

**Крикунова В.Ю., Петренко М.О.,
Кулинич С.М.**

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК

Біологія клітин. Основи біохімії та особливості метаболізму речовин

**Для здобувачів вищої освіти
спеціальностей:**

**211 Ветеринарна медицина
162 Біотехнології та біоінженерія**

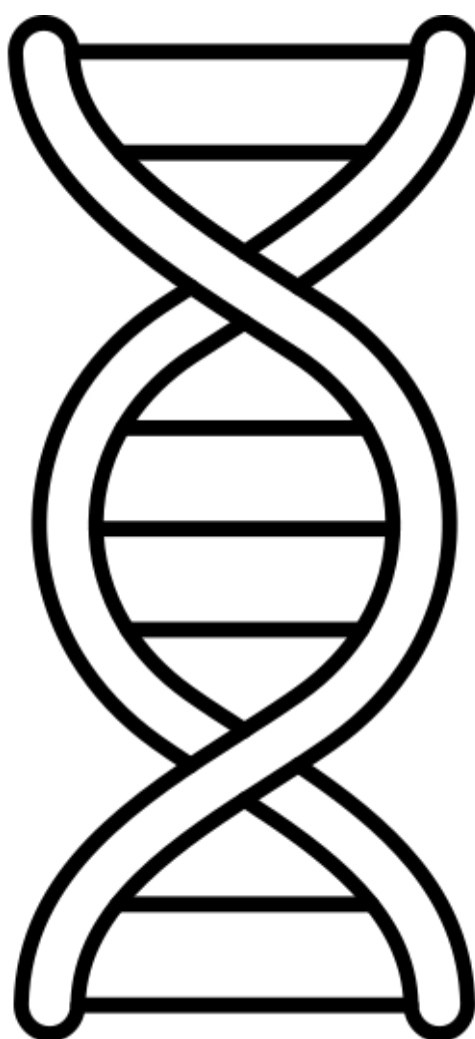


Полтава - 2023

Крикунова В. Ю., Кулинич С. М., Петренко М.О.

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК

Біологія клітин. Основи біохімії та особливості метаболізму речовин



Полтава 2023

УДК 577.1 (075.8)

0-75

Навчальний посібник «Біологія клітин. Основи біохімії та особливості метаболізму речовин» для здобувачів вищої освіти спеціальностей: 211 «Ветеринарна медицина», 162 «Біотехнології та біоінженерія» затверджений до друку вченою радою Полтавського державного аграрного університету (протокол № 3 від 24 жовтня 2023 року).

Укладачі:

Крикунова Валентина Юхимівна – доцент, кандидат хімічних наук, професор кафедри біотехнології та хімії, Полтавський державний аграрний університет.

Кулинич Сергій Миколайович – професор доктор ветеринарних наук, декан факультету ветеринарної медицини, Полтавський державний аграрний університет .

Петренко Максим Олександрович – доцент, кандидат сільськогосподарських наук, доцент кафедри інфекційної патології, гігієни, санітарії та біобезпеки, Полтавський державний аграрний університет.

Рецензенти:

Шиян Надія Іванівна - завідувач кафедри хімії та методики викладання хімії Полтавського національного педагогічного університету імені В.Г.Короленка, доктор педагогічних наук, професор.

Бірта Габрієлла Олександрівна - завідувач кафедри товарознавства, біотехнології, експертизи та митної справи, доктор сільськогосподарських наук, професор, Полтавський університет економіки і торгівлі.

Киричко Борис Павлович – завідувач кафедри хірургії та акушерства, доктор ветеринарних наук, професор, Полтавський державний аграрний університет.

У навчальному посібнику на сучасному рівні науки розглянуті основні теми біології клітин, біохімії – загальні питання фізичної і колоїдної хімії, напрямки розвитку біологічних та біохімічних досліджень, питання статичної, динамічної біохімії та механізми патології обміну речовин. Матеріал викладений у відповідності до програми студентів вищих аграрних закладів: розглянуті структурна організація клітини, методи мікроскопія, та ферментативні реакції перетворення основних класів біомолекул – білків, амінокислот, вуглеводів, ліпідів, вітамінів, нуклеотидів, інформаційних нуклеїнових кислот. Висвітлені деякі питання молекулярної біології та генетики, біохімічні основи фізіологічних функцій організму тварини і людини та їх нейрогормональної регуляції, механізми виникнення найбільш поширених патологічних процесів у тварин.

Навчальний посібник може бути використаний аспірантами, студентами та спеціалістами, що працюють в галузі біотехнології, ветеринарії, екології, мікробіології, та інш.

ISBN 978-617-8231-37-8

ЗМІСТ

СПИСОК ОСНОВНИХ С КОРОЧЕНЬ	7
ВСТУП	8
ЧАСТИНА I. БІОЛОГІЯ КЛІТИН	
ТЕМА 1 ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ОРГАНІЗАЦІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ	12
1.1 Основи клітинної теорії Особливості будови рослинної клітини	12
1.1.1 Гіалоплазма. Цитоскелет. Колоїдні властивості гіалоплазми	16
1.1.2 Мембранна організація цитоплазми. Основні властивості та функції мембран. Ендоплазматична сітка. Комплекс Гольджі	17
1.1.3 Пластиди. Загальна характеристика. Біохімічні механізми фотосинтезу	19
1.1.4 Будова та функції вакуолі у рослинній клітині. Осмотичні явища	25
1.1.5 Включення. Клітинна оболонка	
Метод мікроскопії	27
ЧАСТИНА II. ОСНОВИ ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ	31
ТЕМА 2. НАПРЯМИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ У БІОХІМІЇ	34
2.1 Предмет і завдання біохімії. Основні напрямки розвитку біохімічних досліджень	34
2.2 Матеріали для біохімічних досліджень та методи виділення речовин з біологічного матеріалу	37
2.3 Методи кількісного аналізу та їх класифікація	39
2.4 Розчини. Способи вираження концентрації розчинів	42
ТЕМА 3. ОСНОВНІ БУФЕРНІ СИСТЕМИ КРОВІ. КИСЛОТНО-ОСНОВНИЙ СТАН	46
3.1 Активна реакція крові	46
3.2 Значення рН та буферні системи крові	50
ТЕМА 4. ЕЛЕКТРОКІНЕТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КОЛОЇДІВ	54
4.1 Класифікація дисперсних систем	54
4.2 Молекулярно-кінетичні властивості колоїдних систем	56
4.3 Оптичні властивості колоїдних систем	59
4.4 Електрокінетичні явища	60
4.5 Стійкість і коагуляція колоїдних систем	64
4.6 Діаліз. Компенсаційний діаліз і вивідіаліз	67
ТЕМА 5. ПОВЕРХНЕВІ ЯВИЩА І АДСОРБЦІЯ	69
5.1 Поверхневий натяг	69
5.2 Явище адсорбції	71
5.3 Хроматографія	74
ТЕМА 6. РОЗЧИНИ ВИСОКОМОЛЕКУЛЯРНИХ СПОЛУК	76
6.1 Класифікація і структура високомолекулярних сполук	76
6.2 Драгли, старіння драглів, біологічне значення	84
6.3 Колоїдний захист та порушення захисних властивостей білків	86

ЧАСТИНА III. ОСНОВИ СТАТИЧНОЇ ТА ДИНАМІЧНОЇ БІОХІМІЇ. ОСОБЛИВОСТІ ОБМІНУ РЕЧОВИН		
ТЕМА 7. АМІНОКИСЛОТИ, ПЕПТИДИ, БІЛКИ ТА ЇХ ОБМІН		90
7.2	Кольорові реакції на амінокислоти	98
7.3	Кольорові реакції на циклічні та гетероциклічні амінокислоти	101
7.4	Визначення окремих амінокислот хроматографічними методами	103
7.5	Біологічне значення амінокислот та пептидів	106
7.6	Структурна організація білків	107
7.7	Класифікація білків. Прості і складні білки	115
7.8	Роль білків в організмі тварини та їх фізико-хімічні властивості	123
7.9	Реакція осадження білків та порушення стабілізуючої структури білкової молекули	125
7.10	Відмінність та подібність ВМС від колоїдних розчинів	129
7.11	Перетравлення білків у шлунково-кишковому тракті. Всмоктування амінокислот. Регуляція і порушення перетравлення і всмоктування	131
7.12	Загальні шляхи обміну амінокислот	134
7.13	Біологічна роль амінів	137
7.14	Обмін аміаку в організмі. Біосинтез сечовини	139
ТЕМА 8. НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ, НУКЛЕОПРОТЕЇНИ ТА ЇХ ОБМІН		146
8.1	Хімічний склад і будова нуклеїнових кислот	146
8.2	Біологічні функції ДНК	150
8.3	Рівні структурної організації ДНК еукаріот	151
8.4	Біологічні функції та рівні структурної організації РНК	157
8.5	Властивості та функції нуклеїнових кислот	163
ТЕМА 9. ВІТАМІНИ		169
9.1	Класифікація вітамінів	171
9.2	Структура та біологічні функції жиророзчинних вітамінів	174
9.3	Структура, біологічна роль водорозчинних вітамінів та їх коферментні властивості	180
9.4	Якісні реакції на деякі вітаміни та їх кількісне визначення	186
ТЕМА 10. ГОРМОНИ. ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ В ОРГАНІЗМІ ТВАРИНИ		195
10.1	Загальна характеристика гормонів	195
10.2	Класифікація гормонів за хімічною природою. Механізм дії гормонів на клітину-мішень	196
10.3	Біологічна роль деяких гормонів та вплив їх на обмін речовин	197
10.4	Якісні реакції на деякі гормони	206
ТЕМА 11. ФЕРМЕНТИ		207
11.1	Загальні властивості ферментів	207
11.2	Кінетика ферментативних реакцій	211
11.3	Будова ферментів	213
11.4	Класифікація та номенклатура ферментів	215

11.5	Каталітична дія деяких ферментів	218
11.5.1	Вплив реакції середовища на активність ферментів	221
11.5.2	Специфічність дії ферментів	221
	ТЕМА 12. БІОЕНЕРГЕТИКА. ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН	223
12.1	Катаболізм білків, ліпідів, вуглеводів	223
12.2	Роль кисню в метаболізмі	231
12.3	Макроергічні молекули	232
12.4	Окисне фосфорилування в організмі тварини	234
	ТЕМА 13. ВУГЛЕВОДИ ТА ЇХ ОБМІН	237
13.1	Загальна характеристика вуглеводів. Основні функції та класифікація	237
13.2	Синтез глікогену	243
13.3	Розпад глікогену	246
13.4	Анаеробне розщеплення вуглеводів	247
13.5	Спиртове бродіння	251
13.6	Аеробне перетворення вуглеводів	252
13.7	Цикл трикарбонових кислот Кребса (ЦТК)	254
13.8	Пентозофосфатний цикл	259
13.9	Якісні реакції на вуглеводи	263
13.10	Кількісне визначення глюкози та пірувату	266
13.11	Особливості патології вуглеводного обміну	271
	ТЕМА 14. ЛІПІДИ ТА ЇХ ОБМІН	274
14.1	Загальна характеристика ліпідів. Основні функції та класифікація	274
14.2	Ліполіз (β -окислення жирних кислот)	276
14.3	Біосинтез ТАГ в ентероцитах, печінці і жировій тканині	279
14.4	Біосинтез гліколіпідів	280
14.5	Якісні реакції на ліпіди та їх кількісне визначення	281
14.6	Особливості патології обміну ліпідів	287
	ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДО ТЕМ	293
	ДОДАТКИ	320
	СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	324

СПИСОК ОСНОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

Аа-РНК-синтитаза	аміноацил-тРНК-синтитаза
АДФ	Аденозиндифосфат
Альбумін-НЕЖК	альбумін-неестерифіковані жирні кислоти
ЦАМФ	циклічний аденозинмоно-фосфат
АТФ	аденозинтрифосфат
Ацетоацетил-Е	ацетоацетил, зв'язаний із пальмітатсинтезазою
Бутирил-Е	бутирил, зв'язаний із пальмітатсинтезазою
ВЖК	вищі жирні кислоти
ГДФ	Гуанозиндифосфат
ГМГ-КоА	β -гідроксиметилглутарил-КоА
ГМГ-КоА-редуктаза	β -гідроксиметилглутарил-КоА-редуктаза
ГМГ-синтитаза	β -гідроксиметилглутарил-КоА-синтитаза
ГТФ	гуанозинтрифосфат
ДАГ	Діацилгліцерин
ДАО	Діамінооксидаза
ДНК	дезоксирибонуклеїнова кислота
ІМФ	Інозинмонофосфат
Кротоніл-Е	кротонил, зв'язаний із пальмітатсинтезазою
ЛВЦ	ліпопротеїни високої щільності
ЛНЦ	ліпопротеїни низької щільності
ЛДНЦ	ліпопротеїни дуже низької щільності
ЛХАТ	лецитинхолестирин-цилтрансфераза
МАО	моноамінооксидаза
Малоніл-Е	малоніл, зв'язаний із пальмітатсинтезазою
НАД ⁺	нікотинамідаденінди-нуклеотид
НК	нуклеїнова кислота
ОМФ	оротидинмонофосфат
РНК	рибонуклеїнова кислота
мРНК	матрична РНК
рРНК	рибосомальна РНК
тРНК	транспортна РНК
ТАГ	Триацилгліцерин
ТАГ-ліпаза	Триацилгліцероліпаза
ТГФК	тетрагідрофолієва кислота
УДФ	Уридиндифосфат
УТФ	Уридинтрифосфат
ФАД	Флавінаденіндинуклеотид
ФАФС	3'-фосфааденазил-5'-фосфосульфат
Хмзал	хіломікрони залишкові
ЛПЕ	ланцюг переносу електронів
ЦТК	цикл трикарбонових кислот
ЦТФ	Цитидинтрифосфат
Нв	Гемоглобін
НвА	нормальний гемоглобін дорослої людини та тварини
НвS	гемоглобін при серповидноклітинній анемії
НвF	фетальний гемоглобін
K _м	константа Міхаеліса
V _{max}	максимальна швидкість

ВСТУП



Das Sein ist ewig:
denn Gesetze Bewahren die Lebend'gen Schatze,
Aus welchen sich das All geschmückt.
Johann-Wolfgang Goethe
Буття є вічним, тому що існують Закони,
що оберігають скарби Життя,
якими прикрашає себе Всесвіт.
Йоган-Вольфганг Гете

Успішне вивчення будови, розвитку й функціонування клітин тісно пов'язані з удосконаленням методів дослідження клітин, серед яких основним став метод світлової мікроскопії.



Роберт Гук
(1635 – 1703)

Термін "**клітина**" (грец. *цитос* – клітина, лат. *целлулус* – **порожнина**) в 1665 р. вперше застосував англійський дослідник *Роберт Гук*, характеризуючи структури, що були виявлені ним під мікроскопом при розгляді тонкого зрізу пробкової тканини. Клітини сприймав він як пустоти в гомогенній речовині, з якої складалася тканина. Р. Гук, разом з іншими відомими мікроскопістами *М. Мальпігі*, *Н. Грю* узагальнили та поглибили уявлення про анатомічну будову рослин; *Антоні ван Левенгук* вперше описав мікроскопічну будову інфузорій, бактерій, сперматозоїдів тварин, еритроцитів крові. Ці дослідники були провісниками вивчення мікроскопічного рівня організації біологічних систем і з'ясували, що клітина є

певним чином *організованою системою*. Ботанік *Р. Броун* відкрив ядро як постійну клітинну структуру (1813), *Ф. Дюжарден*, *Я. Пуркінєс*, *фон Моль* вивчали вміст клітини, що дістав назву *протоплазми*. У 1827 р. *К. Бер* відкрив яйцеклітину. Таким чином, за три перші десятиріччя ХІХ ст. клітина була визнана структурним елементом живого.

Розглядаючи різні рівні організації живого в ієрархічному порядку, від простого до складного, легко переконатися, що **жива клітина** – це структурна, функціональна і генетична одиниця живого і характеризується, безсумнівно, не простим хімічним складом, постійним самовідновленням та мінливістю у процесі життєдіяльності. Наприклад, рибосоми у присутності необхідних факторів можуть синтезу-

вати білок - актоміозинові фібрили, що здатні скорочуватися у відповідь на аденозинтрифосфорну кислоту.

Повертаючись ще у глибоку давнину людина використовувала вже відомі у ті часи технології біохімічних процесів виробництва, таких як хлібопечення, сироваріння, виноробство, вироблення шкіри тощо. Необхідність боротьби з хворобами змушувала замислюватися про перетворення речовин в організмі, шукати пояснення цілющим властивостям лікарських рослин. Перський вчений і лікар X століття *Ібн-Сіна* у своїй книзі «Канон лікарської науки» детально описав безліч лікарських речовин.

Стародавні мислителі розмірковували про те, яку роль відіграє повітря та їжа у життєзабезпеченні живих істот, що викликає процес бродіння тощо.

Найвидатніші алхіміки *Р. Бекон*, *Парацельс* (XVI ст.), *Йоган Фрідріх Гельвеціус* (XVII ст.) накопичили великий експериментальний матеріал, відкрили низку хімічних елементів, описали їх властивості та реакції і вважали, що хімія має служити здоров'ю людини.

Істотними передумовами для формування природничих наук послужили роботи *Ладзаро Спаланцані* (XVIII ст.) з фізіології травлення, який досліджував вплив шлункового соку при перетравленні м'яса у хижих птахів і доказав, що цей процес є хімічним. За словами *Луї Пастера*, Спаланцані був «найвидатнішим експериментатором з тих, що коли небудь народилися на землі».

На основі відкритого закону збереження маси речовини та накопичених експериментальних даних було досліджено сутність дихання і роль у цьому процесі кисню. У цей період *Дж. Прістлі* і відкрив кисень та довів, що він поглинається тваринами і синтезується безпосередньо рослинами; *К. В. Шеєле* вивчив хімічний склад рослинних і тваринних тканин, виділив молочну, винну, яблучну, лимонну кислоту, гліцерин і білок казеїн; *Інгенхауз* довів, що для виділення кисню зеленими

рослинами необхідне світло (початок вивчення фотосинтезу); *Ю. Лібих* з'ясував методи кількісного хімічного аналізу і застосував їх для дослідження біологічних об'єктів. *К. Бернар* виділив з печінки глікоген і довів, що він є джерелом глюкози, яка переноситься кров'ю в усіх живих організмах.

Завдяки працям дослідників наприкінці XIX ст. біологічна хімія сформувалася як окрема наука. У 1828 році німецький хімік *Ф. Велер* синтезував сечовину, завдавши нищівного удару віталізму, і цей рік можна вважати роком заснування біохімії як науки, *Берцеліус* створив основи вчення про каталіз.

Основоположник вітчизняної біохімії, видатний український біохімік *О.Я.Данилевський* сформулював ряд положень про первинну структуру білка, йому належить ідея зворотності ферментативного каталізу.



О. Я. Данилевський
(1838 - 1923)

мулював ряд положень про первинну структуру білка, йому належить ідея зворотності ферментативного каталізу.

Роботи зарубіжних вчених - *Х Ейкмана, К Функа, Гопкінса* поклали початок вченню про незамінні компоненти їжі – вітаміни.

Однак найбільшого розвитку біохімія досягла у ХХ ст. з відкриттям нових речовин, дослідженням різних біохімічних процесів та механізмів їх регуляції. Зокрема, розроблені механізми синтезу пептидів (1902 р., *Е. Фішер*); одержано білок у кристалічному стані (*Дж. Самнер і Дж. Нортрон*). У 1861 році *О. Бутлеров* синтезував вуглеводи з формальдегіду; з'ясовано основні шляхи перетворення в організмі білків, вуглеводів, ліпідів, окиснення і синтезу жирних кислот (*Кнооп, Ф. Ліпман, А. Кребс, М. Бергло*).

Велика заслуга у розвитку біохімії, мікробіології, медицини, імунології належить геніальному французькому вченому *Луї Пастеру*. Провівши свій класичний дослід, в якому живлення дріжджового грибка проходить за рахунок цукру, золи і аміачної солі він довів, що всі різні види бродіння (молочнокисле, маслянокисле, спиртове, оцтове), усюди діяльним початком виявилась жива істота – бактерія. Луї Пастер виступив із незаперечними доказами проти панівної, на той час, думки про самозародження мікробів.



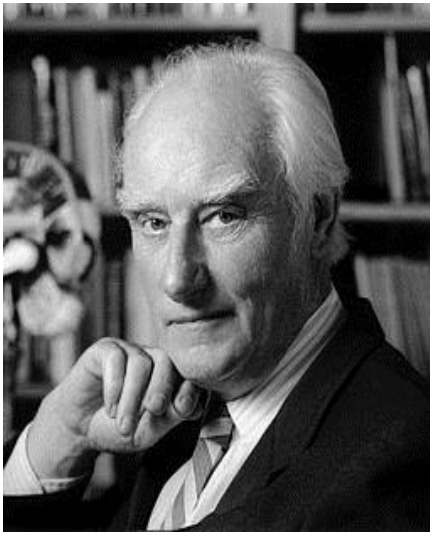
Луї Пастер
(1822 – 1895)

Видатне місце у розвитку біохімії, біології клітин, а саме у з'ясуванні шляхів біологічного окиснення та його зв'язок з іншими процесами в обміні речовин; у вивченні структури білків і нуклеїнових кислот та їх ролі у механізмах спадковості своїми фундаментальними дослідженнями внесли значний вклад і багато інших зарубіжних вчених таких як *О. Варбург, А. Сент-Дьєрді, А. Ленінджер, Кребс, П. Мітчел, Л. Полінг, С. Чаргафф, В. Корі, Ф. Сенджер, Дж. Уотстон, Ф. Крік, С. Очао, А. Корнберг, Ф. Мішер*. Серед творців науки гідне місце завжди займали вітчизняні видатні вчені: *А. Бах, В.І.Палладін, В.О. Беліцер, М.Ф. Гулий і Р.В. Чаговець* та інші.

Біохімія стала першою біологічною дисципліною з розвиненим математичним апаратом завдяки роботам *Холдейна, Міхаеліса-Ментена*; з активним використанням фізико-хімічних методів; вивченням основних життєвих процесів – молекулярних основ збереження і передачі генетичної інформації з використанням генної інженерії, дослідженням структури і функції біомембран.

Зі слів доктора біологічних наук *О.О. Імишенецького* «існують в науці імена, блиск яких з роками не тускніє. Проходять десятиріччя, і заслуги цих вчених перед людством стають все більш значущими».

Біологія клітин, біохімія є одні з фундаментальних біологічних наук, вивчення яких є обов'язковим етапом у системі підготовки фахівців аграрного профілю: біотехнологів, лікарів ветеринарної медицини, екологів, технологів у харчовій промисловості, науковців. Оволодіння базовими знаннями створює підґрунтя для формування у здобувачів вищої освіти біохімічного мислення, розвитку основних умінь і навичок оцінки метаболізму в організмі тварин і рослин та у разі розвитку патоло-



Френсіс Крік
(1916 - 2004)

гічного процесу. Застосування у біохімічних дослідженнях швидкісних та високочутливих методів аналізу сприяє виникненню нових напрямів у молекулярній біології, клітинній біології, молекулярній фізіології, генетичній інженерії, біотехнології, біохімічній генетиці.

У навчальному посібнику дана характеристика біологічній організації клітин, методам мікроскопії, наведені загальні питання основ фізичної та колоїдної хімії, детально розглянуті основні механізми метаболічних шляхів таких як гліколізу, глюконеогенезу, клітинного дихання; катаболізму жирних кислот і амінокислот та процеси біосинтезу і деградації основних

біомолекул, а також принципи їх регуляції. Це дає можливість здобувачам ветеринарної медицини науково обґрунтувати патогенез хвороби, стежити за перебігом хвороби та ускладненнями, коригувати і контролювати ефективність лікування.

При викладі положень класичної біохімії автори прагнули використати мінімальну кількість формального матеріалу. Основні теми ілюстровані кольоровими схемами та малюнками, що надає ефект наочності та безсумнівно забезпечує легкість сприйняття і запам'ятовування матеріалу. Схеми процесів допоможуть створити зрозумілу картину взаємодії метаболічних шляхів, їх узгодженість і регуляторну дію. Наведено визначення всіх основних термінів і короткий опис найбільш важливих експериментальних методів.

Автори сподіваються, що навчальний посібник допоможе студентам швидко зорієнтуватися у досить великому обсязі наукової інформації, а також отримати знання про сучасні методи біохімічних досліджень, оволодіти практичними навичками визначення певних речовин у біологічному матеріалі, умінням узагальнювати, аналізувати й оцінювати результати лабораторних досліджень, що має значення під час подальшого вивчення біотехнологічних дисциплін, анатомії, фармакології, патологічної фізіології та клінічних дисциплін, а також можливість використати набуті знання і навички у майбутній професійній діяльності.

Особлива подяка за співпрацю в ілюструванні посібника з питань патології обміну речовин доктору ветеринарних наук, професору Скрипці Марині Вікторівні.

ЧАСТИНА I

БІОЛОГІЯ КЛІТИНИ

ТЕМА 1. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ТА ОРГАНІЗАЦІЯ РОСЛИННОЇ КЛІТИНИ

1.1 Основи клітинної теорії. Особливості будови рослинної клітини

У 1665 році англійський фізик і ботанік Роберт Гук, розглядаючи під «збільшувальним склом» зріз пробки, вперше виявив, що він складається з пустот, які Гук назвав клітинами. Однак знадобилося ще понад півтора століття, поки німецький зоолог *Т. Шванн* та його співвітчизник ботанік *М. Шлейден* довели, що всі рослинні та тваринні організми побудовані із клітин. Вперше це узагальнення було сформульовано у 1939 році творцем клітинної теорії Т. Шванном: кожна клітина



Тедор Шванн
(1810 – 1882)



Матіас Шлейден
(1804 – 1881)

організму функціонує незалежно від інших, але разом всі клітини виникають із безструктурної речовини неживої матерії. Великий вплив на розвиток клітинної теорії справили роботи німецького лікаря Рудольфа Вірхова. У 1855 році Р. Вірхов переконливо довів, що клітини є постійними структурами і обґрунтував од-

не з ключових положень *клітинної теорії*, сформульоване ним у короткому виразному вислові: «кожна клітина із клітини» (*omnis cellula e cellula*). Великим внеском у розвиток клітинної теорії було відкриття К. Бером яйцеклітини савців і зроблений ним висновок у тому, що багатоклітинні організми розвиваються з однієї клітини - зиготи. Тим самим К. Бер вперше обґрунтував положення, згідно з яким клітина є не тільки будівельною одиницею, а й одиницею розвитку всіх живих організмів. Створення клітинної теорії ознаменувало новий етап у розвитку біології.

Вся сукупність властивостей, що відрізняють живе від неживого, вперше проявляється на клітинному рівні організації життя. Це фундаментальне тлумачення клітинної теорії неодноразово зазнавало критики. Наприклад, вказувалося, що у багатоклітинних організмах, окрім клітин, існують і проміжні міжклітинні речовини, які, здавалося б, як і клітини, мають властивості живого. Помилковість цього висновку полягало в тому, що проміжні речовини, наприклад волокна сполучної тканини, являють собою не самостійні структури, а продукти життєдіяльності окремих клітин. Добре відомо, наскільки значно відрізняються клітини за формою та функціями, які вони виконують навіть у межах одного багатоклітинного організму. Всі

організми подібні за своєю будовою, виконуваними функціями, за хімічним складом та обміном речовин, тобто гомологічні. Схожість клітин за корінними їх властивостями визначається єдністю походження життя та спільністю метаболічних процесів і функцій. Згодом клітинна теорія була поширена на одноклітинні організми найпростіших (К. Зібольд, 1848). Сучасна клітинна теорія виходить із єдності багатоклітинних організмів та цілосності організму.

У сучасному вигляді клітинна теорія включає такі основні положення:

1. Клітина – це елементарна одиниця живого, якій притаманні всі властивості, що відповідають визначенню «живого». Це обмін речовин і енергії, рух, ріст, подразливість, адаптація, мінливість, репродукція, старіння і смерть. Усі неклітинні структури, з яких крім клітин побудований багатоклітинний організм, є похідними клітин

2. Клітина - єдина система, що включає сукупність закономірно пов'язаних один з одним елементів – органел або органоїдів, які являють собою цілісні клітинні структури і забезпечують виконання специфічних функцій у процесі своєї життєдіяльності.

3. Розмноження клітин відбувається шляхом поділу вихідної клітини з попереднім відтворенням її генетичного матеріалу

5. Багатоклітинний організм інтегрований у систему тканин та органів, котрі сполучені між собою хімічними, гуморальними та нервовими функціями.

6. Клітини багатоклітинних організмів тотипотентні, тобто володіють генетичним потенціалом усіх клітин організму, містять рівнозначну генетичну інформацію, але відрізняються між собою різною експресією різних генів, які призводять до їх морфологічного та функціонального різноманіття – до диференціювання.

Таким чином, відкриття клітини і створення клітинної теорії дозволило обґрунтувати єдність клітинної організації всіх живих організмів, що мешкають на Землі, і сформулювати висновок, згідно з яким вільноживучих неклітинних форм життя не існує. Клітинна теорія зіграла велику роль в розвитку всіх розділів біологічної науки.

Будова рослинної клітини

Розміри рослинних кліток знаходяться у певних межах, характерних для цього роду рослини та типу клітки (**рис. 1.1**). Найбільш метаболічно активні клітини (наприклад, у меристемах) мають дуже дрібні розміри, а неактивні - великі. Найдрібніші клітини, як відомо, мають **бактерії**. Так, діаметр клітин деяких бактерій не перевищує 1 мкм. Довжина деяких прозенхімних клітин вищих рослин може вимірюватися сантиметрами. Однак у більшості вищих рослин діаметр кліток зазвичай знаходиться в межах 10-100 мкм. Паренхімні клітини мають великі розміри в тому випадку, якщо вони виконують запасну функцію. Наприклад, клітини бульб картоплі, клітини соковитих плодів. Так, м'якоть плодів цитрусових, кавуна складається з клітин діаметром кілька міліметрів; ці клітини видно неозброєним оком. Розміри довгих прозенхімних клітин набагато більші. Зокрема, волосинка бавовнику (*Gossypium herbaceum*) – 15 см, волокно кропиви (*Urtica*) – до 8 см. До найдовших клітин відносять судини молочая (*Euphorbia*). Кількість клітин у вищій рослині досягає астрономічних величин. Так, листя дерева налічує понад 100 млн. клітин.

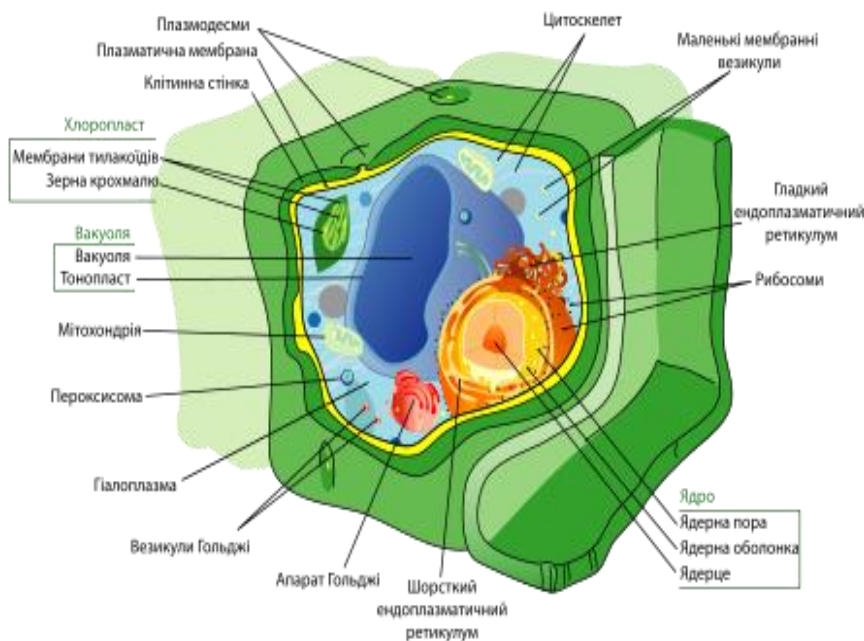


Рис. 1.1 Схеми будови рослинної клітини

Клітини неспеціалізованих (ембріональних) тканин рослин та тварин у загальному плані будови подібні за основними функціями. У цьому полягає спільність основних процесів життєдіяльності рослин і тварин. Тим не менш, між клітинами рослин та тварин є і суттєві відмінності.

Морфологічні відмінності виявляються вже

у диференційованих клітинах спеціалізованих тканин рослин та тварин.

За період довгого еволюційного розвитку рослинної клітини у ній зформувались певні структурно - функціональні підсистеми:

- захисно-опорна – *клітинна оболонка*;
- рецепторно-бар'єрно-транспортна – *плазмалема і тонопласт*;
- збереження, відтворення і реалізація генетичної інформації – *ядро*;
- проміжний обмін – *гіалоплазма*;
- асиміляційна – *пластиди*;
- синтезу, сегрегації і внутріклітинного транспорту біополімерів (окрім нуклеїнових кислот) – *вакулярна система* (вакуоль, ендоплазматична сітка, апарат Гольджі, лізосоми, мікротільця);
- енергозабезпечення – *мітохондрії*;
- каркасно-рухова – *цитоскелет*.
- відсутність центріолей (центросом) у центрі організації мікротрубочок (ЦОМТ).

Особливості будови рослинної клітини пов'язані зі способом життя та способом харчування. Більшість рослин веде нерухомий (прикріплений) спосіб життя і не може активно пересуватися у пошуках джерел живлення та сприятливіших умов існування. Вживання їх можливе завдяки тому, що зелені рослини мають автотрофний спосіб харчування. Поглинання рослинами води та мінеральних поживних речовин, що знаходяться навколо у розсіяному вигляді, відбувається насамперед за рахунок процесу дифузії.

У дорослій клітині рослин-еукаріотів можна розрізнити 3 основні частини: клітинну оболонку, протопласт, вакуолі.

Протопласт та його органели. Склад протопласту.

Протопласт – головний компонент клітки. Він визначає її функціонування як елементарної біологічної системи. Клітинна оболонка та вакуоль є продуктами життєдіяльності протопласту. Органоїди – обов'язкові компоненти протопласту, мають характерну будову, досить легко відрізняються між собою та виконують певні свої функції.

Органоїди рослинної клітини: ядро, пластиди, мітохондрії, рибосоми, ендоплазматичний ретикулум (ЕПР), диктіосоми, мікротільці (пероксисоми), лізосоми. Всі органели зосереджені у гіалоплазмі, яка з органелами, крім ядра, називається **цитоплазмою** клітки.

Хімічний склад протопласту змінюється у процесі життєдіяльності. Однак усі речовини клітки поділяються на: **конституційні та ергостатичні**.

Основними класами **конституційних речовин** є білки, нуклеїнові кислоти, ліпіди та вуглеводи. Білки (протеїни) створюють особливу структуру протопласту, беруть участь у побудові та функціях всіх органел. Білки клітини, залежно від їхньої функції, можна розділити на структурні, ферментні, рецепторні, транслокаційні, скорочувальні, запасні. **Структурні білки** не здатні утворювати великі, стабільні, впорядковані комплекси (наприклад, мікрофіламенти та мікротрубочки). Ферменти-білки є каталізаторами хімічних реакцій, тобто регулюють життєві процеси у клітині. **Рецепторні білки** служать специфічне впізнавання сигнальних речовин (гормонів, феромонів та інших.). **Транслокаційні білки** є компонентами біомембран; вони пропускають через мембрани певні молекули та іони. Білки також можуть виконувати скорочувальну та транспортну функції, іноді є джерелом енергії, можуть відкладатися в запас та входять в комплекси з іншими речовинами: вуглеводами, нуклеїновими кислотами, ліпідами.

Нуклеїнові кислоти – ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота) та РНК (рибонуклеїнова кислота), містяться у невеликій кількості (12% маси сирого протопласту). Однак вони відіграють величезну роль як речовини, що зберігають та передають інформації, необхідну для синтезу різних речовин клітини, а також запасують енергію (АТФ). ДНК, що відповідає за збереження та передачу генетичної інформації, зосереджена переважно у ядрі клітини, а РНК, завдяки якій генетична інформація реалізується у вигляді білків, що синтезуються, є як в ядрі, так і в цитоплазмі.

Ліпіди (23% маси сирого протопласту) відносно нерозчинні у воді, але розчиняються в органічних розчинниках. Серед ліпідів виділяють тверді (жири) та рідкі (олії). Вони входять до складу клітинних мембран (структурні ліпіди). Частина ліпідів є ергостичними речовинами (запасні ліпіди). Як компоненти мембран ліпіди є незамінними структурними речовинами, а завдяки значній енергоємності часто виступають як запасні речовини та є джерелом енергії

Вуглеводи становлять 12% маси протопласту, представлені простими (розчинні у воді - моносахаридами) та складними (полісахаридами – нерозчинними та слабо-розчинними) сполуками. **Полісахариди** (глікани) утворюються завдяки зв'язуванню моносахаридів (гексоз та/або пентоз) у макромолекули (розгалужені або нерозгалужені). У клітині прості вуглеводи відіграють роль джерела енергії для реакцій обміну речовин (глюкоза та фруктоза, сахароза). Складні вуглеводи (полісахариди)

є важливими структурними (целюлоза, геміцелюлоза та пектини) та ергастичними речовинами клітини (перш за все, крохмаль, рідше – геміцелюлоза та інулін). Комплекси з ліпідами – *гліколіпіди* – входять до складу мембран, комплекси з білками – глікопротеїни – виконують у мембранах рецепторну, транслокаційну та ін. функції.

Вода міститься у клітині у найбільшій кількості (60-70%). У ній розчинено більшість інших речовин. Мінеральні солі (точніше, іони мінеральних солей) становлять лише 1% маси протопласту. Вони відіграють важливу роль в осмотичних процесах у клітині (калій, натрій), виконують структурну функцію (магній у молекулах хлорофілу), сигнальну (кальцій), відповідають за формування заряду на мембранах (іони водню), а деякі з них забезпечують активність ферментів.

1.1.1 Гіалоплазма. Цитоскелет. Колоїдні властивості гіалоплазми

Протопласт є багатофазний гідрофільний колоїдний розчин (золь). Він характеризується високою водопоглинаючою та водоутримуючою здатністю. Колоїди протопласту можуть у певних умовах віддавати воду і переходити в стан гелю, здатного висихати без втрати життєздатності. Основну напіврідку речовину протопласту називають *гіалоплазмою* (від грец. *hyalos* скло) або матриксом.

Гіалоплазма є внутрішнім середовищем клітини, є складною колоїдною системою, яка утворена білками, нуклеїновими кислотами, вуглеводами, водою та іншими речовинами. У гіалоплазмі в розчиненому стані міститься велика кількість амінокислот, нуклеотидів та інших будівельних блоків біополімерів, безліч проміжних продуктів, що виникають при синтезі та розпаді макромолекул, а також іонів неорганічних сполук, таких як Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , HCO_3^- , HPO_4^{2-} та ін.

Функції гіалоплазми:

- є внутрішнім середовищем клітини, в якій відбувається багато хімічних процесів;
- поєднує всі клітинні структури та забезпечує хімічну взаємодію між ними;
- визначає місце розташування органел у клітині;
- забезпечує внутрішньоклітинний транспорт речовин, органел, АТФ.

В електронному мікроскопі гіалоплазма виглядає гомогенною, не однорідною.

Гіалоплазма складається з двох фаз - рідкої та твердої.

Рідка фаза - це колоїдний розчин різних білків та інших речовин. Тверда фаза представлена системою тонких білкових ниток, які перетинають цитоплазму у різних напрямках, вона називається цитоскелетом (*рис. 1.2*). Він упорядковує розміщення всіх структурних компонентів клітини. Рідка фаза займає простір між цими нитками.

Мікрофіламенти (плазматичні нитки) є дуже тонкими (діаметр 410 нм) і довгими ниткоподібними білковими структурами, що зустрічаються у всій цитоплазмі. Мікрофіламенти складаються з двох білків – **актину та міозину**, беруть участь у м'язовому скороченні у тварин. Актин – глобулярний білок, тобто. його молекула має кулясту форму. Він є найважливішим білком еукаріотів, на його частку припадає 15% всього клітинного білка. Глобулярний актин полімеризується в актинові філаменти – нитки. Міозин в еукаріотичних клітинах міститься у меншій кількості (0,31 % клітинного білка), ніж актин.

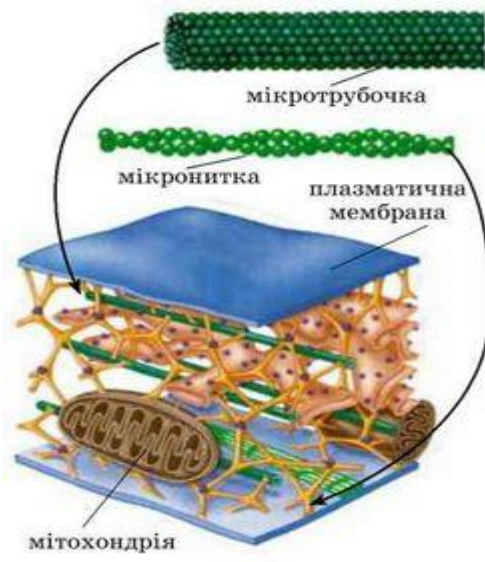


Рис. 1.2 Схема будови цитоскелету

Ниткоподібна молекула міозину (молекулярна маса більше 450000, довжина 150 нм) складається з двох великих і кількох малих субодиниць, що утворюють довгу подвійну спіраль. Один кінець цієї спіралі несе дві голівки. Головка міозину здатна прикріплюватися до актинових ниток.

Функції мікрофіламентів:

- рух органодів;
- утворення плазмалеми (плазмоподій).

Мікротрубочки виявлені практично у всіх еукаріотичних клітинах. Це тонкі циліндричні структури. Їхня довжина – кілька мкм. Мікротрубочки розташовані в шарі цитоплазми (екзоплазмі), підстиляють плазмалему; беруть участь у транспорті внутрішньоклітинних компонентів.

1.1.2 Мембранна організація цитоплазми. Основні властивості та функції мембран. Ендоплазматична сітка. Комплекс Гольджі

Біологічні мембрани – унікальні системи, які забезпечують як бар'єрну функцію, так і тонку регуляцію надходження речовин в окремі структури клітки. Цитоплазма пронизана біомембранами найтоншими (410 нм) плівками, побудованими, в основному, з фосфоліпідів та ліпопротеїнів.

