнішнього середовища, приймають участь в синтезі складових частин та структурних елементів тканин (асиміляція). В той же час в організмі

відбуваються процеси дисиміляції. Кінцеві продукти розпаду виводяться із організму в зовнішнє середовище. Цей постійний обмін речовин між організмом та зовнішнім середовищем є характерною ознакою життя.

Розкриття закономірностей процесів обміну відкриває великі можливості для управління цими процесами з метою інтенсифікації ряду важливих біологічних явищ при штучному розведенні риб, молюсків, ракоподібних та інших гідробіонтів.

2.5.3. Практична частина

Деякі показники стану метаболізму у гідробіонтів.

Органічний і мінеральний склад середовища, в якому постійно перебувають гідробіонти, в залежності від кількості і набору біогенів, що до нього входять може бути сприятливим або навпаки пагубним для розвитку тих чи інших організмів. Це має дуже велике значення під час внесення добрив у водойми. Тому, що концентрації мікро- і макроелементів вища за певні їх значення (різні для різних видів гідробіонтів), а також їх недостача шкідливо діють на розвиток підводної флори, яка в свою чергу є джерелом органічних речовин для риб та інших гідробіонтів.

В процесі фотосинтезу рослини під дією сонячного світла утворюють вуглеводи – глюкозу, яка потім перетворюється на крохмаль та целюлозу. З розчинених вуглеводів, а також нітрогеновмісних та сірковмісних сполук синтезуються білки.

В процесі синтезу в рослинах утворюється більш ніж 20 амінокислот. Різні сполучення цих „цеглинок” дають можливість утворювати велику різноманітність білків. Окрім цього в рослинах з вуглеводів, найчастіше з глюкози, синтезуються і ліпіди (жири).

Кров гідробіонтів містить білки, вміст білків у сироватці крові риб використовують як експрес – тест для визначення рівня фізіологічного стану риб. Зниження вмісту білка в органах спостерігається при голодуванні, при враженні печінки, при втратах білка організмом (кровотечах, пухлинах, хворобах нирок). Рівень білка в крові риб знижується під час зимівлі з 3,96 до 2,84г%. При виході на зимівлю рівень білка в крові коропів повинен бути не нижче 3г% (концентрацію білка визначають в г% або в г/л; враховуючи що 1 г/л дорівнює 10г%).

Наприклад, збільшення вмісту молочної кислоти може спостерігатися під час підсиленої м'язової роботи, при захворюваннях пов'язаних з гіпоксією і анемією. Підвищення рівня цукру в крові (гіперглікемія) спостерігається при надлишку в організмі глюкокортикоїдів – гормонів

кори надниркових залоз під час стресів, при вживанні з їжею великої кількості вуглеводів.

Низький вміст цукру в крові (гіпоглікемія) має місце під час голодування, порушенні всмоктування глюкози в тонкому кишечнику (малосорбція). Наприклад, при захворюваннях нирок або різних інтоксикаціях спостерігається зменшення активності α -амілази; активність лужної фосфатази знижується при гіповітамінозі С, але збільшується при рахіті (гіповітамінозі Д) та пухлинах кісткової тканини.

Найчастіше спостерігається в загальному випадку, під час захворювань або несприятливих умов існування у гідробіонтів зниження: 1) вмісту загального білка в крові, 2) зменшення активності більшості ферментів і гемоглобіну в крові, але підвищення: 1) вмісту лейкоцитів, 2) швидкості осідання еритроцитів, 3) рівня α - і β -глобулінів как факторів гуморального захисту організму у відповідь на патоген.

Важливу роль у забезпеченні енергетики організмів гідробіонтів виявляють вуглеводи, що циркулюють в їх крові. На відміну від вищих хребетних тварин у гідробіонтів коливання рівня цукру в крові дуже значні, що пов'язано з недосконалим механізмом регуляції.

Виявлені сезонні зміни: підвищення рівня цукру в період розмноження і міграцій (звичайно в теплий період року) та зниження – під час зимівлі, при малорухливому способі життя.

Регуляція забезпечується використанням запасів глікогену в печінці під контролем гормональної і нервової систем, тобто звичайним шляхом фазових перебудов метаболізму. У високорухливих і активних риб (тунець, акула) вміст цукру в крові підтримується в інтервалі 60-90 мг % (у осетрових підіймається до 115 мг %), а у малорухливих донних риб (камбала) звичайно не буває цукру більше 10-20 мг %.

Так вміст цукру в крові коропа в залежності від умов утримання змінюється таким чином: в нормі цукор 30-37 (лактат – 4-7); при голодуванні відповідно цукор – 17-25 (лактат- 4-12); при недостатці кисню цукор 103-108 (лактат – 90); при неспокої – цукор 20-30 (лактат -150); під час зимівлі 57-230; після годування 110-130.

Активність ферментів крові в залежності від виду і тривалості життя риб змінюється, так у молоді коропа (300 г) активність ферментів (лактат-дегідрогенази, лактат-аспартат-трансамінази) менше в декілька разів порівняно з дорослими особами (700 г), але ці ж показники трохи нижчі ніж у форелі райдужної.

Метаболічні процеси в організмі відбуваються під контролем гормональної системи. Гормони належать до біологічно активних органічних речовин, невеликі кількості яких викликають глибоку відповідну реакцію організму. Вони виробляються в залозах внутрішньої секреції (щитовидній, паращитовидній, наднирковій, гіпофізі, статевих

залозах, епіфізі) діяльність ендокринних залоз не автономна, а знаходиться під контролем центральної нервової системи.

Гормони мають ряд загальних властивостей: специфічність та дистантність дії, висока біологічна активність, короткочасність під час виконання ролі регулятора життєдіяльності та обмінних процесів (зростання, розвиток, статеве формування тощо).