Мембрани забезпечують просторове розташування всіх органодів клітки та ядра, відмежовують цитоплазму від клітинної оболонки та вакуолі, а всередині цитоплазми утворюють систему дрібних та великих везикул, цистерн та каналців,

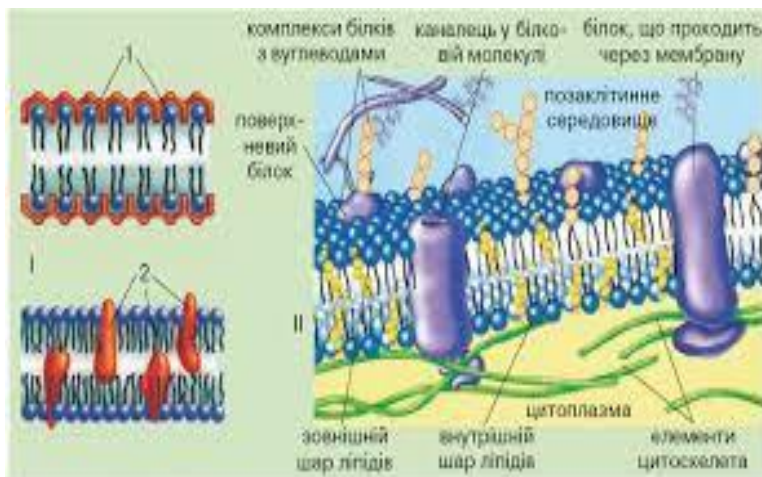


Рис. 1.3 Будова плазматичної мембрани

з'єднаних один з одним. Всі клітинні мем ним принципом: це тонкі ліпопротеїдні плівки, що складаються з подвійного шару ліпідних молекул, до якого включені молекули білка. Залежно від типу мембран частку ліпідів припадає 25,60%, частку білків 40,7%. До складу багатьох мембран входять також вуглеводи, їхня кількість може досягати 21%. Гідрофобні речовини

намагаються мінімізувати площу контакту з водою, це проявляється, наприклад, у появі округлих в контурах плівок олії на поверхні води. Залишки фосфорної кислоти формують полярну гідрофільну «головку», від якої відходять два неполяр-

них гідрофобних «хвоста» (рис. 1.3). Таким чином, молекули фосфоліпідів можуть бути чітко зорієнтованими: "головки" звернені до води, "хвости" утворюють суцільний "зручний" один для одного гідрофобний шар. Однак, з іншого боку, також знаходиться вода, контакту з якою намагаються уникнути «хвости». Від неї «рятує» дзеркально розташований другий шар фосфоліпідів. Таким чином, два шари гідрофобних «хвостів» надійно захищені від води з обох боків гідрофільними "Головками".

Гідрофобні взаємодії зумовлюють стабільність структури мембрани. Найменші розриви мембрани миттєво закриваються, замикаються такими, що уникають контакту з водою "хвістами" фосфоліпідів. По консистенції мембрани є в'язкі рідини. Білки закріплюються в мембрані тими самими способами. Білки, розташовані на поверхні мембрани – гідрофільні та утримуються електростатичними взаємодіями; мають гідрофобну частину, постійно перебувають у русі.

Вибіркова проникливість означає, що різні речовини потрапляють крізь мембрану з різними швидкостями. Причина цього – різна їхня розчинність в окремих компонентах мембрани. За *бар'єрну функцію* відповідає бішар ліпідів. Розмір молекул та їх розчинність у ліпідах (гідрофобність) визначає ступінь проникливості мембрани для речовини. Оскільки більшість речовин клітини водорозчинні, тобто гідрофільні, вони мають обмежену проникливість через мембрану. Органічні речовини, наприклад, розчинники (ацетон, спирти) та ін. речовини, в тому числі, отруйні (бензол, нафталін) добре проходять крізь мембрану. За вибіркиму проникливість відповідають білки. Результатом такої діяльності виявляється нерівномірний розподіл деяких речовин чи елементів. Наприклад, калій присутній у протопласті у набагато вищій концентрації, ніж у зовнішньому середовищі. У той же час споріднений елемент – натрій активно виводиться з протопласту.

Внутрішньоклітинні мембрани є активними учасниками метаболізму. Кількість мембранних елементів у цитоплазмі коливається залежно від типу та стану клітини і становлять до 90% сухої речовини цитоплазми. Завдяки мембранам окремі ферменти та їх комплекси певним чином розташовуються у протопласті. Мембрани клітини – плазмалема та тонопласт.

Плазмалема має складчасту поверхню, завдяки чому збільшується її площа. Через великий вміст глікопротеїнів плазмалема товща і щільніша за інші мембрани клітини. Зазвичай вона щільно прилягає до клітинної оболонки. Це бар'єр між складно організованим внутрішньоклітинним вмістом та зовнішнім середовищем. Плазмалема здійснює трансмембранний транспорт речовин і завдяки рецепторним білкам виконує роль первинного аналізатора клітини. Вона утворюється та оновлюється за рахунок активності ендоплазматичної сітки. Вибіркова проникливість визначається її осмотичним бар'єром.

Зсередини плазмалема зв'язана з мікрофіламентами шару гіалоплазми. Мікрофіламенти здатні скорочуватися та забезпечують зміну її форми. Тому в активних клітинах плазмалема може утворювати вирости та вп'ячування.

У рослин переважає *піноцитоз*. За допомогою екзоцитозу плазматична мембрана бере участь також у виведенні речовин із клітини. При цьому внутрішньоклі-

тинні продукти, укладені у бульбашки та відмежовані від гіалоплазми мембраною, підходять до плазмалеми.

Рибосоми, пов'язані з мембранами ендоплазматичної сітки, синтезують мембранні білки клітини, ферменти лізосом, а також білки, які призначені на експорт, в тому числі білки позаклітинного матриксу.

Ендоплазматична сітка (ендоплазматичний ретикулум) – розгалужена система з'єднаних між собою мембранних цистерн, трубочок і везикулярних утворень, що являють собою єдиний безперервний компартмент (від англ. compartment – комірка, кімната, обмежений простір), відокремлений від гіалоплазми одинарною мембраною ЕПС розділяє цитоплазму на окремі відсіки (компартменти), в яких одночасно можуть протікати не сумісні один з одним хімічні процеси. По каналах ЕПС здійснюється упорядкований транспорт речовин між різними компартментами клітини, завдяки чому клітина функціонує як єдина система. Форма і розміри ЕПС постійно змінюються в залежності від функціонального стану клітини.

Існують два типи ЕПС – гранулярна (зерниста, шорстка) і гладка, які утворюють єдину структуру. Гранулярна ендоплазматична сітка (грЕПС) відрізняється наявністю на зовнішній стороні мембрани, зверненої до гіалоплазми, рибосом і полісом.

Порожнина грЕПС сполучається з перинуклеарним простором, а мембрана її безпосередньо пов'язана з зовнішньою мембраною ядра. На рибосомах грЕПС синтезуються секреторні білки, призначені для виведення з клітини, а також білки лізосом і позаклітинного матриксу.

Комплекс Гольджі (КГ) або апарат Гольджі – пластинчастий комплекс, розташований поблизу ядра, між ЕПС і плазмалею. Його структурно-функціональна одиниця – діктіосома являє собою стопку з 5-20 плоских одномембранних мішечків (цистерн), що мають діаметр близько 1 мкм, внутрішні порожнини яких не сполучаються одна з одною. Кількість таких мішечків в стосі зазвичай не перевищує 5-10, а відстань між ними складає 20-25 нм. У тваринних клітинах діктіосоми зазвичай пов'язані в загальну сітку, а в рослинних клітинах вони розташовані окремо.

У кожній діктіосомі розрізняють три частини: проксимальну (cis-полюс), звернену до ЕПС, медіальну і дистальну (trans-полюс), звернену до плазмалеми.

До дистальної цистерни транс-полюса примикають численні трубочки і міхурці, що утворюють транс-мережу апарату Гольджі.

В КГ здійснюється хімічна модифікація білків, що транспортуються. Цей процес відбувається поетапно у міру транспорту білків від цис- до транс-полюсу КГ, кожна цистерна якої містить характерний для неї набір ферментів.

У транс-мережі здійснюється сортування білків і упаковка їх в мембранні міхурці, вкриті клатріном. Сортування білків здійснюється за допомогою вбудованих у мембрану транс-мережі КГ особливих білків-рецепторів, здатних специфічно взаємодіяти з певними хімічними угрупованнями – маркерами молекул білків, що відбираються

1.1.3 Пластиди. Загальна характеристика. Біохімічні механізми фотосинтезу

Поряд з вакуолями та клітинною оболонкою пластиди – найважливіші компоненти рослинних клітин. *Пластиди* (грец. *plástides* - створюють, утворюють, від *plastós* - виліплений, оформлений) органели цитоплазми автотрофних рослин, що містять пігменти та здійснюють синтез органічних речовин. Зазвичай вони добре помітні під світловим мікроскопом.

Кожна пластида оточена власною оболонкою, що складається із двох мембран. Усередині пластид розрізняють мембранну систему і гомогенну речовину - *stroma*. Зрілі пластиди класифікують за їхнім забарвленням. За цією ознакою розрізняють три типи пластид: *хлоропласти*, *лейкопласти*, *хромопласти*. Зазвичай у клітці зустрічаються пластиди лише одного типу.



Рис. 1.4 Будова хлоропласту

Хлоропласти (від грец. *Chlörós* – зелений та *plastós* – виліплений, оформлений) – найважливіші пластиди. Це центри фотосинтетичної активності, в яких зосереджено весь хлорофіл і всі допоміжні пігменти, пов'язані з фотосинтезом. У вищих рослин хлоропласти формою нагадують двоопуклу лінзу (*рис. 1.4*), плоска поверхня якої повернена до клітинної оболонки. Особливо багато їх у міжклітинниках, заповнених повітрям. Хлоропласти зустрічаються майже у всіх клітинах наземних

органів рослин, куди проникає світло. Але особливо багато їх у листі та незрілих плодах. Лише деякі типи клітин освітлених частин рослин замість хлоропластів містять лейкопласти або хромопласти.

У клітинах коріння хлоропластів немає. За хімічним складом хлоропласти дещо відрізняються від решти цитоплазми. Так, вміст ліпідів у них становить 20,40% сухої маси, тоді як у цитоплазмі всього 23%. Структурною основою хлоропластів є білки, близько 50% сухої маси. Вміст хлорофілу становить 51%, каротиноїдів – 12%. Як і в мітохондріях, в хлоропластах є РНК (0,53%). Вміст ДНК ще менше. Будова хлоропластів подібна до різних рослин.

Основна структурна одиниця хлоропласту – *тилакоїд* (ламелла) - тонкий плоский мішечок, обмежений одношаровою мембраною. У ньому знаходяться хлорофіл, допоміжні пігменти та ферменти, що беруть участь у фотохімічних реакціях фотосинтезу. Порожнина тилакоїда називається люмен. Тилакоїди зібрані в групи, як стопка монет, що називаються *гранами*. У гранях тилакоїди розташовуються паралельно один одному. Окремі грани пов'язані між собою в єдину систему за допо-

могою тілакоїдів, що пронизують міжгранні простори. Згруповані в грани та одиночні тілакоїди не є окремими компартментами хлоропласту, а є безперервним утворенням (просторовий континуум) з численними мембранними накладаннями.

Число тілакоїдів у гранах коливається від двох до кількох десятків. Їхній діаметр близько 0,5 мкм. Весь простір між гранами заповнений безбарвною строюю. У стромі знаходяться рибосоми, світлі зони з нитками ДНК, зрідка крохмальні зерна, білкові кристали.

У хлоропластах містяться також рибосоми (подібні структурою з рибосомами бактерій), РНК, амінокислоти і ферменти, необхідні для синтезу білка. Таким чином, хлоропласти мають деяку автономність. Встановлено, що більшість білків мембран тілакоїдів синтезується в рибосомах хлоропластів. Навпаки, більшість білків строми та ліпіди мембран утворюються поза хлоропластом. Хлоропласти здатні також до синтезу та руйнування полісахаридів (крохмалю), амінокислот, ліпідів.

Пігменти хлоропластів.

Хлорофіл – основний пігмент, що бере участь у фотосинтезі. Він зустрічається в декількох формах: у вищих рослин в основному **хлорофіл а і хлорофіл b**. Ці форми хлорофілу дещо відрізняються одна від одної за спектрами поглинання. Крім того, у хлоропластах більшості вищих рослин присутні **каротиноїди – жовтий ксантофіл і червонооранжевий каротин**. Зазвичай, ці пігменти маскуються хлорофілом і непомітні протягом майже всього періоду вегетації. Восени, коли концентрація хлорофілу в старіючих листках знижується, каротиноїди стають добре помітними. Осіннє забарвлення листя залежить переважно від нього. Щоправда, на фарбування осіннього листя впливають також антоціани, присутні у вакуолях клітин. У деяких водоростей хлоропласти особливо багаті на **фікобіліни** – сині та червоні пігменти. Каротиноїди захищають хлорофіл від руйнівної дії молекулярного кисню. Крім того, вони підвищують продуктивність фотосинтезу, поглинаючи та передаючи хлорофілу енергію тих довжин хвиль, які хлорофілом не поглинаються (жовто-зелену частину спектру). У результаті ця енергія може використовуватися для фотосинтезу.

У темряві рослини набувають блідого жовтуватого забарвлення. Це викликано тим, що **синтез хлорофілу відбувається лише на світлі**. Хлоропласти таких рослин містять дуже мало хлорофілу та мають слабо розвинену мережу тілакоїдів. Рослини, вирощені при нестачі світла чи темряві, називають етіюльованими. Хлоропласти таких рослин називаються **етіопластами**.

Лейкопласти (від грец. leucós – білий та plastós – виліплений, оформлений) дрібні безбарвні пластиди. Лейкопласти зустрічаються в клітинах органів, прихованих від світла: у коренях, кореневищах, бульбах, цибулинах, насінні, серцевині стебел. Рідко вони знаходяться у клітинах яскраво освітлених частин рослини. Нерідко лейкопласти збираються навколо ядра, оточуючи його з усіх боків. Форма лейкопластів дуже непостійна і може швидко змінюватись навіть в одній клітині. Оболонка лейкопласту складається із двох елементарних мембран. Внутрішня їх, вступаючи в строму, утворює нечисленні тілакоїди. Загалом лейкопласти відрізняються

слабким розвитком внутрішньої мембранної системи. У лейкопластах є ДНК, рибосоми та ферменти, що здійснюють синтез та гідроліз запасних речовин.

Функція лейкопластів – синтез запасних поживних речовин: крохмалю, іноді білків, жирів. Лейкопласти, що накопичують крохмаль, називають амілопластами, олії – олеопластами, білки – протеопластами. Крохмаль утворюється з цукрів, що надходять з фотосинтезуючих клітин. Крохмаль, що утворюється в лейкопластах, називається вторинним. Він має вигляд зерен різного розміру та форми. Запасний білок у лейкопластах може відкладатися у вигляді кристалоподібних структур або аморфних включень; ліпіди - у вигляді пластоглобул.

Хромoplastи (від хромо та грец. *plastós* – виліплений, оформлений) пластиди жовтого, помаранчевого та червоного кольору. Хромoplastи зустрічаються в клітинах осіннього листя, зрілих плодів, у пелюстках багатьох рослин (лютик *Ranunculus*, кульбаба *Taraxacum*, нарцис *Narcissus*, тюльпан *Tulipa* та ін), рідко – у клітинах коренеплодів (морква – *Daucus carota*), цукрові буряки. Внутрішня мембранна система у них зазвичай відсутня, лише іноді представлена поодинокими тилакоїдами. За розмірами хромoplastи менше хлоропластів. Їх форма може бути різною (зубчастою, серповидною, голкоподібною, пластинчастою, у вигляді трикутників, ромбів), але не лінзовидною.

Забарвлення хромoplastів зумовлене пігментами групи каротиноїдів. Пігменти нерозчинні у воді, але розчиняються у жирах. Хромoplastи позбавлені хлорофілу та не здатні до фотосинтезу. Залежно від форми накопичення каротиноїдів розрізняють хромoplastи трьох типів: глобулярного – каротиноїди, що розчинені у субмікроскопічних ліпоїдних глобулах; фібрилярного – каротиноїди зібрані в пучки, що складаються з субмікроскопічних ниток та пов'язані з фібрилами білка (приклад – плоди томатів, мандарину, червоного перцю); кристалічного – пігменти відкладаються у вигляді дрібних, але видимих у світловий мікроскоп кристалоїдів (приклад – плоди шипшини, кавунів, пелюстки нарцисів, коренеплоди моркви). Найбільш поширений тип пластид – глобулярний, займають основний обсяг пластиди. Хромoplastи – кінцевий етап у розвитку пластид.

Процес фотосинтезу є одним з найважливіших біологічних процесів, що протікають в природі. У процесі фотосинтезу відбувається виділення кисню, життєво необхідного для існування життя на нашій планеті. *Утворення органічних сполук із неорганічних завдяки перетворенню світлової енергії в енергію хімічних зв'язків називають фотосинтезом.*

Основними з фотосинтезуючих пігментів є хлорофіли. За своєю структурою вони нагадують гем гемоглобіну, але в цих сполуках замість заліза присутній магній. Залізо потрібне рослинним організмам для забезпечення синтезу молекул хлорофілу (якщо в рослину залізо не надходить, то в неї утворюються безбарвні листки, нездатні до фотосинтезу). Більшість фотосинтезуючих організмів має різні хлорофіли: хлорофіл а (обов'язковий), хлорофіл b (у зелених рослин), хлорофіл c (у діатомових і бурих водоростей), хлорофіл d (у червоних водоростей). Зелені й пурпурові бактерії містять особливі бактеріохлорофіли.

В основі фотосинтезу лежить окислювально-відновний процес, пов'язаний із перенесенням електронів від сполук постачальників електронів (донорів) до спо-

лук, які їх сприймають (акцепторів), з утворенням вуглеводів і виділенням в атмосферу молекулярного кисню. Світлова енергія перетворюється на енергію синтезованих органічних сполук (вуглеводів) в особливих структурах - реакційних центрах, що містять хлорофіл а.

У процесі фотосинтезу у зелених рослин і ціанобактерій беруть участь дві фотосистеми - перша (I) та друга (II), які мають різні реакційні центри та пов'язані між собою через систему перенесення електронів.

Процес фотосинтезу відбувається в дві фази - світлову та темнову. У мембрані тилакоїдів здійснюється первинна світлова стадія фотосинтезу. Суть її полягає у синтезі та запасанні енергії світла в енергії хімічних зв'язків: АТФ та НАДФ•Н₂ (відновленого нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату), необхідних для асиміляції СО₂. У рослин АТФ утворюється переважно за рахунок енергії світла в хлоропластах.

За наявності світла фотосинтезуючі пігменти поглинають кванти світла (фотони). Поглинання фотонів приводить до "збудження" одного з електронів молекули хлорофілу, який за допомогою молекул - переносників електронів переміщується на зовнішню поверхню мембрани тилакоїдів, набуваючи певної потенційної енергії. Електрони, переміщуючись на інший бік мембрани, захоплюються НАДФ, і в результаті утворюється НАДФ - негативно заряджена молекула. Завдяки мембрані, що грає роль бар'єру, здійснюється просторове роз'єднання позитивно заряджених іонів і негативно заряджених молекул, тобто. на мембрані нагромаджується електрохімічний потенціал.

У фотосистемі I цей електрон може повертатись на свій енергетичний рівень і відновлювати її, а може передаватись такій сполуці, як НАДФ (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат). Електрони, взаємодіючи з іонами водню, які є в навколишньому середовищі, відновлюють цю сполуку:



Нагадаймо, що коли певна сполука віддає електрон - вона окислюється, а коли приєднує - відновлюється. Відновлений НАДФ (НАДФ • Н₂) згодом постачає водень, потрібний для відновлення атмосферного СО₂ до глюкози.

Подібні процеси відбуваються й у фотосистемі II. Фотосистема II відновлюється за рахунок електронів, які постачають молекули води. Під дією світла за участю ферментів молекули води розщеплюються (фотоліз води) на протони водню та молекулярний кисень, який виділяється в атмосферу, а електрони використовуються на відновлення фотосистеми II:



Енергія, вивільнена при переході електронів із зовнішньої поверхні мембрани тилакоїдів на попередній енергетичний рівень, акумуляється у вигляді хімічних зв'язків в молекулах АТФ, які синтезуються під час реакцій в обох фотосистемах. Таким чином, під час **світлової** фази фотосинтезу утворюються багаті на енергію (яка запасується у вигляді хімічних зв'язків) сполуки: синтезується АТФ і відновлю-

ється НАДФ. Як продукт фотолізу води в атмосферу виділяється молекулярний кисень.

Реакції **темної** фази фотосинтезу перебігають у внутрішньому середовищі (матриці) хлоропластів як на світлі, так і за його відсутності. Як згадувалося раніше, в ході реакцій темної фази CO_2 відновлюється до глюкози завдяки енергії, що вивільнюється при розщепленні АТФ, та за рахунок відновленого НАДФН₂.

Темнова стадія

У темній стадії за участю АТФ і НАДФ • Н₂ відбувається відновлення CO_2 до глюкози. Хоча світло не потрібне для здійснення даного процесу, воно бере участь у його регуляції. Сам фотосинтез відбувається в процесі розділення асиміляції CO_2 і циклу Кальвіна не у просторі а в часі. Вночі у вакуолях клітин по аналогічному описаному вище механізму, при відкритих продихах накопичується малат, вдень при закритих продихах йде цикл Кальвіна.

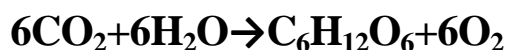
Цикл Кальвіна, або відновлювальний пентозо-фосфатний цикл, складається з трьох стадій:

1. Карбоксилювання
2. Відновлення
3. Регенерація акцептора CO_2

На першій стадії до рибулозо-1,5-бісфосфату приєднується CO_2 під дією ферменту рибулозобісфосфат-карбоксилази. Цей білок складає основну фракцію білків хлоропласту і, ймовірно, найбільш поширений фермент у природі. В результаті утворюється проміжне нестійке сполука, що розпадається на дві молекули 3-фосфогліцеринової кислоти (ФГК). У другій стадії ФГК у два етапи відновлюється. Спочатку вона фосфорилується АТФ під дією фосфорогліцерокінази, потім НАДФ•Н₂ при дії тріозофосфатдегідрогенази, її карбоксильна група окислюється до альдегідної і вона стає вуглеводом (ФГА). У третій стадії беруть участь 5 молекул ФГА, які через утворення 4, 5, 6,7-вуглецевих зв'язків об'єднуються в 3,5-вуглецевих рибулозо-1,5-бісфосфати, використовуючи 3 молекули АТФ. Нарешті, дві ФГА необхідні для синтезу глюкози. Для утворення однієї молекули глюкози потрібно 6 обертів циклу, 6 CO_2 , 12 НАДФ•Н₂ і 18 АТФ.

При низькій концентрації розчиненого в стромі CO_2 каталізує реакцію окислення рибулозо-1,5-бісфосфату і його розпад на 3-фосфогліцеринову кислоту і фосфогліколеву кислоту, яка вимушено використовується в процесі фотодихання.

Підсумкове рівняння процесу фотосинтезу у зелених рослинах має такий вигляд:



У фотосинтезуючих прокариот є певні відмінності у перебігу світлової та темної фаз фотосинтезу. У прокариот відсутні пластиди, тому фотосинтезуючі пігменти розташовані на внутрішніх виростах цитоплазматичної мембрани, де і відбуваються реакції світлової фази. У зелених і пурпурових бактерій, на відміну від ціанобактерій, немає фотосистеми II, постачальником електронів є не вода, а сірководень, молекулярний водень та деякі інші сполуки. Внаслідок цього у цих груп бактерій під час фотосинтезу кисень не виділяється.

Значення фотосинтезу для біосфери важко переоцінити. Саме завдяки цьому процесові акумуляується світлова енергія Сонця. Фотосинтезуючі організми перетворюють її на енергію хімічних зв'язків синтезованих вуглеводів, а потім по ланцюгах живлення вона передається гетеротрофним організмам. Отже, саме завдяки фотосинтезу можливе існування біосфери.

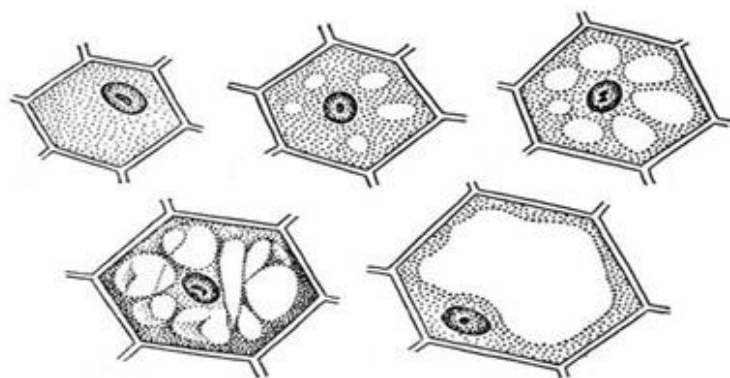
Зелені рослини та ціанобактерії, поглинаючи вуглекислий газ і виділяючи кисень, впливають на газовий склад атмосфери. Увесь атмосферний кисень має фотосинтетичне походження.

Щорічно завдяки фотосинтезу на Землі синтезується близько 150 млрд. тонн органічної речовини і виділяється понад 200 млрд. тонн вільного кисню, який не тільки забезпечує дихання організмів, але й захищає все живе на Землі від згубного впливу короткохвильових ультрафіолетових космічних променів (озоновий екран атмосфери).

Але загалом **процес фотосинтезу малоефективний**. У синтезованій органічній речовині акумуляується лише 1-2% сонячної енергії. Це пояснюється неповним поглинанням світла рослинами, а також тим, що частина сонячного світла відбивається від поверхні Землі у космос та поглинається атмосферою. Продуктивність процесу фотосинтезу зростає за умов кращого водопостачання рослин, їхнього оптимального освітлення, забезпечення вуглекислим газом, завдяки селекції сортів, спрямованій на підвищення ефективності фотосинтезу тощо. Однією з найпродуктивніших культурних рослин вважають кукурудзу, в якій досить високий коефіцієнт корисної дії фотосинтезу.

1.1.4 Будова та функції вакуолі у рослинній клітині. Осмотичні явища

Вакуолі (vacuus – порожній) містяться майже у всіх рослинних клітинах. Їхній вміст – клітинний сік – ізольований від навколишньої цитоплазми напівпроникною вакуолярною мембраною – тонопластом. Вся система вакуолей рослинної клітки називається вакуум. Взагалі вакуолі є не лише у рослинних, а й у тваринних клітинах. Там вони виступають як органи екскреції, що активно виводять воду та продукти обміну.



Однак у рослинних клітинах вони особливо помітні завдяки своїм великим розмірам. У молодій рослинній клітині є безліч дрібних вакуолей. Однак їхній загальний обсяг становить дуже невелику частку від об'єму всієї клітини. Беручи активну участь у розвитку клітини, дрібні вакуолі збільшуються через надходження

Рис. 1.5 Розвиток вакуолей у рослинній клітині

води. У результаті вони зливаються в одну велику центральну вакуолю. Вона займає 70-95% обсягу зрілої клітини (**рис. 1.5**). Вакуоля сильно відрізняється від цитоплазми за складом розчинених речовин. Тому вважають, що за ступенем проник-

ності тонопласт та плазмалем а різні. Більший вміст ліпідів у тонопласті, ніж у плазмалемі, що підтверджує його важливе бар'єрне значення.

Отже, функції вакуолей: регуляція водносолевого обміну; осмотичні явища: підтримання тургорного тиску у клітині та зростання розтягування; накопичення низькомолекулярних водорозчинних метаболітів та запасних речовин; виведення з обміну токсичних речовин. Хімічний склад та концентрація клітинного соку дуже мінливі; вони залежать від виду рослини, органу, тканини, типу та стану клітини. У живій клітині клітинний сік немає ніякої внутрішньої структури.

Вміст вакуолі – *клітинний сік* – є водним розчином різних речовин. Це вуглеводи (цукри та полісахариди), білки, амінокислоти, органічні кислоти та їх солі, мінеральні іони, алкалоїди, глікозиди, пігменти, таніни та ін. Багато речовин клітинного соку утворюються тільки в рослинних клітинах. Усі вони є продуктами життєдіяльності протопласту (переважно ергастичними речовинами). У багатьох рослин рН клітинного соку коливається не більше 3,5 - 5,5. Але є види, які мають рН клітинного соку 1,0, тоді як рН цитоплазми – близько 7,0. Настільки значна різниця в концентрації водневих іонів між клітинним соком і цитоплазмою пояснюється тим, що в тонопласті є насоси, що перекачують іони водню з цитоплазми у вакуолі. Ймовірно, що ці насоси підтримують рН цитоплазми на оптимальному рівні. Такий контроль є життєво важливим. Адже ферменти, що регулюють метаболізм, зосереджені в цитоплазмі. Активність ферментів залежить від рН середовища клітини. Отже, у вакуолях можуть зберігатися та накопичуватися іони та речовини, які інакше могли б порушити клітинний метаболізм. До таких речовин належать органічні кислоти та їх солі (наприклад, оксалат кальцію), пігменти (антоціани тощо), фенольні сполуки (наприклад, дубильні речовини).

У вакуолях часто відкладаються пігменти. Блакитне, фіолетове, пурпурове, темно-червоне забарвлення рослинним клітинам надають пігменти з групи антоціанів. Антоціани, на відміну багатьох інших рослинних пігментів, легко розчиняються у воді, часто містяться у клітинному соку. Антоціани визначають забарвлення багатьох овочів (буряк, редис, капуста), фруктів (вишні, сливи, виноград), квітів (васильки, герані, троянди, півонії, дельфініуми та багато інших), тобто приваблюють комах. Іноді ці речовини надають зеленим частинам рослин фіолетове або пурпурове забарвлення, як у багатьох декоративних рослин (бегонії, маранти, клени, фундук, барбариси та ін). Природне антоціанове забарвлення буває у молодих пагонів багатьох рослин, захищаючи чутливі тканини від надлишку сонячної радіації.

Осмотичні явища у рослинній клітині. Осмос і осмотичний тиск відіграють велику роль у обміні води між клітками і навколишнім середовищем. Осмотичні процеси виконують важливі й різноманітні функції забезпечення життєдіяльності рослинного організму. Явище осмосу виникає лише завдяки вибірковій проникливості мембрани. Наявність осмотичних явищ – одна з ознак, якою можна відрізнити живу клітину від мертвої. В основі всіх осмотичних явищ лежить природне прагнення речовин вирівняти свою концентрацію по всьому доступному об'єму розчину, оскільки такий стан є найбільш стабільним. Якщо в розчині відсутня напівпрониклива мембрана, а концентрація розчиненої речовини різна в окремих її частинах, то переважає дифузія розчиненої речовини по градієнту (різниці) концентрації (з

ділянки, де розчинної речовини більше на одиницю розчинника, у бік, де розчинної речовини менше на одиницю розчинника).

Осмосом називають самовільне проникнення (дифузія) молекул розчинника через напівпроникну мембрану у розчин або з розчину з більш низькою концентрацією у розчин з більш високою концентрацією. Розчини, що володіють рівним осмотичним тиском, називаються **ізотонічними**, а розчини з великим осмотичним тиском - **гіпертонічними**, а з меншим осмотичним тиском - **гіпотонічним**. Так осмотичний тиск клітинного соку є регулятором пересування води по рослині, розподілу її між окремими органами. Цей тиск є основою **тургору**, завдяки якому, збагачені водою тканини рослини здатні зберігати певну форму, а також пружність і еластичність. Велика концентрація клітинного соку знижує температуру замерзання тканин, що впливає на рівень холодостійкості рослин.

Осмотичний тиск клітинного соку визначається методом **плазмолізу**, який базується на властивості напівпроникності цитоплазми. Якщо клітку помістити у розчин певної речовини, концентрація якої перевищує концентрацію клітинного соку, то слабка проникність цитоплазми перешкоджатиме проходженню речовини у клітку, але витягуватиме з неї воду.

Розмір осмотичного тиску розчину прямо пропорційний його концентрації, температурі та визначається за формулою: **$P = iCRT$**

Найкращими об'єктами для вивчення осмотичного тиску є тканини, які містять у клітинному соці антоціан, або тканини з хлоропластами (**рис. 1.6**).

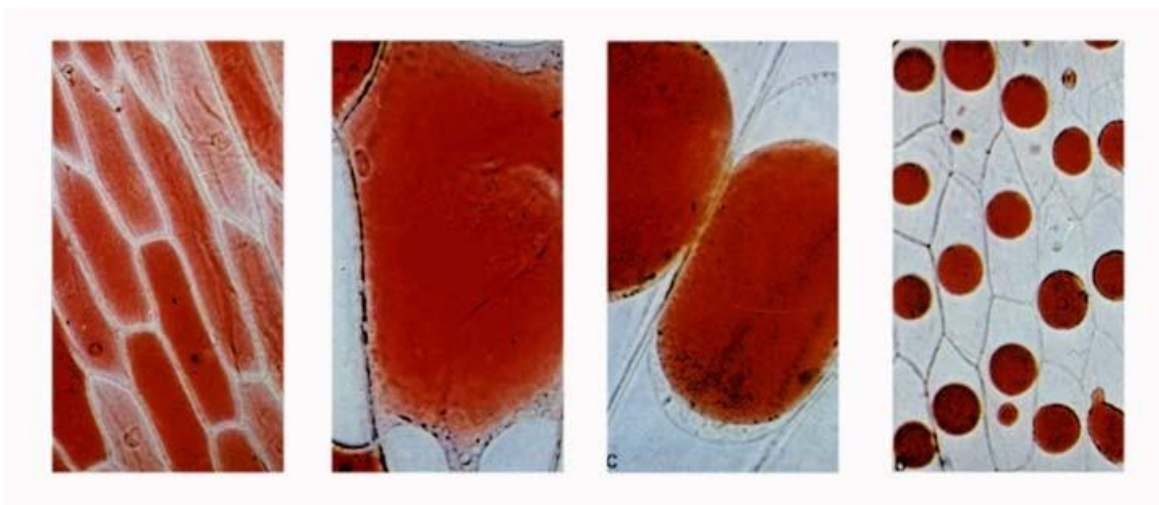


Рис. 1.6 Плазмоліз кліток цибулі

Плазмоліз відбувається лише у живих клітинах. Якщо тканину з плазмолізованими клітинами перенести у воду або гіпотонічний розчин (тобто з меншою концентрацією речовин, ніж концентрація клітинного соку), вода надходить в протопласт і вакуоль, тургор поступово відновиться і клітина набуває початкового вигляду. Цей процес називається **деплазмоліз**. Якщо зовнішній розчин буде ізотонічним (з рівною концентрацією), жодних змін не відбуватиметься. В умовах сильної втрати клітинами тургору може стискатися вся клітина, цитоплазма не відходить від сті-

нок. Таке явище називається *циторіз* і виникає не внаслідок втрати води осмотичним шляхом, а при випаровуванні води рослиною у повітряному середовищі.

1.1.5 Включення. Клітинна оболонка

Продукти вторинного метаболізму - біологічно активні речовини можуть спричинити пошкодження цитоплазми. Тому в рослинній клітині існують механізми, що перешкоджають цьому процесу.

Відповідно до цього розрізняють запасні та екскреторні включення. Тверді включення: крохмальні та алейронові зерна, кристали оксалатів, силікатів, карбонатів та ін.; рідкі: розчинні вуглеводи клітинного соку, жири, ефірні олії, глікозиди, алкалоїди, танніни та ін речовини. Більшість включень видимі у світловий мікроскоп і локалізовані або у гіалоплазмі та органоїдах, або у вакуолях.

Запасні включення: крохмальні зерна. Найголовніший і найбільш поширений із запасних речовин рослин полісахарид крохмаль. Крохмаль злаків (*рис. 1.7*), бульб картоплі, низки тропічних рослин - найважливіше джерело вуглеводів у раціоні людини. Крохмаль хімічно неоднорідний. В основному він складається з *амілози* (15-20%) та *амілопектину* (80-85%), що відрізняються будовою молекул.

Амілоза і амілопектин під дією розчину йоду забарвлюються в темно синій колір. Рідше крохмальні зерна можуть містити амілодекстрин та еритродекстрин (продукти неповного гідролізу амілопектину), що червоніють від розчину йоду. Відкладання зерен крохмалю відбувається у особливому типі лейкопластів – амілопластах.

Шаруватість зерен має й інше пояснення. Амілоза краще розчиняється у воді, ніж амілопектин. Тому при поміщенні зерна у воду відмінності в набуханні цих двох речовин стають помітнішими. Якщо є один центр, навколо якого відкладаються шари крохмалю, виникає просте зерно; якщо два і більше, то утворюється складне зерно, що складається з кількох простих.

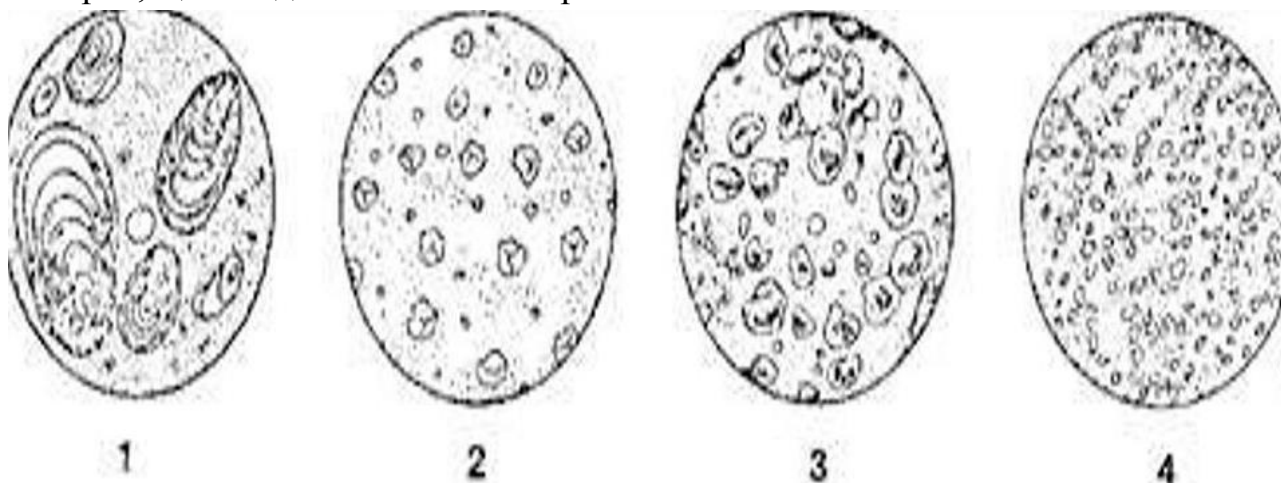


Рис. 1.7 Зерна крохмалю під мікроскопом: 1 – картопляного; 2 – кукурудзяного; 3 – пшеничного; 4 – рисового.

Наявність міцної оболонки - одна з відмінних рис рослинних клітин. *Функції оболонки*: визначає форму клітин, надає клітинам міцність, обмежує розмір протопласту, виконує захисну функцію, виконує опорну функцію, виконує функцію поглинання, пересування води та розчинених низькомолекулярних речовин. виділення речовин за рахунок так званого вільного простору. Кожна клітина має власну оболонку.

Оболонки сусідніх клітин зцементовані міжклітинною речовиною. Тобто сусідні клітини відокремлені одна від одної стінкою. Тому оболонку нерідко називають *клітинною стінкою*. Клітинна стінка – лише частина клітинної оболонки (одна з граней), має певну орієнтацію. Залежно від форми клітин, стінки можуть бути поперечними, поздовжніми, антиклінальними, периклінальними.

Оболонкою вважають сукупність всіх стінок клітини. Оболонку будує протопласт клітини. Оскільки оболонки зберігаються і після відмирання протопласту, мертві клітини можуть виконувати функції пересування розчинів та механічної опори. Клітинна оболонка складається здебільшого з полісахаридів. Їх мономери (цукри) пов'язані між собою як ланцюг з глікозидним зв'язком (O), тобто. результат взаємодії двох гідроксильних груп. Крім полісахаридів, до складу оболонки можуть входити білки, мінеральні солі, лігнін, пігменти та інші речовини. Полісахариди оболонки поділяються на скелетні речовини та речовини матриксу.

Скелетною речовиною оболонки у вищих рослин є клітковина (целюлоза). Взагалі целюлоза – найпоширеніший у природі полісахарид. У хімічному відношенні вона є β -1,4-D-глюкан. Молекули целюлози є дуже довгими, до 4 мікрометрів, ланцюгами. Вони зібрані по кілька десятків у групи. Це найтонші волокна невідомої довжини, видимі лише в електронному мікроскопі. Завдяки впорядкованому розташуванню молекул в окремих ділянках мікрофібрил – міцелах, целюлоза має кристалічні властивості. що є причиною подвійного променезаломлення клітинної оболонки.

Клітковина нерозчинна у воді та органічних розчинниках, не набухає, хімічно інертна, розкладається в аміачному розчині гідроксиду міді та концентрованому розчині хлориду цинку. При нагріванні з неорганічними кислотами целюлоза послідовно гідролізується з утворенням амілоїду, целобіозу та глюкози. Як специфічні реактиви на клітковину використовують *розчин хлориду цинку* у водному розчині іодиду калію дає забарвлення в синій або фіолетовий колір і кислий фуксин (викликає почервоніння).

Аморфні компоненти разом із водою утворюють *матрикс* оболонки. Зазвичай матрикс є пластичний гель, насичений водою. Речовини матриксу визначають такі властивості оболонки: а) сильне набухання; б) високу проникливість для води та розчинених у ній дрібних молекул та іонів; в) катіонообмінні властивості. Матрикс є складною сумішшю полімерів, серед яких переважають полісахариди: пектинові речовини та геміцелюлози.

Пектинові речовини (пектин) є продуктами полімеризації галактуронової кислоти і цукрів арабінози і галактози. До їх молекул можуть входити кілька мономерів у різних з'єднаннях. Молекули пектинових речовин розгалужені, без будь-якої просторової орієнтації. Тому пектини зазвичай перебувають у аморфному стані.

Завдяки наявності карбоксильних груп (COOH) вони здатні утворювати нерозчинні солі (пектати) з іонами Ca²⁺, Mg²⁺. *Пектинові речовини легко руйнуються під дією лугів та кислот*. Вони набухають у воді, а деякі з них розчиняються у воді.

Геміцелюлози – продукт полімеризації цукрів-гексоз (глюкоза, манноза, галактоза та ін), сахаропентоз (ксилоза, арабінозу) та уронових кислот (галактуронова та глюкуронова). Геміцелюлози хімічно стійкіші, ніж пектини. Вони важче гідролізуються, слабше набухають у воді. Зазвичай геміцелюлози виконують у рослині механічну функцію і можуть відкладатися в оболонках насіння як запасні речовини: наприклад, насіння фінікової пальми. Пектинові речовини та геміцелюлози підвищують міцність оболонки. Завдяки гідрофільності матрикс легко проникний для води та розчинених у ній молекул та іонів.

У матриксі оболонки виявлено *білок* із групи глікопротеїнів. Поліпептидні ланцюги білків клітинної оболонки синтезуються на гранулярному ендоплазматичному ретикуломі, як і інші білки. Після завершення синтезу ці поліпептиди надходять у просвіт ЕПР. По ньому вони рухаються до диктіосом. У процесі цього переміщення поліпептиди зазнають різних структурних змін. Потім білки, разом із полісахаридами, синтезованими в диктіосомах, упаковуються в секреторні бульбашки (бульбашки Гольджі). Останні доставляють їх до плазмалемі.

Лігнін - ще один компонент матриксу. Він є другим за поширеністю полімером рослинних клітин. Лігнін зустрічається в оболонках клітин лише у вищих рослин (крім мохів). Це змішаний аморфний полімер фенольного ряду. Лігнін утворюється внаслідок окислювальної конденсації ароматичних спиртів рослинного походження. У воді нерозчинний, стійкий до різних хімічних дій. Лігнін збільшує твердість та міцність клітин, знижує проникність для води. Відкладення лігніну називається лігніфікацією, або здерев'яніння оболонки; вона втрачає еластичність, тому лігніфікація починається після закінчення росту клітин. *Сірчанокислий анілін* забарвлює здерев'янілі оболонки в жовтий колір, а спиртовий розчин флороглюцину із соляною кислотою дає малинове або рожеве фарбування.

Кутін, суберин, віск – жирові полімери; відкладаються в оболонках клітин покривних тканин. Вони гідрофобні, уповільнюють або взагалі припиняють дифузію через оболонку газів, води та розчинених у ній речовин. Суберин – продукт полімеризації насичених жирних кислот. Шари суберину, як правило, чергуються із шарами воску. Наявність суберину або кутину в оболонці можна виявити, впливаючи на препарат *реактивами судан III або судан IV*, які викликають рожево-оранжеве забарвлення. Концентрований розчин гідроксиду калію призводить до пожовтіння і набухання оболонок.

Мінеральні речовини. Найчастіше клітинні оболонки просочують кремнезем (тобто сполуки оксиду кремнію), карбонат Ca чи оксалат Ca. Ці речовини надають оболонці твердість та крихкість, як приклад – це злаки, осоки, хвощі.

Слиз утворюється у результаті процесу ослизнення, що зв'язане з ізомерними перетвореннями полісахаридів оболонки. Утворення слизу сприяє утриманню вологи, закріпленню в субстраті, термозахисту. Ослизнення властиво кореневим волоскам, епідермісу насіння деяких рослин (льон, айва, гірчиця, подорожник). У підземних органах (алтей), плодах (хурма) слиз запасується як поживна речовина.

Якісне виявлення слизів можна виявити при дії *метиленової синьки* (дає *блакитне або синє забарвлення*).

Камеді або гумі утворюються з оболонок та вмісту клітин у результаті патологічного посттравматичного ослизнення клітин деревини або серцевини. Це явище отримало назву *камедетечення* або *гумоз*. Камеді – полісахариди, що містять кальцієві та магнієві солі уронових кислот. Вони відрізняються розчинністю, кислотністю. Є клейкими виділеннями на стовбурах і гілках деяких дерев (вишня, слива, абрикос).

Системи сполучення між клітинами. У тілі вищої рослини є пристосування, що забезпечують обмін речовин між клітинами. Це пори, плазмодесми та перфорації. Пори зазвичай містять найтонші отвори, що заповнені тяжами цитоплазми у вигляді ниток (плазмодесми). Плазмодесми зв'язують протопласти клітин, що межують один з одним. Виникнення пор пов'язане з нерівномірним відкладенням вторинної оболонки. Пори в оболонках сусідніх клітин розташовані один проти одного. Так утворюється ціла системи сполучення між клітинами.

1.2 Метод мікроскопії

Для вивчення рослинних клітин нині розроблено та застосовується безліч методів, можливості яких визначають рівень наших знань у цій галузі. Успіхи у вивченні біології клітини, включаючи найвидатніші досягнення останніх років, як правило, пов'язані з розробкою та застосуванням нових методів. Тому для повнішого розуміння науки про клітину необхідно мати уявлення і про один з найбільш поширених методів її дослідження – метод мікроскопії.

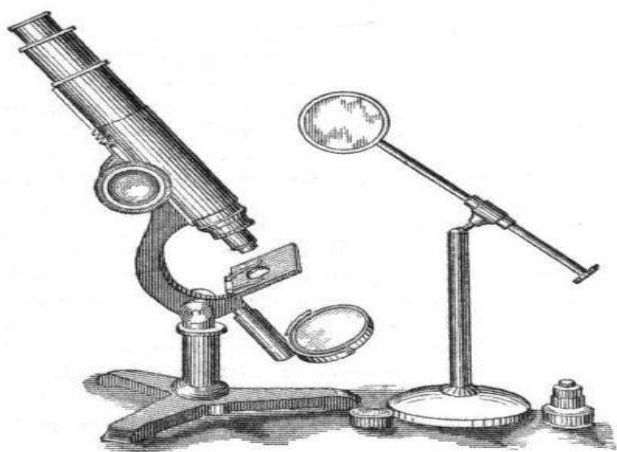


Рис. 1.8 Перший мікроскоп

Винахід мікроскопа обумовлений стрімким розвитком оптики у XVI-XVII ст. Перший мікроскоп був змонтований у Нідерландах оптиками *Захарієм і Гансом Янсенами* у 1590 р. у вигляді трубки з двома опуклими лінзами і мав збільшення від 3 до 10 разів. *Г. Галілей* (1610 р.) сконструював мікроскоп шляхом поєднання лінз у свинцевій трубці з роздільною здатністю від 40 до 300. *Антоні ван Левенгук* у 1674 р. виготовив лінзи з роздільною здатністю майже у 300 разів, що дозволило йому проводити прості наукові спостереження. *Р. Зігмонді* створив у 1903 році щілинний мікроскоп, що був заснований на явищі світлорозсіювання (конус Тиндаля). Цей прилад не дозволяв побачити безпосередньо самі частинки, але можна було спостерігати за їх переміщенням. Удосконалюючи ультрамікроскоп, у 1913 р. *Р. Зігмонді* створив конструкцію іммерсійного ультрамікроскопа і запропонував класифікацію колоїдних частинок за їх видимістю в ультрамікроскопі і за взаємодією з середовищем.

Мікроскоп (від грец. *micrós* – малий; *scopéō* – дивлюся) – прилад, що дозволяє отримувати збільшене зображення об'єктів та структур, недоступних оку людини. У практиці медико-біологічних досліджень застосовуються методи світлової та електронної мікроскопії. **Світлові мікроскопи** можуть збільшувати об'єкт розміром від 0,5 мкм з роздільною здатністю елементів об'єкта до 0,1 мкм більш ніж у 1500 разів, а **електронні мікроскопи** – у 20 000 разів. За будовою оптичної системи розрізняють прямі мікроскопи (об'єктиви, насадка та окуляри розташовані над об'єктом), інвертовані мікроскопи (об'єкт знаходиться над оптичною системою, що формує зображення) і стереомікроскопи (оптична схема має два розташовані під кутом один до одного мікроскопи і формує об'ємне зображення об'єкта). За методами освітлення мікроскопи існують світлого поля, темного поля, фазового, флуоресценції, поляризованого світла та ін.

Метод **фазово-контрастної мікроскопії** дозволяє перетворити невидимі фазові зміни, яких набувають світлові хвилі при проходженні через клітку, у видимі амплітудні і тим самим підвищити контрастність зображення. **Мікроскопія в темному полі** заснована на висвітленні об'єкта косими променями світла. Ці промені не потрапляють в об'єктив, тому поле зору виглядає темним.

При мікроскопіюванні в темному полі можна побачити об'єкти, величина яких вимірюється сотими частками мікрометра, тобто лежить за межами видимості звичайного мікроскопа. Однак спостереження об'єктів у темному полі дозволяє розрізнити тільки їхні контури, але не дає можливості розглянути внутрішню будову.

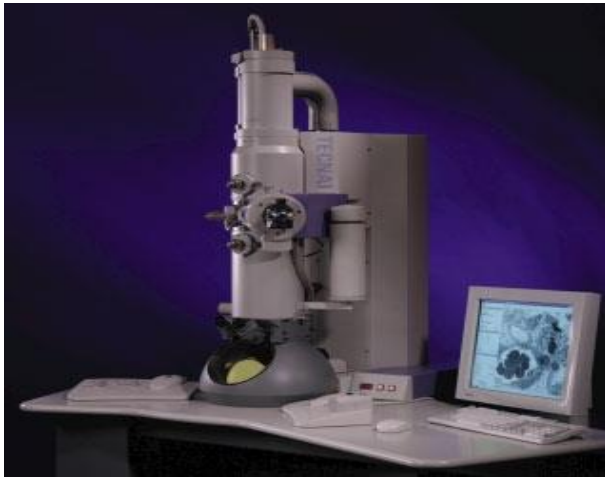
Люмінесцентна мікроскопія заснована на здатності ряду речовин біологічного походження (хлорофіл, вітамін В, деякі алкалоїди й антибіотики тощо) і деяких барвників світитися під впливом падаючого на них світла. Молекули речовин, здатних до люмінесценції, поглинають енергію, переходячи на більш високий енергетичний рівень. Однак у такому стані вони знаходяться нетривалий час і знову повертаються до вихідного енергетичного рівня.

Цей перехід супроводжується віддачею надлишку енергії у вигляді світла – люмінесценцією, причому освітлюваний об'єкт випускає промені менш енергетичні, тобто з більшою довжиною хвилі, чим промені збуджуючого світла. Тому викликати люмінесценцію можна або короткохвильовою частиною видимого спектра (синьо-фіолетові промені, $\lambda = 460$ нм), або ультрафіолетовими променями ($\lambda = 360...380$ нм). В обох випадках виникає люмінесценція у кольоровій гамі видимого спектра, тобто виходить кольорове зображення об'єкта. Більшість мікробних клітин мають дуже слабку власну первинну люмінесценцію, тому їх обробляють водними розчинами спеціальних барвників-флуорохромів.

Ультрамікроскопія і електронна мікроскопія.

Створення ультрамікроскопа поклало початок розробці спеціальних колоїдно-хімічних методів дослідження. У 1931 році *Р. Руденберг* отримав патент на електронний мікроскоп, а в 1932 році *М. Кноль* і *Е. Руска* побудували перший прототип сучасного приладу. Ця робота *Е. Руски* в 1986 році була відмічена Нобелівською премією з фізики, яку присудили йому і винахідникам скануючого зондського мік-

роскопа Герду Карлу Бінінгу і Генріху Рореру. Електронні мікроскопи можуть збільшувати зображення у 2 млн разів.



***Рис. 1.9 Електронний мікроскоп
Selmi ПЭМ -125К***

Використання електронного мікроскопу для наукових досліджень було розпочате у кінці 1930-х років і тоді ж з'явився перший комерційний прилад, побудований фірмою Siemens. Електронна мікроскопія – один із сучасних досконалих методів визначення розмірів і форм часток.

Основною відмінністю електронного мікроскопа від оптичного є використання потоку електронів замість світлового променя, а роль оптичних лінз відіграють електромагнітні лінзи. Складні функції клітин та міжклітинної речовини вдалось матеріалізувати звдяки мож-

ливості показу єдності структури та функції на субмікроскопічному рівні. Завдяки електронній мікроскопії морфологія як наука, отримала якісний розвиток.

ЧАСТИНА II

ОСНОВИ ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ

ТЕМА 2. НАПРЯМИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ У БІОХІМІЇ

2.1 Предмет і завдання біохімії. Основні напрямки розвитку біохімічних досліджень

Термін «біохімія» *вперше запропонований і введений у наукове середовище у 1903 році німецьким хіміком Карлом Ной-бером (Karl Neuberg).*



Карл Нойберг
(1877 - 1956)

В.І. Вернадський, перший президент АН України, вважав, що *біохімія - це наука про структуру і поведінку усіх живих організмів, здатних захоплювати з навколишнього середовища певні хімічні елементи і складні речовини, видозмінювати їх, виділяючи кінцеві продукти перетворення у навколишнє середовище.* Біохімія вивчає хімічні та фізико-хімічні прояви життя. Організм отримує з довкілля необхідні йому речовини, використовуючи їх для побудови тканин власного тіла. З продуктами харчування надходить енергія, що акумулюється у хімічних зв'язках та використовується для всіх життєвоважливих процесів в організмі. Інакше кажучи, *живі організми належать до відкритих термодинамічних систем і*

підпорядковуються основним їх законам, характеризуються вищим ступенем унікальної структурної організації, тобто хімічною будовою, просторовим розміщенням окремих атомів та їх конформацією.

Одним з головних завдань біохімії є з'ясування хімічних основ найважливіших біологічних процесів, загальних шляхів та принципів перетворення речовин і енергії, що лежать в основі різноманітних проявів життя. Найбільш загальними ознаками живого організму є:

зв'язок із навколишнім середовищем - отримання, перетворення і використання енергії довкілля, створювати і підтримувати свої внутрішні структури, виконувати механічну та хімічну роботу;

складністю хімічної будови на макрорівні (безліч молекул беруть участь у будові внутрішньої структури клітини);

здатністю до точного самовідтворення (з однієї бактеріальної клітини, вміщеній у стерильне живильне середовище за 24 години може виникнути мільярд ідентичних «дочірніх», що копіюють оригінал);

специфічністю функції всіх компонентів живого організму і регуляція їхніх взаємозв'язків (це відмінна риса не тільки макроструктур, таких як стебло і листя

або серце і легені, але і внутрішньоклітинних мікроструктур та індивідуальних хімічних сполук);

здатністю змінюватися з часом шляхом послідовної еволюції.

У цій структурно-функціональній єдності організмів важливу роль відіграють білки що складають основу “молекулярної логіки живого”(А. Ленінджер, 1982 р.). У процесі еволюції у живих системах синтезувались біологічно-активні речовини – **каталізатори**, тобто ферменти, які здійснюють перетворення всіх хімічних речовин; їх регулятивна дія постійно відбувається на генетичному рівні. Носієм генетичної інформації є ДНК, в окремих ділянках якої записана інформація про структуру ферментів та інших білків.

Живі організми мають здатність зберігати **постійність гомеостазу** за допомогою механізмів саморегуляції, в координації яких важлива роль належить гормонам. У людей і тварин гормональна регуляція обміну речовин тісно пов'язана з діяльністю нервової системи. Для перебігу всіх біохімічних процесів необхідна енергія, яка утворюється у процесі біологічного окиснення, що спряжене з окисним фосфорилуванням. В анаеробних умовах організм забезпечується енергією за рахунок процесів **гліколізу**. Зворотнім процесом до гліколізу є **глюконеогенез** - синтез глюкози з неуглеводних продуктів. Регуляція рівня глюкози в крові здійснюється нервовою системою за участю ендокринних залоз.

Біохімія тісно пов'язана з фізіологією. Ці дві науки доповнюють одна одну: фізіологія вивчає функції здорового організму, а біохімія, спираючись на свої специфічні методи, досліджує перетворення хімічних компонентів, що лежать в основі функціонування організму. Для медицини та ветмедицини біохімія стала базовою фундаментальною наукою, що на молекулярному рівні пояснює складні біологічні механізми, які лежать в основі сучасної діагностики, лікування та прогнозуванні перебігу різних хвороб; надає зрозуміти молекулярні основи фізіологічних та патологічних процесів.

Об'єктом біохімії є широке коло питань, що стосуються різних проявів життя, в подальшому було підґрунтям розрізняти біохімію людини, тварин, рослин, вірусів, мікроорганізмів, технічну, радіаційну. У сучасній біохімії виділяють три розділи:

Статична біохімія вивчає склад і хімічну структуру тканин та органів, пізнання живого на молекулярному рівні; приділяє основну увагу будові та значенню певних біомолекул в утворенні клітинних і тканинних структур, реалізації фізіологічних функцій організму.

Динамічна біохімія вивчає хімічні реакції, що є основою обміну речовин, або метаболізму живих організмів, а саме механізми реакцій обміну вуглеводів, білків, ліпідів, нуклеїнових кислот.

Функціональна біохімія на підставі даних статичної і динамічної біохімії з'ясовує біохімічні процеси, які лежать в основі функціональної діяльності різних органів і систем, зокрема: біохімічні основи травлення речовин; механізми м'язового скорочення; генерацію та проведення нервового імпульсу; дихальну функцію крові; регуляцію кислотно-основного стану в організмі; детоксикаційну функцію печінки; видільну функцію нирок; захисну функцію імунної системи тощо.

Серед *основних напрямків у біохімічних дослідженнях*, які потребують свого вирішення на найближчу та віддалену перспективу є:

- біосинтез білка та його регуляція;
- біологічні мембрани та біоенергетика, диференціація клітин вищих організмів (еукаріотів);
- організація і механізм функціонування геному;
- процеси „розпізнавання” на молекулярному рівні;
- молекулярні основи захворювань людини і тварини, їх профілактика та лікування;
- молекулярні основи пухлинного росту та імунітету;
- теорія ферментативного каталізу; регуляція дії ферментів;
- молекулярні механізми пам’яті;
- розробка нових способів і засобів, заснованих на принципах генної інженерії для попередження серцево-судинних, злоякісних, алергічних та імунних захворювань, зокрема СНІДу;
- на основі комплексного дослідження біологічних рідин та біопрепаратів покращення діагностики та прогнозу захворювань на ранніх стадіях.

•

Основне *значення біохімії* полягає у тому, щоб на молекулярному рівні розв’язувати фундаментальні, загально-біологічні завдання, що включають проблеми взаємовідношення людини, тварини і екосистеми, яку необхідно не тільки зрозуміти, але й навчитися раціонально нею користуватися; на основі глибоких знань хімічних перетворень знайти ефективні шляхи управління організмом, використавши сучасні методи досліджень.

Методи біохімічних досліджень переважно формувалися ще у ХХ столітті, з них найбільш поширеними є хроматографія, (винайдена *Т. Сведбергом*, 1923 р., Нобелівська премія з хімії), центрифугування, електрофорез (*А.Тізеліус*, 1937 р., Нобелівська премія з хімії у 1948 р.) та інші. В основі біохімічної методології лежить фракціонування, аналіз, вивчення структури і властивостей окремих компонентів живої речовини.

З кінця ХХ ст. у біохімії все ширше застосовуються методи молекулярної та клітинної біології у модельних клітинах і цілих організмах. Виявилося, що традиційний хімічний аналіз і очищення ферментів з біомаси дозволяють отримати лише ті білки порівняно у великій кількості, які присутні в живій системі.

Не випадково основна маса ензимів була відкрита біохіміками ще в середині ХХ століття. Штучна експресія раніше невідомих генів, сприяла використанню вченими більш сучасних методів для наукових досліджень, в результаті чого виник новий підхід до планування біохімічного дослідження, який отримав назву «зворотна генетика» або «функціональна геноміка». У останні десятиліття великого розвитку набуло комп’ютерне моделювання, що дозволило з’ясувати властивості біомолекул там, де практично неможливо провести прямий експеримент. Застосування комп’ютерних технологій дало можливість візуалізувати структуру біомолекул,

задати їх передбачувані властивості і спостерігати результуючі взаємодії між молекулами, таких, наприклад, як ензим - субстрат, ензим - коензим, ензим – інгібітор, гормон- клітина-мішень та ін.

2.2 Матеріали для біохімічних досліджень та методи виділення речовин із біологічного матеріалу

Біохімічні дослідження, останнім часом, все більше наближаються до розв'язання питань про внутрішні механізми регуляції у живій клітині, до вивчення молекулярних особливостей біохімічних процесів. У зв'язку з цим поступово ускладнюються методи та прилади, що використовуються у цій галузі науки.

Біохімічні дослідження проводяться для отримання інформації про численні хімічні і фізико-хімічні процеси, що протікають у клітинах і тканинах живих організмів у нормі чи при патології. Залежно від мети дослідження використовуються спеціальні прийоми обробки біологічного матеріалу та відповідні фізико-хімічні методи, якими студенти опановують при виконанні біохімічного практикуму. Однак перш ніж приступити до вивчення конкретних методик дослідження, необхідно познайомитися з деякими загальними положеннями та прийомами практичної біохімії.

Об'єкт біохімічних досліджень. В експериментальних умовах можна отримати будь-який біологічний матеріал для біохімічних досліджень. У клініці такі можливості обмежені. Для клініко-біохімічних аналізів використовують:

- матеріали, отримані від людини, тварини, рослин, мікробів і вірусів;
- вміст початкових і кінцевих речовин балансових дослідів, ангіостомії;
- різні біологічні рідини (кров, лімфа, ліквор, травні соки, сеча, хімул, піт та ін.), біопсійний матеріал (шматочки органів і тканин, видалених хірургічним шляхом);
- продукти життєдіяльності організму (молоко, шерсть, середовище існування мікробів) тощо.

Проби беруть швидко, з дотриманням правил асептики та антисептики, етикують, після чого піддають відповідній обробці, яка забезпечила б максимальне збереження прижиттєвого хімічного складу.

Об'єктом біохімічних досліджень у фармацевтичній практиці служить біологічний матеріал тварин і самі лікарські препарати. Взяття для аналізу біологічного матеріалу експериментальних тварин використовується при стандартизації та контролі якості ліків. Наприклад, по концентрації глюкози у крові проводиться стандартизація і контроль якості препаратів інсуліну. У той же час аналіз таких біологічних препаратів, як ферменти, проводять тільки біохімічними методами.

Методи виділення речовин із біологічного матеріалу

Для біохімічних досліджень твердий матеріал подрібнюють до однорідної кашки (розтиранням у ступці з кварцовим піском) або до гомогенної маси (подрібненням в гомогенізаторах, ультразвуком, осмотичним цитолізом, методом заморожування і відтавання). Гомогенат або біологічні рідини, зазвичай, негайно фіксують у рідкому кисні, охолоджених сумішах діетилового ефіру, ацетону та ін. Іноді такий

матеріал заливають відповідним розчинником, що екстрагує досліджувану речовину або групу речовин.

Часто вдаються до озолення матеріалу сухим (обвуглюють, а потім одержують водну або солянокислу витяжки) або мокрим (руйнують окислюючими сумішами) способами. У ряді випадків гомогенати піддають диференціальному центрифугуванню, одержуючи окремі фракції субклітинних структур. Отриманий і підготовлений матеріал зберігають у певних умовах, при температурі 0 – 4°C. Зберігання матеріалу не повинно бути тривалим, оскільки з часом його хімічний склад змінюється.

Для розділення сумішей і виділення речовин у *чистому вигляді* застосовують ряд методів: *перегонка, сублімація, випаровування, мікродифузія, фільтрація в гелях сефадексів, діаліз, кристалізація, екстракція, аналіз седиментації, електрофорез* та ін.

Більшість із цих методів засновані на відмінності температури переходу речовини з одного агрегатного стану у інший, розділенні у зв'язку з неоднаковою величиною молекул або часток, різної розчинності, різної реакційної здатності сполук, неоднакової швидкості седиментації, відмінності розподілу між рухомою і нерухомою фазами, величини сорбції молекул і електричного заряду, на неоднаковому електричному заряді молекул при певному значенні рН, на відмінності рухливості в електричному і магнітному полі комплексу речовини із зарядженими частками, розділенні на основі різних імунних властивостей речовин та ін.

Різноманіття патологічних форм захворювань, індивідуальність їх проявів у різних людей та тварин роблять процес діагностики досить важким. Тому клінічна медицина широко використовує об'єктивні методи дослідження організму пацієнта, серед яких найважливішу роль відіграє лабораторна діагностика, що надає близько 80% обсягу об'єктивної діагностичної інформації.

Основними завданнями лабораторної діагностики як виду медичної діяльності є:

1. Формування єдиного технологічного процесу виробництва лабораторних аналізів.
2. Безпосереднє виконання різних видів лабораторних досліджень.
3. Розробка критеріїв якості для окремих етапів єдиного технологічного процесу виконання аналізів.
4. Участь у розробці і впровадженні нових ефективних методів дослідження.
5. Своєчасна заміна лабораторних тестів на нові, що мають вищі клінічні критерії: специфічність, чутливість, стійкість до інтерференції і одночасно є економічно доцільними.
6. Складання діагностичних програм, визначення спектру і частоти виконання лабораторних досліджень при різних патологічних станах.
7. Вибір кількісних лабораторних критеріїв оцінки ефективності лікувальних заходів на підставі передових досягнень медичної науки.

2.3 Методи кількісного аналізу та їх класифікація

Для кількісного визначення структури і фізико-хімічних властивостей виділених речовин використовують різні фізичні, фізико-хімічні, хімічні методи аналізу, а також квантово-механічні розрахунки електронної структури виділених сполук. Поряд з методами хімії, фізичної хімії (включаючи використання методів радіоіндикації), математики, фізіології, що використовуються для ви-вчення структури, метаболізму і функцій біоструктур, біохімія має свій власний специфічний метод дослідження – **метод ферментативного аналізу**. Він широко застосовується у різних галузях біологічної науки, в практичній медицині, фармації, біотехнології.

Методи кількісного аналізу, що використовуються у біохімії засновані на визначенні в тому чи іншому субстраті певної кількості речовини за її екстенсивними властивостями (маса, об'єм) або фізичними, термічними, електричними, ядерними, хімічними, а також за взаємодією речовини з променистою енергією, дифракцією рентгенівського проміння і електронів, випромінювання та ін.

Кількість біохімічних методів, що використовуються у теоретичній і прикладній біохімії, клінічній практиці та суміжних дисциплінах досить велика. Так, наприклад, для виявлення холестерину існує понад 100 біохімічних методів. Є декілька видів класифікацій. Найбільш прийнятна класифікація за методом визначення вмісту тієї або іншої речовини у субстраті.

Методи об'ємно-вагового аналізу. Принципи об'ємно-вагового аналізу є основою біохімічного дослідження. За кількістю речовини у субстраті розрізняють: **макрометоди** – для аналізу береться 40 – 50 мл розчину або близько 500 мг сухої речовини; **напівмікрометоди** – об'єм досліджуваного розчину складає від 1 до 100 мл, маса сухої речовини – від 10 до 100 мг; **мікрометоди** – об'єм досліджуваного розчину – декілька десятих часток мілілітра, маса сухої речовини – декілька міліграмів; **ультрамикрометоди** – об'єм досліджуваного розчину менше 0,1 мл, маса сухої речовини менше 1 мг. Об'ємно-ваговий аналіз заснований на кількісному визначенні об'єму або маси досліджуваної речовини. Це визначення проводиться зважуванням (для сухих речовин) або титруванням (для розчинів).

Методи об'ємно-вагового аналізу, засновані на титруванні, поділяють на чотири групи: **ацидометричні, алкаліметричні, оксидометричні і осадження**. Для першої групи як титруючий розчин застосовують розчин кислоти, другої – розчин луку, третьої – окислювачі, четвертої – солі важких металів. Перші дві групи методів називають методами нейтралізації. Методом нейтралізації визначають, наприклад, загальний і залишковий азот по Кьельдалю, оксидометрією визначають цукор крові і т.д.

Кількісний вміст сухої речовини визначається гравіметричним методом. Наважку проби розчиняють, малорозчинний осад промивають, потім висушують або прожарюють до постійного значення маси, а потім визначають її величину. Прикладом може бути визначення маси казеїну у молоці.

Оптичні методи володіють високою чутливістю (вони виявляють у пробах вміст речовин у концентраціях менше 0,001 мг), специфічністю і точністю. Розріз-

няють п'ять основних груп оптичних методів: *адсорбційні, нефелометричні і турбідиметричні, люмінесцентні, спектральні і поляриметричні*.

Адсорбційні методи засновані на визначенні кількості речовини у розчинах за інтенсивністю поглинання ним світлової енергії. Залежно від використання світлової енергії розрізняють *фотометрію і спектрофотометрію*. Фотометрія включає власне фотометричні (візуальні і фотоелектроколориметричні) і колориметричні (стандартних серій і шкали, колориметричного титрування, порівняння) методи. Прикладом широкого використання цих методів в лабораторній практиці є, наприклад, визначення фосфору в сироватці крові фотоелектроколориметром по Фіску-Суббароу.

Розрізняють три види спектрофотометрії: *фотографічну, термоелектричну і фотоелектричну*. У біохімії найчастіше використовується фотоелектрична спектрофотометрія, наприклад, визначення нуклеїнових кислот спектрофотометрами.

Нефелометричні і турбідиметричні методи (візуальні і об'єктивні) засновані на вимірюванні інтенсивності світлового поток, розсіяного суспензіями окремих речовин. При нефелометрії вимірюється інтенсивність розсіяного світлового потоку у напрямі, перпендикулярному до падаючого світлового потоку. При турбідиметрії вимірюється інтенсивність світлового поток, який пройшов через кювету з розчином у напрямі падаючого світлового потоку. Ці методи застосовуються при визначенні у різних розчинах вмісту білків, амінокислот, деяких вітамінів і інших речовин. Наприклад, фотоелектроколориметрами – нефелометрами визначають вміст альбумінів і глобулінів у сироватці крові.

Люмінесцентний аналіз володіє високою чутливістю (від 0,0001 до 1000 мкг), специфічністю виявлення мінімальних кількостей речовин, яскравістю і контрастністю. Він заснований на здатності окремих речовин спочатку поглинати, а потім випромінювати світлову енергію. Деякі речовини володіють власною (первинною) люмінесценцією (вітаміни групи А, ліпофусцин, амілоїди, бензопірен). У інших сполук ця властивість виникає після обробки їх флуорохромами (вторинна люмінесценція). Метод використовується для визначення вмісту вітаміну В₁ у сечі електронним флуориметром по Вангу і Харрісу та ін.

Спектральний аналіз дає можливість вивчати якісний і кількісний склад молекул і атомів різних речовин на основі визначення спектрів поглинання або випускання світлової енергії. Розрізняють декілька видів спектрального аналізу – *емісійний, адсорбційний і комбінаційний*. У клініці широко застосовується полум'яно-фотометричний метод визначення натрію, калію і кальцію у сироватці крові по Габшу.

Поляриметричний аналіз заснований на здатності оптично активних речовин в розчині обертати площину поляризованого світла. У складі молекули такої речовини є асиметричні атоми вуглецю. Як приклад назвемо визначення вмісту глюкози в сечі поляриметром або глюкозиметром.

Хроматографічні методи найчастіше використовуються як попередні методи біохімічного аналізу. Так цими методами з різних сумішей виділяють речовини в чистому вигляді, а потім іншими методами (головним чином, об'ємно-ваговими і оптичними) визначають їх кількісний вміст.

Залежно від середовища, де проводиться розділення, розрізняють *газову, газорідинну і рідинну хроматографію; залежно від механізму розділення – адсорбційну (молекулярну), розподільну, іонообмінну, осадову, окисно-відновну, адсорбційно-комплексоутворюючу;*

залежно від методу проведення – колоночну, капілярну, площинну (паперову і в тонкому шарі);

залежно від мети дослідження – промислову аналітичну, препаративну. Методи хроматографії часто застосовують спільно з методами електрофорезу для виділення і очищення різних речовин з сумішшю (наприклад, якісне і кількісне визначення амінокислот в сироватці крові).

Методи електрофорезу застосовують для розділення білків на окремі фракції і підфракції, а також для виділення ізоферментів та інших речовин з біологічних рідин і штучних розчинів. Розрізняють *препаративний і кількісний електрофорез*. Препаративний електрофорез застосовується для розділення сумішшю речовин в газовому і рідкому середовищах. Кількісний електрофорез використовується для визначення кількості речовин після їх розділення. В біохімічних дослідженнях часто використовуються зональний фронтальний (або вільний) електрофорез, мікроскопічний та імуноелектрофорез. Залежно від природи носія зональний електрофорез може проводитися на папері, у гелях, у блоках і т.д.

У клініці часто проводиться електрофоретичне визначення білкових фракцій сироватки крові на папері. У ряді випадків застосовується універсальний прилад для імуноелектрофореза і електрофореза білків (УЕФ), за допомогою якого білки розділяють на агар-агарі, папері, крохмалі, проводячи потім їх кількісне визначення.

Методи полярографії. Це група електрохімічних методів, заснованих на явищі дифузійного струму, величина якого пропорційна концентрації речовини, що обумовлює цей струм. Розрізняють *постійнострумову, зміннострумову, високо-частотну, імпульсну і осцилографічну полярографію*. Методи використовуються для ранньої діагностики хвороб серцево-судинної системи, визначення вмісту у тканинах кисню і мікроелементів, оцінки якості м'яса та ін. У клініці застосовується полярографічний метод визначення вмісту фосфору в сироватці крові (за М. О. Кондрашовою).

Манометричні методи засновані на вимірюванні тиску рідин або газів. При цьому використовується манометр для вимірювання тиску газів (найчастіше CO₂ і O₂) під час їх поглинання або утворення за постійною температурою та об'ємом у закритих системах. Ці методи часто застосовуються при вивченні тканинного обміну, різних видів бродіння, при дослідженні газообміну у крові та тканинах, при визначенні ряду продуктів проміжного обміну, амінокислот, активності окремих ферментативних систем і т.д. Як приклад може бути метод визначення окислювального фосфорилування за Варбургом.

Інші методи біохімічних досліджень. Окрім розглянутих, у біохімії застосовуються ще *методи ультрацентрифування та радіоактивних ізотопів*. У першому випадку використовуються ультрацентрифуги (від 20000 до 200000 об/хв.). Методи ділять на декілька видів: *визначення швидкості седиментації,*

рівноваги седиментації і метод диференційного центрифугування. Вони дозволяють отримати окремі фракції та підфракції клітин і тканин, хімічний склад яких визначається, в основному, об'ємно-ваговим, оптичним, полярографічним та іншими методами.

При використанні методу радіоактивних ізотопів піддослідній тварині ін'єкцією або з кормом вводиться мічений атом, після чого він включається у реакції обміну речовин. Радіоактивний розпад мічених атомів потім видаляється радіометрами.

У лабораторній практиці часто застосовується метод визначення відновлення фосфору, що входить до складу білків.

Статистична обробка результатів біохімічних досліджень. Цифрові дані, отримані різними біохімічними методами, піддаються статистичній обробці, що дозволяє об'єктивно оцінити результати наукових досліджень. Після статистичної обробки вдаються до узагальнення результатів, що в подальшому відображаються у таблицях, графіках, діаграмах та інших матеріалах. На підставі цього формулюються висновки про закономірність явищ, що вивчаються; біохімічну статистику та динаміку живих організмів.

2.4 Розчини. Способи вираження концентрації розчинів

Розчини – це гомогенні (однофазні) термодинамічно стійкі фізико-хімічні системи змінного складу, до яких входить два і більше компонентів. Хімічний склад і фізичні властивості одного розчину у всіх частинах його об'єму однакові. На відміну від простого змішування речовин при розчиненні відбуваються взаємодії між частинками, що утворюють розчин. **Речовину, яка при розчиненні не змінює свого агрегатного стану, називають розчинником;** її кількість у розчині, як правило, є більшою.

Значення розчинів велике. Хімічні реакції, що обумовлюють існування живих істот, відбуваються у розчинах. Організм тварини і людини містить 65-66% води. Майже всі рідини, які є у природі, це розчини – гідросфера, нафта. Біологічні рідини (кров, лімфа, цитозоль та ін.) містять велику кількість розчинених речовин. Більшість ліків використовують у вигляді розчинів, а поживні речовини надходять в організм у розчиненому стані.

Типи розчинів. Залежно від агрегатного стану розчини розділяються на: тверді, рідкі та газуваті (пароподібні). До твердих розчинів належать сплави металів, чавун, сталь. Прикладом газоподібного розчину є повітря. У рідких розчинах розчиненими речовинами можуть бути гази, рідини або тверді речовини.

У розчинах розчинені речовини знаходяться у різних ступенях дисперсності (подрібненості). Величина частинок служить важливою ознакою, яка обумовлює багато фізико-хімічних властивостей розчинів. За величиною частинок розчини поділяються на **істинні** (розмір частинок менше 1 мкм, або 10^{-7} - 10^{-8} см), які у свою чергу можуть бути **йонні** або **молекулярні**, залежно від того, дисоціює розчинювана речовина на йони чи залишається в недисоційованому стані (у вигляді молекул); **колоїдні** (розмір частинок від 1 до 100 мкм, або 10^{-7} - 10^{-5} см). Частинки більші від

100 мкм утворюють грубодисперсні системи (емульсії, суспензії, піни, порошки, пасти, аерозолі).

Іонні розчини одержують при розчиненні у воді солей, кислот і лугів, наприклад, NaCl, KCl, Na₂SO₄, HCl, H₂SO₄, NaOH, KOH та ін. Молекулярні розчини утворюють глюкоза, цукроза, гліцерол та інші речовини, молекули яких практично не дисоціюють у воді. Всі істинні розчини є гомогенними і не мають фізичної межі між розчиненою речовиною і розчинником.

До колоїдних відносять особливим способом приготувані розчини речовин, молекули яких за відповідних умов об'єднуються в частинки розміром від 1 до 100 мкм. Колоїдні розчини відрізняються за властивостями від істинних. Вони мікрогетерогенні, тобто мають межу поділу між фазами – розчиненою речовиною (дисперсна фаза) і розчинником (дисперсійне середовище).

Розчини високомолекулярних сполук, білків, поліцукоридів мають властивості як істинних, так і колоїдних розчинів.

Способи вираження складу розчинів.

Важливою характеристикою будь-якого розчину є його склад та концентрація компонентів. Вміст розчиненої речовини виражають безрозмірними одиницями (частки, проценти) і розмірними величинами – **концентраціями**.

Згідно з міжнародною системою одиниць СІ під терміном **моль** розуміють кількість речовини, що має стільки визначених умовних частинок, скільки атомів міститься у 0,012 кг вуглецю ¹²C. Під умовними одиницями розуміють молекули, йони, електрони, частки молекул та йонів.

Наприклад, 1 моль молекул сульфатної кислоти, 0,1 моль йонів кальцію, тощо. Кількість речовини позначають v_i і записують: $v(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1$ моль, $v(\text{Ca}^{2+}) = 0,1$ моль.

Масова частка (ω_i) розчиненої речовини – це відношення маси розчиненої речовини B (m_i) до загальної маси розчину (Σm):

$$\omega_i = \frac{m_i}{\Sigma m}. \quad (2.1)$$

Величина масової частки виражається у **частках одиниці, процентах (%)** – сотих частках.

Так, масова частка KCl у розчині одержаному змішуванням 0,9 г KCl із 99,1 г H₂O: $\omega = 0,009 = 0,9\% = 9\text{‰} = 900 \text{ млн}^{-1}$

Молярна частка (N_B) – це відношення кількості розчиненої речовини B (моль) до загальної кількості моль речовини (Σv_i), що складають розчин:

$$N_B = \frac{v_B}{\Sigma v_i}, \quad (2.2)$$

де v_B – кількість розчиненої речовини (моль); v_i – кількість кожного компонента розчину (моль). Сума молярних часток усіх компонентів розчину дорівнює одиниці: $N_A + N_B = 1$. Молярна частка N_B виражається в частках одиниці, процентах, промілі і мільйонних частках.

Об'ємна частка (φ_i) – це відношення об'єму розчиненої речовини В (V_i) до суми об'ємів (ΣV) компонентів системи, до приготування розчину:

$$\varphi_i = \frac{V_i}{\Sigma V} \quad (2.3)$$

Ця величина виражається в частках одиниці, процентах, проміле і мільйонних частках. Об'ємною часткою характеризують склад газових сумішей.

Молярна концентрація (C_M або C_B) – це відношення кількості молів розчиненої речовини В ν_B (моль) до об'єму розчину:

$$C_M = \frac{\nu_B}{V_{p-ну}} = \frac{b}{M_B \times V_{p-ну}}, \quad (2.4)$$

де ν_B – кількість молів розчиненої речовини, b – маса розчиненої речовини, г; M_B – молярна маса, г/моль.

Молярна концентрація виражається в одиницях: **моль/м³, моль/дм³, моль/л**. Замість позначень моль/дм³, моль/л можливе позначення **M**. Наприклад, 1 M HNO₃; 0,5 M NaOH. Термін молярність не вживають, але користуються термінами молярний, одномолярний.

Моляльна концентрація (C_m або t_B), моляльність – це відношення кількості молів ν_B розчиненої речовини В (моль) до маси розчинника a (кг):

$$C_m = \frac{\nu_B}{a}, \text{ або } C_m = \frac{b}{M_B \times a}, \quad (2.5)$$

де a – маса розчинника, кг; b – маса розчиненої речовини, г; M_B – молярна маса розчиненої речовини, г/моль. Одномоляльний розчин – 1 моль речовини розчинений у 1 кг розчинника, моль/кг.

Між молярною часткою розчиненої речовини N_B і моляльністю C_m для вних розчинів існує співвідношення: $N_B = \frac{C_m}{C_m + \frac{1000}{18}}$. Оскільки у розбавлених розчинах

$$C_m \ll \frac{1000}{18}, \text{ то } N_B = \frac{C_m \times 18}{1000} = 0,018 \times C_m \quad (2.6)$$

У біології, біохімії, медичній практиці за одиницю кількості речовини береться моль (моль, мкмоль, нмоль). Наприклад, рівень гемоглобіну в крові, вміст калію, натрію виражають у моль/л, вміст заліза – мкмоль/л.

Для характеристики складу розчину в аналітичній практиці застосовують молярну масу еквівалента. Спочатку з'ясуємо згідно з СІ поняття молярної маси і фактора еквівалентності. Згідно з СІ поняття молярної маси речовини В ($M_{(B)}$) є маса 1 моля цієї речовини. Вона дорівнює відношенню маси (m) речовини В до її кількості в молях: $M_{(B)} = \frac{m_{(B)}}{\nu_{(B)}}$. Основна одиниця молярної маси – кг×моль⁻¹. На практиці користуються г×моль⁻¹.

Фактор еквівалентності $f_{екв}$ – число, яке є оберненою до еквівалентного числа z і показує, яка доля умовної частки речовини В реагує з одним йоном гідрогену у певній кислотно-основній реакції або з одним електроном у певній окисно-

відновній реакції. Значення фактора еквівалентності може змінюватися залежно від зміни реакції у якій бере участь певна речовина

$$f_{\text{екв}} = \frac{1}{z} \quad (2.7)$$

Молярною масою еквівалента $M_{\text{екв}(B)}$ називають масу 1 моля еквівалента цієї речовини, яка дорівнює добутку фактора еквівалентності на молярну масу речовини В:

$$M_{\text{екв}(B)} = M_{(B)} \times f_{\text{екв}} \quad (\text{г} \times \text{моль}^{-1}) \quad (2.8)$$

Масова концентрація ρ – це відношення маси розчину ($m_{\text{р-ну}}$) до загального об'єму ($V_{\text{р-ну}}$) і виражається у $\text{кг}/\text{м}^3$, $\text{г}/\text{см}^3$:

$$\rho = \frac{m_{\text{р-ну}}}{V_{\text{р-ну}}} \quad (2.9)$$

Вода (гідроген оксид)

За А.Сент-Дьєрді: “Вода не тільки mater (мати), але також і matrix (матриця) життя, і біологія, можливо, не досягла б тих вершин у розумінні найосновніших функцій через те, що вона концентрувала своє розуміння тільки на речовині у вигляді часток, відділяючи їх від двох матриць – води і електромагнітного поля.”

Біологічні рідини є дуже складні білково-, вуглеводно-, ліпідно-, сольові розчини, у яких присутня величезна кількість інших метаболітів у певних співвідношеннях. Вода забезпечує всмоктування і механічні переміщення поживних речовин, продуктів обміну в організмі. Вода, беручи участь у процесах набрякання, осмосу та ін., створює відповідну величину онкотичного тиску у крові і тканинах.

Висока теплоємність, теплопровідність і теплота випаровування води зумовлює підтримання стабільної (нормальної) температури у теплокровних тварин. Будучи високополярною сполукою, вода викликає дисоціацію електролітів, бере безпосередню участь у гідролітичному розщепленні речовин, реакціях гідратації і у багатьох інших фізико-хімічних процесах. Утворення в організмі ендогенної води як кінцевого продукту обміну у результаті процесів біологічного окиснення супроводжується виділенням великої кількості енергії – близько 239,3 кДж/моль.