Захворювання, що виникають на ґрунті порушення функцій тієї чи іншої залози, у більшості випадків можна розглядати як наслідок гіпофункції залози або її гіперфункції. Ендокринні залози через свої гормони впливають не тільки на функцію різних органів і тканин тіла, але й на роботу інших залоз внутрішньої секреції і на нервову систему.

Дослід №1. Визначення вмісту β -ліпопротеїдів.

При додаванні до сироватки крові хлористого кальцію і гепарину порушується колоїдна стійкість білків сироватки крові, що входять до складу β -ліпопротеїдів, тобто утворюється гепарин-ліпопротеїновий комплекс, який випадає в осад. Ступінь помутніння розчину пропорційна вмісту β -ліпопротеїдів.

Хід роботи

До кожної пробірки із розведеним розчином по 2 мл хлориду кальцію 0,28%, який готують з 10% розчину (1 мл доводять до 5 мл водою), додають по 0,2 мл сироватки крові, потім в кожну пробірку капають з мікропіпетки по 0,04 мл 0,4% гепарину (1000МЕ), перемішують або струшують.

Через 1 хвилину вимірюють екстинцію кожної проби на ФЕК проти дистильованої води в кюветі товщиною 10 мм, довжина хвилі 650-655нм – червоний фільтр). За одержаними даними будують калібрувальний графік, де на осі ординат – екстинція, на осі абсцис – концентрація.

Для побудови калібрувального графіку з калібрувального розчину білка готують ряд розведень, відповідно до одержаних значень. Зробити необхідні розрахунки, графік, спостереження, висновки.

Дослід №2. Кількісне визначення адреналіну (за методом Фоліна).

Метод заснований на колориметричному визначенні інтенсивності синього забарвлення, що утворюється при взаємодії адреналіну з реактивом Фоліна, який складається із солей фосфорновольфрамової і фосформолібденової кислот. Ці солі при взаємодії з адреналіном відновлюються з утворенням оксидів металів, комплекси яких забарвлюються в синій колір.

Хід роботи.

У суху пробірку відмірюють піпеткою 1 мл дослідного розчину адреналіну, 4 мл 10% розчину вуглекислого натрію і 0,5 мл реактиву Фоліна, вміст пробірки струшують.

Через 5 хвилин інтенсивність отриманого синього забарвлення вимірюють на фотоелектроколориметрі з червоним фільтром проти контролю, що містить 1 мл дистильованої води, 4 мл 10% розчину вуглекислого натрію і 0,5 мл реактиву Фоліна. Знаючи оптичну щільність випробуваного розчину, за калібрувальним графіком визначають невідому концентрацію адреналіну в грамах на літр. Калібрувальний графік будують зі стандартними пробами, що містять 0,01; 0,02; 0,04 г/л адреналіну. На осі абсцис відкладають значення концентрації стандартних розчинів адреналіну, на осі ординат – оптичні щільності відповідних концентрацій.

Контрольні питання

1. Що таке гормони?
2. Чим відрізняються гормони від вітамінів і ферментів?
3. Які гормони виробляються щитовидною залозою?
4. Що таке кортикостероїди?
5. Що таке інсулін і яка його хімічна природа?
6. Який вплив гормонів на обмін речовин у гідробіонтів?
7. З якими структурними компонентами клітини пов'язаний біосинтез білка? Наведіть приклади.
8. Які функції виконують білки, жири в організмах гідробіонтів?
9. Який процес називають омиленням жирів? Наведіть приклади.
10. До якого класу можна віднести вуглеводи? Вкажіть їх хімічну природу.
11. Назвіть джерела вітамінів А, В, D, Е, С.
12. Які функції виконують ферменти при обміні речовин в клітині?
13. Назвіть основні функції мінеральних речовин в клітині.
14. Яка біологічна роль мінеральних солей?
15. Обґрунтувати фізіологічну роль ліпідів в життєдіяльності гідробіонтів.
16. Опишіть зв'язок між обміном білків, ліпідів, вуглеводів.
17. В чому полягає біологічна роль вуглеводів в організмі гідробіонтів?
18. Як впливає недостача вуглеводів на життєдіяльність гідробіонтів?
19. Вкажіть основну роль ферментів в обміні речовин водних організмів.
20. Як впливає мінеральний склад на життєдіяльність гідробіонтів?