Молекула води – електричний диполь, у якому віддаль між киснем і воднем складає 0,0965 нм при 104,5°. Дипольний момент води $\mu = 1,86 \text{ D}$ ($6,1 \times 10^{-30} \text{ Кл} \cdot \text{М}$). Для води характерний **водневий зв'язок**, який значною мірою визначає її властивості та значення.

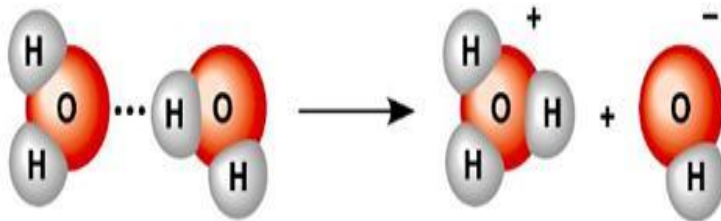
Дипольний характер молекул води добре пояснює розчинність у ній полярних речовин, погану розчинність неполярних і властивості речовин з дифільною структурою. Так, у структурі молекули білка поряд з гідрофільними групами -SH, -COOH, -NH₂, -OH, є гідрофобні радикали CH₃-(CH₂)_n-, C₆H₅-, які краще взаємодіють між собою, ніж з молекулами води. Гідрофобні радикали, об'єднуючись, ніби “виштовхують” воду із зони свого розташування. Виникає зв'язок за типом “жирної краплі”, здатний брати участь у збереженні просторової конфігурації молекули у водному розчині.

ТЕМА 3. ОСНОВНІ БУФЕРНІ СИСТЕМИ КРОВІ. КИСЛОТНО-ОСНОВНИЙ СТАН

3.1 Активна реакція крові

В живому організмі усі процеси обміну відбуваються лише за умови сталих значень рН середовища. Відхилення у бік збільшення кислотності або основності середовища зумовлює порушення функціонування ферментів, а у зв'язку з цим – перебігу біохімічних реакцій. Організм живий доки підтримується кислотно-основний гомеостаз, одним із показників якого є *активна реакція крові*.

Кров – це водний розчин. Співвідношення іонів $[H^+]$ і $[OH^-]$ в нормі майже рівнозначне, $pH = 7,4$. Виступаючи універсальним розчинником, вода є основою рідин живої природи. Організм тварини містить 65,9% води, жива клітка – 85%.



За теорією Бренстеда, вода є амфолітом: дисоціює як кислота з утворенням йона $H^+(H_3O^+)$ і як основа з утворенням йона OH^- .

Рис. 3.1 Автопротоліз води



Така реакція називається *автопротолізом* води (Рис. 3.1):



Вода є типовим амфолітом, дисоціює як кислота з утворенням йона $H^+(H_3O^+)$ і як основа з утворенням йона OH^- .

На основі експериментальних досліджень встановлено, що при температурі $22^\circ C$ ступінь дисоціації води досить малий малий: $\alpha_{H_2O} = 1,8 \times 10^{-9}$, тобто на йони розпадається тільки одна молекула із приблизною кількістю 1800000000. Зрозуміло, що вода належить до надзвичайно слабких електролітів і підлягає закону діючих мас. Тому для неї можна записати вираз *константи дисоціації*:

$$\text{при } 22^\circ C \quad K = \frac{[H_3O^+][OH^-]}{[H_2O]^2}; \text{ тобто } K_{\text{дис.}} = 1,8 \cdot 10^{-16} \quad (3.1)$$

Оскільки ступінь електролітичної дисоціації води дуже низький (дисоціює 1 мол. на 550 млн. молекул), то можна вважати її концентрацію постійною і рівною масі 1 л води при $22^\circ C$ (998,07 г), поділеного на її молярну масу і дорівнює **55,56 моль/л**

Виходячи з (2.1):

$$K_w = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] = 55,56 \times 1,8 \cdot 10^{-16} \text{ (моль/л)} = 1,00 \cdot 10^{-14} \text{ моль/л}, \quad (3.2)$$

де K_w – йонний добуток води.

Ця константа збільшується з ростом температури – тому, що реакція ендотермічна і, звичайно, вона не залежить від рН середовища, тобто від концентрації йонів Гідрогену. Це значить, що вміст йонів Гідрогену і гідроксилу в розчині однозначно зв'язані цією константою.

Згідно з рівняння (3.2),

$$[\text{H}_3\text{O}^+] = [\text{OH}^-] = 10^{-7} \text{ моль/л.}$$

Якщо водний розчин має нейтральну реакцію, то це означає, що у ньому концентрації H_3O^+ і гідроксид-йонів є однакові і рівні $[\text{H}_3\text{O}^+] = [\text{OH}^-] = 10^{-7}$. У кислих розчинах $[\text{H}_3\text{O}^+] > 10^{-7}$ моль/л, у лужних $[\text{H}_3\text{O}^+] < 10^{-7}$ моль/л.

Розрахунок концентрації Гідроген-йонів H_3O^+ і гідроксил-йонів за допомогою йонного добутку води проводять, виходячи з постійного значення:

$$K_w = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] = 1,00 \cdot 10^{-14} \text{ моль/л} \quad (3.3)$$

При будь-яких змінах молярних концентрацій Гідроген-йонів $[\text{H}_3\text{O}^+]$ і гідроксид-йонів добуток їх концентрацій при постійній температурі залишається незмінним.

Наприклад, якщо до чистої води додати HCl , концентрація якої рівна 0,001 М, то відповідно:

$$[\text{OH}^-] = \frac{K_w}{[\text{H}^+]} = \frac{10^{-14}}{10^{-3}} = 10^{-11} \text{ моль/л}$$

Якщо до чистої води додати луку, з концентрацією 0,02 М, то концентрація йонів H_3O^+ становитиме:

$$[\text{H}^+] = \frac{K_w}{[\text{OH}^-]} = \frac{10^{-14}}{2 \times 10^{-2}} = 5 \times 10^{-13} \text{ моль/л}$$

Варто зазначити, що характеризувати кислотність або основність розчину числами з від'ємними показниками ступеня незручно. Тому кислотність розчинів виражають не концентрацією йонів $[\text{H}_3\text{O}^+]$, а її від'ємним десятковим логарифмом.

Цю величину називають *водневим показником йонів Гідрогену* і позначають через рН:

$$\text{pH} = -\lg[\text{H}_3\text{O}^+]. \quad (3.4)$$

Поряд з розчинами слабких кислот у рідинах слабких основ розрізняють загальну, активну та потенційну лужність.

У випадку розчинів сильних кислот (основ) внаслідок повної йонізації молекул активна кислотність (лужність) дорівнює загальній.

Але для деяких біологічних рідин, наприклад, шлункового соку, вміст якого складається з кислот різної сили, при визначенні активної кислотності (вимірюванням рН) і загальної кислотності (титруванням) результати будуть різні. Навіть рівні концентрації кислот чи основ мають різну активну кислотність (основність). Так, 0,1 М розчини хлоридної і ацетатної кислот, маючи однакову загальну кислотність, водночас мають різні значення рН (для HCl рН = 1,02, для CH₃COOH рН = 2,89).

Один із простих способів визначення рН ґрунтується на властивості **індикаторів** - речовин, що мають властивість змінювати своє забарвлення залежно від ступеня активної кислотності або лужності. Кожен індикатор характеризується **інтервалом переходу забарвлення**.

Інтервал переходу забарвлення індикатора – зона між двома значеннями рН, в якій відбувається помітна для ока зміна кольору індикатора. Так, фенолфталеїн змінює своє забарвлення від безбарвного до малинового в межах рН 8,0-9,6, метиловий оранжевий – у межах 3,1-4,4. Метод визначення концентрації Гідроген-йонів або гідроксид-йонів, що ґрунтується на зміні забарвлення індикаторів, називають **колориметричним**. Застосовують і універсальні індикатори, за зміною забарвлення яких одразу визначають рН середовища. Універсальні індикатори – це суміші звичайних індикаторів.

Наприклад, для приготування універсального індикатора, що змінює забарвлення в межах рН від 2 до 10, використовують суміш диметиламіноазобензолу, бромтимолового синього, метилового червоного, фенолфталеїну і тимолфталеїну. Звичайні й універсальні індикатори можуть використовуватися у вигляді розчинів або у вигляді індикаторних паперових смужок.

Теоретичною основою застосування колориметричного методу **є закон Ламберта-Бера (1760): для двох розчинів, однаково поглинаючих світло, добуток їх концентрації C на товщину шару розчину h є величиною сталою:**

$$C_1 h_1 = C_2 h_2 = \text{const.} \quad (3.10)$$

Із цього закону випливає, що при рівному поглинанні світла двома розчинами, з яких концентрація одного відома (стандартного), концентрація другого розчину буде такою ж. При колориметричному методі визначення рН користуються приладом Міхаеліса. Прилад містить набір запаяних пробірок – еталонів з відповідним забарвленням розчинів з відомими значеннями рН.

Більш точним є **потенціометричний метод** визначення рН, в основі якого лежить вимірювання електрорушійної сили (е.р.с.), яка виникає у результаті різниці потенціалів двох електродів – індикаторного і електрода порівняння (стандартного). Потенціал індикаторного електрода залежить від концентрації [H₃O⁺] у досліджуваному розчині і визначається за рівнянням Нернста:

$$E = E^0 + \frac{0.059}{n} \cdot \lg a_x(C_x), \quad (3.11)$$



Рис. 3.2 рН-метр.

де E^0 - стандартний потенціал, $0,059$ – коефіцієнт Нернста при 25 C ; n - число електронів, які беруть участь в електродній реакції, $a_x(C_x)$ - активність (концентрація) визначуваних йонів, моль/дм³. Для визначення рН використовують спеціальні потенціометри і рН-метри (рис. 3.2). В лабораторній практиці, в основному, використовують рН-метри типу рН-340, рН-150М та інші.

Водневий показник (рН) використовують при біохімічних дослідженнях, а також

у клінічній практиці для характеристики кислотно-основних властивостей різних біологічних середовищ.

3.2. Значення рН та основні буферні системи крові

Йонам Гідрогену і гідроксильним йонам належить особливе місце серед інших йонів завдяки різко вираженому впливові їх на фізико-хімічні властивості речовин і перебіг багатьох хімічних реакцій. Багато процесів у живих організмах відбувається при певному значенні рН. Наприклад, шлунковий сік людини має рН 1,0-1,5.

Усі ферментні процеси відбуваються при певних значеннях рН. Так, цукраза дріжджів проявляє максимум дії при рН 5, амілаза слини – при рН 6,8 (табл. 3.2.1). Із наведених прикладів видно, що рН внутрішніх середовищ організму та різних біологічних систем, які є водними розчинами, безпосередньо впливає на життєдіяльність кліток, тканин, органів і організму в цілому. Значення рН біологічних рідин регулюється фізіологічними механізмами і буферними системами. У процесі еволюції в організмі утворились певні системи (буфери), що сприяють підтриманню сталості рН середовища.

Буферною системою називають протолітичну систему, що володіє властивістю стійко утримувати рН середовище при додаванні невеликих кількостей сильної кислоти або лугу, або при розведенні.

Буферні системи – двокомпонентні системи, що складаються із суміші слабкої кислоти та її солі, утвореної сильною основою, або слабкої основи та її солі, утвореної сильною кислотою. Такій суміші властива певна і відносно постійна концентрація йонів Гідрогену, яка залежить від співвідношення кислоти, солі та йонної сили суміші.

рН в буферних системах розраховують по формулі Гендерсона-Гассельбаха:

$$pH = pK + \lg \frac{C(\text{солі})}{C(\text{кислоти})} \quad (3.12)$$

Значення рН фізіологічних рідин

Рідини (свині)	Ймовірне значення рН	Можливі коливання
Кров (плазма)	7,36	7,35-7,45
Шлунковий сік (пристінковий)	1,05	0,90-1,50
Панкреатичний сік	7,5	7,00-8,00
Кишковий сік	6,51	5,07-7,07
Сеча	5,80	5,00-6,50
Слина	6,4	6,20-7,00
Піт	5,4	4,5-7,5
Міхурцева жовч	6,2	5,6-7,2
Печінкова жовч	7,8	7,4-8,0

У залежності від складу розрізняють такі типи буферних систем:

(I тип)	(II тип)
Кислотні буфери	Основні буфери
наприклад, $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$	$\text{NH}_4\text{OH}/\text{NH}_4\text{Cl}$
бікарбонатний буфер	амонійний(аміачний) буфер

Буферна ємність – кількість молярних еквівалентних мас сильної кислоти або сильної основи, які треба додати до 1л буферного розчину, щоб зменшити рН на 1:

$$B = \frac{c}{pH_1 - pH_0} \quad (3.13)$$

$$B_{\text{арт. крові}} = 25,3 \text{ ммоль/л}, B_{\text{вен. крові}} = 24,3 \text{ ммоль/л}.$$

Позитивне значення В вказує на надлишок основи або дефіцит кислот; від'ємне значення В вказує на дефіцит основи або надлишок кислот.

Кислотно-основний стан (КОС), або кислотно-лужна рівновага (КЛР) в організмі людини і тварини характеризується трьома показниками: 1) лужними резервами $\pm\text{BE} = \pm 2,3$ ммоль/л; 2) парціальним тиском вуглекислого газу (PCO_2) = 36 – 44 мм рт. ст; 3) рН = 7,36 – 7,42. Регуляція кислотно-основного стану, або кислотно-лужного балансу, в організмі здійснюється за участю буферних систем крові та завдяки функціонуванню легенів і нирок.

Межа життя – 6,8 – 8,0, бо при рН 6,8 настає ізоелектрична точка для γ -глобулінів, які при цьому втрачають заряд, відбувається коагуляція білка, що призводить до утворення тромбів у судинах (як наслідок – інфаркт, інсульт).

Водневий показник різних біологічних рідин коливається від 1,0 до 9,0, крові – 7,2-7,95. Порушення кислотно-основного балансу зумовлюють патологічні стани, що характеризуються надмірним накопиченням в організмі кислих або основних сполук. При деяких захворюваннях реакція крові зміщується в кислу (при виразці шлунка і дванадцятипалої кишки) або в лужну (при пневмонії) зону. Зміщення кислотності середовища крові у кислу зону називається **ацидозом**, в лужну – **алкало-**

зом. При ацидозі збільшується вміст аніонів в організмі і рН знижується на 0,2-0,5. Це призводить до коматозного стану і загибелі тварин. При алкалозі в крові зростає концентрація катіонів і збільшується числове значення рН.

Враховуючи, що сталість кислотно-основної рівноваги в організмі відіграє суттєву роль у проходженні всіх біохімічних процесів, у клініці при аналізі крові значна увага надається визначенню **резервної лужності крові**. У нормі резервна лужність людини буває від 50-65 об% CO_2 ; є біохімічним компонентом, який протидіє зсувам рН крові у кислий бік під час накопиченні в організмі людини і тварини кислих продуктів, наприклад молочної кислоти за умов досить великого фізичного навантаження.

Для цього у досліджуваній плазмі крові визначають кількість CO_2 , яка є у зв'язаному стані, головним чином, у формі гідрокарбонатів. Одержана величина, виражена в об'ємних процентах (кількість мл CO_2 у 100 мл плазми), називається **резервною лужністю** крові. Зниження лужного резерву крові, що відбувається за рахунок нейтралізації кислот гідрокарбонатами, супроводжується утворенням H_2CO_3 , яка швидко розкладається на воду та вуглекислий газ, що виділяється легеньми. Легені і нирки беруть участь у підтриманні КОС, регулюють виділення або затримання в організмі надлишку кислих чи основних продуктів метаболізму.

Залежно від біохімічних та патофізіологічних механізмів розвитку організму розрізняють наступні форми порушень кислотно-основного балансу:

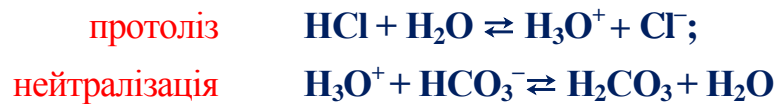
- **метаболічний ацидоз** – характеризується зменшенням концентрації йонів HCO_3^- внаслідок накопичення в організмі кислот або втрати основ;
- **респіраторний ацидоз** – є результатом зростання концентрації карбонатної кислоти внаслідок порушення виділення CO_2 легеньми;
- **метаболічний алкалоз** – супроводжується підвищенням концентрації йонів HCO_3^- як наслідок – втрата організмом кислот;
- **респіраторний алкалоз** – зниження вмісту у крові карбонатної кислоти внаслідок легеневої гіпервентиляції та підвищення виділення CO_2 .

У процесі обміну речовин, в організмі людини і тварини щодобово утворюється велика кількість кислих продуктів. Збереження сталості кислотності середовища організму забезпечується, перш за все, наявністю буферних систем.

Вибір буферних розчинів визначається необхідним діапазоном рН, який залежить від констант дисоціації кислоти (основи) та співвідношення компонентів буферної системи. У організмі для підтримання сталості рН, перш за все крові, на гідрокарбонатний буфер припадає близько 7%, фосфатний – 1%, гемоглобіновий і оксигемоглобінів – 81%, білковий – 10% і на кислотний близько 1%. **Гідрокарбонатна буферна система** характеризується рівновагою молекул слабкої карбонатної кислоти і сіллю цієї ж кислоти. При окисненні в організмі вуглеводів, білків, жирів утворюються вихідні продукти для утворення карбонатної кислоти – це вуглекислий газ та вода. Карбонатна кислота, реагуючи з основою утворює кислі солі – гідрокарбонати $-\text{NaHCO}_3$ (плазма крові) та KHCO_3 (еритроцити). Таким чином, буферна система утворюється з карбонатної кислоти та її солей. Гідрокарбонатна система – найсильніший буфер плазми крові і позаклітинної рідини. Значення рН плазми залежить від співвідношення компонентів буферної системи, яке для:

pH = 7,4 становить: $\text{HCO}_3^- / \text{H}_2\text{CO}_3 = 20 / 1$.

Функція гідрокарбонатної буферної системи спрямована на нейтралізацію кислих і лужних продуктів. У системі, якщо до неї надходять кислі продукти (наприклад HCl), відбуваються такі процеси:



Таким чином, надлишкова концентрація Гідроген-йонів нейтралізується завдяки їх взаємодії з гідрокарбонатними йонами. Надлишок карбонатної кислоти гідролізується карбоангідразом: $\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$. При надходженні лужних продуктів у реакцію вступає кисла частина буферної системи:



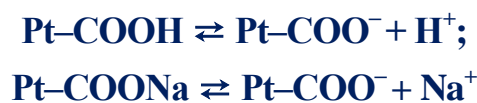
У цьому випадку сильна основа замінюється йоном гідрокарбонату, надлишок якого виводиться нирками.

При pH = 7,4 співвідношення компонентів фосфатного буфера



Фосфатна буферна система функціонує так само, як гідрокарбонатна, і є найсильнішим внутрішньоклітинним буфером. Ця система складається з гідроген- і дигідрогенфосфатів натрію або калію – NaH_2PO_4 і Na_2HPO_4 .

Білковий буфер – це система із протеїну (Pt) і його солі. Компоненти цього буфера можуть бути виражені як Pt–COOH – слабкодисоційована білок-кислота і її сіль Pt–COONa:



При збільшенні концентрації йонів Гідрогену сіль білка буде реагувати з кислотами, утворюючи слабкодисоційовану білок-кислоту. При взаємодії з лугами у реакцію вступає білок-кислота і замість сильної основи утворюється слабколужна сіль. Отже, білковий буфер діє аналогічно буферним системам, які розглянуті раніше. Однак, білки володіють також амфотерними властивостями, оскільки до складу їх молекул входять кислотні і основні групи. Тому навіть окрема білкова молекула виявляє буферну дію.

Найпотужнішою буферною системою крові є **гемоглобінова і оксигемоглобінова**. Буферні властивості гемоглобіну за механізмом дії ідентичні білковим буферним системам. Крім того, система оксигемоглобін-гемоглобін бере участь ще в одному механізмі підтримання сталості (гомеостазу) pH крові. Як відомо, венозна

кров містить велику кількість карбонатної кислоти. Через легені вона видаляється у повітря; однак зміщення рН крові у лужний бік не відбувається, так як утворений оксигемоглобін є сильнішою кислотою, ніж гемоглобін.

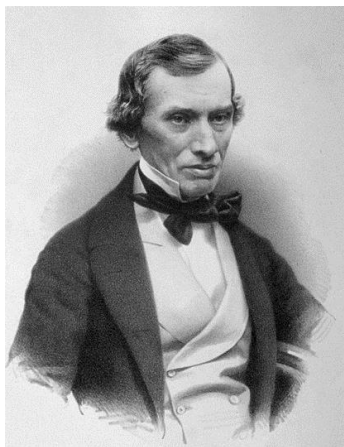
У артеріальній крові під дією низького парціального тиску Оксигену оксигемоглобін дисоціює і Оксиген дифундує у тканини. Утворений гемоглобін, однак, не обумовлює зміни рН крові у лужний бік, тому що у кров із тканин надходить карбонатна кислота.

Буферні суміші широко застосовують у різних умовах експерименту, а саме при дослідженні механізму дії ферментів; у мікробіології та біотехнології – для вирощування окремих культур мікроорганізмів, при виготовленні імунних сироваток, для підтримання сталої концентрації йонів Гідрогену.

ТЕМА 4 . ЕЛЕКТРОКІНЕТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КОЛОЇДІВ

4.1 Класифікація дисперсних систем

В 1861р. англійський хімік Томас Грем (1805 - 1869), один із засновників і перший президент Лондонського хімічного товариства опублікував роботу, у якій зробив спробу класифікації речовин за здатністю їхніх розчинів кристалізуватися і дифундувати через напівпроникні мембрани.



Томас Грем
(1805 – 1869)

Усі речовини були розділені на два класи: кристаллоїди (швидко дифундують і здатні до кристалізації) і колоїди (не дифундують і не кристалізуються). Відповідно до уявлень Грема колоїди, на відміну від кристаллоїдів, не дають істинних розчинів, мають підвищену в'язкість, не стійкі у часі і в більшості за своїм фізичним станом нагадують клеї (клей за грецькою – “colla”). До них він відніс такі природні речовини як оксиди алюмінію, заліза, цинку, білки, танини, декстрини, крохмаль, агар-агар, казеїн і ін.

Однак, вже до кінця XIX століття були сформульовані уявлення про колоїди не як про особливий клас речовин, а як про *стан*, властивий багатьом речовинам. У такий спосіб термін “колоїд” означає *особливий стан речовини*, у якому можуть знаходитися практично усі відомі тіла. Цей стан характеризується високим ступенем роздробленості (дисперсності) речовини, розвиненою питомою поверхнею з властивими їй численними поверхневими явищами. У зв'язку з цим більш сучасним найменуванням дисципліни є не *«Колоїдна хімія»*, а *«Поверхневі явища і дисперсні системи»*. Тобто *колоїдна хімія – наука про поверхневі явища і фізико-хімічні властивості дисперсних систем – це наука про реальні системи, які існують в оточуючому нас просторі*. «Колоїдна хімія» стала родоначальницею нових дисциплін: *«нанохімії»* і *«супрамолекулярної хімії»*.

До поверхневих явищ відносяться процеси, що відбуваються на межі поділу фаз і виникають у результаті взаємодії спряжених фаз, а саме: *адгезія, змочування,*

адсорбція, капілярні явища, утворення подвійного електричного шару. Особливе значення поверхневі явища мають для систем, у яких хоча б один компонент знаходиться у дисперсному (роздробленому) стані, тобто для гетерогенних дисперсних систем.

До **гетерогенних дисперсних систем** можна віднести: сипучі і пористі тіла, нафту, полімери, будівельні матеріали, ґрунти, сплави, волокна, біологічні тканини (людина – ходячий колоїд: тіло людини містить гелі і розчини високомолекулярних сполук, а кров складається із золь, макромолекул і крапель емульсій), мийні засоби, продукти харчування, ліки, фарби, папір, косметика, хмари, пил, тумани і т.д. Якщо в макроскопічному тілі кількість молекул, що лежать на поверхні, складає дуже малу частку від їх загального числа, то в міру диспергування ця частка зростає і при незмінному хімічному складі й агрегатному стані тіла, що подрібнюється, різко зростає площа поверхні.

Цей факт цілком зрозумілий, оскільки у високодисперсних системах сумарна площа поверхні поділу фаз (S_{Σ}), яка обумовлена ступенем роздробленості речовини, може досягати величезних розмірів.

Зі збільшенням ступеня дроблення збільшується сумарна поверхня поділу (S_{Σ}), а значить фізико-хімічні властивості змінюються сильніше. У речовин можуть з'являтися нові не характерні властивості: так, борошно, текстиль, вугілля в пилоподібному стані можуть спричинити вибух. Ступінь дисперсності часток називається ступенем дисперсності. Середовище, в якому знаходиться роздроблена речовина – **дисперсійне середовище**, а роздроблена речовина у вигляді часток різних розмірів – **дисперсна фаза**.

Дисперсні системи класифікують:

- за розміром часток;
- за агрегатним станом дисперсійної фази і дисперсійного середовища;
- за характером і інтенсивністю взаємодії частин дисперсійного середовища і дисперсійної фази.

За розмірами часток дисперсійної фази дисперсні системи поділяють на три види:

1. **Істинні розчини** – це гомогенні однофазні дисперсні системи з розміром часток дисперсійної фази від 10^{-8} см до 10^{-7} см. Розчинена речовина знаходиться у вигляді молекул або йонів, наприклад: розчини цукру, спирту, сечовини у воді, розчини електролітів та ін.

2. **Колоїдні системи** – високодисперсні системи з розміром часток від 10^{-7} см до 10^{-5} см, з добре розвиненою поверхнею розділу фаз. Їх частки не осідають під дією сили тяжіння, проходять через паперові фільтри, але затримуються рослинними або тваринними мембранами (пергаментом, перетинкою з бичачого міхура).

3. **Грубі дисперсії** – це системи з розміром часточок більше 10^{-5} см. До них відносять суспензії і емульсії, наприклад емульсія жиру у воді.

Процес збільшення часток колоїдної системи за рахунок злиття називається **коагуляцією**. Зсідання великих часток під дією сили тяжіння називається **седиментацією**. Коагуляція в колоїдних системах виникає внаслідок пору-

шення агрегативної стійкості під впливом різних факторів: введення електролітів, неелектролітів, кип'ятіння, заморожування, тривалого перемішування, дії сонячного світла та ін.

Перешкодою агрегативної нестійкості колоїдних систем служать захисні стабілізуючі шари на поверхні частин дисперсної фази, які виникають в результаті адсорбції.

Колоїдні системи за інтенсивністю взаємодії дисперсної фази з середовищем поділяються на дві групи:

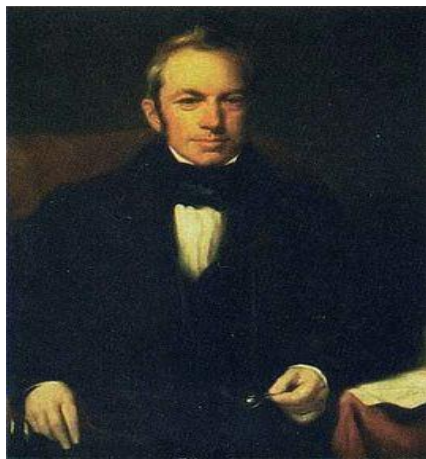
– **ліофобні** – характеризуються слабкою взаємодією частин дисперсійної фази з частинами дисперсійного середовища;

– **ліофільні** – характеризуються сильною взаємодією частин дисперсійної фази з частинами дисперсійного середовища.

Колоїдні системи (розчини) з твердою дисперсною фазою називаються золями, з рідкою – емульсіями; дисперсні системи з газоподібною дисперсною фазою називається аерозолями.

4.2 Молекулярно-кінетичні властивості колоїдних систем

Колоїдні розчини відрізняються рядом властивостей як від істинних розчинів, так і від грубодисперсних систем. І перш за все за молекулярно-кінетичними властивостями, які залежать від величини, форми та інтенсивності руху колоїдних часток. Цей хаотичний рух часток одержав назву **броунівського руху**.



Роберт Броун
(1773 - 1858)

частка, то вона зазнає впливу з боку молекул середовища. Частки набувають хаотичного руху, змінюючи напрям і величину швидкості приблизно 10^{14} разів на секунду. Зі збільшенням розмірів і маси часток

Численними дослідженнями встановлено, що броунівський рух залежить від температури, в'язкості дисперсного середовища і розмірів часток. Згідно з теорією броунівського руху будь-яка рідина чи газ складається з молекул, які перебувають у русі. Якщо у таке середовище потрапляє



Рис.4.1 Броунівський рух молекул

ймовірність взаємної компенсації ударів зростає, внаслідок цього частки розміром 4-5мк здійснюють лише невеликий коливальний рух біля якогось центра рівноваги.

У 1827 році ботанік із Великої Британії Роберт Броун, вивчаючи під мікроскопом квітковий пилок у краплі води, виявив, що частки пилку безперервно і безладно переміщуються.

При діаметрі часток більше 5 мкм броунівський рух практично припиняється. Вчення про броунівський рух показало, що колоїдні розчини можна розглядати як істинні розчини, у яких розчинена речовина міститься у вигляді часток, що володіють властивостями броунівського руху.

Наприкінці XIX століття Гуї і Експер своїми дослідженнями пояснили, що ці рухи мають безпосередній зв'язок із тепловим рухом молекул; було доведено, що дане явище має молекулярно - кінетичну природу.

Експер спробував кількісно описати ці рухи, використовуючи рівняння кінетичної енергії часток:

$$E = \frac{m\bar{v}^2}{2} = \frac{3}{2}kT, \text{ де } k - \text{const Больцмана} \quad (4.1),$$

Однак, обчислення давали значення переміщень у 1000 разів більше (4000 мкм/с замість 4 мкм/с), ніж експериментальні.

Теоретично обґрунтували броунівський рух Ейнштейн (1905 р.) і Смолуховський (1906 р.).

Бойль – на тютюновому димі, використовуючи закон Ейнштейна-Смолуховського, визначив заряд часток аерозоля, Міллікен – використав систему масляного туману, експериментально точно визначив заряд «е».

Отже, справедливість закону Ейнштейна - Смолуховського для колоїдних систем надало підґрунтя до фундаментальних висновків про застосування до істинних колоїдних систем законів молекулярно-кінетичної теорії, тобто колоїдні системи мають властивості гетерогенно-дисперсних систем і істинних розчинів.

Седиментація (від лат. sedimentum – осідання) – осідання часток дисперсної фази в рідині чи газі під впливом гравітаційного поля або відцентрових сил. У колоїдних розчинах седиментація настає лише при збільшенні часток у результаті перекристалізації або їх коагуляції.

Частки дисперсної фази, що знаходяться в газоподібному стані або рідкому дисперсному середовищі, зазнають дії двох взаємопротилежних сил: сили тяжіння намагаються сконцентрувати частки у нижніх шарах і сили дифузії намагаються перемістити дисперсну фазу аерозолів, колоїдних розчинів із зон більших концентрацій в зони менших концентрацій.

Здатність дисперсної системи зберігати рівномірний розподіл часток по всьому об'єму називається **седиментаційною** або **кінетичною стійкістю**. Високодисперсні системи (істинні розчини) володіють значною кінетичною стійкістю і, навпаки, грубодисперсні системи є кінетично нестійкі, оскільки їх частинки практично не можуть здійснювати тепловий рух. Колоїдні розчини займають між ними проміжне положення.

Швидкість седиментації розраховують за рівнянням:

$$v = \frac{218r^2(d_1 - d_2)}{\eta}, \quad (4.2)$$

де: $218 \approx 2/9 g$; g – прискорення сили тяжіння; v – швидкість осідання, см/сек; r – радіус частинок; η – в'язкість; d_1 – густина диспергованої речовини; d_2 – густина розчинника.

Седиментацію і седиментаційний аналіз досить часто застосовують у біотехнології, ветеринарній клінічній практиці і при виконанні наукових робіт.

Так, ефективність багатьох ліків (паст, порошків і завесів) залежить від ступеня дисперсності. Якісна одиниця функціонального стану еритроцитів (РОЕ) дозволяє лікарю зробити висновки про стан захисних сил організму людини чи тварини.

Ультрацентрифугування



Рис. 4.2 *Препаративна ультрацентрифуга*

Розрізняють аналітичні і препаративні ультрацентрифуги (*рис. 4.2*). Аналітичні ультрацентрифуги мають оптичну систему, яка дозволяє реєструвати результати ультрацентрифугування. В аналітичних центрифугах проводиться визначення констант седиментації часток, наприклад рибосом, яка виражається у одиницях Сведбергах $S = 1 \cdot 10^3$ см/сек·дін), що дозволяє обчислювати їх відносні молекулярні маси. Препаративне центрифугування застосовується для виділення біологічного матеріалу, наприклад *посівів мікробних кліток, рослинних і тваринних кліток з культур тканини і плазми крові*. Метод застосовується в основному для виділення окремих фракцій біологічних

макромолекул таких як ДНК та білків.

Фракції можуть бути однорідні тільки за одним показником – за швидкістю седиментації, а за іншими властивостями можуть значно різнитися. Наприклад, γ -глобуліни крові при центрифугуванні розділяються на дві фракції з константами седиментації 7S і 19S. Білки ж, які утворюють ці фракції, різняться між собою рядом властивостей (імунологічним, електрофоретичним і т. п.). За допомогою імунохімічних методів аналізу кожен із цих фракцій можна розділити на нові фракції. Так, виявилось, що до 7S-глобулінів належать γ A- і γ G-глобуліни. Ці фракції у свою чергу складаються із семи білків, які мають деякі фізико-хімічні відмінності. Сучасні ультрацентрифуги розвивають швидкість понад 60 000 об/хв. Потужність таких центрифуг характеризується величиною g , яка показує, у скільки разів перевищує прискорення сил тяжіння, наприклад, 140 000 g , 150000 g і т. д.

Метод широко застосовується для визначення молекулярних мас білків за константою седиментації (S), яка залежить від маси і форми білкових часток:

$$S = v/(\omega^2 \times r) , \quad (4.3)$$

де v —швидкість переміщення межі розчинник-білок, см/с; ω —кутова швидкість ротора, рад/с; r —відстань від центру ротора до середини чарунки з розчином білка, см. Величина $S=1 \times 10^{-13}$ с прийнята за одиницю і названа сведбергом (S) на честь Т.Сведберга. Величина молекулярної маси M обчислюється за рівнянням Сведберга:

$$M = \frac{R \times S \times T}{D \times (1 - \bar{v} \times \rho)} , \quad (4.4)$$

де R —універсальна газова стала, Дж/(моль×К); T —абсолютна температура, S – константа седиментації; ρ —густина розчинника; \bar{v} —парціальний питомий об'єм молекули білка; D —коефіцієнт дифузії. **Ультрацентрифугування** базується на різній швидкості седиментації (осадження) білкових молекул у розчині хімічно інертної речовини (сахарози або хлориду цезію). Для покращення роздільної здатності ультрацентрифуги використовують розчин із різним градієнтом густини, тобто концентрація розчину, а отже і його густина збільшуються у напрямку від поверхні до дна центрифугувальної пробірки.

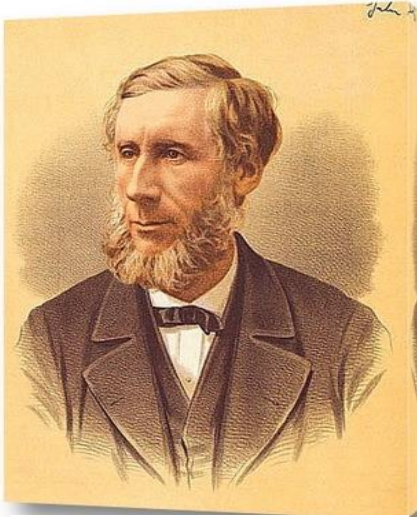
4.3 Оптичні властивості колоїдних систем

На Ньютона впало яблуко, китайці милувалися краплями на квітках лотоса, а Джон Тіндаль, напевно, гуляючи лісом, помітив конус світла. Можливо. Але саме в честь останнього героя названо один з найпрекрасніших ефектів нашого світу – **«ефект Тіндаля»**. Заломлення світла, відображення, дисперсія, інтерференція, дифракція і багато що іншого: оптичні ефекти оточують нас всюди.

Один з них - ефект Тіндаля, відкритий англійським фізиком Джоном Тіндалем. Джон Тіндаль - геодезист, співробітник Фарадея, директор Королівського інституту в Лондоні, оптик, акустик і фахівець з магнетизму.

Ефект Тіндаля - це світіння оптично неоднорідного середовища внаслідок розсіювання світла, що проходить через неї. Оптичний ефект, що виникає при цьому, спостерігається у вигляді конуса, що світиться, видимого на темному фоні - це може бути пил або дим, дрібні краплі туману, які утворюються колоїдними частинками.

Подібний ефект можна спостерігати в аерозолях - сонячні промені, що розходяться конусом від хмар, крон дерев у лісі. У темному приміщенні, при боковому спостереженні, проходження світлового променя крізь скляну посудину з колоїдним розчином Тіндаль виявив світловий конус, який виникав внаслідок розсіювання світла колоїдними частками.



Джон Тіндаль
1820-1893)

жливо визначати концентрацію колоїдних часток в розчині. Цей метод отримав назву нефелометрії.

Оптичні властивості колоїдних систем зумовлюються їх **дисперсністю, гетерогенністю, розсіюванням світла**. У грубодисперсних системах розмір часток перевищує довжину хвилі видимої частини спектра. Це зумовлює відбиття світла від поверхні часток. У золях колоїдних розчинів розмір часток співмірний із довжиною хвилі видимого світла.

За відсутності хмарності або задимлення небо забарвлюється у синьо-блакитний колір завдяки розсіюванню «денного світла» на молекули повітря. Такий тип розсіювання називається **розсіюванням Релея**. Прикладами таких об'єктів можуть бути частки пилу, молекули азоту (N_2), і кисню (O_2).

У результаті розсіювання світла за всіма напрямками інтенсивність світла в напрямку поширення зменшується швидше, ніж у випадку одного лише поглинання. Ось чому небо здається нам синім - сонячне світло розсіюється у всьому спектральному діапазоні, проте в синій частині спектра майже на порядок інтенсивніше, ніж в червоній.

4.4 Електрокінетичні явища

Електрокінетичні явища ґрунтуються на взаємозв'язку між електричними і кінетичними властивостями дисперсних систем.

Електрокінетичні явища у колоїдних розчинах були відкриті Ф. Рейсом (1808) при дослідженні електролізу води. Вивчаючи причини підвищення рівня води в циліндрі з негативно зарядженим електродом, Ф.Рейс провів такий дослід: перегородив нижню частину U-подібної трубки діафрагмою з кварцового піску і заповнив

Подібний ефект можна спостерігати в аерозолях - сонячні промені, що розходяться конусом від хмар, крон дерев у лісі. У темному приміщенні, при боковому спостереженні, проходження світлового променя крізь скляну посудину з колоїдним розчином Тіндаль виявив світловий конус, який виникав внаслідок розсіювання світла колоїдними частками. Це явище одержало назву **конуса Тіндаля**, за яким легко відрізнити колоїдні розчини від істинних розчинів (рис. 4.3). За здатністю розсіювати світло мо-



Рис. 4.3 Ефект Тіндаля

трубку водою. Під дією зовнішнього електричного поля рідина переміщувалася до негативно зарядженого електрода.

Теоретичні основи електрофорезу та основні його види

Електрофорез заснований на фізичному явищі, при якому молекули, які несуть різний заряд, рухаються під дією електричного поля з різною швидкістю, у резуль-



Арне Тізеліус
(1902 - 1971)

таті чого відбувається їх розділення з вихідної суміші. Уперше цей підхід був застосований шведським біохіміком *Арне Тізеліусом* у 1930-х роках для розділення білків сироватки крові. З тих пір електрофорез є основним методом ідентифікації білків і НК (а також їх фрагментів) і навіть кліток, залишаючись одним із найбільш чутливих методів та широко використовується у медицині. Існують багато його видів: ***вільний електрофорез, електрофорез на папері, на агаровому гелі, поліакриламідному гелі*** та інші.

Під електрофорезом розуміють рух зарядженої частки у розчині під впливом електричного поля в седиментаційно стійких дисперсних системах. Сила, яка викликає рух сферичної частки в однорідному електричному полі за відсутності солей (F_{ef} – електрофоретична сила), в умовах рівноваги дорівнює опору тертя, яке ця частка повинна подолати у рідині, тобто:

$$F_{ef} = q \cdot E = 6\pi\eta r v \quad (4.5)$$

де q – ефективний заряд частки, E – напруженість електричного, η – динамічна в'язкість середовища, r – радіус частки, v – лінійна швидкість міграції частки. При електростатичній взаємодії частки із солями буфера швидкість її руху зменшується на деяку величину, яку можна розрахувати, якщо відомо значення електрокінетичного потенціалу, густина електричного подвійного шару, що оточує частку та її заряд.

Біомолекули мають сумарний позитивний або негативний заряд, обумовлений наявністю на їх поверхні позитивно або негативно заряджених амінокислот. Якщо білкові молекули помістити в електричне поле, вони починають переміщатися зі швидкістю, яка визначається їх сумарним зарядом, а також формою та розмірами молекули. Нерухома фаза - пластинка виготовлена з поліакриламідного гелю, ацетатцеллюлози, агару та ін.

Протягом електрофорезу на заряджені біомолекули діють декілька сил. Основна – електричний потенціал, або напруга поля, що визначає величину заряду поміщеної в поле частки і спонукає до руху негативно заряджені частки (аніони) до позитивно зарядженого електроду (аноду), а позитивно заряджені катіони – до негативного катоду.

Великим досягненням став електрофорез у гелях, що являють собою сітчасті структури і є молекулярними ситами. Так класичним прикладом гелі-електрофорезу є ***електрофорез білків в поліакриламідному гелі*** - спосіб розділення суміші білків на фракції індивідуальних білків залежно від їх розміру, форми, моле-

кулярної маси та заряду. Великі молекули затримуються при проходженні через пори гелю і після проведення електрофорезу знаходяться ближче до старту (рис. 4.4), Верхню частину гелю формують у вигляді "гребінки" - лунок, куди вносять зразки білків. Гелева пластинка стикається з електродами - верхня частина з катодом, нижня з анодом.

Розміри пор гелю підбирають відповідно до молекулярної маси молекул, що поділяються. Електрофорез проводиться в поліакриламідному гелі в присутності додецилсульфату натрію (детергент, що має негативний заряд). Зв'язуючись із гідрофобними ділянками білкової молекули, детергент викликає їх розгортання у довгі витягнуті ланцюги.

Кожна молекула білку зв'язує велику кількість молекул детергенту і здобуває сумарний негативний заряд. В процесі електрофорезу досліджувана суміш білкових компонентів поступово розділяється на окремі смуги, відповідно до молекулярної маси та заряду молекул кожного компонента.

Після закінчення електрофоретичного розділення пластинку гелю виймають з камери і забарвлюють спеціальними барвниками (бромфеноловим синім, амідочорним, кислотним синім, брильянтовим блакитним та ін.), які забарвлюють тільки білки.

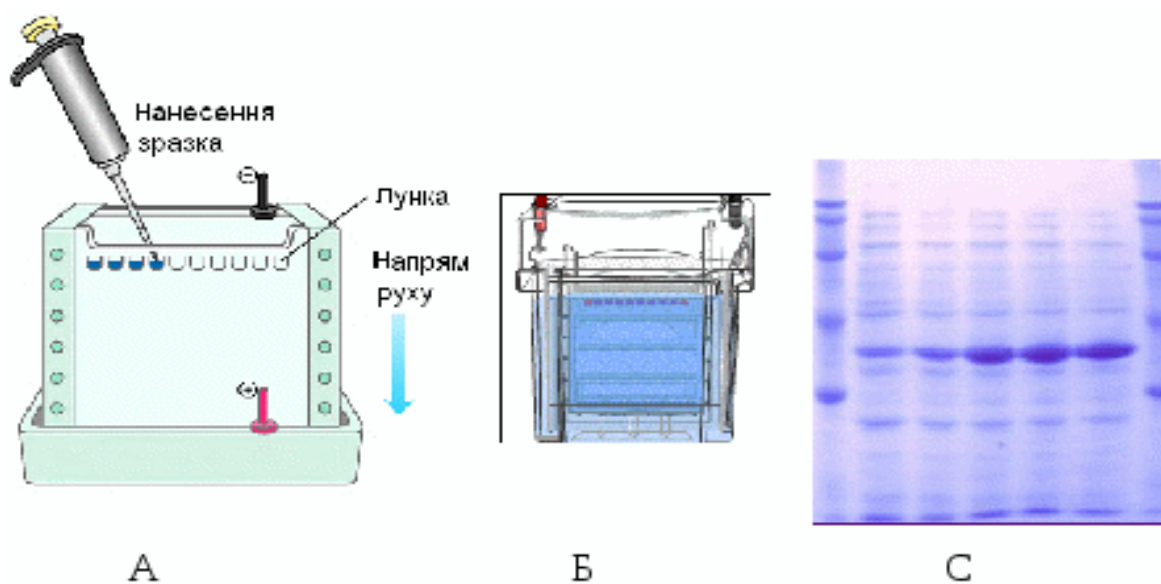


Рис. 4.4 *Схема розділення білків методом гелі-електрофорезу:*
A – нанесення зразків у гелі; **Б** – камера для електрофорезу; **В** – електрофорезграма білків

Метод гелі-електрофорезу має високу роздільну здатність. Якщо при електрофорезі білків сироватки крові людини на папері можна розділити всього 6 фракцій, то при електрофорезі в крохмальному гелі – 10, а в поліакриламідному гелі – до 18 різних білкових фракцій. В останні роки стали застосовувати методи електрофорезу білків із градієнтом концентрації гелю, що значно підвищує роздільну здатність, особливо при фракціонуванні білків з високою молекулярною масою, що перевищує 50000 - 100000 дальтон.

Електрофорез в *агаровому гелі* став головним методом в аналізі структури ДНК та РНК і використовується при проведенні полімеразної ланцюгової реакції, за якою можна виявляти віруси, генетичні мутації, встановлювати батьківство.

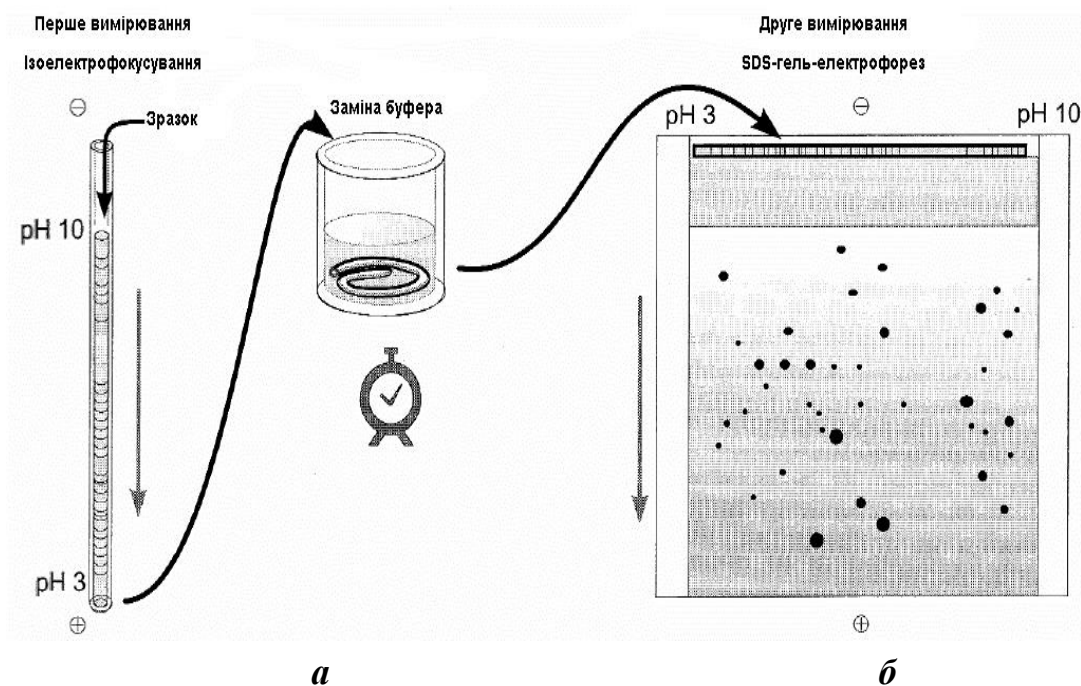


Рис.4.5—Схема двовимірного електрофорезу в ПААГ
а—схема ізоелектричного фокусування; б—схема гель-електрофорезу

Окремим різновидом електрофорезу є *2D-електрофорез*, першим етапом якого є ізоелектрофокусування вихідного зразку (наприклад, за градієнтом рН, приклад якого наведено на [\(рис.4.5а\)](#).

Це один із найефективніших і найпоширеніших методів фракціонування та очищення білків. Цей метод дозволяє розділити білки, що відрізняються за ізоелектричною точкою лише на 0,01. Суміш білків, яку піддають розділенню, вносять у колонку або наносять на пластину, заповнену електропровідною рідиною.

Другим етапом застосування *двовимірного електрофорезу* в ПААГ є спочатку розділення суміші на компоненти в стовпчиках гелю в горизонтальному напрямі, в результаті чого білки розділяються в залежності від величини заряду, а потім розділення проводять в пластинках гелів у вертикальному напрямі [\(рис.4.5б\)](#), під час цього процесу білки розділяються у відповідності до їх молекулярної маси.

Набагато простішим є *електрофорез на папері*. Смужку фільтрувального паперу змочують буферним розчином, на один з кінців смужки наносять суміш білків, а до обох кінців - відповідно катод та анод від джерела постійного струму. Оскільки різні білки мають різний заряд то вони з різною швидкістю рухаються в електричному полі, завдяки чому і відбувається їх розділення.

Електрофоретичний аналіз біологічних рідин використовується у клінічній практиці для діагностики багатьох захворювань. Електрофорез застосовується у фізіотерапії для введення через шкіру чи слизові оболонки ліків хворим (йонфо-

рез). Електрофорез клітин знайшов застосування при оцінці клітинного імунітету в онкологічних хворих; є особливо цінним для гематології та імунології.

4.5 Стійкість і коагуляція колоїдних систем

Під стійкістю дисперсної системи розуміють постійність у часі її стану і основних властивостей: дисперсності, рівномірного розподілу часток дисперсної фази в об'ємі дисперсного середовища і характеру взаємодії між частками.

Питання стійкості дисперсних систем займають центральне місце у колоїдній хімії, тому що основний клас колоїдних систем – ліофобні колоїди – термодинамічно нестабільні, тобто схильні до *коагуляції*.

Коагуляція – це процес злипання (або злиття) часток дисперсної фази при втраті системою агрегативної стійкості. Надання системам стійкості вимагає спеціальних методів стабілізації. Тільки за таких умов можна одержувати і використовувати багато цінних матеріалів, продуктів, лікарських препаратів, аерозольних засобів та ін. Коагуляція в колоїдних системах виникає внаслідок порушення агрегативної стійкості під впливом різних факторів: введення електролітів, неелектролітів, кип'ятіння, заморожування, тривалого перемішування, дії сонячного світла та ін.

За М. Песковим (1920) стійкість дисперсних систем буває *седиментаційна (кінетична) і агрегативна. Седиментаційна стійкість дозволяє системі зберігати рівномірний розподіл часток в об'ємі та процесам їх осідання.* Основними умовами цієї стійкості є висока дисперсність.

Агрегативна стійкість дисперсних систем – це здатність протистояти агрегації часток. У цьому відношенні дисперсні системи поділяють на два класи:

1) *ліофільні або термодинамічно стійкі* колоїди, які самочинно диспергуються та існують без додаткової стабілізації. До них належать розчини високомолекулярних сполук – це розчини білків, нуклеїнових кислот, мил, деяких глин, танінів, алкалоїдів у воді, каучуку у бензені, поліамідів у спирті тощо). При утворенні цих систем вільна енергія Гіббса зменшується ($\Delta G < 0$);

2) *ліофобні або термодинамічно нестійкі* системи вимагають спеціальних методів стабілізації, у яких спорідненість дисперсної фази і дисперсійного середовища мала, а тому сили міжмолекулярної взаємодії на межі поділу фаз слабкі. До них належить більшість дисперсних систем – ліозолі, аерозолі, емульсії, піни. Ліофобні золі (у випадку води – гідрофобні) називають власне колоїдними розчинами, це гідрозолі золота, срібла, ферум гідроксиду, аргентум хлориду тощо. Стійкість таких систем зумовлена, головним чином, однойменним зарядом часток золю. Для них $\Delta G > 0$.

Уявлення про седиментаційну і агрегативну стійкість у даний час доповнює поняття про *конденсаційну* (фазову) стійкість. Йдеться про структуру і міцність агрегатів, які утворюються при коагуляції дисперсної системи. Конденсаційно стійкі системи утворюють нещільні агрегати (флокули) або пухкі осади. У них частки втрачають свою індивідуальну рухливість, але зберігаються протягом тривалого часу. Цьому сприяють прошарки дисперсного середовища між частками дисперсної

фази. Конденсаційно нестійкі системи характеризуються утворенням агрегатів із міцною структурою.

Фактори стійкості дисперсних систем

Фактори агрегативної стійкості дисперсних систем поділяються на термодинамічні та кінетичні.

До термодинамічних факторів належать такі:

1) **електростатичні** – сприяють створенню електростатичних сил відштовхування, які зростають при збільшенні потенціалу поверхні часток (φ) і особливо електрокінетичного (ξ) потенціалу;

2) **адсорбційно-сольватний** – зумовлює зменшення міжфазового натягу і зниження енергії Гіббса поверхні поділу;

3) **ентропійний** – є додатковим до двох перших факторів і діє у високодисперсних системах, частки дисперсної фази яких беруть участь у броунівському русі; сприяють рівномірному розподілу часток в усьому об'ємі системи.

До кінетичних факторів стійкості належать:

1) **структурно-механічний** – зв'язаний з утворенням на поверхні часток захисних шарів (плівок), які володіють пружністю і механічною міцністю та стійкістю до руйнування;

2) **гідродинамічний** – знижує швидкість агрегації внаслідок зміни в'язкості середовища, густини дисперсної фази і дисперсного середовища.

Теорії стійкості і коагуляції

На поверхні ядер колоїдних частинок утворюється подвійний (адсорбційний і дифузний) електричний шар. Адсорбційний шар містить у собі потенціалутворюючі йони і частину протийонів, решта протийонів становить дифузний шар. Коли рідина рухається відносно твердої поверхні, на межі адсорбційної і дифузної частин подвійного шару виникає різниця потенціалів, яку називають **електролітичним потенціалом** або **дзета-потенціалом** (ζ); величина якого залежить від товщини дифузної частини подвійного шару. Чим товщий дифузний шар, тим більший електрокінетичний потенціал, тим більші сили електростатичного відштовхування, що діють між колоїдними частками, тим вища стійкість колоїдної системи.

За певних умов електрокінетичний потенціал дорівнює нулю – колоїдна система перебуває в ізоелектричному стані. При цьому дифузний шар зникає, що сприяє зближенню колоїдних часток до такої відстані, коли сили міжмолекулярного зчеплення стають більшими за електростатичне відштовхування і частки починають злипатися в більші агрегати, тобто колоїдна система стає агрегативно нестійкою. Варто мати на увазі, що коагуляція настає не в ізоелектричному стані, а дещо раніше.

Всі теорії коагуляції гідрофобних колоїдів в основному можна розділити на **адсорбційні та електростатичні**. Адсорбційна теорія коагуляції базується на тому, що при коагуляції золів йони-коагулятори адсорбуються колоїдними частками відповідно до ізотерми адсорбції. При цьому коагуляція настає при однаковому зниженні ξ -потенціалу, але досягається при адсорбції еквівалентних кількостей різних йонів. Ця теорія пояснила зниження ξ -потенціалу до критичного значення зме-

ншенням числа зарядів потенціалоутворюючих йонів внаслідок нейтралізації їх адсорбованими йонами-коагуляторами.

Електростатична теорія базувалася на тому, що введення електроліту у золь не змінює загального заряду у подвійному шарі частки, а викликає стискання дифузного шару. Зменшення товщини йонної атмосфери призводить до зниження ξ -потенціалу, яке можна вирахувати на основі теорії сильних електролітів Дебая-Хюккеля. Внаслідок зниження ξ -потенціалу зменшується стабільність золю.

Згідно сучасної теорії, між частками при їх зближенні виникає розклинювальний тиск, який розділяє рідкий прошарок у результаті дії сил притягання і відштовхування. Перевага енергії відштовхування призводить до стійкості системи, а перевага енергії притягання викликає порушення агрегативної стійкості, тобто **коагуляцію**.

При коагуляції змінюються фізико-хімічні властивості систем: з'являється каламутність, знижується осмотичний тиск, змінюються електропровідність і характер в'язкості. Фактором, що викликає коагуляцію, може бути будь-який агент, який порушує агрегативну стійкість системи, наприклад, температурні зміни (сильне нагрівання або охолодження аж до заморожування), механічні втручання (перемішування, перекачування, інтенсивне струшування), дія світла й інших випромінювань, електричні розряди.

Однак, найвагомим фактором є дія електролітів. Введення їх у золь дуже швидко призводить до зміни товщини подвійного електричного шару і ξ -потенціалу, який є одним з головних факторів стійкості гідрофобних колоїдних систем. Коагуляція відбувається при певній кількості доданого електроліту. Мінімальну молярну концентрацію еквівалента електроліту (в моль/л або ммоль/л), яка викликає за певний проміжок часу коагуляцію колоїдного розчину, називають **порогом коагуляції** – c_k . Значення c_k є порівняльним критерієм агрегативної стійкості дисперсних систем. Величина c_k визначається зарядом йона – коагулятора. Знак заряду йона-коагулятора протилежний знаку заряду гранули.

Величину, обернену порогу коагуляції, називають **коагулюючою здатністю** і позначають: $V_k \left(V_k = \frac{1}{c_k} \right)$. Коагулюючу здатність V_k йона-коагулятора показує об'єм золю, скоагульованого 1 молем (або ммолем) йона-коагулятора.

Спостереження Г.Шульце (1882) показали, що коагулюючою здатністю володіє один із йонів електроліту (йон-коагулятор). Причому, коагулююча здатність йона-коагулятора зростає зі збільшенням його заряду (правило Шульце).

Заряд коагулюючого йона завжди протилежний заряду колоїдної частки (**правило Гарді**). Таким чином, коагуляцію від'ємно зарядженого золю викликають катіони доданого електроліту. Закономірність, відкрита Шульце і Гарді, як **правило Шульце-Гарді: коагулюючою дією володіє той йон електроліту, який має заряд, протилежний заряду гранули; коагулююча дія тим сильніша, чим вищий заряд йона-коагулятора (правило значності)**. Згідно з правилом Шульце-Гарді, поріг коагуляції йона-коагулятора c_k зменшується зі збільшенням його заряду.

4.6 Діаліз. Компенсаційний діаліз і вивідіаліз

У багатьох методах виділення та очистки біополімерів використовуються у значних кількостях різні допоміжні низькомолекулярні речовини - органічні речовини, солі, кислоти, вони й забезпечують потрібне значення іонної сили та рН. Перед останньою стадією виділення очищеного біополімера наступною стадією фракціонування є видалення допоміжних речовин. Для цієї мети широко використовується процедура, що називається **діалізом**, в основі якого лежить застосування мембран, що проникливі для води і низькомолекулярних речовин і непроникливі для високомолекулярних речовин.

Прилади, які використовуються для діалізу, називаються **діалізаторами**. В основі будови і дії діалізаторів є посудина, заповнена проточною водою. У посудину на певну глибину занурюють другу посудину, дно якої виготовлене з мембрани. За допомогою діалізу поступово відбувається видалення речовин, які легко проникають крізь мембрану, наприклад, електролітів та інших кристалоїдів.

Таке очищення колоїдних розчинів відбувається дуже повільно, і тому для прискорення цього процесу запропоновано використовувати електричний струм. Прискорений процес діалізу – **електродіаліз**. Прилад для електродіалізу є посудина, розділена двома мембранами М на три частини (рис. 4.6). У середню частину А

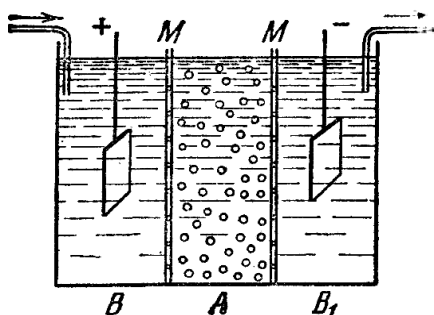


Рис. 4.6 Схема електродіалізатора

вносять колоїдний розчин, а зовнішні В і С, у яких вмонтовані електроди, заповнюють розчинником – проточною водою. При пропусканні електричного струму відбувається напрямлений рух катіонів і аніонів до відповідних електродів.

Катіони і аніони проникають через мембрану, а колоїдні частинки – ні. Таким чином вміст йонів у колоїдному розчині постійно зменшується, тобто відбувається очищення колоїдного розчину.

Електродіаліз використовується у медицині і ветеринарії для очищення біопрепаратів, білкових речовин, гормонів, антибіотиків та ін. За допомогою електродіалізу хворому через шкіру вводять деякі лікарські речовини (**йонофорез**).

Компенсаційний діаліз і вивідіаліз

Міхаелісом і Роном для дослідження біологічних рідин запропонований метод, що дозволяє визначити концентрацію деяких низькомолекулярних сполук, що перебувають у вільному стані в колоїдних розчинах. Суть компенсаційного діалізу полягає у тому, що рідина в діалізаторі омивається не чистим розчинником, а розчинами речовини, що досліджується з різними концентраціями. Так, наприклад, незв'язаний із білками цукор сироватки крові визначається шляхом діалізу сироватки проти ізотонічного сольового розчину, у який вносять різну кількість цукру.

Концентрація цукру у сольовому розчині при діалізі не буде змінюватися лише у тому випадку, коли вона дорівнює концентрації вільного цукру у сироватці. Цей метод дає змогу визначити істинні концентрації речовин у колоїдних розчинах.

Приблизно на цьому ж принципі розроблений метод *вівідіалізу* (vivus – життя), який виконується у живому організмі тварин і людей.

У кінці перерізаної кровоносної судини вмонтовують скляні канюлі, розгалужені частини яких сполучаються між собою колодієвими трубками і вся система занурюється у посудину з фізіологічним розчином NaCl або водою. Так було виявлено вільні амінокислоти крові.

На принципі компенсаційної вівідифузії сконструйований апарат, що одержав назву *“штучної нирки”*. За допомогою цього пристрою можна видаляти з крові продукти обміну і, отже, тимчасово замінювати функцію нирки. Робота *“штучної нирки”* базується на принципі діалізу речовин через напівпроникну мембрану. В ході діалізу із крові видаляються шкідливі речовини (сульфати, фосфати, сечова кислота, сечовина та ін.). Показанням для використання *“штучної нирки”* є гостра ниркова недостатність, наприклад, при отруєнні сулемою, сульфаніламідними препаратами і т. п.

Метод очищення колоїдного розчину фільтруванням його крізь напівпроникну мембрану, яка пропускає дисперсне середовище разом з низькомолекулярними домішками, але затримує частки дисперсної фази. Для прискорення *ультрафільтрації* цей процес проводять при різниці тисків по обидва боки мембрани. Ультрафільтрація дає змогу швидше відокремити від колоїдного розчину електроліти та інші низькомолекулярні органічні сполуки, ніж це відбувається при діалізі.

Ультрафільтрація широко використовується у промисловості і науково-дослідній роботі, у медицині та ветеринарії (очищення від йонних і нейонних домішок води, білків, нуклеїнових кислот, ферментів, вітамінів та ін.), при аналізі забруднень доквілля промисловими відходами, в мікробіології і вірусології.

Ультрафільтрація може бути поєднана з електродіалізом – *електроультрафільтрація*. В діалізаторі монтується ультрафільтр з електродами. Електроультрафільтрацію застосовують для очищення та розділення білків, а в останні роки - для обробки крові. *Електродекантація* застосовується для підвищення концентрації золю або розчину ВМС. Для цього в середню частину звичайного електродіалізатора вноситься колоїдний розчин і пропускається електричний струм і вода. Заряджені колоїдні частинки рухаються до відповідного електрода, в результаті чого зростає їх концентрація.

Концентрований розчин відводиться і збирається у окремий посуд. Цей спосіб концентрування вперше був використаний для одержання деяких вірусів у чистому вигляді, наприклад, вірусу поліомієліту Поліомієліт - гостре інфекційне захворювання, яке спричиняє поліовірус. Перебіг хвороби супроводжується з ураженням ЦНС, з виникненням парезів і паралічів, іноді може закінчуватися смертю хворого. Поліомієліт невиліковний, але його поширенню можна запобігти шляхом вакцинації, що надає можливість захистити організм людини впродовж усього її життя.

ТЕМА 5. ПОВЕРХНЕВІ ЯВИЩА І АДСОРБЦІЯ

5.1 Поверхневий натяг

Важливою фізико-хімічною властивістю рідини є *поверхневий натяг*. Суть у тому, що поверхневий шар рідини за фізико-хімічними властивостями відрізняється від внутрішніх шарів. Кожна молекула всередині рідини притягує до себе інші навколишні молекули й одночасно з такою ж силою притягується рівномірно з усіх боків молекулами, що оточують її.

При потраплянні молекули рідини на межу фаз некомпенсованість молекулярної взаємодії зростає, що призводить до втягування молекул, розташованих на поверхні, у глибину рідини.

Це зумовлено тим, що інтенсивність взаємодії між молекулами рідини значно вища, ніж взаємодія між молекулами рідини та газу. Внаслідок цього виникає сила, під дією якої поверхня рідини на межі рідина-газ зменшується до мінімальних розмірів, а молекули поверхні наближаються до молекул нижчих поверхневих шарів.

При цьому відстань між молекулами поверхневого шару менша, ніж між молекулами внутрішніх шарів. Молекули, розташовані на поверхні, не повністю реалізують свою здатність до взаємодії і тому мають некомпенсований надлишок енергії, яка має назву *вільної поверхневої енергії* G_s .

Відношення надлишку вільної поверхневої енергії G_s до одиниці площі поділу фаз S називається *поверхневим натягом*:

$$\sigma = \frac{G_s}{S}, \quad (5.1)$$

де: G_s – поверхнева енергія; S – площа поділу фаз; σ – поверхневий натяг.

Поверхневий натяг – це запас поверхневої енергії даної системи. Для чистих рідин поверхневий натяг залежить від природи рідини і температури, а для розчинів – від природи розчинника та від концентрації розчиненої речовини. Розчинені речовини можуть знижувати або підвищувати поверхневий натяг. Ті речовини, що значно знижують поверхневий натяг даної рідини, називають *поверхнево-активними*.



Рис. 5.1 Сталагмометр

Для води поверхнево-активними є спирти, мила, білки, жовчні кислоти, глікозиди. Додавання таких речовин до води покращує спінювання, тобто утворення великої кількості нових поверхневих плівок рідини, що пояснюється зниженням поверхневого натягу.

Речовини, які підвищують поверхневий натяг рідини, називають *поверхнево-неактивними*. Поверхневий натяг води підвищується при розчиненні неорганічних кислот, лугів, деяких солей.

Існує кілька методів визначення поверх-

невого натягу: за відривом краплі, за висотою підняття рідини в капілярі, найбільшого тиску бульбашок. Найчастіше використовується сталагмометричний метод, який базується на застосуванні приладу – *сталагмометра* (рис. 5.1).

Метод ґрунтується на тому, що крапля, яка невого натягу. Крапля відривається у той момент, коли її вага зрівнюється з силою поверхневого натягу, що утримує краплю, або перевищить її на дуже незначну величину.

Для рідини з більшим поверхневим натягом відрив крапель ускладнений, і утворювані краплі будуть більші, ніж у рідин з меншим поверхневим натягом, а тому кількість їх буде менша.

Сталагмометр заповнюють рідиною і рахують число крапель n , що витікають з об'єму V . Потім прилад заповнюють дистильованою водою і рахують число крапель води n_0 , що витікає із цього самого об'єму V . Якщо з об'єму V витікає n крапель рідини, густина якої ρ , то вагу краплі визначають згідно з

$$\text{рівнянням: } p = \frac{V\rho g}{n}, \quad (5.2)$$

де g – прискорення вільного падіння.

Поверхневий натяг виражається в одиницях сили на одиницю довжини (н/м^2), або величиною енергії на одиницю площі (Дж/м^2).

Поверхневий натяг σ є одним із факторів, що визначає форму клітки і її частин. Локальним змінам поверхневого натягу належить важлива роль у процесах сприйняття і передачі нервових імпульсів, у фагоцитозі та проникності клітинних мембран. Величина σ для сироватки крові різних тварин наведена у *табл. 5.1.1*.

Таблиця 5.1.1

Поверхневий натяг сироватки крові при 20 °С (293 К)

<i>Тварини</i>	$\sigma \cdot 10^{-5}$ н/м
Коні	73,5
Худоба	70,2
Вівці	71,7
Собаки	55,5
Кролі	71,5

При дослідженні величин поверхневого натягу у біологічних рідинах слід розрізняти статичний і динамічний поверхневий натяги.

Статичним поверхневим натягом вважають такий натяг, коли поверхневий шар рідини переходить у *рівноважний стан*. У чистих рідинах він досягається протягом тисячних часток секунди, а в колоїдних системах і розчинах високомолекулярних речовин – через декілька годин. Поверхневий натяг, виміряний в умовах до настання рівноважного стану, вважається *динамічним поверхневим натягом*. Величина його у біологічних рідинах органів коливається при різних захворюваннях. Особливо різко вона змінюється (сироватка крові і лімфа) при анафілактичному шоці, гепатитах.

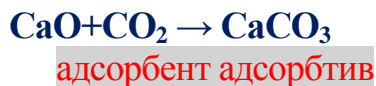
5.2 Явище адсорбції

Вчення про адсорбцію почало інтенсивно розвиватися у кінці XIX і на початку XX століття, хоча вперше адсорбцію газів вугіллям виявив італієць Ф.Фонтана ще у 1777 році, а через 7 років акад. Г.Ловіц використав явище адсорбції вугіллям для очищення розчинів.

У біологічних системах адсорбція — це перша стадія поглинання субмікроскопічними колоїдними структурами, клітинами й тканинами різних речовин із зовнішнього середовища. Функціонування біологічних мембран, взаємодії ферментів із субстратом, захисні реакції проти токсичних речовин, процеси всмоктування тощо пов'язані з адсорбцією. Явище адсорбції використовують для одержання й очищення біологічно активних речовин — вітамінів, ферментів, гормонів, антибіотиків.

Адсорбція (від лат. ad – на, при і sorbeo – поглинаю) – явище накопичення однієї речовини на поверхні іншої. Накопичення ж її всередині іншої речовини називають *абсорбцією*. Речовина, яка адсорбується, називається *адсорбтивом*; речовина, на поверхні якої відбувається адсорбція – *адсорбентом*.

Адсорбція є зворотним процесом. Процес зворотний до адсорбції, називається *десорбцією*. Видалення адсорбованих речовин з адсорбентів за допомогою розчинників називають *елюцією*. Розрізняють молекулярну і йонну адсорбцію, залежно від того, що адсорбується – молекули чи йони речовини. При адсорбції може відбуватися хімічна взаємодія адсорбента з адсорбтивом, наприклад:



Така адсорбція називається *хемосорбцією*.

Процес адсорбції залежить від фізичної і хімічної природи адсорбента й адсорбтива. Так, наприклад, на активованому вугіллі краще адсорбуються ароматичні сполуки, ніж аліфатичні. Часто адсорбція підвищується зі збільшенням числа подвійних зв'язків в адсорбтиві.

На поверхні рідин можуть адсорбуватися частинки речовин, що розчинені у рідинах. Адсорбція супроводжує процес розчинення, впливаючи на розподіл часток розчиненої речовини між поверхневим шаром розчинника і внутрішнім його об'ємом.

Якщо поверхневий натяг зменшується при збільшенні концентрації розчиненої речовини,

то $-\frac{d\sigma}{dc} < 0$, а адсорбція ($\Gamma > 0$) буде мати додатне значення.

Таку адсорбцію називають *позитивною*. Межею її є повне насичення поверхневого шару адсорбованою речовиною. Речовини з позитивною адсорбцією (жири, жирні кислоти, холестерол, кетони, більшість спиртів) називають також *поверхнево-активними речовинами*.

Якщо поверхневий натяг збільшується із зростанням концентрації розчиненої речовини, адсорбція ($\Gamma < 0$) буде мати від'ємне значення. Таку адсорбцію називають **негативною**.

Метою негативної адсорбції є повне витіснення адсорбтиву із поверхневого шару всередину об'єму розчинника. В результаті різниці концентрацій виникає дифузія, яка буде направлена у поверхневий шар.

Речовини, які різко підвищують поверхневий натяг, майже повністю відсутні у поверхневому шарі розведених розчинів. Лише значне збільшення концентрації таких розчинів призводить до переміщення у поверхневий шар помітних кількостей розчиненої речовини, що супроводжується збільшенням поверхневого натягу.

Речовини, що негативно адсорбуються, називаються **поверхнево-інактивними**. До них належать мінеральні солі, вуглеводи та інші сполуки.

Поверхневий натяг сироватки крові різних тварин (*табл. 5.1.1*) значно менший, ніж води завдяки присутності у них поверхнево-активних речовин.

Тому гідрофобні речовини, наприклад, кислоти жирного ряду, стероїди, будуть накопичуватися біля стінок судин, клітинних мембран, що полегшує їх проникність крізь ці мембрани та обмінні процеси. Для адсорбції із водних розчинів велике значення має наявність у молекул речовини полярних (гідрофільних) і неполярних (гідрофобних) груп.

Молекули речовини з перевагою гідрофобних властивостей (жирні кислоти з великою молекулярною масою та ін.) розташовуються на поверхні води так, що утворюють поверхневі плівки. При незначних кількостях таких молекул поверхнева плівка не утворюється.

Якщо ж молекул багато, то вони розташовуються упорядковано, одна біля одної, причому їх гідрофобні частини виступають над водною поверхнею, утворюючи так званий частокол Ленгмюра (*рис. 5.2*).

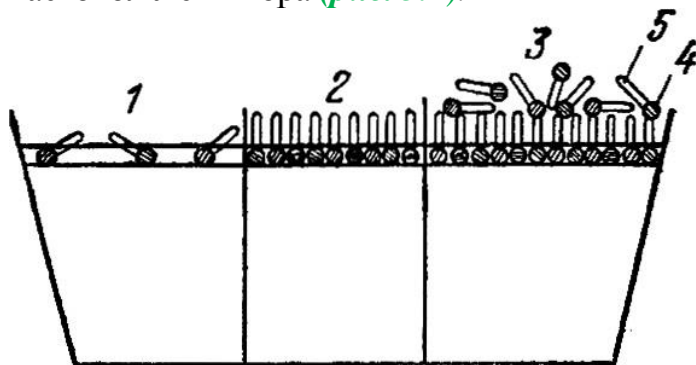


Рис.5.2 Поверхневі плівки:

1 – хаотичне розташування дифільних молекул; 2 – частокол Ленгмюра; 3 – надлишок молекул; 4 – гідрофільна частина молекул; 5 – гідрофобна частина молекул.

Така бульбашка при проштовхуванні через пори у фільтрі не здатна до різкої деформації і тому може закупорювати більші отвори у фільтрі, ніж бульбашки без плівки.

У скафандри водолазів повітря подається під тиском і, відповідно, у крові водолаза розчиняється підвищена кількість газів. Надто швидке підняття на поверхню призводить до різкого зниження тиску у скафандрах і значна частина газів крові видаляється у вигляді бульбашок, на яких утворюється поверхнева плівка поверхнево-активних речовин крові.

Бульбашки газів закупорюють дрібні судини у різних тканинах і органах, що призводить до *кесонної хвороби* з важкими наслідками аж до смерті. Лікування кесонної хвороби здійснюється поміщенням хворого в барокамеру, де задається підвищений тиск. Бульбашки газів знову розчиняються у крові і при наступному уповільненому (протягом декількох діб) зниженні тиску у барокамері надлишок газів видаляється із крові через легені.

Вибіркова адсорбція і її біологічне значення

Якщо адсорбція будь-якої речовини значно переважає адсорбцію інших, то можна говорити про її вибіркиму адсорбцію цим адсорбентом. Ця обставина має велике практичне значення. Підбираючи потрібні адсорбенти, можна відділити із складних сумішей чітко визначену речовину.

Прикладом вибіркової адсорбції є йонна. Згідно з правилом Панета-Фаянса, на твердому адсорбенті переважно адсорбуються йони, які входять до складу адсорбенту, або містять спільну з адсорбентом групу.

Так, на частках AgCl , що утворюються у реакції:

$\text{AgNO}_3 + \text{KCl}$, адсорбуються або йони Cl^- , або Ag^+ , але не K^+ чи NO_3^- .

Багатовалентні йони адсорбуються сильніше, ніж одновалентні. Йони однакової валентності також адсорбуються неоднаково у зв'язку з відмінностями їх ступеня гідратації. За їх здатністю до адсорбції вони розташовуються у так звані ліотропні ряди:

$\text{Cs}^+ > \text{Rb}^+ > \text{K}^+ > \text{Na}^+ > \text{Li}^+$; $\text{CNS}^- > \text{I}^- > \text{NO}_3^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^-$

Ці особливості йонної адсорбції мають велике значення для процесів стабілізації і коагуляції колоїдів.

В організмі людей і тварин часто спостерігається явище вибіркової адсорбції токсинів та інших речовин різними тканинами і клітинами. Так, наприклад, токсини збудників дизентерії вражають перш за все вегетативну нервову систему, а токсини збудників ботулізму – центральну нервову систему; сипний тиф вражає стінки судин шкіри, мозку, серця.

Імунні білки (антитіла) володіють високою вибіркювістю у сполученні тільки з чітко визначеним для кожного антитіла чужорідним білком (антигеном). Навіть невеликі кількості введених в організм токсинів, що володіють високою адсорбційною здатністю на активних центрах окремих ферментів і інших біологічно активних сполук, призводять до їх блокади. Зокрема, введення в організм ціаністих сполук викликає миттєву смерть через блокаду ферментів цитохромної системи дихального ланцюга.

Явище адсорбції використовується у так званій адсорбційній терапії, яка полягає у введенні хворому адсорбентів для поглинання шкідливих речовин.

5.3 Хроматографія

Хроматографічний (від грецьк. chromatós – фарба і grapho – пишу) аналіз – це фізико-хімічний високочутливий метод розділення речовин за допомогою сорбційних процесів при напрямленому русі однієї з фаз. В його основу покладені різні за механізмом та неодноразові повторення *явищ сорбції та десорбції*.

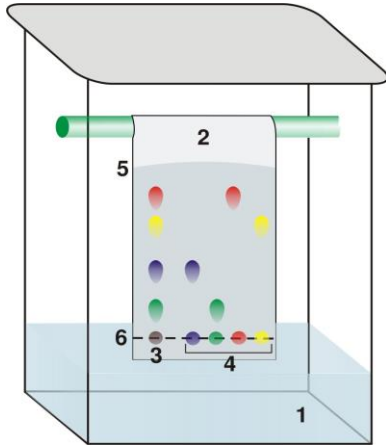


Рис. 5.3 Розподільна хроматографія на папері

Сконструйований прилад, що складався з лійки і колби, заповнювався безбарвним адсорбентом і через неї пропускалася водяна суміш пігментів, одержаних механічним подрібненням зелених листків. Проходячи крізь шар адсорбенту, різні речовини розміщувалися у вигляді окремих забарвлених зон. Найбільші частки адсорбтиву затримувалися верхніми шарами адсорбенту, а менші – середніми, найдрібніші виявлялися в нижніх шарах. Адсорбент і адсорбтиви висушувалися і розділялися на окремі зони.

Для одержання в чистому вигляді окремих речовин вони вимивалися (елюювалися) відповідними розчинниками. Так були одержані хлорофіли **а, в і с** та ізомери ксантофілу. Забарвлений стовпчик адсорбенту і адсорбтиву було названо *хроматограмою*, а метод – *хроматографією*.

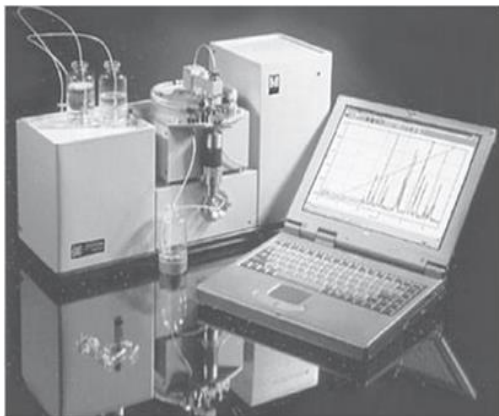


Рис. 5.4 Зовнішній вигляд установки рідинного хроматографа

У 1941 році *А.Мартін і Р.Стінг* розробили метод розподільної хроматографії на папері і використали його для одержання у чистому вигляді білків, амінокислот, вуглеводів та інших речовин. За механізмом процесу розділення хроматографія поділяється на такі види: *адсорбційна, розподільна, екстракційна, йонообмінна, ексклюзивна*.

Адсорбційна хроматографія ґрунтується на різній адсорбції тієї чи іншої речовини адсорбентом. Прикладом *розподільної хроматографії* є хроматографічний аналіз амінокислотного складу на папері (*рис. 5.3*).

Паперова хроматографія - як сорбент використовується спеціальний хроматографічний папір. Хроматографія широко застосовується у промисловості, біології, медицині, ветеринарній медицині. Метод є простий і при цьому досліджувані речовини не зазнають хімічних змін, тому що явище адсорбції базується на силах міжмолекулярних взаємодій.

Хроматографічний метод дослідження використовується для встановлення амінокислотного складу гідролізатів і первинної структури білків, у вивченні амінокислотного складу плазми та інших біологічних середовищ.

Волокна целюлози паперу адсорбують воду, і розділення речовин на ньому проходить між



Рис. 5.5 Зовнішній вигляд установки газового хроматографа

незмішуваним з водою розчинником і водним шаром волокон паперу. Цей вид хроматографії застосовується для розділення білків, вуглеводів, стероїдів, пуринів, фенолів, вітамінів, антибіотиків та ін. В основі **йонобмінної** стовп **хроматографії** лежать різниці констант йонобмінної рівноваги між нерухомою фазою (йонітом) і компонентами суміші, що розділяється.

Ексклюзивна хроматографія базується на різній проникливості молекул компонентів суміші у нерухомих фазу – високопористий гель. Прикладом може бути гель-фільтрація, коли суміш білка та інших речовин пропускають через гель-сефадекс. Білок має високу молекулярну масу і тому

швидше проходить через колонку, а молекули інших речовин розподіляються в порах сорбента, заповнених розчинником.

Екстракційна хроматографія здійснюється на основі неоднакової здатності компонентів рухомої фази (суміш, що розділяється) випадати в осад на твердій нерухомій фазі. Залежно від середовища, де відбувається розділення суміші, розрізняють газову і рідинну хроматографію.

Газова хроматографія проводиться шляхом перенесення газом-носієм, під відповідним тиском, через колонку суміші компонентів. Відповідні фізичні прилади (**рис. 5.5**) фіксують величину сигналу, яка пропорційна концентрації речовини і відображається у вигляді відповідних хроматограм. За агрегатним станом нерухомої фази газова хроматографія буває газоадсорбційною (нерухома фаза – твердий адсорбент) і газорідинна (нерухома фаза-рідинна).

Газова хроматографія підходить для поєднання з іонним джерелом мас-спектрометра та іонізації електронним ударом або хімічною іонізацією, оскільки в колонці хроматографа сполука вже знаходиться в газовій фазі.

Завдання аналітики полягає в тому, щоб визначити ці компоненти, ідентифікувати їх та провести кількісний аналіз. Для цього ідеальним є поєднання хроматографії з мас-спектрометрією. Прилади, в яких мас-спектрометричний детектор комбінується з газовим хроматографом, називаються **хроматомас-спектрометрами**.

Високоєфективна рідинна хроматографія (ВЕРХ, англ. HPLC, High performance liquid chromatography) (**рис. 5.4**). Це один з ефективних методів розділення складних сумішей речовин. Основою хроматографічного розділення є участь компонентів суміші, що розділяється, в складній системі Ван-дер-Ваальсових взаємодій (переважно міжмолекулярних) на межі розділу фаз. ВЕРХ входить до групи методів, які, зважаючи на складність досліджуваних об'єктів, включають попереднє розділення вихідної складної суміші на відносно прості.

Крім широкого спектру забруднень навколишнього середовища на цьому хроматографі можна визначати токсичні домішки в середовищі, а також у продуктах

харчування (гербициди, біогенні аміни, фенольні сполуки, катіони і аніони та лікарські препарати). Теорія хроматографії розглядає поведінку компонентів суміші речовин і їх розподіл всередині колонки.

Хроматографи використовують для аналізу та препаративного розділення суміші речовин. До складу хроматографа входять: хроматографічна колонка, системи термостатування, детектор, системи реєстрації сигналу детектора у вигляді піків окремих компонентів, обчислювальна система.

Хроматографи дають можливість фіксувати сигнал, що надходить з колонки за допомогою детектора і відобразити цей сигнал на виході з колонки у вигляді хроматограми. Сигнал залежить від природи елюента, складу і природи компонентів суміші. Хроматографія з газоподібною або рідкою рухомою фазами мають зовсім різне експериментальне оформлення й відрізняються за елементарними процесами.

Рідинна хроматографія поділяється на рідинно-адсорбційну (твердорідинну) і рідинно-рідинну. За методом проведення розрізняють колонкову, тонкошарову, паперову і капілярну.

У першому випадку використовуються спеціальні хроматографічні колонки, які заповнюються адсорбентом і крізь них пропускається рухома фаза, яка рухається внаслідок перепаду тиску.