**Константи дисоціації та рН деяких
кислот**

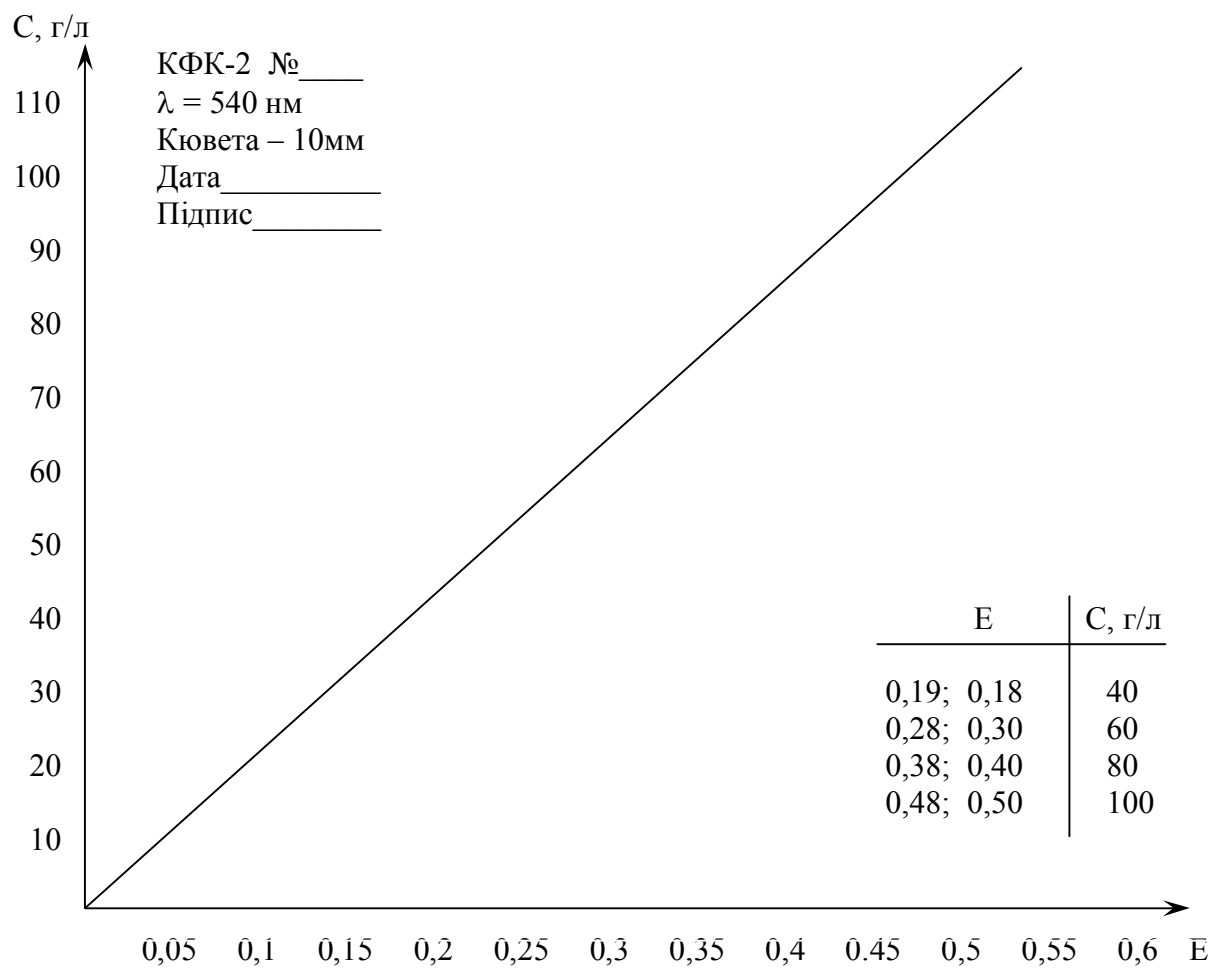
Кислота (донор протона)	K_d, M	pH
HCOOH (мурашина кислота)	$1,78 \cdot 10^{-4}$	3,75
CH ₃ COOH (оцтова кислота)	$1,74 \cdot 10^{-5}$	4,76
CH ₃ CH ₂ COOH (пропіонова кислота)	$1,35 \cdot 10^{-5}$	4,87
CH ₃ CHОНCOOH (молочна кислота)	$1,38 \cdot 10^{-4}$	3,86
H ₃ PO ₄ (фосфатна кислота)	$7,25 \cdot 10^{-3}$	2,14
H ₂ PO ₄ ⁻ (дигідрофосфат- йон)	$1,38 \cdot 10^{-4}$	6,87
HPO ₄ ²⁻ (гідрофосфат-йон)	$3,98 \cdot 10^{-13}$	12,4
H ₂ CO ₃ (карбонатна кислота)	$1,7 \cdot 10^{-4}$	3,77
HCO ₃ ⁻ (гідрокарбонат-йон)	$6,31 \cdot 10^{-11}$	10,2
NH ₄ ⁺ (йон амонію)	$5,62 \cdot 10^{-10}$	9,25

ДОДАТОК Б

Сімейства органічних сполук та характерні для них функціональні групи (R_1 і R_2 – вуглеводневі ланцюги, до яких приєднані функціональні групи)

Сімейство	Будова	Функціональна група
Спирти	$R_1-\boxed{\text{OH}}$	гідроксильна
Альдегіди	$R_1-\boxed{\begin{array}{c} \text{C}=\text{O} \\ \text{H} \end{array}}$	альдегідна
Кетони	$R_1-\boxed{\begin{array}{c} \text{C} \\ \parallel \\ \text{O} \end{array}}-R_2$	карбонільна
Кислоти	$R_1-\boxed{\begin{array}{c} \text{C}=\text{O} \\ \text{OH} \end{array}}$	карбоксильна
Аміни	$R_1-\boxed{\begin{array}{c} \text{N} \\ \diagup \text{H} \\ \diagdown \text{H} \end{array}}$	аміногрупа
Аміди	$R_1-\boxed{\begin{array}{c} \text{C}=\text{O} \\ \text{NH}_2 \end{array}}$	амідогрупа
Прості ефіри	$R_1-\boxed{\text{O}}-R_2$	ефірна
Складні ефіри	$R_1-\boxed{\begin{array}{c} \text{C}=\text{O} \\ \text{O} \end{array}}-R_2$	складноефірна

**Калібрувальний графік.
Визначення загального білка крові біуретовим методом.**



ДОДАТОК Г

0,1 М розчин буферної суміші: $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - \text{NaH}_2\text{PO}_4$

Буферний розчин з концентрацією йонів, рН	Кількість розчинів фосфатів на 1 л води, мл	
	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	KH_2PO_4
4,976	0,1	9,9
5,600	0,5	9,5
6,239	2,0	8,0
6,813	5,0	5,0
6,976	6,0	4,0
7,146	7,0	3,0
7,346	8,0	2,0
7,648	9,0	1,0
7,863	9,5	0,5
8,171	9,9	0,1
8,302	10,0	-