Колончата хроматографія є капілярна, при якій твердий адсорбент наноситься твердим шаром на стінку капілярної трубочки. Тонкошарова хроматографія проводиться на площині відповідного сорбенту, що нанесений на металеву або скляну пластинку.

ТЕМА 6. РОЗЧИНИ ВИСОКОМОЛЕКУЛЯРНИХ СПОЛУК

6.1 Класифікація, структура та властивості високомолекулярних сполук

Високомолекулярні сполуки - органічні речовини, що складаються з великих і гнучких молекул з характерною для них ланцюговою будовою, мають молекулярну масу, порядку 10^4 - 10^6 Да і вище – за цими ознаками ВМС і відрізняються від низькомолекулярних речовин. Отримують ВМС реакціями полімеризації і поліконденсації невеликих молекул (мономерів) – моноцукриди, ненасичені вуглеводні, амінокислоти, ненасичені кислоти.

Розчини ВМС володіють рядом властивостей, подібних до колоїдних розчинів: повільно дифундують, не проникають через діалізаційні мембрани, розмір часток відповідає колоїдним (1-100 нм). Однак, на відміну від колоїдів, у розчинах ВМС відсутня межа поділу, досить стійкі; крім того, вони здатні самочинно розчинятися у відповідних рідинах, не вимагаючи для цього стабілізаторів чи затрати енергії ззовні. Розчини ВМС є своєрідним у просторовому відношенні, “клубком” дуже довгих ланцюгів.

Високомолекулярні сполуки мають і специфічні властивості, вони набрякають, їх розчини володіють високою в'язкістю і здатністю до драглілля. Легкість розчинення ВМС і стійкість їх розчинів обумовлені наявністю у їх структурі великої кількості ліофільних груп, тобто груп, що володіють високою спорідненістю за розчинниками. Ця властивість стала основою для поділу колоїдних розчинів на ліофільні і ліофобні. Більшість ВМС належать до ліофільних речовин. У їх структурі велика кількість ліофільних груп. Спонслер встановив, що одна група $-OH$ притягує три молекули води, $-C(=O)-OH$ –

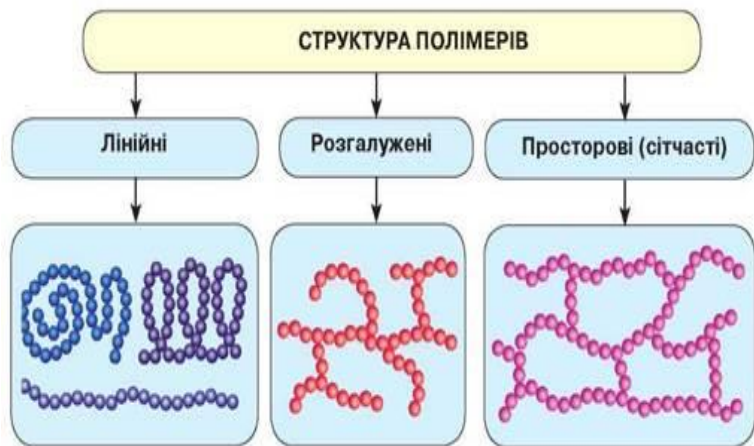


Рис.6.1 Будова макромолекул полімерів: *а* – лінійного; *б* – розгалуженого; *в* – просторового

три молекули води, $-C(=O)-OH$ –

чотири, $-C(=O)-$ – дві, $-NH_2$ – три молекули. Гідрофільність таких природних ВМС, як білки, поліцукориди, фосфатиди, обумовлена головним чином пептидними, етерними, подвійними, карбоксильними, спиртовими й амінними групами.

Молекули ВМС надзвичайно великі. Природні ВМС (біополімери) характеризуються постійним значенням молекулярної маси. На відміну від них, синтетичні полімери є полідисперсними системами, тому що складаються з суміші макромолекул різної довжини і маси. Розрізняють три основних типи структури ланцюгів ВМС: лінійну, розгалужену, просторову. Лінійні полімери (каучук) побудовані із довгих ланцюгів одномірних елементів (рис. 6.1,а). Розгалужені полімери мають ланцюги з боковими відгалуженнями (рис. 6.1,б). Так побудовані молекули крохмалю. Просторові полімери є трирозмірною сіткою (рис. 6.1,в), яка утворюється при сполученні відрізків ланцюгів хімічними зв'язками. Із просторових полімерів у особливу групу виділяють полімери зі зшитою структурою, ланцюги яких сполучені короткими містковими хімічними зв'язками за допомогою атомів Оксигену або Сульфуру. Таку структуру має, наприклад, гума. Специфічні властивості полімерів обумовлені, головним чином двома особливостями:

- 1) існуванням двох типів зв'язків – хімічних і міжмолекулярних, які утримують макромолекулярні ланцюги один біля одного;
- 2) гнучкістю ланцюгів, що пов'язана з внутрішнім обертанням ланок.

Високомолекулярні сполуки можуть утворювати як істинні, так і колоїдні розчини (дисперсії). Характер отриманого розчину ВМС залежить від спорідненості їх із розчинником. Якщо полярність розчинника відповідає полярності ВМС, то відбувається істинне розчинення з утворенням молекулярних розчинів (желатина у воді). Невідповідність полярності розчинника і ВМС веде до утворення золів або дисперсій. До основних властивостей розчинів ВМС належить: набрякання, стійкість, в'язкість, тиск набрякання, колоїдний захист, відмокання.

Набрякання

Істинному розчиненню полімерів часто передує процес *набрякання* – *самочинний процес проникнення молекул розчинника між молекули ВМС, що веде до значного збільшення об'єму і маси ВМС*. При контакті полімеру з розчинником відбувається взаємна дифузія молекул розчинника у полімер, а макромолекул полімеру – у розчинник.

Набрякання має велике значення у процесах життєдіяльності рослинних і тваринних організмів. Проростанню зерна завжди передує попереднє набрякання. Рослинні і тваринні тканини зв'язують велику кількість води (наприклад, сполучна тканина) і містять колоїди не тільки у вигляді розчинів, а й у вигляді драглів (протопlasма клітин, кристалик ока та ін.).

На процес набрякання впливає температура, рН середовища, електроліти та ін. Зміни, що відбуваються під впливом цих факторів при набряканні, діаметрально протилежні їх впливу на швидкість драгліття; так, наприклад, якщо підвищення температури негативно впливає на драгліття, то набрякання в цих умовах відбувається навпаки, швидше, так як підвищення температури підсилює рух частинок і сприяє *розпушуванню* внутрішніх структур.

Зміна рН середовища у кислу чи лужну зони від ізоелектричної точки колоїду збільшує ступінь набрякання. Це пояснюється появою позитивних чи негативних зарядів у колоїдних частинок і, отже, підвищенням ступеня гідратації. Підвищення гідратації зумовлює розділення високомолекулярних частинок і в простір між ними починає проникати вода; підвищення величини заряду частинок збільшує електростатичні сили відштовхування між ними і також порушує цілісність структури полімеру.

Велика різниця у рухливості молекул розчинника і молекул ВМС є причиною набрякання. Мірою кількісної характеристики набрякання є ступінь набрякання α , який може виражатися у об'ємних і масових величинах:

$$\alpha = \frac{V - V_0}{V_0} \quad \text{або} \quad \alpha = \frac{m - m_0}{m_0}, \quad (6.1)$$

де V_0 і V , m_0 і m – відповідно об'єми і маси вихідного і набряклого полімеру.

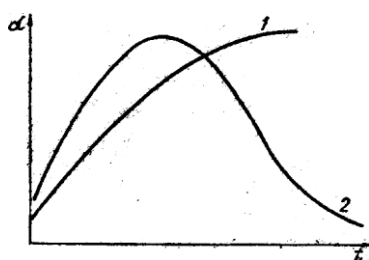


Рис. 6.2 Кінетичні криві набрякання: 1 – обмежене набрякання; 2 – необмежене набрякання.

Виходячи із структури полімеру і температури, набрякання може бути обмежене і необмежене. На *рис. 6.2* наведені кінетичні криві для обох випадків. При обмеженому набряканні (крива 1) α досягає найбільшого значення, після набрякання не залежить від часу (набрякання желатини у холодній воді). Для необмеженого набрякання характерна залежність (крива 2), яка проходить через максимум і зменшується до нуля у результаті поступового розчинення полімеру (желатина в гарячій воді).

За таких умов набрякання проходить необмежено. Якщо між ланцюгами полімеру існує хімічний зв'язок, то для його розриву часто недостатньою є енергія сольватації і ентропійного фактора. В основі процесу набрякання лежить сольватація макромолекулярних ланцюгів. Про це свідчить виділення теплоти **набрякання і контракція** (зменшення загального об'єму системи). Причиною контракції є орієнтація молекул розчинника у сольватних шарах.

Процес набрякання включає дві стадії. На першій відбувається виділення теплоти набрякання ΔH , спостерігається контракція системи, але α не досягає високих значень. Залежність між ΔH і α виражає емпірична формула:

$$\Delta H = \frac{a\alpha}{b + \alpha}, \quad (6.2)$$

де: a і b – константи. Друга стадія майже не супроводжується контракцією і виділенням теплоти, зате відбувається збільшення ступеня набрякання (α) і об'єму набряклого полімеру.

Обмеженість чи необмеженість набрякання визначається співвідношенням енергій зв'язків у полімері з енергією сольватації і ентропійним фактором. У лінійних і розгалужених полімерах макромолекули сполучені вандерваальсовими силами, енергія яких невелика, тому енергія сольватації та ентропійний фактор вже при 20°C перевищують їх.

Самовільне набрякання і розчинення полімеру супроводжується зменшенням енергії Гіббса ($\Delta G < 0$), а це можливо у двох випадках:

1. Якщо розчинення відбувається з виділенням теплоти і $\Delta H < 0$. Цей випадок має місце при розчиненні полярних полімерів у полярних розчинниках. Енергія сольватації полярних груп полімера більша, ніж затрати енергії на переборювання сил зчеплення макромолекул.
2. За умови, що $\Delta S > 0$. Для процесів розчинення зміни ентропії завжди позитивні. Велике значення величини ΔS призводить до розщеплення деяких полімерів навіть з поглинанням тепла, оскільки енергія може зменшуватися за рахунок ентропійного фактора.

Тиск набрякання. Набрякання полімерів веде до збільшення об'єму у 10-15 разів і при цьому виникає тиск набрякання, який досягає сотень мегапаскалів. Тиск набрякання особливо великий при поглинанні полімером перших пропорцій розчинника, потім він зменшується, а при досягненні рівноваги між полімером і розчинником падає до нуля. Цей тиск можна визначити за рівнянням:

$$p_H = Kc^n, \quad (6.3)$$

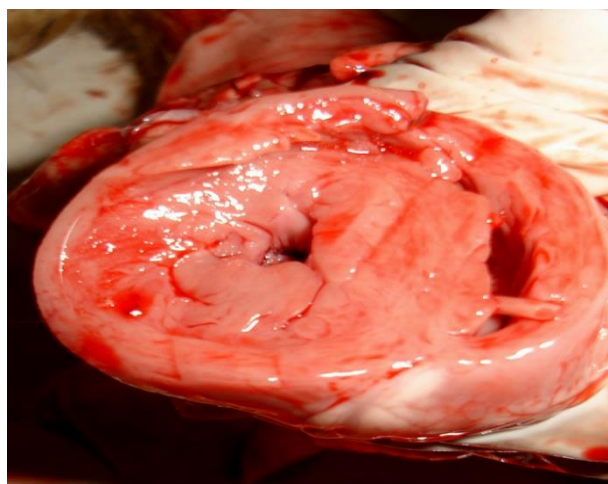
де: K та n – константи; c – концентрація сухої ВМС в 1 см² системи, яка утворилася при набряканні. Це рівняння подібне до емпіричного рівняння адсорбції Фрейндліха. Набрякання (**Рис. 6.1.5**) і відмокання колоїдів спостерігається також при різноманітних процесах: регенерації тканин, запаленні, при укусі комах і т. п. Так, наприклад, в ряді випадків відбувається загибель тварин унаслідок серцевої недостатності, пов'язаної з алергічним набряком та білковою дистрофією міокарда і, відповідно, погіршенням провідної функції та скороченню м'язів. Потовщення міокарда носить концентричний характер, спостерігається деформація органу (**рис. 6.3**), змі-

на кольору, значне звуження просвітів порожнин шлуночків серця. Міокард набуває тьмяно-сірого, сіро-рожевого кольору, структура тканини не чітка.

На гістологічному рівні спостерігається виразний набряк міжм'язової сполучної тканини (рис. 6.4)

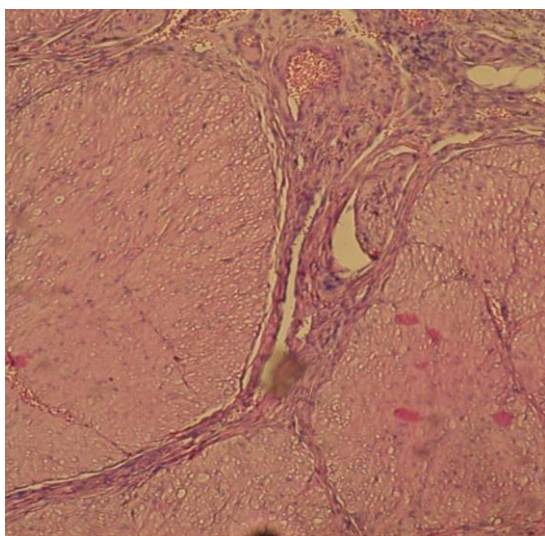


(А)

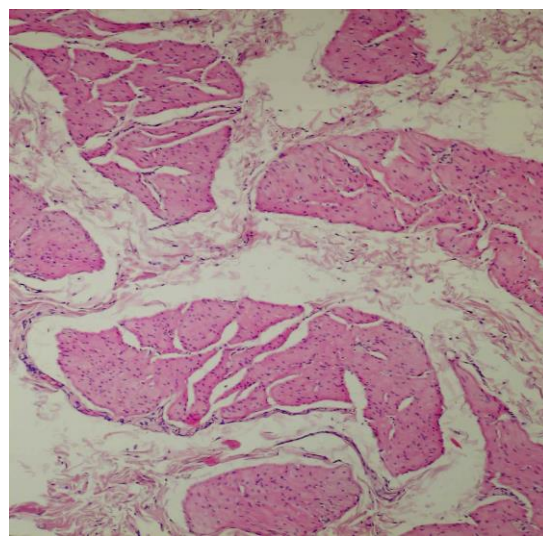


(Б)

Рис. 6.3. Деформація серця (А) зі звуженням просвіту шлуночків (Б) серця поросяти. (фото Скрипки М.В.)



(А)



(Б)

Рис. 6.4 Гістопрепарат серця поросяти: 1 – міокард в межах норми (А); міокард з ознаками набряку міжм'язової сполучної тканини (Б). Забарвлення гематоксиліном Караці та еозином; x100

У ветеринарній практиці при деяких інфекційних захворюваннях реєструються набряки підшкірної клітковини, легенів, брижі тощо. В усіх названих випадках набрякання залежить, головним чином, від змін у тканинах рН середовища. Зниження проникності може порушити обмін речовин між клітиною і навколишнім середовищем.



Б

А

Рис. 6.5 Набряк брижі (А) та метеоризм ободової кишки (Б) поросяти віком 24 доби. (фото Скрипки М.В.)

чину – **висолювання**. Цей процес подібний до коагуляції, однак, якщо для коагуляції золів вимагаються малі кількості електроліту і процес коагуляції необоротний, то для руйнування розчину ВМС необхідна висока концентрація електроліту. При цьому відбувається оборотний процес і спостерігається невиконання правила Шульце-Гарді. В основі механізму висолювання ВМС лежить процес дегідратації. Йони введеного електроліту чи молекули спирту ніби “забирають” велику частину розчинника від макромолекул ВМС. Концентрацію електроліту, при якій настає швидке осадження полімеру, називають **порогом висолювання ВМС**.

Висолююча дія електролітів залежить від здатності йонів цих електролітів до гідратації. Гофмейстером була встановлена така послідовність висолюючої дії йонів (**ліотропний ряд, або ряд Гофмейстера**):



Лівіше Cl^- розташовані йони, які знижують стійкість розчинів ВМС, а йони NO_3^- , Br^- , I^- , CNS^- , навпаки, підвищують їх стійкість. Це пояснюється тим, що йони, розташовані зліва, добре гідратуються, віднімаючи масу води від колоїдних частинок чи розчинів ВМС, а ті, що справа, самі ж адсорбуються на них, збільшуючи їх заряд і водну оболонку.

Катіони також утворюють ліотропний ряд:



В'язкість розчинів ВМС. Розчини високомолекулярних сполук володіють високою в'язкістю, яка обумовлена силами зчеплення між молекулами рідини.

Фактори стійкості розчинів ВМС. Розчини ВМС у добре розчинюваних їх рідинах агрегативно стійкі. Порушити стійкість розчинів полімерів можна шляхом погіршення їх розчинності – введенням електролітів або рідин, які погано розчиняють цей полімер. Так, наприклад, для білків нерозчинниками є етанол, пропанон.

У присутності електролітів і нерозчинників проходить процес виділення ВМС із розчину

Під час протікання рідини крізь трубку різні її шари, розташовуючись концентрично від стінок трубки до її середини, рухаються з різною швидкістю: біля стінок шар молекул нерухомий, наступні шари рухаються все з більшою швидкістю, але постійною для кожного шару. Такий потік називається *ламінарним*. При збільшенні швидкості шари утворюють завихрення і перемішуються: ламінарний потік переходить у турбулентний. Ламінарний потік характеризується двома законами. Перший (постулат Ньютона) визначає силу в'язкого опору рідини F за рівнянням:

$$F = \eta \frac{dv}{dx} S, \quad (6.4)$$

де: η – в'язкість; $\frac{dv}{dx}$ – градієнт швидкості потоку; dv – різниця швидкостей двох сусідніх шарів; dx – віддаль між шарами; S – площа контакту шарів. Із рівняння (8.4) можна визначити розмірність в'язкості (у системі СІ):

$$\eta = \frac{[F][x]}{[S][v]}; \quad [\eta] = \text{Н} \frac{\text{с}}{\text{м}^2}, \text{ або } \text{Па} \times \text{с},$$

де: x – відстань між шарами; v – відносна швидкість шарів.

Другий закон – закон Пуазейля – визначає кількість рідини, що протікає через капіляр:

$$Q = \frac{\pi r^4}{8\eta l} p\tau, \quad (6.5)$$

де: r – радіус капіляра; l – довжина капіляра; p – перепад тиску на кінцях капіляра; τ – час.

Ці закони діють тільки при ламінарному потоці рідини і прийняті для чистих рідин, істинних розчинів і деяких колоїдів. У розчинах ВМС виявляється аномальна в'язкість: вона дуже висока і зменшується зі збільшенням тиску на плинну рідину.

Висока в'язкість цих розчинів залежить від ступеня спорідненості між молекулами: сили зчеплення гідрофільних молекул білків і полісахаридів з молекулами води дуже високі, і в'язкість їх навіть у сильно розведених розчинах також буде високою. На величину в'язкості впливає форма частинок. Якщо витягнуті частинки розташовуються впоперек потоку, то вони чинять найбільший опір. При збільшенні зовнішнього тиску на рідину ці частинки орієнтуються вздовж потоку, в результаті в'язкість розчину зменшується.

Зі збільшенням концентрації в'язкість розчинів ВМС різко зростає, при цьому розчинені частинки структуризуються. Збільшення зовнішнього тиску зумовлює руйнування структур, розчинник вивільнюється, в'язкість зменшується. Коли вся структура руйнується, розчини ВМС підлягають постулату Ньютона і закону Пуазейля. Тому аномальну в'язкість таких розчинів називають також структурною в'язкістю.

Збільшення в'язкості (рис. 6.6), пов'язане зі зміною концентрації при розчиненні полімеру, прийнято характеризувати *питомою в'язкістю*:

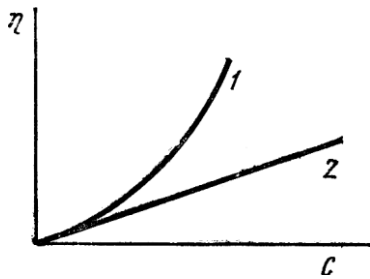


Рис. 6.6 Залежність в'язкості від концентрації колоїду: 1 – розчин полімеру; 2 – золь.

$$\eta_{\text{пит}} = \frac{\eta_c - \eta_0}{c}, \quad (6.6)$$

де: η_c – в'язкість розчину; η_0 – в'язкість чистого розчинника.

Г.Штаудінгером встановлена залежність питомої в'язкості від молекулярної маси полімеру:

$$\eta_{\text{пит}} = KM, \quad (6.7)$$

де: K – константа для певного полімергомологічного ряду речовин; C – концентрація ВМС в розчині; M – її молекулярна маса.

Рівняння (5.6) можна подати як

$$\frac{\eta_{\text{пит}}}{C} = KM. \quad (6.8)$$

Величина $\frac{\eta_{\text{пит}}}{C}$ одержала назву *приведеної в'язкості*. Межа $\frac{\eta_{\text{пит}}}{C}$ при $C \rightarrow 0$ відображає гідродинамічний опір руху молекул полімеру і називається *характеристичною в'язкістю $[\eta]$* .

У цьому випадку можна записати:

$$[\eta] = KM \quad (6.9)$$

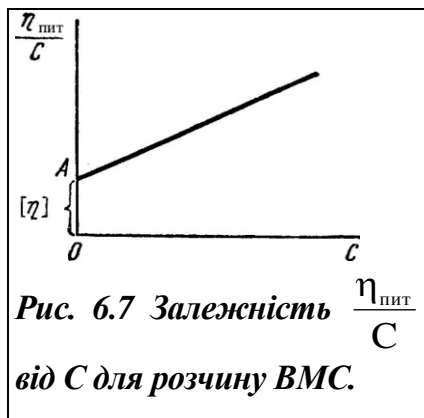


Рис. 6.7 Залежність $\frac{\eta_{\text{пит}}}{C}$ від C для розчину ВМС.

При визначенні молекулярної маси віскозиметричним методом спочатку встановлюють η_c , η_0 ;

потім розраховують $\eta_{\text{пит}}$ і $\frac{\eta_{\text{пит}}}{C}$ для розчинів різної

концентрації і будується графік залежності приведеної в'язкості від концентрації. Цю залежність

відображає пряма (рис. 6.7), яка при перетині осі ординат відсікає відрізок OA , рівний $[\eta] = KM$. За

цією величиною можна визначати молекулярну масу полімеру:

$$M = \frac{[\eta]}{K} \quad (6.10)$$

Характеристична в'язкість $[\eta]$ розчинів полімерів не залежить від їх концентрації, а визначається тільки природою розчинника та полімеру. Саме тому її використовують для визначення молекулярної маси полімерів. За *рівнянням Штаудінгера* знаходять молекулярну масу жорстких макромолекул. Для гнучких глобулярних молекул застосовують рівняння Марка-Куна-Хаувінка: $[\eta] = KM^\alpha$, де α – ступінь згортання та гнучкості ланцюга.

Характеристична в'язкість часто виступає як показник, еквівалентний молекулярній масі (табл. 6.1). Значна кількість глобулярних білків має характеристичну в'язкість у межах $3 \cdot 10^3$ м³/кг.

Таблиця 6.1.1

Значення молекулярних мас та в'язкостей для біополімерів.6

Біополімер	М	$[\eta] \cdot 10^3 \text{ м}^3/\text{кг}$	Форма молекули
Рибонуклеаза	13 683	3,4	Глобула
Сироватковий альбумін	67 500	3,7	Глобула
Гемоглобін	64 450	3,6	Глобула
Міозин	440 000	217,0	Паличкоподібні
ДНК	6 000 000	5 000	Глобула

На в'язкість розчинів білків впливає рН. Найменшу в'язкість розчини білків мають в ізоелектричній точці, оскільки макромолекули згорнуті у клубок і опір течії рідини – найменший. Із збільшенням або зменшенням рН в'язкість розчинів білків зростає у зв'язку зі зміною структури макромолекул.

За графіком залежності в'язкості від рН розчинів можна визначити ізоелектричну точку білків.

6.2 Драглі, старіння драглів, біологічне значення

Драглі – це структуровані системи з властивостями еластичних твердих тіл. Драгледобітний стан речовини можна розглядати як проміжний між рідким і твердим станом. Цілий ряд речовин природного і штучного походження за певних умов можуть утворювати драглі. Ними є багато харчових і кормових продуктів (хліб, м'ясо, сир, кисле молоко, каші).

Драглі відіграють велику роль у житті організмів, оскільки більшість їхніх тканин і клітин являє собою драглі. Драглі ВМС можна добути двома способами: **методом драгління розчинів полімерів і методом набрякання сухих ВМС** у відповідних рідинах. Біологічна роль процесів старіння драглів дуже важлива, тому що при цьому відбувається їх ущільнення, що неминуче відображається на проникності клітинних мембран і цитоплазми.

Процес переходу золю або розчину полімеру в драглі називається драглінням (желатинуванням). Цей процес залежить від концентрації і природи речовин, температури, природи електrolітів, реакції середовища. Підвищення концентрації колоїдного розчину збільшує кількість зіткнень частинок при броунівському русі, що зумовлює структуроутворення і прискорює процес драгління.

Суттєве значення для желатинування має також природа речовин як гідрофобних золів, так і розчинів полімерів. Не всі гідрофобні золі можуть переходити у драглі; так, золі благородних металів: золота, платини, срібла – не здатні драгліти внаслідок особливої будови їх колоїдних частинок і низької концентрації їх золів.

У розчині високомолекулярних сполук (ВМС) кількість і якість гідратованих та негідратованих груп у ланцюгах молекул впливає на їх здатність об'єднуватися у коміркову структуру. Мабуть, це пояснюється тим, що менш концентровані розчини гірше драгліють. Так, наприклад, мінімальна концентрація драгління для желатини рівна 0,5%, для агар-агару – 0,2%.

Значний вплив на драглілля має температура. Добре сформовані драглі 6%-ного розчину желатини при нагріванні у теплій воді 45-50°C легко розріджуються і переходять у розчин. Низькі температури сприяють драглілю, тому що при цьому прискорюється агрегація частинок і знижується розчинність речовин.

Драглі з часом змінюють свої властивості, і цей процес називається старінням драглів. При старінні на поверхні драглів з'являються крапельки рідини, які зливаються, утворюючи рідку фазу. Відбувається розділення драглів на дві фази: ущільнені драглі і розбавлений золь. Цей процес називається *синерезисом* (від грецького слова *sinereiso* – стягування, збирання).

Синерезис – явище самочинного зменшення розмірів *гелю* за рахунок виділення *дисперсійного середовища*, що втримується у структурі гелю. Синерезис обумовлений зростанням числа й міцності контактів між частками і супроводжується виникненням кристалізаційних містків між частками. *Це явище має важливе значення у технології гум, хімічних волокон, пластмас, при виробництві сиру, у хлібопеченні. Розрідження згустків крові, що згорнулися, очерствіння хліба, відмокання кондитерських виробів – приклади синерезису.*

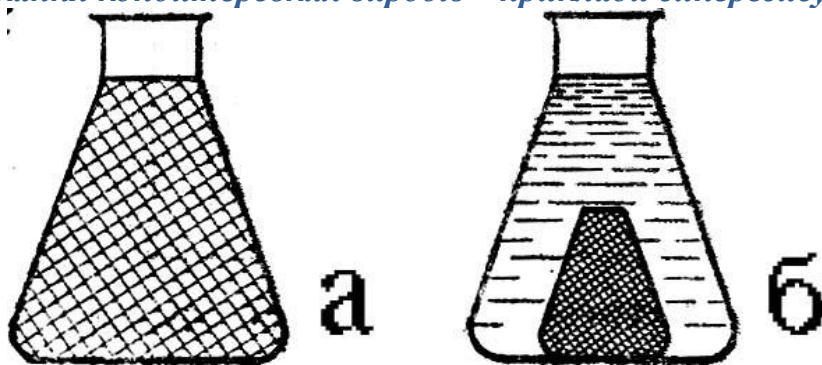


Рис. 6.2 Явище синерезису: а – драглі до синерезису, б – розділення драглів на дві фази.

Тверда частина драглів стає менш прозорою, а рідка – містить невелику кількість дисперсної фази. При синерезисі, внаслідок збільшення числа контактів у частинок дисперсійної фази, відбувається ущільнення драглів при одночасному підвищенні еластичних і пружних властивостей. Структурна сітка драглів стягується і витискає із себе значну частину імібілізованого розчинника (*рис. 6.2*).

Явище синерезису спостерігається і у побуті. Так, у свіжовипеченому хлібі кількість зв'язаної води досягає 83%. Протягом п'яти діб зв'язаної води залишається 67%. Хліб почерствів, тобто втратив здатність зберігати воду. М'ясо молодих тварин соковитіше і ніжніше, ніж старих. Це пояснюється тим, що з віком тканини тварин через синерезис і дегідратацію твердішають.

Розчини ВМС у «хороших» розчинниках утворюються самочинно і є термодинамічно стійкими. Більш складний характер носить поведінка розчинів біополімерів. Так, наприклад, водним розчинам білків притаманне «старіння», одним з проявів якого є поступове зниження «дзета» потенціалу у часі. Тому розчини біополімерів неможливо у повній мірі віднести до термодинамічно стійких систем.

6.3. Колоїдний захист та порушення захисних властивостей білків

Суміш високомолекулярних сполук і колоїдів часто проявляє особливі властивості. У випадку переваги у суміші полімеру (білка), він адсорбується на поверхні колоїдної частки, утворюючи великий агрегат з гідрофільними властивостями. Стійкість його буде середньою між обома видами взаємодіючих часток. Це явище називається **захистом золю** високомолекулярними сполуками (колоїдний захист).

Здатність ВМС захищати золь золота від коагуляції електролітом вимірюють золотим числом, тобто кількістю міліграмів сухого полімеру (наприклад, желатини), яка захищає 10 мл червоного гідрозолу золота від коагуляції 1 мл 10%-го розчину NaCl. Для золю гідроксиду заліза існує залізне число, для золю срібла – срібне число і т. п. (**табл. 6.3.1**). Найбільша захисна здатність спостерігається у тих випадках, коли частки золю і ВМС у розчинах мають однакові заряди. Наприклад, два розчини - гідрозоль As_2S_3 і розчин желатини. Їх частинки у розчинах заряджені негативно.

Таблиця 6.3.1

Характеристика захисної здатності деяких ВМС

ВМС	Число		
	золоте	срібне	залізне
Желатина	0,01	0,035	5
Гемоглобін	0,3-0,07	-	-
Яєчний альбумін	2,5	1,5	1,5
Декстрин	20,0	1,25	25,0
Крохмаль картоплі	20,0	-	-
Сапонін	115,0	35,0	115,0

Додавання розчину желатини до гідрозолу підвищує стійкість його до дії електролітів не тільки через адсорбцію його частками білка, а й внаслідок збільшення негативного заряду часток дисперсної фази.

Камені є щільними утвореннями, які вільно лежать у природних порожнинах органів і вивідних протоках залоз. Для утворення каменів необхідні загальні та місцеві чинники.

Серед місцевих чинників велике значення мають зміни стану колоїдів секретів і екскретів, які у фізіологічних умовах утримують солі у розчиненому стані. Порушення секреції й застій вмістимого у порожнинах органів та у протоках залоз, запальні процеси в органах призводить до утворення каменів.

У тварин конкременти переважно виявляють у шлунково-кишковому тракті, органах сечовидільної системи, жовчному міхурі й жовчних протоках, а також у вивідних протоках підшлункової і слинних залоз.

У шлунково-кишковому тракті розрізняють наступні камені: **справжні, несправжні, фітобесоари, пілобесоари, конглобати, плюмоконкременти**.



Рис.6.3 Фітобестоари утворюються з рослинних волокон переважно в передшлунках жуйних тварин (фото Скрипки М.В.)



Рис. 6.4 Пілобестоари (волосяні кулі) – утворюються в передшлунках жуйних тварин при мінеральному голодуванні (фото Скрипки М.В.)

Прикладом є відкладання фітобестоарів і пілобестоарів, що утворюються у передшлунках жуйних тварин з рослинних волокон та при порушенні мінерального обміну (рис. 6.3, рис. 6.4).

Поява жовчних і ниркових каменів пов'язана з недостатньою захисною дією муцинів та інших речовин, які синтезуються слизовими оболонками жовчо- і сечовидних шляхів.

Патологічні відкладання деяких речовин у тканинах при подагрі пов'язані з порушенням захисних властивостей білків. При атеросклерозі на стінках кровоносних судин відкладаються стерини, стериди та інші речовини.

Сечові камені утворюються у нирковій мисці і сечовому міхурі, складаються з різних солей (рис. 6.5). Будова, форма, величина, колір сечових каменів залежать від їх хімічного складу, локалізації та виду тварини.

Поверхня каменів частіше зерниста, вузлувато-горбиста, шипувата, на розрізі вони можуть мати пошарову будову.

Жовчні камені – утворюються в жовчних протоках та жовчному міхурі (рис. 6.6). Складаються з органічної білкової основи, солей кальцію, жовчних пігментів і холестерину. Залежно від складу розрізняють камені: холестеринові, вапняні, пігментні і змішані.

Утворюються жовчні камені за фасціольозу у корів і викликають закупорку жовчних проток, що в свою чергу призводить до розвитку механічної жовтухи.



Рис. 6.5 Сечові камені (фото Скрипки М.В.)

Фасціольоз -хвороба спричиняє великі економічні збитки у тваринництві та м'ясній промисловості. Викликають захворювання паразити: фасціола звичайна (*Fasciola hepatica*) та фасціола гігантська (*Fasciola gigantica*), які належать до родини Fasciolidae. Часто представників родини фасціола узагальнюють однією назвою - печінковий сисун, а в народі - просто метелиця.

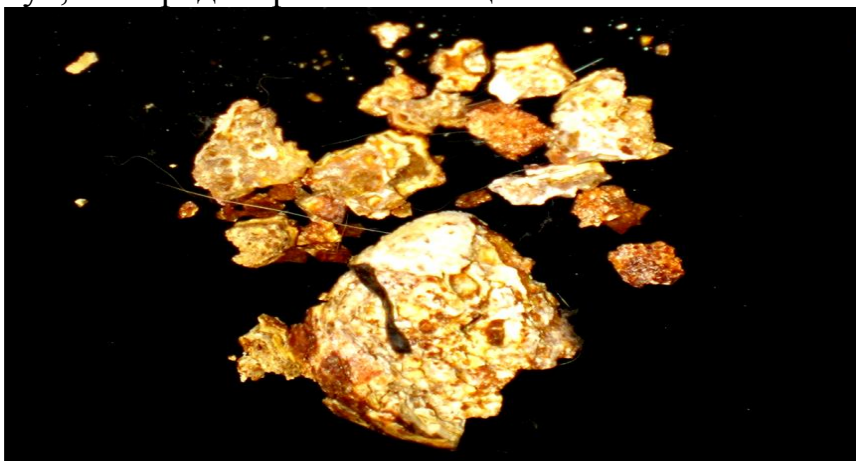


Рис. 6.6 Змішані (А), пігментні (Б, В) жовчні камені (фото Скрипки М.В..)

Паразити можуть уражувати всі органи. Одним із головних заходів попередження захворювання на фасціольоз великої рогатої худоби могло б бути стійлове утримання тварин у літньо-осінній період.

Колоїдному захисту належить важлива роль у біології, медицині, ветеринарній медицині. Карбонати і фосфати кальцію утримуються у біологічних рідинах у певних концентраціях завдяки захисній дії на їх частинки білкових речовин. Білки плазми крові підвищують розчинність CaCO_3 майже у 5 разів і сіль знаходиться у захищеному стані. Наявність у молоці жирних кульок характеризує у них вміст білкових молекул.

Колоїдний захист застосовується для одержання стійких лікарських препаратів (протарголу і коларголу), стабільних розчинів золів благородних металів при виготовленні фотографічних емульсій.

ЧАСТИНА Ш

ОСНОВИ СТАТИЧНОЇ ТА ДИНАМІЧНОЇ БІОХІМІЇ ОСОБЛИВОСТІ ОБМІНУ РЕЧОВИН

ТЕМА 7. АМІНОКИСЛОТИ, ПЕПТИДИ, БІЛКИ ТА ЇХ ОБМІН

7.1 Амінокислоти, їх будова, класифікація та фізико-хімічні властивості.

Анрі Браконно французький хімік, член-кореспондент Паризької АН (з 1823). Навчався в Страсбурзькому і Паризькому університетах.



Анрі Браконно
(1780 -1855)

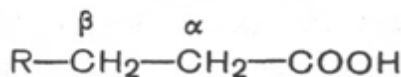
Працював аптекарем в Страсбурзі, з 1807 р директор Ботанічного саду в Парижі, потім професором університету у Нансі, мав праці з хімії природних сполук. У 1820 році А. Браконно вперше при кислотному гідролізі білка (желатину) виділив амінокислоту – гліцин.

Оскільки амінокислота була солодка на смак, то її назвали глікоколом.

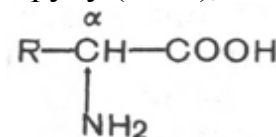
Амінокислоти як основні складові частини білків беруть участь у всіх життєвих процесах поряд з нуклеїновими кислотами, вуглеводами і ліпідами. Крім амінокислот, що входять до складу білків, живі організми володіють постійним резервом «вільних» амінокислот, що містяться у тканинах і клітинному соку. Дані молекули використовуються у синтезі багатьох біологічно активних сполук, до яких відносяться нейромедіатори і гормони, що забезпечують регуляцію процесів обміну речовин в організмі. Амінокислоти служать донорами атомів азоту при синтезі всіх небілкових азотовмісних сполук, у тому числі нуклеотидів, гема, креатину, холіну, входять до складу коферментів, жовчних кислот, антибіотиків.

Будова амінокислот.

Амінокислоти –являють собою похідні карбонових кислот, у яких один водневий атом, у α -вуглецю, заміщений на аміногрупу ($-\text{NH}_2$), наприклад:



Жирна кислота



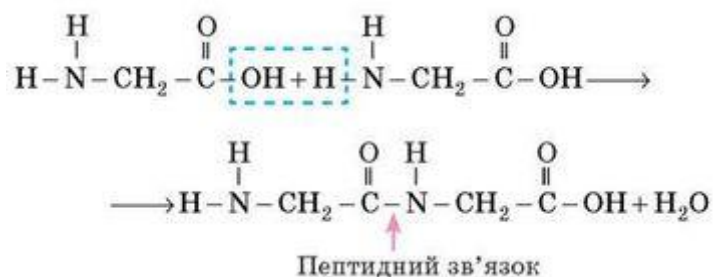
α -амінокислота

У природі існує близько 300 амінокислот, однак у білках виявлено тільки 22 з них. У результаті повного гідролізу білків вивільняється 22 L- α -амінокислот (**табл. 6.1.3**), які присутні у білкових молекулах всіх форм життя – рослин, тварин і мікроорганізмів.

Між собою амінокислоти відрізняються тільки будовою бічних ланцюгів (R-групами), які у різних амінокислот неоднакові за структурою, електричного заряду і

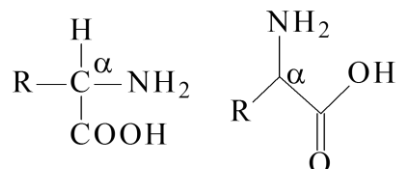
розчинності у воді.

Залишки молекул амінокислот у складі білків сполучені між собою міцним ковалентним зв'язком, який виникає між карбоксильною групою однієї амінокислоти та аміногрупою іншої. Цей тип зв'язку називають **пептидним**. Завдяки такому міцному зв'язку утворюється сполука, яка складається із залишків двох амінокислот – **дипептид** (пептидний зв'язок позначено стрілкою):

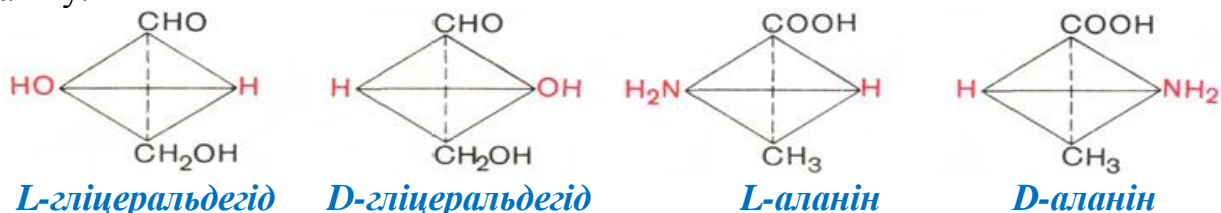


Структури, які складаються з великої кількості залишків амінокислот (від 6-10 до декількох десятків), належать до **поліпептидів**.

Стереοізомерія амінокислот пов'язана із наявністю у них асиметричного хірального атома вуглецю. За виключенням гліцину, у якого R– це атом гідрогену, у всіх амінокислот чотири групи, зв'язані з α-вуглецевим атомом, різні. Дякуючи тетраедричному розміщенню чотирьох різних груп відносно α-вуглецевого атома амінокислота володіє оптичною активністю (здатністю обертати площину поляризації плоскополяризованого світла). Одні амінокислоти, що входять до складу білків, є (при рН=7,0) правообертаючими, а інші– лівообертаючими, однак всі вони мають абсолютну конфігурацію L-гліцеральдегіду і тому є **L-α-амінокислотами**.



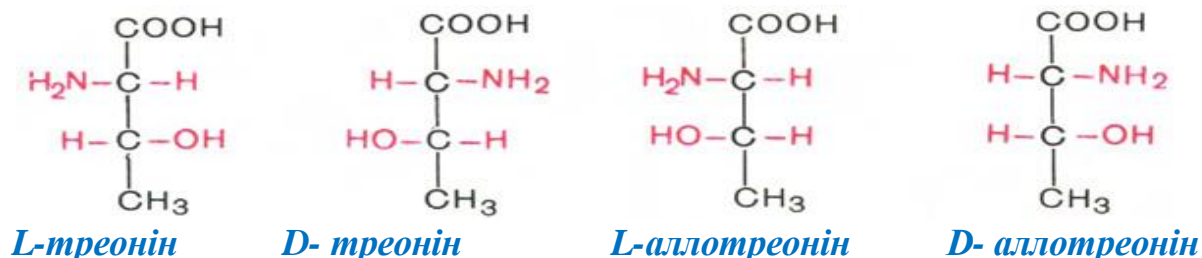
Абсолютну конфігурацію амінокислот прийнято співвідносити стереохімічним з'єднанням, довільно взятим для порівняння, а саме з гліцериним альдегідом, який також містить асиметричний атом вуглецю. Нижче представлені L- і D-стереοізомери гліцериним альдегіду. Поруч показані просторові конфігурації L-і D-аланіну:



Усі амінокислоти, що утворюються при гідролізі природних білків в умовах, що виключають рацемізації, належать до L-ряду. Таким чином, природні амінокислоти мають просторове розташування, аналогічне конфігурації L-гліцериним альдегіду. Серед білкових амінокислот є дві амінокислоти (треонін і ізолейцин), які

містять по два асиметричних атоми вуглецю. Отже, якщо не у природі, то, у лабораторії можливо отримати чотири стереоізомерні форми цих амінокислот. Для треоніну відомі всі чотири ізомери. Якщо умовно позначити символом L виділений з природних білків треонін, то його дзеркальне відображення називають D-треонін. Два інших ізомери, які отримали найменування діастереоізомерів, або аллоформ, також можуть мати L- і D-форми.