Буферна суміш : 1М розчин гідрокарбонату натрію (А) – 1М розчин карбонату натрію (Б)

рН (0 ⁰ C)	А	Б	А	Б	А	Б
9,2	41,6	2,79	80,9	6,35	155,8	14,7
9,4	37,9	4,03	72,8	9,07	138,0	20,7
9,6	33,2	5,60	62,85	12,4	117,0	27,8
9,8	27,7	7,42	51,6	16,1	93,9	35,4
10,0	22,0	9,33	40,2	19,9	71,7	42,8
10,2	16,6	11,1	29,8	23,4	52,1	49,3
10,4	11,9	12,7	21,1	26,3	36,3	54,6
10,6	8,18	13,9	14,4	28,5	24,5	58,5
10,8	5,44	14,8	9,52	30,1	16,2	61,3
11,0	3,49	15,5	6,11	31,2	10,4	63,2
11,2	2,12	15,9	3,81	32,0	6,54	64,4
11,4	1,15	16,2	2,22	32,5	3,97	65,2
рН(25 ⁰ C)	А	Б	А	Б	А	Б
9,0	39,8	3,41	76,8	7,74	147	17,8
9,2	35,5	4,83	67,6	10,8	127	22,4
9,4	30,3	6,55	56,8	14,4	104,4	31,9
9,6	24,6	8,44	45,3	18,2	81,5	39,5
9,8	18,9	10,3	34,3	21,9	60,5	46,5
10,0	13,8	12,0	24,6	25,1	42,9	52,3
10,2	9,58	13,4	17,0	27,6	29,2	56,9
10,4	6,29	14,5	11,2	29,5	19,3	60,1
10,6	3,86	15,2	7,06	30,8	12,3	62,4

АМІНОКИСЛОТИ**1. АЛФАТИЧНІ АМІНОКИСЛОТИ:****А) МОНОАМІНОКАРБОНОВІ КИСЛОТИ**

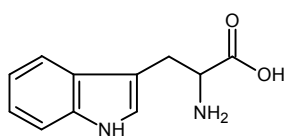
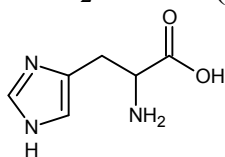
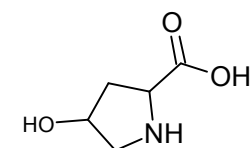
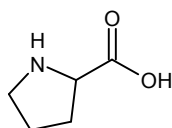
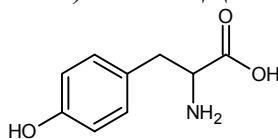
ГЛІЦИН –	$\text{NH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$
АЛАНІН –	$\text{CH}_3 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
СЕРИН –	$\text{CH}_2\text{OH} - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
ЦИСТЕЇН –	$\text{CH}_2(\text{SH}) - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
ЦИСТИН –	$\text{S}_2[\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}]_2$
МЕТІОНІН –	$\text{CH}_2(\text{SCH}_3) - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
ТРЕОНІН –	$\text{CH}_3 - \text{CH}(\text{OH}) - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
ВАЛІН –	$(\text{CH}_3) - \text{CH} = \text{CH} - (\text{NH}_2) - \text{COOH}$
НОРВАЛІН –	$\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
ЛЕЙЦИН –	$(\text{CH}_3)_2 - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
ІЗОЛЕЙЦИН –	$\text{CH}_3 - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{CH}_3) - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
НОРЛЕЙЦИН –	$\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$

Б) МОНОАМІНОДИКАРБОНОВІ КИСЛОТИ

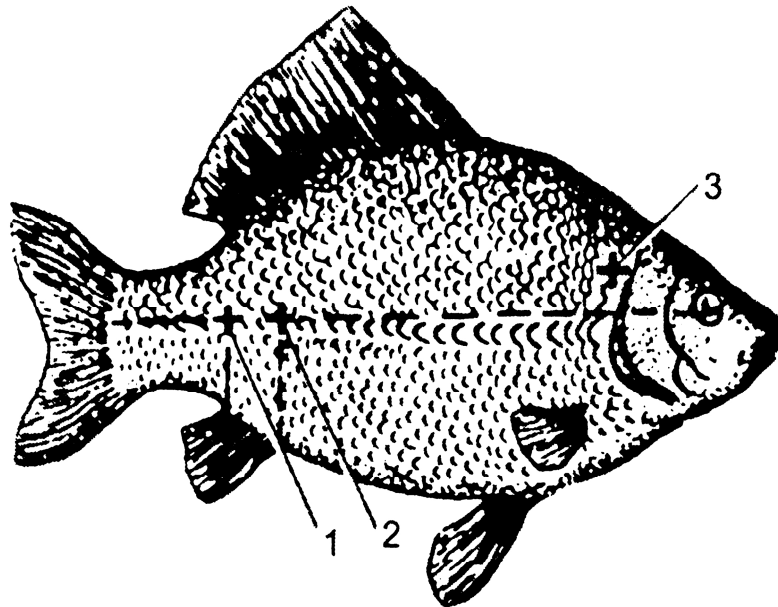
АСПАРАГІНОВА –	$\text{HOOC} - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
ГЛУТАМІНОВА –	$\text{HOOC} - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$

В) ДІАМІНОКАРБОНОВІ КИСЛОТИ

ЛІЗИН –	$\text{H}_2\text{N} - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2)_3 - \text{CH} - \text{NH}_2 - \text{COOH}$
АРГІНІН –	$\text{H}_2\text{NS}(=\text{NH}) - \text{NH}(\text{CH}_2)_3 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
ОРНІТИН –	$\text{H}_2\text{N} - \text{CH}_2 - (\text{CH}_2)_2 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$
ЦИТРУЛІН –	$\text{H}_2\text{NC}(=\text{O})\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$

2. ЦИКЛІЧНІ АМІНОКИСЛОТИ**А) ФЕНІЛАЛАНІН** $\text{C}_6\text{H}_5 - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COOH}$ **Б) ТРИПТОФАН****В) ГІСТИДИН****Г) ОКСИПРОЛІН****Д) ПРОЛІН****Е) ТИРОЗИН**

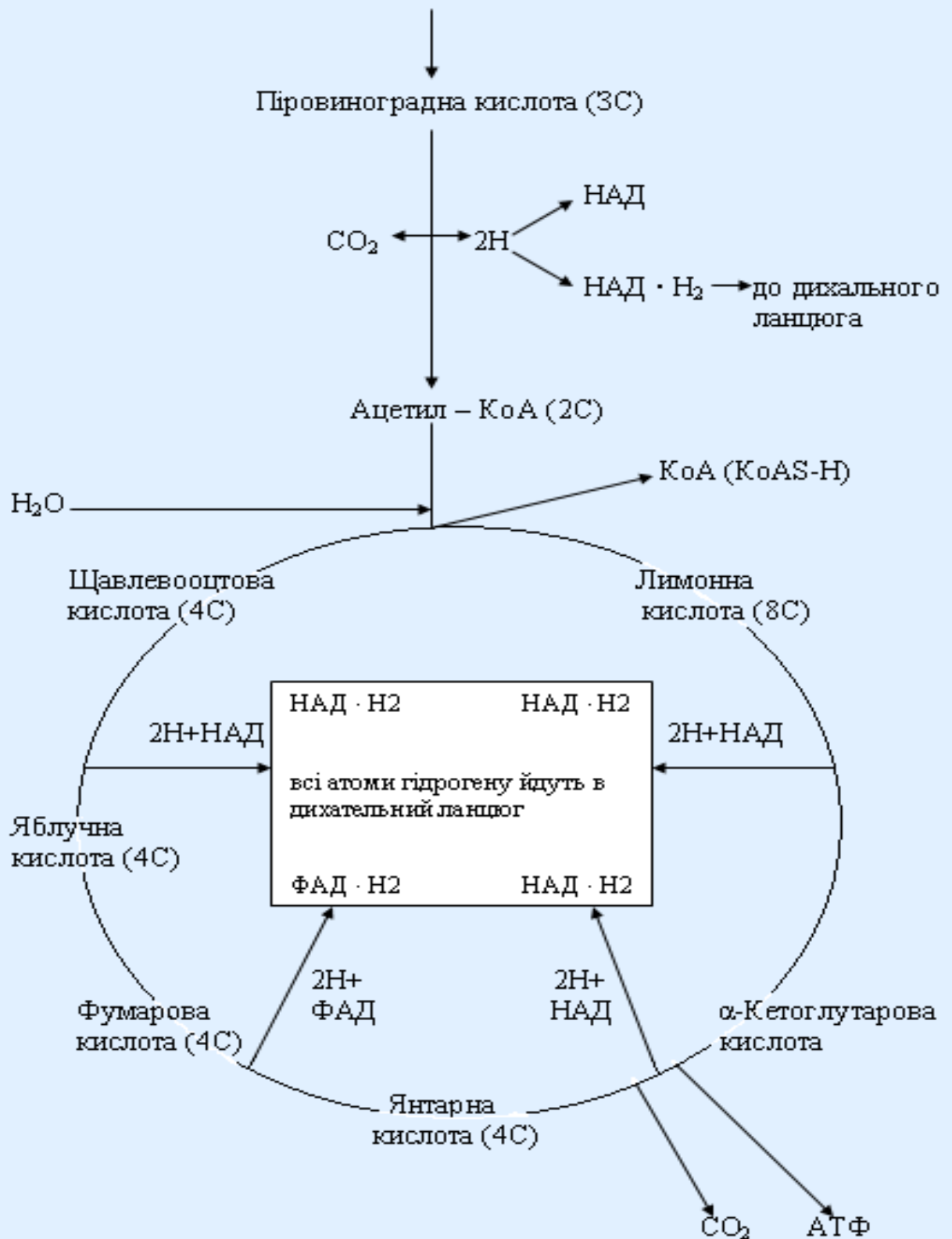
МЕТОДИКА ВЗЯТТЯ КРОВІ



Місця взяття крові у риб :