Всі чотири стереоізомери треоніну можна представити наступними формулами:



В білковій молекулі D-білки не знайдені, проте у живій природі вони широко поширені. Так, D-ізомери глутамінової кислоти, аланіну, валіну, фенілаланіну, лейцину і ряду інших відкриті у клітинній стінці бактерій; у складі деяких антибіотиків, зокрема актиноміцину, бацитрацину, граміцидинів А і S містяться амінокислоти D-конфігурації.

Класифікація амінокислот

Амінокислоти, які входять до складу білків, за функціональними R-групи, що зв'язані з атомом α-карбону, можна поділити на полярні і неполярні (*табл. 7.1.3*).

Усі амінокислоти, які виявлено у складі білків, синтезуються в рослинних організмах. У організмі людини і тварин синтезується лише частина протейногенних амінокислот, а деякі з них утворюються в недостатній кількості для нормального синтезу. У зв'язку з цим усі їх поділяють на три групи: **замінні, напівзамінні і незамінні** (*табл. 7.1.2*). Останні дві групи в організмі синтезуються в недостатній кількості або не синтезуються взагалі, і тому надходять вони до організму ззовні, в основному з їжею.

У тканинах людини і тварин є амінокислоти, у яких аміногрупа не в α-, а в β-положенні. Ці амінокислоти не входять до структури білка, а знаходяться у *вільному стані або входять до складу інших сполук*.

Класифікація ациклічних амінокислот за числом вуглеців у молекулі («родини» амінокислот):

C₂ – гліцин (глікокол);

C₃ – аланін, серин, цистеїн;

C₄ – треонін, метіонін, γ-аміномасляна кислота, аспарагінова кислота, аспарагін;

C₅ – валін, глутамінова кислота, глутамін, аргінін;

C₆ – лізин, лейцин, ізолейцин, норлейцин.

Таблиця 7.1.1

Класифікація амінокислот за будовою радикала і функціональних груп

I. Ациклічні			II. Циклічні		
Моноаміно- карбонові		Мономіно- дикарбонові	Диамі- но- монока- рбонові	Гомо- циклічні	Гетеро- циклічні
ГЛІ АЛА СЕР ЦИС ТРЕ МЕТ ВАЛ	ЛЕЙ ІЛЕЙ НЛЕЙ	АСП ГЛУ	ЛІЗ АРГ	ФЕН ТИР	ТРИ ГІС

Таблиця 7.1.2

Класифікація L- α -амінокислот, які входять до складу білків,
основана на полярності їх R-груп

Неполярні	Полярні
Аланін Валін* Ізолейцин* Лейцин* Метіонін* Пролін Триптофан* Фенілаланін*	Аргінін** Аспарагін Аспарагінова кислота Гістидин** Гліцин Глютамін Глютамінова кислота Лізін* Серин Тирозин** Треонін* Цистеїн

* - незамінні амінокислоти;

** - напівзамінні амінокислоти.

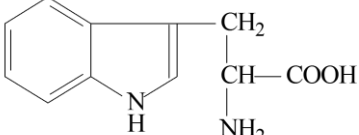
Таблиця 7.1.3

Амінокислоти, що постійно входять до складу білків
(L-α-амінокислоти, які входять до складу білків)

№	Назва	Скорочене позначення	Структурна формула
З АЛІФАТИЧНИМИ БОКОВИМИ ЛАНЦЮГАМИ			
1	Гліцин	Глі Gly G	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
2	Аланін	Ала Ala A	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
3	Валін	Вал Val V	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
4	Лейцин	Лей Leu L	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
5	Ізолейцин	Іле Ile I	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{array}$
З БОКОВИМИ ЛАНЦЮГАМИ, ЯКІ МІСТЯТЬ ГІДРОКСИЛЬНІ (ОН) ГРУПИ			
6	Серин	Сер Ser S	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{OH} \end{array}$
7	Треонін	Тре Thr T	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
8	Тирозин	Тир Tyr Y	див. нижче
З БОКОВИМИ ЛАНЦЮГАМИ, ЯКІ МІСТЯТЬ АТОМИ СІРКИ			
9	Метіонін	Мет Met M	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3 \end{array}$
10	Цистеїн ²⁾	Цис Cys C	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{SH} \end{array}$
імінокислоти			
11	Пролін	Про Pro P	

№	Назва	Скорочене позначення	Структурна формула
З БОКОВИМИ ЛАНЦЮГАМИ, ЯКІ МІСТЯТЬ КИСЛІ ГРУПИ І ЇХ АМІДИ			
12	Аспарагінова кислота	Асп Asp D	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
13	Аспарагін	Асн Asn N	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{O}=\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$
14	Глютамінова кислота	Глу Glu E	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2-\text{COOH} \end{array}$
15	Глютамін	Глн Gln Q	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_2 \\ \\ \text{O}=\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$
З БОКОВИМИ ЛАНЦЮГАМИ, ЯКІ МІСТЯТЬ ОСНОВНІ ГРУПИ			
16	Аргінін	Арг Arg R	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C}=\text{NH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
17	Лізін	Ліз Lys K	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_4 \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
18	Гістидин	Гіс His H	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{NH} \end{array}$
АМІНОКИСЛОТИ, ЯКІ МІСТЯТЬ АРОМАТИЧНІ КІЛЬЦЯ			
19	Гістидин	Гіс His H	див. вище
20	Фенілаланін	Фен Phe F	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$

Продовження таблиці 7.1.3

№	Назва	Скорочене позначення	Структурна формула
21	Тирозин	Тир Tyr Y	$ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{OH} \end{array} $
22	Триптофан	Три Trp W	

Фізико- хімічні властивості амінокислот

Амінокислоти - нелеткі кристалічні речовини з високими температурами плавлення. Вони добре розчиняються у воді, аміаку та інших полярних розчинниках, у неполярних і слабополярних розчинниках (етанол, метанол, ацетон) розчиняються погано. Причиною такої поведінки є легкий перехід незарядженої молекули у цвіт-теріон, що пов'язаний з виграшем вільної енергії.

1. Реакції, що протікають з амінокислотами за рахунок одночасної присутності карбоксильних та аміногруп:

- амфотерність;
- утворення внутрішніх солей;
- утворення пептидів;
- нінгідрінова реакція.

2. Реакції, що протікають з амінокислотами за рахунок присутності карбоксильних груп:

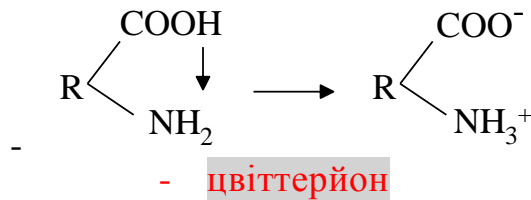
- утворення солей;
- утворення ангідридів;
- утворення галогенангідридів;
- утворення амідів;
- утворення складних ефірів;
- реакція декарбоксилювання.

3. Реакції, що протікають з амінокислотами за рахунок аміногруп:

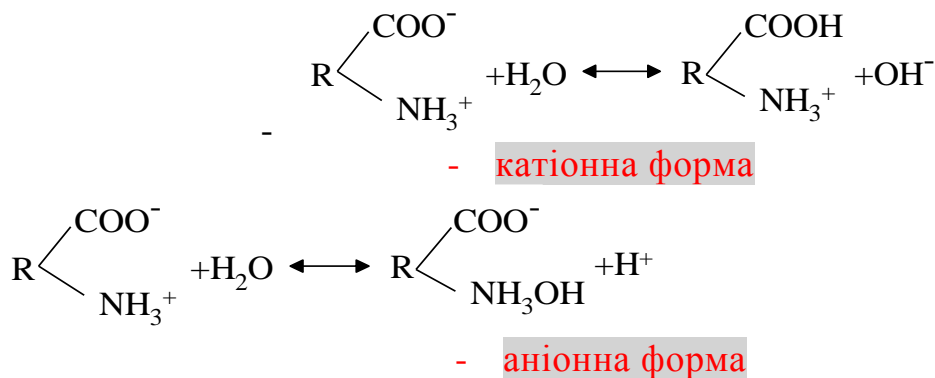
- заміщення в аміногрупі атома водню на ацил (утворення пептидів);
- взаємодія з азотистою кислотою;
- заміщення в аміногрупі атома водню на залишок вугільної кислоти;
- взаємодія з формальдегідом;
- реакція дезамінування: окисне, гідролітичне, відновне, внутрішньомолекулярне.

Амфотерність амінокислот обумовлена наявністю у їх молекулах двох функціональних груп – аміногрупи та карбоксильної групи.

- При фізіологічних значеннях рН амінокислоти в розчинах знаходяться переважно у вигляді біполярних іонів.



Група COO^- у цвіттерйоні виявляє основні властивості, група NH_3^+ – кислотні:



Іонні форми амінокислот. Амінокислоти несуть по крайній мірі дві слабоіонізуючі кислі групи, $-\text{COOH}$ і $-\text{NH}_3^+$. У розчині ці групи знаходяться у двох формах, зарядженій і незарядженій, між якими підтримується протонна рівновага:



Групи R-COOH і R-NH_3^+ є протонованими партнерами, тобто кислотами, а R-COO^- і R-NH_2 – спряженими основами, тобто акцепторами протонів відповідних кислот.

При значеннях рН, характерних для плазми крові і міжклітинної рідини (7,4 і 7,1 відповідно), карбоксильні групи знаходяться виключно у формі карбонілатних іонів, R-COO^- . При цих же значеннях рН більша частина аміногруп знаходиться переважно у асоційованій формі, R-NH_3^+ . Однак, у багатьох рівняннях краще використовувати не дисоційовані форми молекул амінокислот, наприклад при обговоренні питання про хімізм реакцій.

Повний сумарний заряд (алгебраїчна сума всіх позитивних і негативних зарядів) амінокислоти залежить від рН середовища, тобто від концентрації протонів гідрогену у розчині. Заряд амінокислоти або її похідного можна змінити, варіюючи значенням рН середовища; це полегшує фізичне розділення амінокислот, пептидів, білків. Значення рН, при якому сумарний заряд молекули амінокислоти дорівнює нулю, називається **ізоелектричною точкою** (pI), саме тому вона не переміщується у постійному електричному полі. Значення ізоелектричної точки знахо-

диться між найближчими значеннями рК дисоціюючих груп по різні сторони від рІ. Ізоелектрична точка амінокислот, що не містять додаткових NH₂- або COOH-груп, являє собою середнє арифметичне між двома значеннями рК ':

$$pI = pK^{\text{COOH}} + pK^{\text{NH}_2} / 2$$

відповідно для аланіну:

$$pI = 2,34 + 9,69 / 2 = 6,2$$

Ізоелектрична точка ряду інших амінокислот, що містять доповнюючі кислотні або основні групи (аспарагінова і глутамінова кислоти, лізин, аргінін, тирозин і ін.), залежить, крім того, від кислотності або основності радикалів цих амінокислот. Для лізину, наприклад, РІ повинна обчислюватися з напівсуми значень рК 'для α- і ε-NH₂-груп.

Таким чином, в інтервалі рН від 4,0 до 9,0 майже всі амінокислоти існують переважно у формі цвіттеріону з протонованою аміногрупою і дисоційованою карбоксильною групою.

При значеннях рН, близьких до величинам їх рК (при рН 1,7-3,2 і 8,6-10,8), амінокислоти мають буферні властивості. Велике біологічне значення має поведінка гистидину у якості буферу. Це єдина амінокислота, яка володіє буферними властивостями у фізіологічній області рН.

7.2 Кольорові реакції на амінокислоти

Для відкриття у біоб'єктах і кількісного визначення амінокислот успішно застосовується реакція їх з нінгідрином.

Нінгідрінова реакція

Принцип реакції. В результаті взаємодії α-амінокислоти з нінгідрином (трикетогідринденгідратом) утворюється забарвлена комплексна сполука.

Під час нагрівання (до температури 70° С) α-амінокислоти окислюються нінгідрином та піддаються окисному дезамінуванню з утворенням аміаку та декарбоксілуванню з утворенням альдегіду і СО₂, а нінгідрин відновлюється:

Відновлений нінгідрин, що конденсується з аміаком і окисленим нінгідрином, утворює сполуку, яка, енолізуючись, переходить у забарвлену форму синьо-фіолетового кольору.

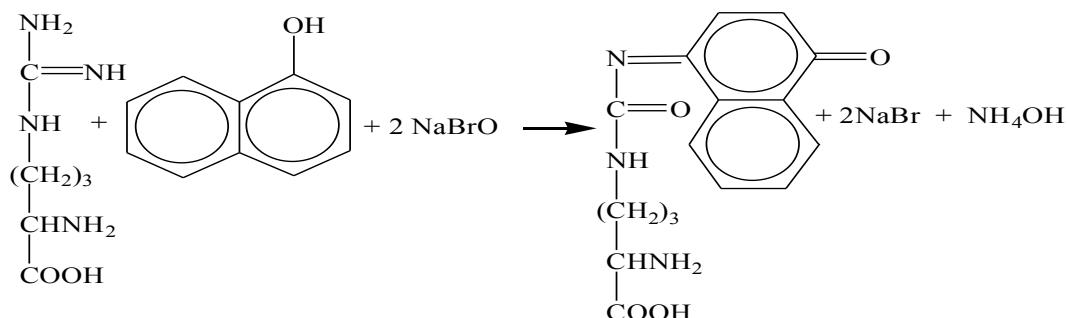
За наявності органічних розчинників, на яких готують розчин нінгідрину (ацетон, етанол), можливий перебіг побічної реакції з утворенням сполуки, яка містить радикал (R) амінокислоти.

Наявність радикалу амінокислоти у складі цієї сполуки зумовлює різне забарвлення (червоне, жовте, блакитне) сполук, які утворюються під час реакції амінокислот із нінгідрином.

Реакція з нінгідрином є специфічною для амінокислот, що містять α-аміногрупу, та характерною для деяких карбонових і циклічних амінокислот. У реакції гліцину з нінгідрином утворюється комплексна сполука синьо-фіолетового забарвлення.

Реакція Сакагучі на аргінін

Принцип реакції. Продуктом реакції аргініну, який містить гуанідинове угруповання, з гіпобромідом є окислена форма аргініну, яка внаслідок взаємодії з α -нафтолом утворює сполуку червоного кольору.

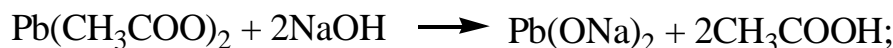


Реакція Фоля на «слабозв'язану» сірку цистеїну та цистину.

Принцип реакції. Під час кип'ятіння цистеїну та цистину в лужному середовищі від них легко відщеплюється сірка у вигляді сірководню, який у лужному середовищі утворює сульфід натрію. Рівняння реакції за участю цистеїну має такий вигляд:



Сульфід натрію можна виявити за допомогою важких металів, наприклад, йонів свинцю, які утворюють з іонами сірки нерозчинний сульфід свинцю чорного кольору. Щоб виявити сульфід сірки, можна використати ацетат свинцю, який під час взаємодії з гідроксидом натрію утворює плумбіт натрію. В свою чергу, плумбіт натрію, реагуючи з сульфідом натрію, викликає утворення сульфїду свинцю:



Біуретова реакція на пептидні зв'язки

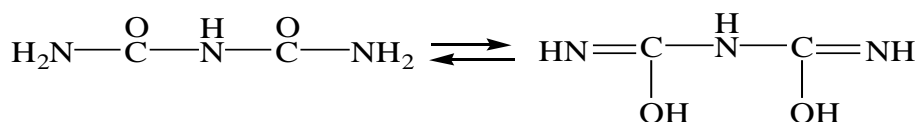
Принцип реакції. Амінокислоти, які утворюють не менше двох пептидних зв'язків ($-\text{CO}-\text{NH}-$), у лужному середовищі за наявності сульфату міді (II) утворюють комплекси з атомами міді, що забарвлені в фіолетовий колір.

Вперше реакція утворення таких комплексних сполук міді була проведена з біуретом, тому вона й має назву біуретова.

Біурет, який можна одержати під час нагрівання сечовини до температури 180°C не є амінокислотою, але має два пептидні зв'язки:



У лужному середовищі біурет зазнає енолізації за такою схемою:

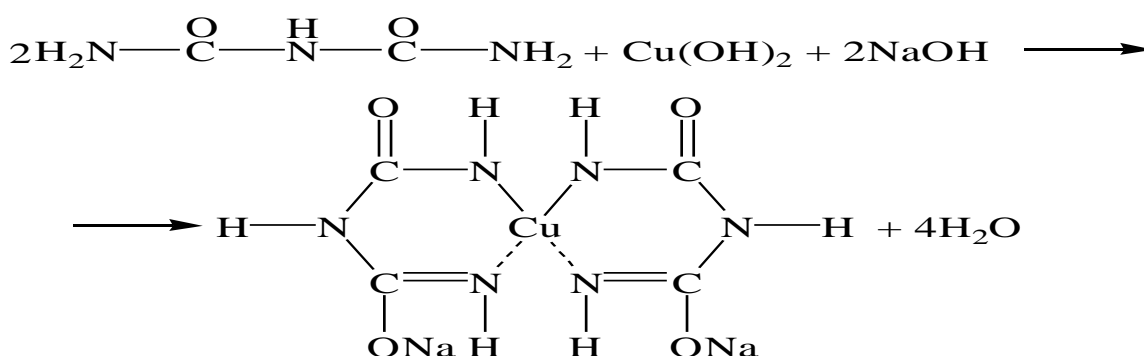


Дві молекули енольної форми біурету взаємодіють із гідроксидом міді (II) й утворюють комплекс, у якому координаційні зв'язки утворені за рахунок електронних пар атомів азоту імінних груп.

Гідроксид міді (II) для проведення біуретової реакції одержують, як правило, у результаті реакції взаємодії сульфату міді (II) із гідроксидом натрію (чи калію):



Комплекс біурету з міддю утворюється за такою схемою:

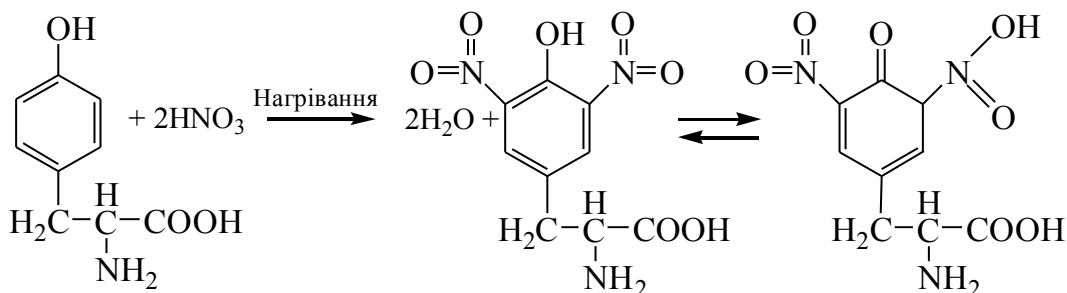


Подібний комплекс із міддю можуть утворювати деякі амінокислоти, в яких пептидні зв'язки виникають за рахунок карбоксильної та аміної групи. Прикладом такої амінокислоти може бути аспарагін.

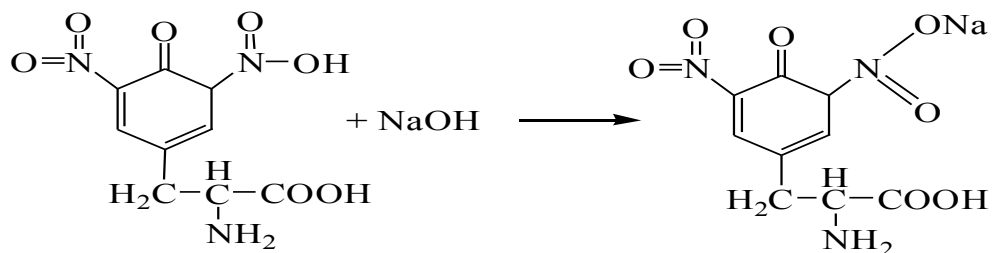
7.3 Кольорові реакції на циклічні та гетероциклічні амінокислоти

Ксантопротеїнова реакція

Принцип реакції. В ароматичних амінокислотах, які містять бензольні кільця (тирозин, триптофан, фенілаланін), під дією азотної кислоти здійснюється реакція нітрування бензольного кільця з утворенням забарвленої у жовтий колір нітросполуки. Розглянемо цю реакцію на прикладі тирозину:

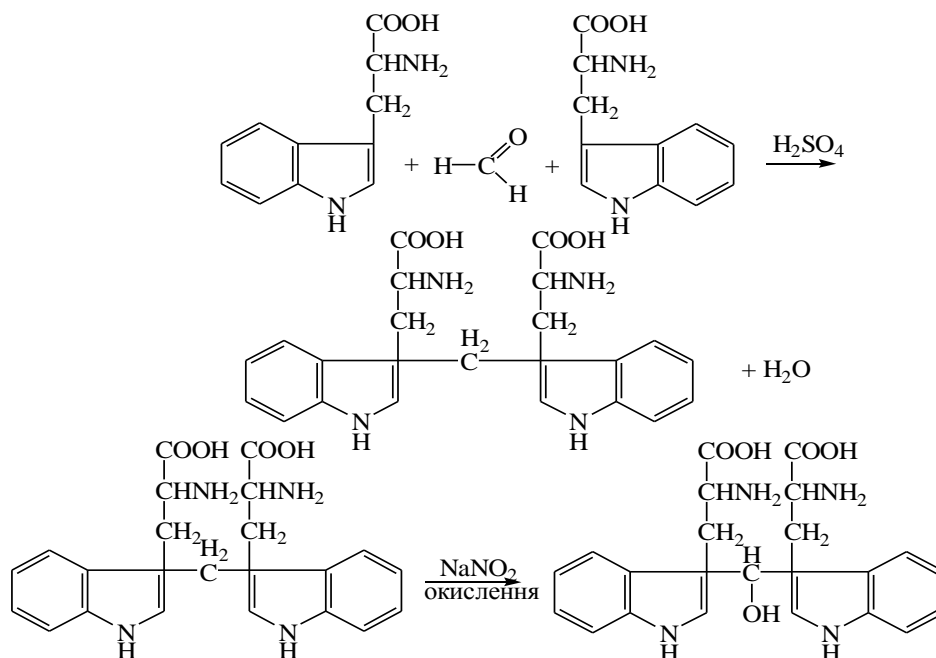


У реакції гідроксиду натрію з хіноїдною формою динітритирозину утворюється натрієва сіль динітритирозину, яка має жовтогаряче забарвлення:



Реакція Вуазене на триптофан

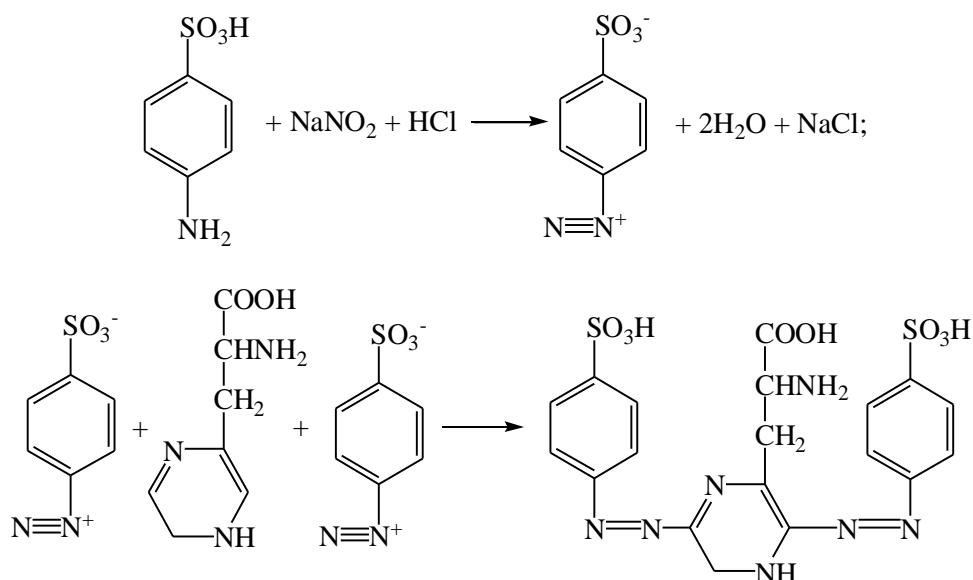
Принцип реакції. Триптофан, конденсуючись із формальдегідом, утворює забарвлений продукт конденсації бі'с-2-триптофанілметан, який окислюється до бі'с-2-триптофанілкарбінолу:



За наявності мінеральних кислот ди-2-триптофанілкарбінол утворює солі, які забарвлені в синьо-фіолетовий колір.

Реакція Паулі на гістидин і тирозин

Принцип реакції. Під час взаємодії сульфанілової кислоти з нітритом натрію (калію) у кислому середовищі відбувається реакція діазотування. Її продуктом є діазобензол-сульфонова кислота, яка вступаючи в реакцію з гістидином (чи тирозином), утворюючи комплексну сполуку вишнево-червоного кольору



7.4 Визначення окремих амінокислот хроматографічними методами

Метод розподільчої (радіальної) хроматографії на папері

Принцип методу. Метод розподільчої хроматографії на папері для розділення амінокислот ґрунтується на відмінності коефіцієнтів розподілу окремих амінокислот між двома рідинами, що не змішуються. Хроматографічний папір, який використовується як інертний носій, може утримувати в порах велику кількість нерухокої рідкої фази.

Коефіцієнт розподілу R_f , який визначається як співвідношення відстаней, що пройшли амінокислоти та рухома фаза від точки старту, є характерною величиною для кожної амінокислоти за певних умов дослідів (склад розчинника, температура, сорт хроматографічного паперу).

Положення амінокислот на папері визначають за допомогою кольорової реакції з нінгідрином. За наявності нінгідрину окремі амінокислоти виявляються у вигляді плям, забарвлених у блакитний, фіолетовий, жовтий чи інші кольори (залежно від хімічної структури амінокислоти).

Амінокислоти у суміші ідентифікують за розподілом відомих амінокислот (стандартів) (додаток).

Методика проведення

1. Хроматографічний папір вирізають у формі кола, діаметр якого дорівнює діаметру ексикатора (чи чашки Петрі).

2. Простим олівцем коло поділяють на сегменти, в центрі роблять невеликий отвір (0,5-1 см), у який вставляють згорнутий у трубочку фільтрувальний папір (гніт).

3. Змінюючи товщину та довжину гніта, зануреного в розчинник, регулюють швидкість поширення розчинника на хроматографічному папері.

4. Олівцем біля основи гніта на хроматографічному папері в кожному сегменті позначають точку нанесення амінокислот.

5. На один із сегментів за допомогою мікропіпетки наносять суміш амінокислот (5-10 мл розчину аланіну, лейцину та глютамінової кислоти) , на інший – таку ж кількість амінокислот – стандартів.

6. Хроматографічний папір висушують на повітрі протягом 10 хв.

7. У ексикатор (або чашку Петрі) наливають розчинник – суміш н-бутанолу, оцтової кислоти та води (4:1:1) у такому об'ємі, щоб гніт був занурений у розчинник.

8. Колову хроматограму розташовують в ексикаторі (чи між двома половинками чашки Петрі).

9. Хроматограма діаметром 12 см утворюється через 1 год, діаметром 20 см – через 2 год.

10. Після завершення розподілу (фронт розчинника дійшов до встановленої відмітки) хроматограму висушують і проявляють, обприскуючи нінгідриновим реактивом із пульверизатора та прогріваючи в сушильній шафі протягом 10 хв. до температури 110 °С.

11. Амінокислоти ідентифікують, порівнюючи положення плям сумішей амінокислот і амінокислот-стандартів. За допомогою лінійки визначають відстані, пройдені розчинником та амінокислотами, й розраховують значення коефіцієнта розподілу.

Розділення суміші амінокислот методом розподільчої хроматографії в тонкому шарі целюлози

Принцип методу. На скляні пластинки наносять тонкий шар пористого носія, наприклад, целюлози. Пластинки занурюють у розчинник (рідка фаза), який, пересуваючись по шару за рахунок капілярних сил, з різними швидкостями переміщує компоненти суміші амінокислот. Плями на хроматограмі виявляють за допомогою нінгідринової реакції, положення амінокислот у суміші проводять, порівнюючи розташування плям досліджуваної суміші та амінокислот-стандартів.

Принцип методу хроматографічного розділення суміші амінокислот у тонкому шарі аналогічний методу хроматографії на папері, Але цей метод дозволяє майже в десять разів зменшити концентрацію речовин, які досліджуються.

Методика проведення

1. Ретельно вимиті та знежирені скляні пластинки вкривають за допомогою аплікатора суспензією целюлози в дистильованій воді (3 г целюлози, 14 мл води на одну пластинку) та висушують при кімнатній температурі протягом 12 год.

2. На пластинку на відстані 2 см від її нижнього краю наносять по 20 мл суміші амінокислот та їх стандартні розчини. Плями, які виникають на пластинці після нанесення досліджуваних речовин, підсушують так, щоб їх діаметр перебував у межах 3-4 мм.

3. Пластинку розташовують у хроматографічній камері, насиченій парами розчинника, занурюючи її нижній кінець у розчинник на 0,5-1 см. Хроматографування припиняють, коли фронт розчинника досягне зазначеного рівня – не менше 10 см (приблизно протягом 1 год.). Потім пластинку висушують та проявляють, обприс-

куючи нінгідриновим реактивом з пульверизатора та прогриваючи протягом 10 хв. при температурі 110 °С.

4. Порівнюючи положення плям суміші амінокислот і їх стандартів, амінокислоти ідентифікують. Визначивши за допомогою лінійки відстань, яку пройшли розчинник і амінокислоти, обчислюють коефіцієнт розподілу R_f таким же чином, як під час розділення ліпідів і амінокислот за допомогою методу радіальної хроматографії на папері.

$$R_f = a/v$$

(де a – відстань від центру нанесення суміші амінокислот до межі першої чи наступної амінокислоти, v – відстань від центру нанесення суміші амінокислот до кінцевої межі поширення розчинника).

Методика проведення

1. У дві пробірки (дослідну і контрольну) наливають по 0,5 мл розчинів пірвіноградної і глутамінової кислот, по 1 мл розчину монобромуксусної кислоти (для запобігання гліколізу).

2. В обидві пробірки додають по 0,5 г свіжої м'язової кашки. У контрольну пробірку негайно доливають 0,3 мл розчину оцтової кислоти і цю пробу кип'ятять на водяній бані 2-3 хв. для інактивації ферментів.

3. Пробірки поміщають у термостат на 1,5 год., періодично помішуючи їхній вміст скляними паличками. По закінченню інкубації проби виймають з термостата. У дослідну пробу додають 0,3 мл розчину оцтової кислоти і кип'ятять її на водяній бані 2-3 хв. Відфільтровують вміст кожної проби через маленький фільтр у чисту пробірку, відзначаючи її відповідним номером.

4. Підготовлюють лист хроматографічного паперу. Відступаючи 1 см від краю паперу, помічають чотири точки. На першу точку наносять капілярком розчин глутамінової кислоти, на другу – аланіну (тобто розчини «свідків»), у третю – дослідної проби, у четверту – контрольної проби. Нанесення розчинів роблять обов'язково чистими капілярами. Розчини дослідної і контрольної проби наносять два-три рази в ту саму точку, попередньо просушивши на повітрі краплю, нанесену вперше раз, для того, щоб збільшити концентрацію амінокислот у місці нанесення.

5. Хроматограми поміщають у хроматографічну камеру і хроматографують у бутилово-оцтово-водній суміші (40:15:5). Хроматограми висушують і виявляють у розчині нінгідрину. Потім прогривають у сушильній шафі при 100° С.;

Пофарбовані плями амінокислот обводять олівцем, (тому що плями знебарвлюються), розраховують R_f і порівнюють інтенсивність плям глутамінової кислоти й аланіну в дослідній і контрольній пробах.

6. Записують принцип методу, реакцію трансамінування, розрахунок R_f для плям амінокислот, роблять висновки.

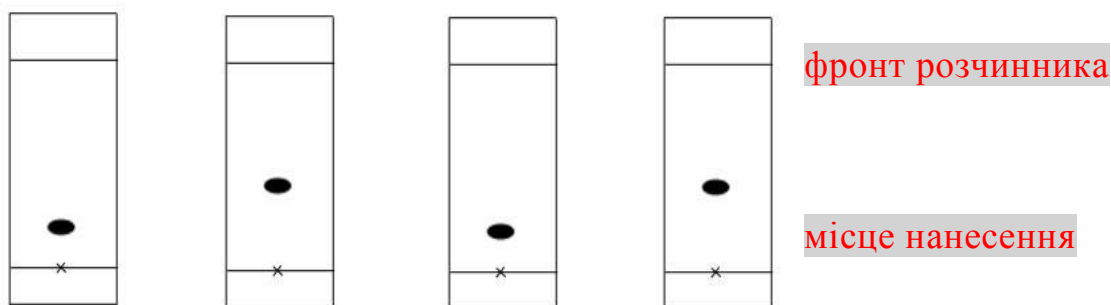


Рис. 7.1 Виявлені хроматограми

7.5 Біологічне значення амінокислот та пептидів

Амінокислоти являючись будівельними блоками пептидів і білків, виконують і ряд інших важливих функцій. Деякі з них приймають участь у передачі нервових імпульсів; прикладами служать гліцин і глютамінова кислота. В їжі повинні міститися незамінні амінокислоти, оскільки організм людини не здатен синтезувати їх в кількостях, достатніх для росту. В результаті метаболізму амінокислот утворюється багато сполук, які мають важливе біологічне значення. Наприклад, при декарбоксілуванні деяких амінокислот утворюються відповідні аміни, і деякі з них (гістамін, γ -аміномаєляна кислота (ГАМК)) виконують важливі біологічні функції. Ряд аномальних процесів, які виникають в організмах, пов'язані з порушенням транспорту амінокислот до клітин.

Отже, амінокислоти:

- Входять до складу білків організму людини.
- Входять до складу пептидів організму людини.
- З амінокислот утворені в організмі багато низькомолекулярних біологічно-активних речовин: ГАМК, біогенні аміни та ін.
- Частина гормонів в організмі – похідні амінокислот (гормони щитовидної залози, адреналін).
- Попередники азотистих основ, що входять до складу нуклеїнових кислот.
- Попередники порфіринів, що йдуть на біосинтез гема (для гемоглобіну і міоглобіну).
- Беруть участь у біосинтезі медіаторів у нервовій системі (ацетилхолін, дофамін, серотонін, норадреналін та ін.).

Пептиди – органічні молекули, до складу яких входить кілька залишків амінокислот, зв'язаних пептидним зв'язком. У залежності від кількості залишків амінокислот і молекулярної маси розрізняють:

1. Низькомолекулярні пептиди, що містять у своєму складі від двох до десяти залишків амінокислот. Наприклад: ди-, три-, тетра-, пента- пептиди і т.д.
2. Пептиди із середньою молекулярною масою – від 500 до 5000 Д, так звані «середні молекули».
3. Високомолекулярні пептиди з молекулярною масою від 5000 до 16000Д.

Пептиди мають значну біологічну активність, будучи регуляторами ряду процесів життєдіяльності. У залежності від характеру дії і походження пептиди поділяють на кілька груп:

Пептиди-гормони: вазопресин, окситоцин, глюкагон, кальцитонін, релізинг-фактори та ін.

Пептиди, що беруть участь у регуляції травлення: гастрин, секретин, панкреатичний поліпептид (ПП), вазоактивний поліпептид та ін.

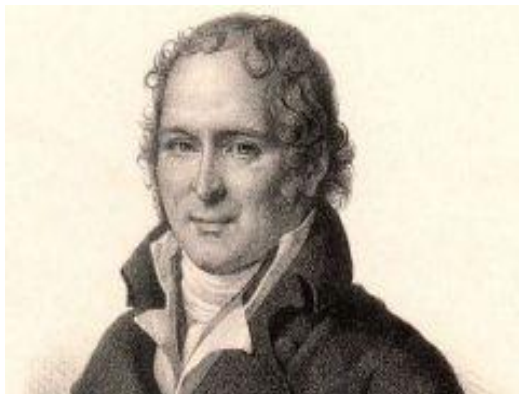
Пептиди крові: глутатіон, ангіотензин, брадикінін, каллідін та ін.

Нейропептиди: пептиди пам'яті, пептиди сну, ендорфіни, енкефаліни та ін.

Пептиди, що беруть участь у скороченні м'язів: анзерин, карнозин.

Пептиди-«середні молекули» – внутрішні ендотоксини, що утворюються в організмі в результаті різних патологічних процесів, що обумовлюють складність протікання захворювання.

7.6 Структурна організація білків



Антуан Франсуа, граф де Фуркруа

Антуан Франсуа, граф де Фуркруа (фр. Antoine François, comte de Fourcroy; 15 червня 1755, Париж – 16 грудня 1809, Париж) – французький хімік і політичний діяч, член Паризької академії наук з 1785 року. Спільно з Антуаном Лавуазьє, Гітоном де Морво та Клодом Бертолле брав участь у розробці *Méthode de Nomenclature Chimique* (Париж, 1787) – нової раціональної хімічної номенклатури.

Основну роль у процесах життєдіяльності відіграють білки, які є полімерами 22 природних амінокислот зі специфічними структурами.

Білки – високомолекулярні органічні сполуки, азотовмісні нерегулярні біополімери, побудовані з великої кількості залишків амінокислот, сполучених пептидним та іншими видами зв'язків. Білки були виділені в окремий клас біологічних молекул у 18 столітті в результаті робіт французького хіміка Антуана де Фуркруа та інших учених, у працях яких було відмічено властивість білків коагулювати при нагріванні або під дією кислот.

Свою назву білки дістали від яєчного білка, що з давніх-давен використовувався як харчовий продукт. Уперше термін **“білки”** було застосовано за аналогією з яєчним білком французьким фізіологом Ф. Кейе у 1747 р. Пізніше, у 1838 р., голландський дослідник Н. Мульдер білки назвав протеїнами. Назва протеїни (від грец. *protos* – перший, найважливіший), найбільш точно відображає першочергове біологічне значення цього класу речовин. З розвитком біохімії повне експериментальне підтвердження одержало філософсько-теоретичне положення про сутність життя: “Життя - це спосіб існування білкових тіл.”

У живих клітинах синтезується багато макромолекул (білків, нуклеїнових кислот, полісахаридів), які відіграють роль структурних компонентів, біокатализаторів, гормонів, рецепторів або у них зосереджена генетична інформація. Ці макромолекули представляють собою біополімери, які побудовані з мономерних одиниць, або структурних блоків. В нуклеїнових кислотах мономерними одиницями є нуклеотиди, у складних полісахаридах – цукри і їх похідні, а у білках – L- α -амінокислоти. Білки, крім того можуть містити й інші компоненти, однак трьохвимірна структура, а відповідно, й їх біологічне значення визначається в основному амінокислотним складом, порядком чергування амінокислот у поліпептидному

ланцюзі і як наслідок їх взаємним просторовим розміщенням. До складу білків входить в основному 22 амінокислоти.

Схематично молекулу білка можна зобразити як $\text{NH}_2\text{-R-COOH}$, де R – залишок молекули білка без функціональних груп. Цей залишок виникає внаслідок взаємодії сотень тисяч амінокислот, утворюючи між собою міцний ковалентний пептидний зв'язок (-CO-NH-).



Молекулярна маса білків коливається від декількох тисяч (47 000 – інсулін) до сотень мільйонів (322 000 000 – білок вірусу грипу). У молекулі білка є один або декілька поліпептидних спіралізованих ланцюгів. Розрізняють чотири рівні структурної організації молекули білка – *первинний, вторинний, третинний і четвертинний*.

Є дві основні просторові форми молекули білка – глобулярна і фібрилярна. У фібрилярних молекул довжина макромолекули у тисячі разів перевищує товщину. Так, довжина молекули проколагену – 300 нм, ширина – десяті частки нанометра, тоді як довжина молекул глобулярних білків – 30 нм, ширина – 20-30 нм.

Поверхня молекули білка містить велику кількість гідрофільних груп, які утворюють гідратну оболонку. Гідрофобні частини молекули в основному розміщені всередині. При формуванні молекули білка деяка частина молекул води утягується всередину її і складає інтерміцельну воду.

Модель просторової конфігурації поліпептидного ланцюга у вигляді спіралі вперше запропонували *Л. Полінг і Р. Корі в 1951 р.* на основі даних рентгеноструктурного аналізу білків і пептидів (рис. 7.2). Спіральна структура утворюється, як правило, тоді, коли в усіх ланках поліпептидного ланцюга кути повороту навколо простих зв'язків близькі до 60 або 45°. Це приводить до поступового закручування поліпептидного ланцюга та утворення α -спіралі.

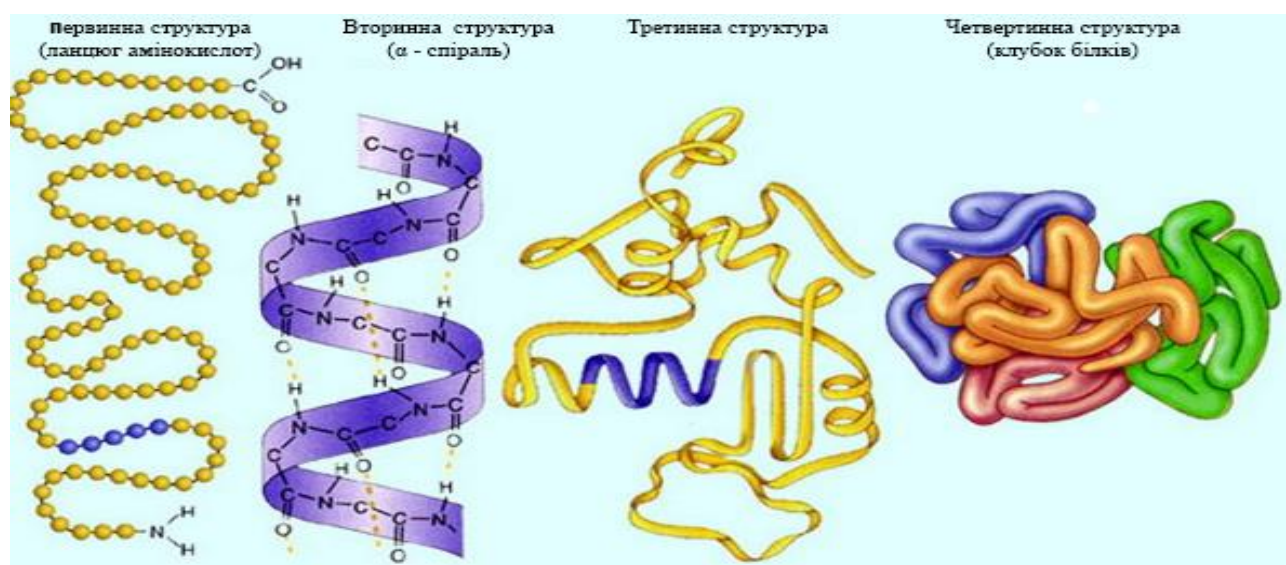
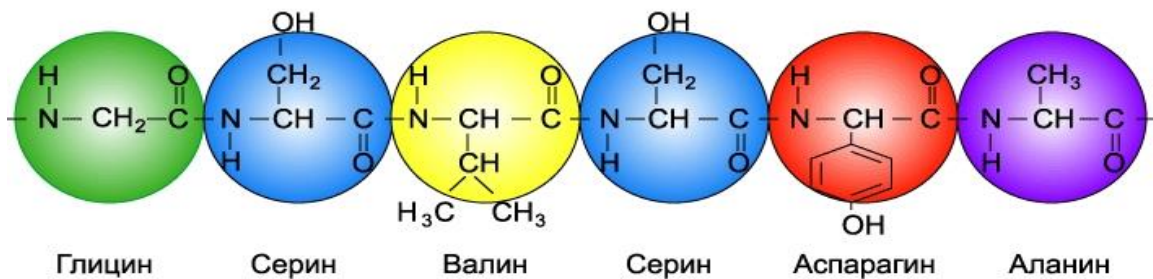


Рис. 7.2 Рівні структурної організації білкових молекул

Згідно з розрахунками Л. Полінга і Р. Корі, *α-спіраль* є найоптимальнішою у енергетичному відношенні, оскільки має найменший рівень вільної енергії. Стабілізується *α-спіраль* внутрішньомолекулярними водневими зв'язками, які виникають між воднем іміногрупи та киснем карбонільної групи пептидних угруповань остову поліпептидного ланцюга.