1, 2 - з хвостової артерії;
3 - із зябрової артерії

СПРОЩЕНА СХЕМА ЦИКЛУ КРЕБСА



ЛІТЕРАТУРА

1. Алекин О.А., Ляхин Ю.И. Жизнь океана. – Л.: Гидрометиздат, 1984. – 343 с.
2. Бейли К. Структурные белки. Белки мышц. Т.4; ч.2, М., 1981– 647 с.
3. Биология. Т. 1, 2. Р.Сопера, Н.Грин, У. Стаут, Д.Тейлор. М.: Мир, 1990. - 356 с.
4. Біологічна хімія. Практикум. Виноградова Р.П., Кучеренко Н.Е., Литвиненко А.Л. та ін., Київ: „Вища школа”, 1977. – 384 с.
5. Берзин Т.А. Биохимия гормонов. М., Мир, 1964. – 428 с.
6. Березов Т.Т. Биологическая химия.– М.: Высшая школа, 1982,- 275 с.
7. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия: Учебное пособие для вузов. – М.: Медицина, 1998. – 704 с.
8. Биохимия молоди пресноводных рыб. – Петрозаводск, 1985. – 114 с.
9. Биохимия молоди рыб в зимовальный период. – Петрозаводск: 1987.- 143 с.
10. Біологічна хімія з основами фізичної і колоїдної хімії /Лабораторно-практичні заняття. /Д.О.Мельничук, П.В.Усатюк, М.І. Цвіліховський. – К: 1998. – 147 с.
11. Боєчко Ф.Ф. Біологічна хімія. – К.: Вища школа, 1989. – 407 с.
12. Виноградова З.А., Петкевич Т.А. Химический элементарный состав планктона Черного, Азовского и Каспийского морей. – В кн.: “Биохимия морских организмов”, Киев: “Наукова думка”, 1967, с. 70-83.
13. Войнар А.И. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. М.: Высшая школа, 1970. – с. 496.
14. Воскресенский Н.А., Менкова З.В. Связанная вода и методы ее определения в рыбе. – “Рыбное хозяйство”, 1987, №6, с.80-83.
Головина Н.А., Тромбицкий И.Д. Гематология прудовых рыб. – Кишинев: „Штиинца”. – 1989. – 156 с.
15. Горячковский А.И. Справочное пособие по клинической биохимии – Одеса: ОКФА, 1994. – 415 с.
16. Губський Ю.І. Біологічна хімія - /Підручник/. – Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 508 с.
17. Давыдов О.Н., Темниханов Ю.Д., Куровская Л.Я. Патология крови рыб. – К.: Фирма „Инкос”, 2006. – 206 с.
18. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. М., ИЛ, 1981, пер с англ. – 435 с.
19. Екологія людини. Українсько-російський тлумачний словник / Микитюк О.М., Злотін О.З., Бровдій В.М. та ін. – Харків: ТОВ „ОВС”, 2000. – 164 с.
20. Ісаєнко В.М. Екологічна біохімія. /Навчальний посібник/. – К.: Книжкове видавництво НАУ, 2005. – 440 с.

21. Кіріченко В.І. Загальна хімія . /Навчальний посібник/. – К.: Вища школа, 2005. – 639 с.
22. Кизеветтер Н.В. Биохимия сырья водного происхождения. – М.: Пищ. Пром-ть, 1978. – 422 с.
23. Кнорре Д.Г., Музина С.Д. Биологическая химия. / Учебник/. – М.: Высшая школа., 2003. – 279 с.
24. Кононський О.І. Біохімія тварин. – К.: Вища школа., 1994 – 439 с.
25. Кучеренко Н.Е., Бабенюк Ю.Д., Васильев А.Н. Біохімія. – К.: Вища школа, 1988 . – 432 с.
26. Ленинджер А. Основы биохимии: в 3 т. – М.: Мир, 1985. – 675 с.
27. Мітрясова О.П. Хімічні основи екології. – К.: Перун, 1999. – 192 с.
28. Методы исследования токсичности на рыбах / Под ред. В.И. Лукьяненко. – М.: Агропромиздат. – 1985. – 118 с.
29. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. – М.: Просвещение, 1987. – 815 с.
30. Органикум. Т.1 / Г.Беккер, В.Бергер, Г.Домшке и др., - М.: Мир, 1979. – 442 с.
31. Практикум по биохимии / Под ред. Н.П.Мешковой и С.Е.Северина, М.: Изд-во Моск. ун-та, 1979. – 430 с.
32. Пустовалова Л.М., Практикум по биохимии. – Ростов-на-Дону: Феникс, 1999. – 544 с.
33. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии / Под ред. Т.Т.Березова. – М.: Медицина, 1976. – 294 с.
34. Склярів О.Я. Практикум з біологічної хімії. К.: Здоров'я, - 2002. – 297 с.
35. Современные проблемы экологической физиологии и биохимии рыб. – Вильнюс, 1988. – 286 с.
36. Сорвачев К.Ф. Основы биохимии питания рыб. – М.: Легкая и пищевая пром-ть, 1982. – 245 с.
37. Сравнительная биохимия рыб и их гельминтов. – Петрозаводск, - 1977. – 157 с.
38. Стайер Л. Биохимия. – М.: Мир, 1985. – Т.1,2 – 400 с.
39. Тканевой обмен у рыб. /В.И.Беляев, В.М.Николаев, Г.В.Шульман и др. – К.: Наукова думка, 1983. – 141 с.
40. Фелленберг Г. Загрязнение природной среды. Введение в экологическую химию: пер. с нем. – М.: Мир, 1997. – 232 с.
41. Фримантл М. Химия в действии (в 2-х част.), М.: Мир, 1991. – 348 с.
42. Четкин А.В. Практикум по биохимии животных. – М.: Высшая школа, 1982. – 73 с.
43. Шевряков М.В., Яковенко Б.В., Явоненко О.Ф. Практикум з біологічної хімії. Навчально-методичний посібник. – Суми: ВТД „Університетська книга”, 2003. – 204 с.

- 44.Шульман Г.Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб. – М.: Пищ. Пром-ть, 1972. – 368 с.
- 45.Экологическая биохимия животных. – Петрозаводск, 1978. – 164 с.
- 46.Элементы физиологии и биохимии общего и активного обмена у рыб. – К.: Наукова думка, 1978. – 189 с.
- 47.Bromstedt F., Anerbach W. The spoilage of fresh-water fish. Academic Press, N.Y. - London. 1981. pp. 613-634
- 48.Tsuchya T. Biochemistry of fish oils. In “Fish as Food”, vol. 1, pp. 211-247. Academic Press, N.Y. - London. 1991.

ПРЕДМЕТНИЙ ПОКАЗЧИК

А

Авітаміноз - 113, 115, 119, 120, 133
Автотрофи - 189, 193
Агароза - 88
Аденін - 97
Адреналін - 151, 152, 161, 163
Азот - 49, 51, 182, 183, 195
Азотиста рівновага – 192
Азотисті основи – 61, 62, 68, 101
Активний центр – 96
Актин - 33, 48, 49
Актоміозин - 172
Аланін - 34, 38, 40, 52
Альбуміни – 56, 193
Альдегіди – 10, 20, 61, 68
Альдегідо спирти 73
Альдостерон - 153, 158, 161
Алюміній - 175, 180
Аміди - 38
Амілаза – 94, 95, 103, 109, 110
Амінокислотний склад 35, 37
Амінокислоти – 35, 127, 173, 190, 206
Аміно сахароза - 75
Аміноспирти - 68
Аміни - 35, 37
Аміак - 24, 48, 54, 85, 94
Андрогени - 156, 157, 158
Андростерон - 156
Антибіотики - 33
Аскорбінова кислота – 114, 130, 132
Аспарагінова кислота – 37
Апофермент - 96
Ацетальфосфатиди - 66
Ацетилхолін - 149

Б

Білки - 7, 8, 11, 20, 21, 33
Білкові системи - 33, 34, 51
Білковий мінімум - 24, 33, 57
Бікарбонати - 169

Біогенні елементи - 167, 180
Біокаталізатори - 93
Біотин - 103, 114, 131
Бром - 169
Буферні системи - 13, 21, 26, 27
В
Важкі метали - 175
Валін - 34, 38, 40, 52, 190
Відбір - 28, 29
Вітаміни - 5, 7, 9, 20, 65, 68, 97, 112
Вода - 9, 10, 12, 15, 17, 192
Водневий зв'язок - 20
Водень - 51
Вуглеводи - 72, 88
Г
Гастрин - 152
Гексози - 73, 79, 148, 150, 161
Гемоглобін - 14, 15, 33, 40, 44, 49, 125
Гепарин - 28, 29, 85, 192, 200
Гідратація - 18
Гідрогенази - 132, 199
Гідролази - 101, 102, 108
Гідроліз - 34, 37, 51, 69, 70
Гідрокортизон - 158
Гідрофільність - 11, 20, 21, 46
Гідрофобність - 11, 12, 20, 21, 40, 43, 53
Гіпервітаміноз - 113, 114, 115, 117, 118
Гіповітаміноз - 113, 114, 117
Гістамін - 38
Гістидин - 36
Глікоген - 73, 76, 77, 78, 80, 82
Гліколіз - 132, 133
Глікопротеїди - 48, 83
Гліцериди - 63, 68
Гліцерин - 61, 62, 63, 68, 69, 71
Гліцин - 34, 38, 48, 49, 52, 69, 206
Глобін - 44, 46
Глутамін - 34, 38, 39, 52, 99, 206
Глюкоза - 110, 150, 151, 159
Глюкопротеїди - 83, 148
Глюкуронова кислота - 77
Гормони - 5, 7, 9, 33, 146
Гуанін - 37

Д

Дегідраза - 190

Деамінівання - 36, 84, 123, 154

Дезоксирибонуклеїнова кислота - 78, 105, 117, 156, 195

Декстрини - 83

Денатурація - 94

Діаліз - 82

Дипептиди - 60, 125

Дисахариди - 73, 78, 79

З

Залізо - 98, 101, 174

Залози внутрішньої секреції - 191, 197

Й

Йод - 63, 65, 82, 84, 90

Йодне число - 65

К

Калій - 13, 24, 169, 170

Кальцій - 172, 181, 186

Карбогідраза - 177, 179

Карбоксилаза - 121, 177, 195

Каротиноїди - 114, 115, 116

Каталаза - 174

Кіназа - 102

Кисень - 183, 189, 194

Кислоти жирні - 61, 63, 67, 155, 190, 195

Кислоти жовчні - 65, 69

Кобальт - 128, 138, 175, 178

Комплексні полісахариди - 82

Кортикостероїди - 148, 153, 158, 161

Коферменти - 169, 172, 177, 194

Крохмаль - 61, 73, 82, 88, 109, 190

Креатин - 129, 173, 189

Кремній - 180

П

Панкреатичний сік - 105, 152

Паращитовидна залоза - 160, 199

Пектинові речовини - 82

Пентози - 73, 77, 78, 173

Пепсин - 12, 4, 49, 94, 95

Пептидний зв'язок - 107, 147

Пептиди - 7, 36, 37, 39, 173

Пероксидаза - 107, 174, 190

Печінка - 104, 114, 116, 120, 128

Пігменти - 37, 69
 Підшлункова залоза - 95, 108, 146, 150
 Плазма крові - 15, 170
 Поліпептиди - 36, 37
 Полісахариди - 51, 73, 77, 82
 Протеїди - 85, 95, 123, 128
 Протеїни - 48, 96
 Протромбін - 120, 192
Р
 Рибоза - 75, 78, 89, 97, 125
 Рибонуклеїнова кислота - 147, 156, 160, 191
 Рутин - 140
 Риби - 50, 51, 62, 64, 84, 124
С
 Сахароза - 73, 77, 78, 81, 89, 95
 Свинець - 179, 180
 Сірка - 51, 181
 Сірководень - 167, 168, 184
 Синтез білків - 12, 24, 158
 Спирти - 10, 11, 20, 68, 73, 75
 Стерини - 65, 117
 Сульфоамінокислоти - 43
 Сфінгомієлін - 155
Т
 Тестостерон - 149, 156
 Тіамін - 114, 121, 122, 135, 145
 Тіреоглобулін - 153
 Тирозин - 52, 54, 99, 148
 Тироксин - 152, 154, 161, 175
 Токоферол - 113, 118, 119, 134
 Треонін - 34, 38, 49, 52, 60, 206
 Тригліцериди - 62, 63
 Тромбін - 34, 120, 192
 Тромбокіназа - 192
Ф
 Фенілаланін - 34, 40, 52, 54, 190, 206
 Феноли - 47, 77, 90
 Ферменти - 5, 7, 9, 12, 14, 18, 93, 147
 Фібрин - 29, 34, 48, 49, 105, 192
 Фотієва кислота - 114, 132
 Фосфатиди - 66, 67, 71
 Фосфоліпіди - 11, 21, 62, 68
 Фосфопротеїди - 49, 182

Фосфор - 33, 52, 182, 186, 187

Фруктоза - 78, 81

Фтор - 170, 178, 181

Х

Хлор - 18, 170, 174

Хром - 174, 178

Хромопласти - 98

Хромопротейди - 49, 98

Ц

Целюлоза - 73, 82, 84, 85, 197

Ціанкобаламін - 128, 129

Цистеїн - 38, 52, 55, 60, 99, 173, 206

Цитохром - 174

Зміст

Передмова	3
Розділ 1. Основні структурні компоненти гідробіонтів	7
1.1. Вступ	7
1.2. Найважливіші властивості води	17
1.2.1. Вода та її властивості в живих організмах гідробіонтів	17
1.2.2. Вода як електроліт, буферні системи живих організмів.....	21
1.2.3. Практична частина. Основні методи виконання біохі- мічних досліджень	27
1.3. Загальна характеристика білків в тканинах гідробіонтів.....	33
1.3.1. Хімічні властивості амінокислот.....	35
1.3.2. Фізико – хімічні властивості білків	45
1.3.3. Осадження білків.....	46
1.3.4. Класифікація білків	48
1.3.5. Практична частина. Якісне та кількісне визначення білків, дослідження властивостей	51
1.4. Ліпіди гідробіонтів	61
1.4.1. Загальна характеристика ліпідів.....	61
1.4.2. Прості ліпіди.....	62
1.4.3. Складні ліпіди.....	66
1.4.4. Практична частина. Дослідження властивостей ліпідів.....	68
1.5. Загальна характеристика і класифікація вуглеводів	72
1.5.1. Моносахариди.....	73
1.5.2. Дисахариди	79
1.5.3. Полісахариди.....	82
1.5.4. Практична частина. Дослідження властивостей вуглеводів у гідробіонтів.....	88
Розділ 2. Обмін речовин і енергії у гідробіонтів	93
2.1. Ферменти – біологічні каталізатори білкової природи	93
2.1.1. Властивості ферментів.....	93
2.1.2. Будова ферментів.....	96
2.1.3. Класифікація ферментів.....	100
2.1.4. Внутрішньоклітинна локалізація ферментів.....	103
2.1.5. Практичне використання ферментів.....	105
2.1.6. Практична частина. Визначення загальних власти- востей ферментів.....	106
2.2. Загальна характеристика вітамінів	112
2.2.1. Поняття про вітаміни.....	112
2.2.2. Жиророзчинні вітаміни.....	114
2.2.3. Водорозчинні вітаміни.....	121
2.2.4. Практична частина. Методи визначення вітамінів.....	133
2.3. Характеристика гормонів	146

2.3.1. Гормони гіпофізу.....	147
2.3.2. Гормони підшлункової залози.....	150
2.3.3. Інші гормони білкової природи.....	152
2.3.4. Гормони – похідні амінокислот.....	152
2.3.5. Гормони – похідні жирних кислот.....	155
2.3.6. Гормони – похідні холестерину, або стероїдні гормони...	156
2.3.7. Гормони кори надниркових залоз.....	158
2.3.8. Практична частина. Дослідження властивостей деяких гормонів.....	159
2.4. Мінеральні речовини.....	167
2.4.1. Вміст та елементарний склад.....	167
2.4.2. Біологічна роль мінеральних речовин та їх вміст в тканинах гідробіонтів.....	169
2.4.2.1. Натрій та калій.....	170
2.4.2.2. Кальцій та магній.....	172
2.4.2.3. Фосфор.....	172
2.4.2.4. Сульфур.....	173
2.4.2.5. Хлор.....	174
2.4.2.6. Залізо (Ферум), алюміній.....	174
2.4.2.7. Мікроелементи.....	175
2.4.3. Особливості елементарного складу різних частин тіла гідробіонтів.....	179
2.4.4. Практична частина. Визначення вмісту мінеральних речовин	180
2.5. Метаболізм гідробіонтів.....	189
2.5.1. Обмін речовин у гідробіонтів.....	189
2.5.2. Ієрархія молекулярної організації клітини.....	195
2.5.3. Практична частина. Деякі показники стану метаболізму у гідробіонтів.....	198
Додатки	202
Список літератури	209
Предметний покажчик	212

Навчальне видання

**Євтушенко Микола Юрійович
Горліченко Марина Григорівна
Шевченко Світлана Василівна**

СТАТИЧНА БІОХІМІЯ ГІДРОБІОНТІВ

Навчальний посібник

Надруковано в авторській редакції

Підписано до друку 30.07.2010. Формат 60х84/16. Папір офсетний.
Гарнітура «Таймс». Друк офсетний. Ум. Друк. Арк.. 12,79.

Одеський державний екологічний університет,
65016, м. Одеса, вул. Львівська, 15

Надруковано з готового оригінал-макета

Видавництво і друкарня «Екологія»
65045, м. Одеса, вул. Базарна, 106, к. 313
Тел.: (0482) 33-07-18, 37-07-95, 37-15-27

www.fotoalbom-odessa.com

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 1873 від 20.07.2004 р.