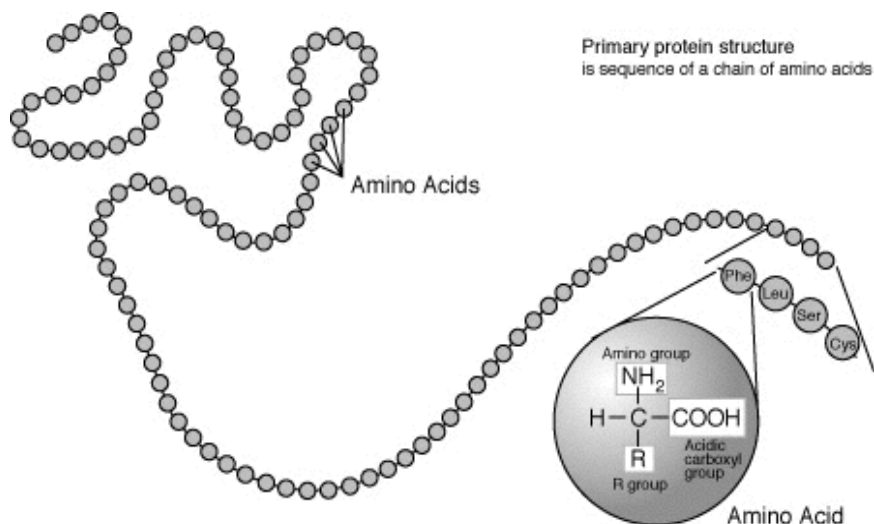
Первинна структура білка

Первинна структура білка являє собою лінійний ланцюг залишків *α*-амінокислот, які розташовані у певній послідовності у поліпептидному ланцюзі та з'єднані між собою пептидними зв'язками (рис. 7.3). Отже, під первинною структурою білка розуміють певна кількість, склад і послідовне розташування амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі.



Кожен білок має специфічну структуру, котра визначається генетичною інформацією. Основу первинної структури складають ковалентні пептидні зв'язки - **CO-NH**-.

Кількість різновидів білкових молекул у природі досить велика, їхня різноманітність пов'язана з різним набором



з різним набором амінокислот, що входять до складу білка, і порядком їх чергування в поліпептидному ланцюзі.

Рис. 7.3 Первинна структура білку

В організмі людини і тварин існує близько 100 тис. різних білків. Основа білкової молекули характеризується абсолютною подібністю будови. При цьому радикали (R) амінокислотних залишків розташовані зовні, по обидва боки поліпептидного ланцюга в транс-положенні. Стандартні значення міжатомних відстаней і валентних кутів у ньому представлені на *рис. 7.4*

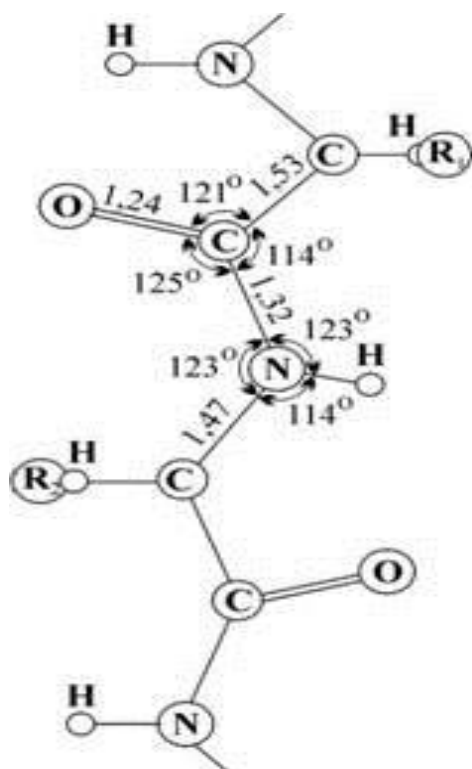


Рис. 7.4 Валентні кути і між атомні відстані у поліпептидному ланцюзі

На даний час розшифровано амінокислотну послідовність більше 2500 білків: гемоглобінів, імуноглобулінів, цитохромів, білківрибосом, великої кількості ферментів (пепсин, хімотрипсин, лізоцим, альдолаза та ін.).

Успішне вивчення первинної структури білків обумовило їх хімічний синтез (наприклад, інсуліну, рибонуклеази та ін.). Таким чином, первинна структура білка (поліпептидний ланцюг) – це загальна структурна формула білків.

Вторинна структура білка

Вторинна структура являє собою впорядковану просторову конформацію поліпептидного ланцюга. Вона утворюється за рахунок водневих зв'язків між пептидними групами в одному поліпептидному ланцюзі або між сусідніми поліпептидними ланцюгами.

При цьому конформація може набувати вигляду спіральних і шарувато складчастих структур (рис. 7.5). Вторинна структура

представлена такими регулярними структурами, як α -спіраль, β -структура (складчастий шар або лист) та β -вигин. Певна частина поліпептидного ланцюга не має впорядкованої структури, такі ділянки називають аморфними, або безструктурними зонами.

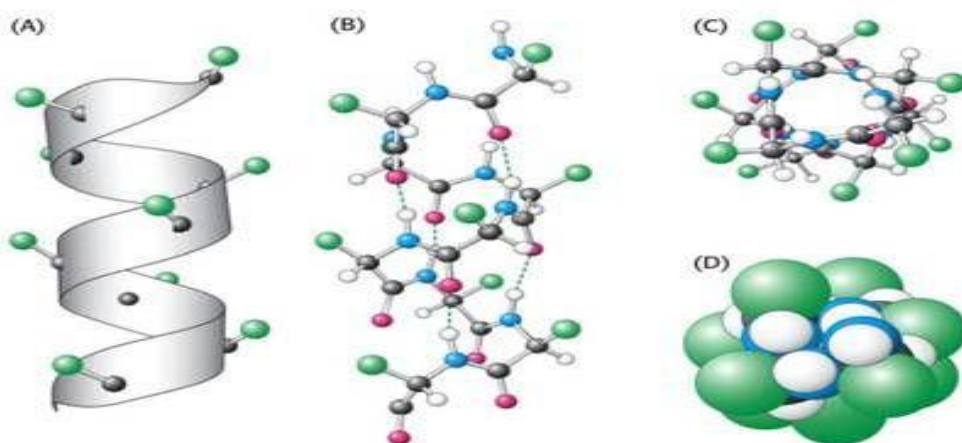


Рис. 7.5 Приклад α -спіралі: *A* – схема, *B* – молекулярна структура, *C* – вид зверху, *D* – модель просторової структури.

Для пептидів найвигіднішою конформацією є з певною спіральозакрученою структурою, є ***α-Спіраль***. У природних білках виявлено тільки праві *α*-спіралі.

При формуванні *α*-спіралі водневі зв'язки утворюються в поліпептидному ланцюзі між кожною карбонільною (-CO-) групою і четвертою за ходом ланцюга – NH-групою. На кожний виток спіралі припадає 3,6 амінокислотних залишків.

Стабільність структури залежить від бокових радикалів залишків амінокислот, розташованих у різних ділянках поліпептидного ланцюга. Так, дослідження, проведені з поліпептидами амінокислот, показали, що деякі амінокислоти (аланін, метіонін, лейцин, фенілаланін, тирозин, триптофан, гістидин) сприяють утворенню *α*-спіралі, інші – гліцин, серин, треонін, лізин, аргінін, аспарагінова і глютамінова кислоти – її дестабілізують..

Наведені дані можуть бути однією з можливих причин того, що поліпептидний ланцюг у молекулах білка спіралізується неповністю. Наприклад, *α*-кератин є повністю *α*-спіралізованим білком. Білок м'язів параміозин спіралізований на 96–100%, міоглобін і гемоглобін – 75%, альбумін сироватки крові – 50%, альбумін курячого яйця – 45%, лізоцим – 35%, пепсин – 38%, рибонуклеаза – 17%, хімотрипсин – 11%. Крім *α*-спіралі, у білках виявлено інші типи спіралей, до витків яких входять 3,0 або 4,4 залишки амінокислот. Такі спіралі зустрічаються дуже рідко, в основному на коротких ділянках, утворюючи на кінцях *α*-спіралі 1-2 витки. Білки зі структурою *α*-спіралі можуть бути або глобулярними (альбуміни і глобуліни яєчного білка і молока, а також пепсин та ін.), або фібрилярними (міозин, еластин, *α*-кератин та ін.).

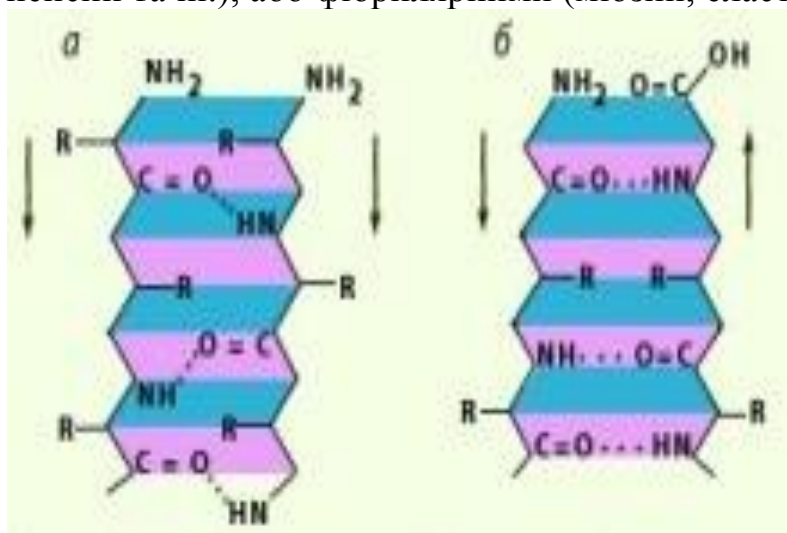


Рис. 7.6 Схематичне зображення *β*-структури: *а*- паралельні ланцюги; *б* – антипаралельні ланцюги.

β-Структура. Іншим різновидом вторинної структури білків є *β*-структура, яка називається також складчастим шаром, або листом. Цей різновид вторинної структури має слабо вигнуту конфігурацію поліпептидного ланцюга. Вона формується за допомогою міжпептидних водневих зв'язків у

межах окремих ділянок одного поліпептидного ланцюга, де водневі зв'язки розміщені в середині поліпептидного ланцюга (коротка β -структура), або групою близько розташованих суміжних поліпептидних ланцюгів у молекулі, де водневі зв'язки замикаються між ланцюгами (повна β -структура).

У більшості випадків складчасті шари містять не більше шести поліпептидних ланцюгів. Залежно від взаємної орієнтації ланцюгів розрізняють паралельні й антипаралельні β -структури (*рис. 7.6*). При цьому, якщо ланцюги паралельні, тобто мають однаковий напрямок від N- до C-кінця, то утворюється паралельний складчастий шар (наприклад, у β -кератину). Антипаралельні ланцюги (N-кінці спрямовані у протилежні боки) утворюють структуру антипаралельного складчастого шару (наприклад, у фіброїні шовку).

Доведено, що в складі β -структур рідко зустрічаються глутамінова кислота, аспарагін, гістидин, лізин, серин, пролін. Стабільність складчастого шару визначається, головним чином, міжпептидними водневими зв'язками. Інші типи зв'язку майже не беруть у цьому участі, за винятком дисульфідних зв'язків, які виникають уперек у місцях знаходження залишків цистеїну. У білках можливі переходи α -структур у β -структури і навпаки внаслідок перебудови водневих зв'язків. Такий перехід виявлено в кератині – білку волосся: α -кератин переходить у β -кератин. У структурі багатьох білків одночасно присутні α -спіралі і β -структури (лізоцим, хімотрипсин, рибонуклеаза, лактадегідрогеназа, інсулін та ін.).

Третинна структура білків. Третинна структура білків являє собою спосіб укладання поліпептидного ланцюга з елементами вторинної структури (α -спіралі і β -структури) у просторі, який досягається за рахунок взаємодії між радикалами залишків амінокислот. Для багатьох білків третинна структура еквівалентна повній просторовій структурі. Третинна структура білка визначає форму білкової молекули, утворюючи або глобулу (глобулярні білки) або достатньо витягнуті волокна (фібрилярні білки). У глобулярних білків поліпептидний ланцюг вигинається в просторі, складається в компактну, унікальну тривимірну конформацію, притаманну певному білку зі специфічною функцією.

У молекулі білка з третинною структурою зустрічаються спіралізовані ділянки (α -спіралі), шаруваті (β -структури) та ділянки у формі безладного клубка, тобто такі, що не мають будь-якої періодичної структури. Тільки правильне просторове укладання білка робить його активним: порушення його структури призводить до зміни властивостей білка і втрати біологічної активності.

Стабільність тривимірної структури забезпечують усі можливі типи зв'язків (дисульфідні, водневі, гідрофобні, іонні) (*рис. 7.7*). Рушійною силою виникнення тривимірної структури є взаємодія радикалів амінокислот із молекулами води. Гідрофобні радикали амінокислот розташовані всередині білкової молекули. Гідрофільні групи виявляються орієнтованими у бік води. Отже, в утворенні певної тривимірної структури важливу роль відіграють гідрофобні зв'язки і жорсткість пептидного зв'язку.

Дисульфідні зв'язки (-S-S-) утворюються між боковими радикалами цистеїнів, що знаходяться на різних ділянках поліпептидного ланцюга; водневі зв'язки виникають між двома електронегативними атомами, коли протон водню, ковалентно зв'язаний з одним із цих атомів, розташовується між ними. Таким чином, виникають сприятливі умови для утворення водневих зв'язків у білках, наприклад, між негативно зарядженим кислотним залишком моноамінодикарбонових кислот (-COO⁻) і гідроксигрупами тирозину, серину, треоніну або NH₂- і SH-групами бічних радикалів і багато інших амінокислот.

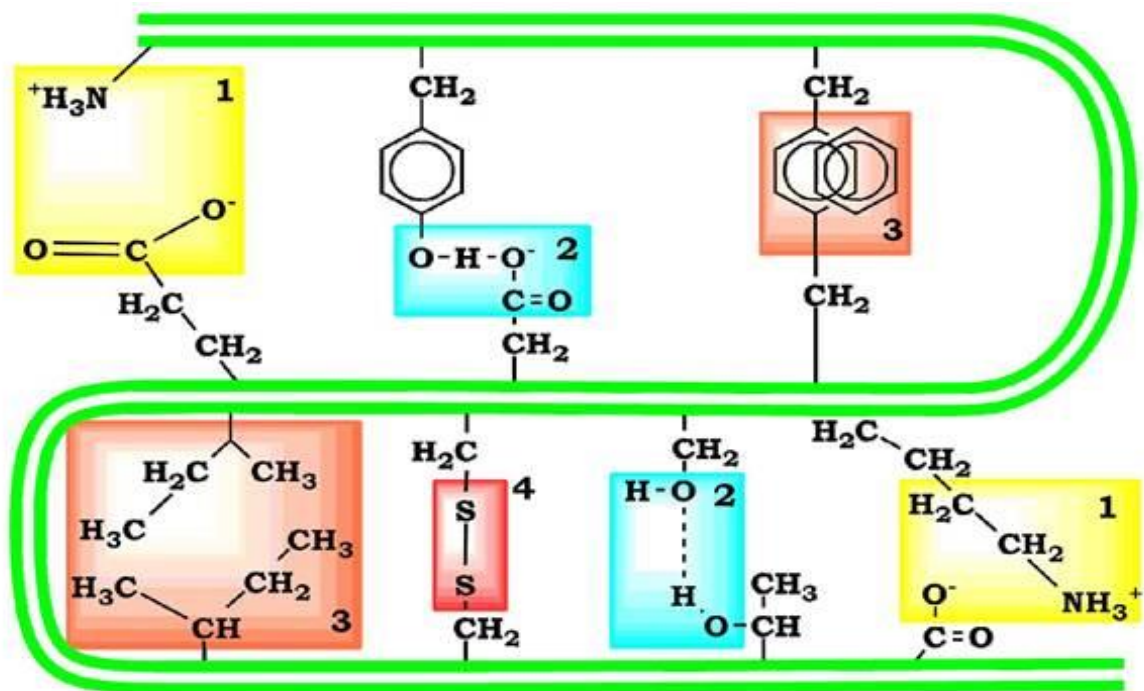


Рис. 7.7 Типи зв'язків, що стабілізують третинну структуру білка

Іонні або електростатичні взаємодії виникають під час контакту заряджених груп бічних радикалів -NH₃⁺ (лізин, аргінін, гістидин) і COO⁻ групою аспарагінової і глутамінової кислот. Гідрофобні зв'язки або Ван-дер-ваальсові взаємодії - між вуглеводневими радикалами амінокислот аланіну, валіну, лейцину, ізолейцину, фенілаланіну, триптофану.

Четвертинна структура білків. Білки, побудовані з одного поліпептидного ланцюга, мають тільки третинну структуру. Але багато білків складаються із декількох ідентичних або неідентичних поліпептидних ланцюгів, кожен з яких має свою третинну конформацію. Об'єднуючись, вони утворюють єдиний функціональний комплекс із вищим рівнем організації - четвертинну структуру білка.

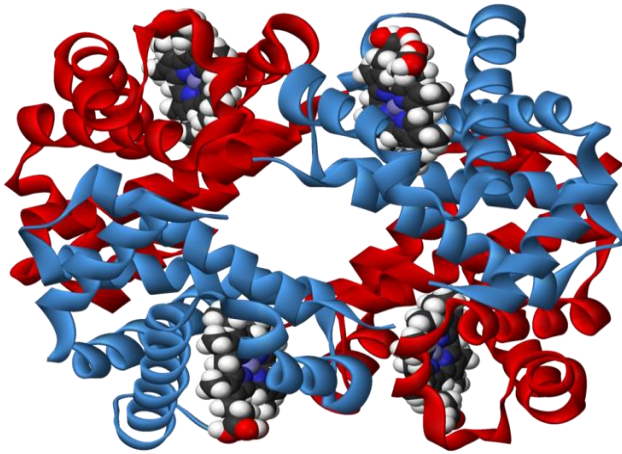


Рис. 7.8 Четвертинна структура гемоглобіну крові

Білки, які мають четвертинну структурну організацію, називають *олігомерними*. Кожний окремий поліпептидний ланцюг у складі олігомерного білка називається *протомером*, або *субодиноцею*. Олігомерні білки найчастіше побудовані з парного числа протомерів – від 2 до 4 (димери, тетрамери), рідше від 6 до 8, 10, 12 і більше з молекулярною масою в межах від декількох тисяч до 100000 дальтон. Такі білки являють собою неподільне ціле і виконують біологічні функції, не властиві окремо взятим субодиноцям. При дії на білки з четвертинною структурною організацією різних фізичних або хімічних факторів (сечовина, концентровані розчини нейтральних солей, органічні розчинники, детергенти, зміна рН середовища тощо) спостерігається дисоціація їх на окремі субодиноці. При цьому розриваються зв'язки, що стабілізують четвертинну структуру.

Дисоціація часто буває оборотною: після вилучення відповідного агента субодиноці сполучаються між собою і четвертинна структура відновлюється. У цьому процесі важливим є те, що при відновленні структури олігомерного білка відновлюється і його біологічна активність. У білків з четвертинним рівнем організації не змінюється основна конформація початкових третинних структур.

Наприклад, гемоглобін – це білок, що має четвертинну структуру і складається з чотирьох субодиноць (*рис. 7.8*). Кожна із субодиноць – глобулярний білок і в цілому гемоглобін також має глобулярну конформацію. Кератини – білки волосся і шерсті, які за третинною структурою належать до фібрилярних білків, мають фібрилярну конформацію четвертинної структури. Отже, четвертинна структура білка – це спосіб взаємного розташування в просторі окремих поліпептидних ланцюгів у молекулі, а також характер зв'язку між ними; стабілізується і підтримується в нативному стані, в основному за рахунок слабких нековалентних зв'язків (іонних і водневих) і гідрофобних взаємодій, котрі виникають між різними функціональними групами, розташованими на поверхні субодиноць. Наявність усіх чотирьох рівнів структурної організації необов'язкова для кожного білка. Обов'язковою структурою для всіх білків є первинна структура.

7.7 Класифікація білків. Прості і складні білки

Принципи класифікації білків

В основу класифікації білків покладена їх структурна організація. Класифікація відноситься до будови доменів (компактних глобул), що існують або самі по собі, або в складі багатодоменового білка.

За хімічним складом всі білки ділять на *прості*, що складаються тільки з амінокислотних залишків, і *складні*.

Прості білки поділяються на фібрилярні, розчинні у воді (актин, міозин) і нерозчинні (кератин, еластин, колаген), і глобулярні (альбуміни, глобуліни, протаміни, гістони, проламіни).

Фібрилярні білки.

Колагени, еластин, кератин відносяться до нерозчинних фібрилярних білків, які складають зовнішній покрив тіла тварини і знаходяться в скелеті і в сполучній тканині.

Колагени широко поширені в живих організмах. З них складаються сполучна тканина; вони знаходяться в хрящах. Кістки хребетних тварин складаються з неорганічних речовин (фосфорнокислого і вуглекислого кальцію), жиру і колагену. При кип'ятінні з водою колагени утворюють клей. Типова молекула колагену складається з трьох поліпептидних ланцюгів типу (α -спіралей), скручених у вигляді правої потрійної спіралі, в складі якої часто зустрічаються залишки проліну і 4-гідроксипроліну.

Еластин - основний білковий компонент, з якого складаються еластичні волокна. Загальним для колагену і еластину є велика кількість проліну і гліцину, невелика - метіоніну, відсутність триптофану і цистеїну. На відміну від колагену в еластині багато валіну і аланіну і менше глутамінової кислоти і аргініну. Еластин входить до складу жил та інших еластичних речовин сполучної тканини.

Кератин є головною складовою частиною волосся, рогів, копит, нігтів, пір'я і верхнього шару шкіри. Шкаралупа курячого яйця складається із вапна і кератину. За хімічним складом кератин багатий сіркою.

Глобулярні білки.

Альбуміни розчинні у воді, прикладами їх можуть бути альбумін білка курячого яйця, альбумін кров'яної сироватки, альбумін м'язової тканини, молочний альбумін, підтримують онкотичний тиск плазми крові, виконують транспортні функції, осадження цих білків відбувається 80-100% насиченим розчином сульфату амонію.

Глобуліни нерозчинні в воді, але розчиняються в дуже слабких розчинах солей; осадження цих білків відбувається при меншій концентрації середніх солей, наприклад $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 50% насиченням. Ці білки є дуже слабкими кислотами. Прикладом глобулінів можуть бути: фібриноген, глобулін кров'яної сироватки, глобулін м'язової тканини, білка курячого яйця. Виконують транспортну і захисну функцію.

Гістони білки володіють основними властивостями. Знаходяться в складі нуклеопротейдів. До їх складу входять лізин і аргінін, вміст яких не перевищує 20-30%. Відіграють важливу роль у регуляції експресії генів. Мають невелику молекулярну масу (до 5000Да).

Проламіни і глютеліни знаходяться в зернах різних хлібних злаків. Розчиняються в 80% -ному етиловому спирті, в той час як інші білки в цих умовах випадають в осад. Представником цих білків можуть бути гліадин, що становить головну частину клейковини.

Важливими компонентами живих організмів, які містяться у них в значній кількості, є **складні білки**. Окрім амінокислот, до їх складу входить ще небілковий компонент.

Молекула складного білка визначається терміном – «холопротейн». Холопротейн складається з апопротейну (поліпептиду) та небілкового компонента – простетичної групи (від гр. prostheto – приєдную, додаю):

холопротейн=апопротейн +простетична група

Складні білки залежно від природи простетичної групи підрозділяються на ряд класів:

- 1) **лінопротейди** (хиломікрони, лінопротейни різної щільності);
- 2) **глікопротейди** (містять залишки цукрів, маса білкової частини перевищує масу вуглеводної частини);
- 3) **протеоглікани** (полісахариди, що містять поліпептидні участки);
- 4) **фосфопротейди** (казеїн);
- 5) **металопротейди** (феритин);
- 6) **нуклеопротейдами**;
- 7) **хромопротейди** (гемоглобін, цитохроми, міоглобін).

Лінопротейди. Лінопротейди являють собою комплекс білків з жирами (**Рис.7.9**), різні фракції лінопротейдів сироватки крові здійснюють транспорт жирів у організмі. Крім того, лінопротейни можуть входити до складу клітинних мембран, внутріклітинних утворень, оболонки нервів, плазми крові.

Наявність у молекулі складного білка гідрофобного (ліпідного) компоненту забезпечує можливість його вбудовуватись у ліпідний бішар клітинних мембран. До складу лінопротейдів мембран часто входять залишки пальмітинової або міристинової кислот.

Між компонентами лінопротейнів крові відсутні міцні ковалентні зв'язки.

Взаємозв'язок між білками й ліпідами в них забезпечується за рахунок сил слабких взаємодій – переважно гідрофобних, водневих та ван-дер-ваальсових. Ліпіди нездатні розчинятись у полярних розчинниках і, в тому числі, в плазмі крові. Тому їх перенесення в крові можливо тільки в складі переносників – лінопротейдів.

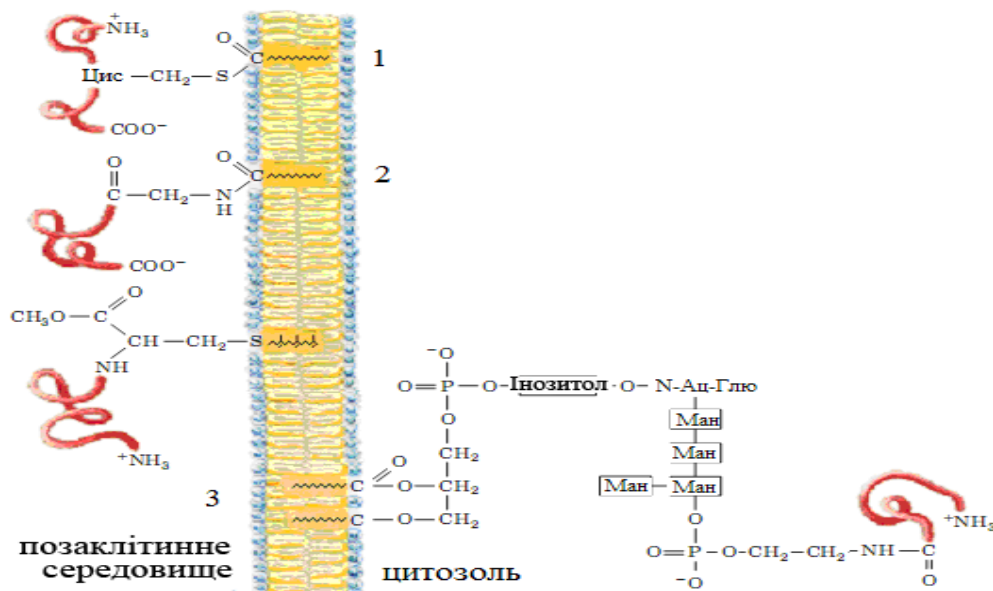


Рис. 7.9 Топографія різних типів ліпопротеїдів в клітинній мембрані. Ліпопротеїди, що містять в структурі: 1 – міристинову кислоту; 2 – пальмітинову кислоту; 3 – фосфатидилінозитол

Глікопротеїди. До глікопротеїдів належать складні білки, що містять у своїй структурі міцно зв'язані залишки вуглеводів. Усі глікопротеїди поділяються на дві групи: **власне глікопротеїди** (містять до 4 % вуглеводних компонентів); **протеоглікани** (колишня назва мукопротеїни – містять до 90 - 95 % і більше вуглеводних компонентів).

До типових **глікопротеїдів** відносять більшість білкових гормонів, велика кількість мембранозв'язаних білків, а також розчинні внутрішньоклітинні білки, що знаходяться у цитоплазмі, матриксі мітохондрій, нуклеоплазмі, всі антитіла (імуноглобуліни), білки плазми крові, молока, інтерферони, рецепторні білки та ін. Глікопротеїди виконують специфічні функції: забезпечують клітинну адгезію, молекулярне і клітинне впізнавання, антигенну активність пухлинних клітин, володіють захисною і гормональною, а також антивірусною дією.

Вуглеводний компонент глікопротеїдів може бути представлений окремими моносахаридними або олігосахаридними залишками, які мають лінійну або розгалужену структуру (**рис.7.10**); при цьому, у молекулі глікопротеїду часто міститься не один, а відразу кілька олігосахаридних залишків.

Існує два основних типи зв'язку між вуглеводним та білковим компонентами у глікопротеїдах. До першого з них належить О-глікозидний, а до другого – N-глікозидний зв'язок відповідно. Переважним типом зв'язку вуглеводного компонента з білковою частиною є N-глікозидний. Він виникає між C¹-ОН радикалом моносахаридного залишку та аміногрупою бокового ланцюга аспарагіну. У формуванні О-глікозидного зв'язку між вуглеводом та білком, як правило, беруть участь включені в поліпептидний ланцюг залишки серину.

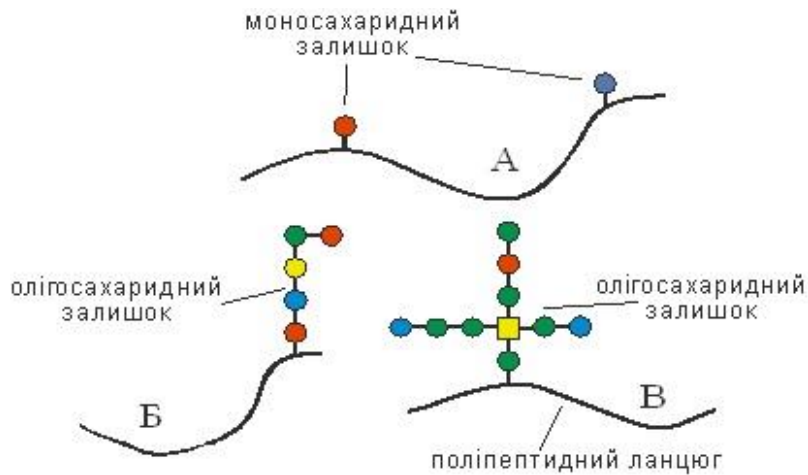


Рис. 7.10 *Різновиди вуглеводних компонентів, що зустрічаються в глікопротеїдах (А – окремі моносахаридні залишки; Б – лінійний олігосахарид; В – розгалужений олігосахарид).*

На відміну від глікопротеїдів, простетична група яких представлена олігосахаридами, до складу протеогліканів входять глікозаміноглікани (кислі мукополісахариди), що являють собою розгалужені гетерополісахариди.

Молекула глікозаміногліканів утворена дисахаридними залишками, що повторюються. До їх складу, зазвичай, входять похідні аміногексоз (D-глюкозамін або D-галактозамін) та уронові кислоти (глюкуронова кислота, галактуронова кислота тощо). Наявність великої кількості уронових кислот в глікозаміногліканах надає їм кислі властивості та обумовлює появу вираженого негативного заряду на молекулі. До найбільш поширених глікозаміногліканів, що входять до складу протеогліканів, відносяться гіалуронова та хондроїтинсульфатна кислоти, кератансульфати, гепарин та ін. (рис.7.11).

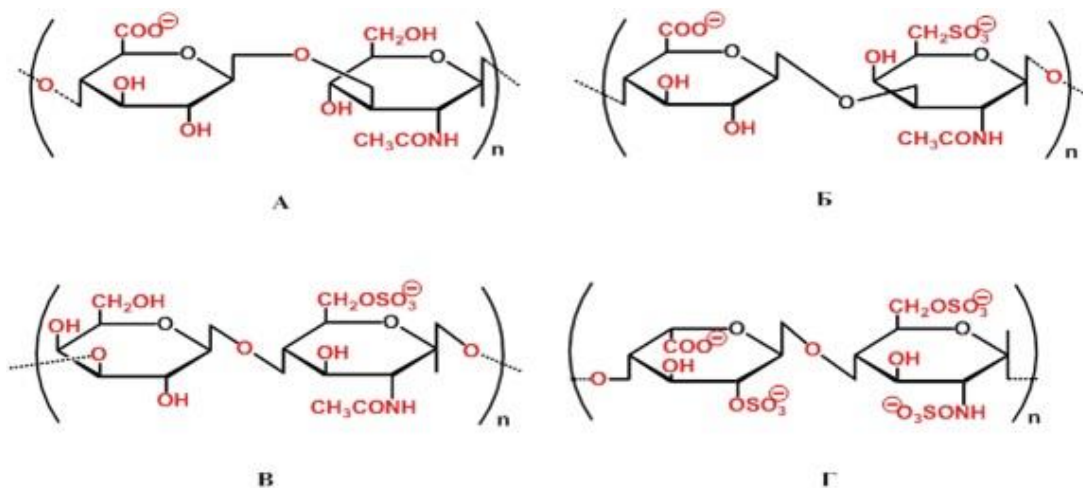


Рис. 7.11 *Структура глікозаміногліканів: гіалуронова кислота (А), хондроїтин-6-сульфатна кислота (Б), кератансульфат II (В) та гепарин (Г)*

Приєднання глікозаміногліканів до поліпептидних ланцюгів забезпечується за рахунок міцних ковалентних N- і O-глікозидних зв'язків. При цьому O-глікозидний зв'язок виникає між залишками ксилуози або N-ацетилгалактозаміну та серином по-

ліпептидних ланцюгів. N-глікозидний зв'язок у протеогліканів формується між залишками N-ацетилглюкозаміну та амідною групою аспарагіну. Протеоглікани мають тваринне походження. Більша їх частина розташована в матриксі міжклітинної речовини. Невелика кількість може бути зв'язана із зовнішньою поверхнею клітинних мембран, вони відіграють важливу роль у адгезії клітин, а також приймають участь у передачі інформації до клітини ззовні. На теперішній час встановлено, що окремі протеоглікани виступають у ролі рецепторів; беруть участь у транспорті макромолекул (антитромбіну) і навіть надмолекулярних сполук (ліпопротеїнів плазми крові).

Фосфопротеїди. Містять в своєму складі фосфор, мають виражений кислотний характер. Головним представником фосфопротеїдів є казеїн молока. Він має настільки виражений кислотний характер, що розкладає вуглекислі солі з виділенням вуглекислого газу. Казеїн розчиняється в слабких розчинах лугів, утворюючи з ними солі казеїну - казеїнати. При нагріванні казеїн не згортається. При дії кислот на солі казеїну він виділяється у вільному вигляді, цим пояснюється згортання молока при прокисанні. Казеїн містить фосфор у вигляді складного ефіру фосфорної кислоти. Вітелін знаходиться в жовтку курячого яйця.

Металопротеїди. У своєму складі мають йони одного або декількох металів. Виконують функцію транспорту і забезпечують зберігання металів в організмі (наприклад, феритин, на відміну від гемоглобіну, бере участь в транспорті і депонування заліза в організмі). До металопротеїдів відноситься і ряд ферментів. Наприклад, супероксиддисмутаза - $\text{Cu}^{+2} \text{Zn}^{+2}$, в якій Zn^{+2} виконує структурну функцію, Cu^{+2} - каталітичну.

Нуклеопротеїдами. Нуклеопротеїди знаходяться в клітинних ядрах. Виконують структурну і регуляторну функції. При гідролізі розщеплюються на білок і нуклеїнову кислоту. Нуклеїнові кислоти є досить складними речовинами; при гідролізі дисоціюють на фосфорну кислоту, вуглеводи і азотовмісні органічні речовини групи піримідину і групи пурину. У природі виявлено 2 типи нуклеопротеїдів, що відрізняються один від одного за складом, розмірам і фізико-хімічними властивостями: дезоксирибонуклеопротеїди (ДНП) і рибонуклеопротеїди (РНП). Роль нуклеопротеїдів обумовлена функцією їх складових компонентів, тобто білків і нуклеїнових кислот, а саме забезпечують: поділ клітин, синтез білка, збереження та передачу спадкової інформації.

Білковий компонент нуклеопротеїдів у людини та тварин переважно представлений гістонами та протамінами (лужні білки з $\text{pH}_i = 10$). Характерною особливістю їх будови є присутність в поліпептидних ланцюгах великої кількості діаміномонокарбонових кислот, до числа яких належить аргінін та лізин. Частка цих амінокислот може сягати до 25 % від маси білка.

Особливе значення серед простих білків, що входять до складу дезоксирибонуклеопротеїдів, належить **гістонам**. Розміщений в клітинному ядрі нуклеопротеїновий комплекс, до складу якого входить одна молекула ДНК та білки певних типів, називають **хромосою**. Нуклеопротеїновий матеріал, з якого побудовані хромосоми, називають **хроматином**. Організація хроматину відрізняється наявністю ієрархії кількох структурних рівнів. Головними структурними білками хроматину є **гістони** – білки двох класів, збагачені на позитивно заряджені амінокислотні залишки (зага-

льна маса гістонів приблизно дорівнює масі ДНК). На першому рівні структурної організації хроматину ДНК формує за рахунок взаємодії з коровими гістонами (перший клас гістонів) елементарні утворення – нуклеосоми. Білковий компонент **нуклеосоми (кор)** (рис. 7.12). складається з 8 молекул корових гістонів H_{2A} , H_{2B} , H_3 та H_4 – по дві молекули кожного типу.

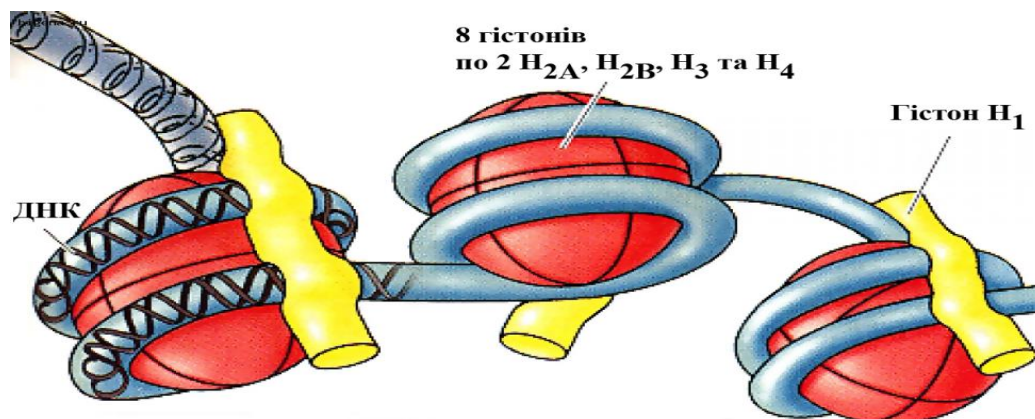


Рис. 7.12 Будова нуклеосоми

На цей кор майже двічі щільно намотана подвійна спіраль ДНК, довжиною близько 150 нуклеотидних пар. Між нуклеосомами розташовується лінкерна ділянка ДНК, довжиною до 50 нуклеотидних пар, яка пов'язана з гістоном H_1 , що захищає ці ланки від дії нуклеаз. Утворення нуклеосом дозволяє щільно упакувати надзвичайно довгу молекулу ДНК всередині ядра клітини.

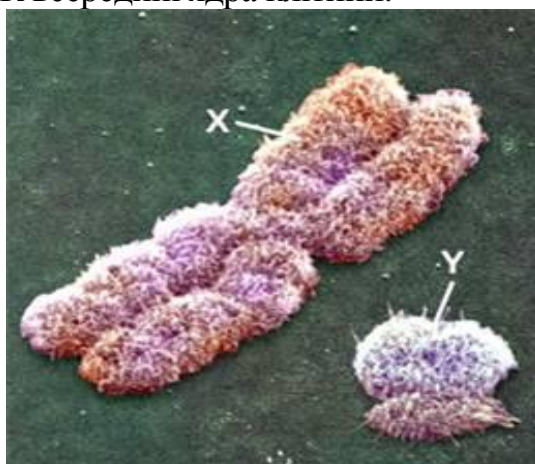


Рис. 7.13 Вид X та Y-хромосоми в світловий мікроскоп

В клітинних ядрах, що діляться, дезоксирибонуклеопротейди утворюють особливі структури - **хромосоми**, до складу яких входять гістони та негістонові основні білки, а також одна дволанцюгова молекула ДНК (рис.7.13).

До ядра клітини кожного виду живих організмів входить певна, характерна для нього, кількість хромосом.

Так, наприклад, в ядрах соматичних клітин організму людини міститься 46, щура – 38, жаби – 26 хромосом. Рибонуклеопротейди беруть участь в утворенні рибосом. До складу рибосом входить декілька десятків білків та декілька різновидів РНК. Комплекси рибосомальної РНК з білками формують велику і малу субчастини рибосоми.

Нуклеопротейіди і, відповідно, нуклеїнові кислотами безпосередньо беруть участь у таких біологічних процесах, як: мітоз, мейоз, ембріональний та злоякісний ріст тощо.

Хромопротейіди. До хромопротейідів (від гр. *chroma* – барва) належать гетерогенні білки, забарвлення яких залежить від природи простетичної групи. Так, наприклад, гемопротейіни забарвлені в червоний колір, родопсини – в помаранчевий, флавопротейіни – в жовтий, церулоплазмін – в блакитний тощо.

Хромопротейіди поширені серед тварин (залізопорфіриновмісні білки) та рослин (магнійпорфіриновмісні білки). Білки, що містять залізопорфіринові комплекси, створюють підгрупу хромопротейінів, яка має назву гемопротейіни.

Гемопротейіди - група білків, до структури яких в якості простетичної групи входить гем. Їх представниками є гемоглобін, міоглобін, каталаза та пероксидази, цитохроми.

Гемоглобін (лат. *haemoglobinum* < грец. *haima* — кров + лат. *globus* — куля) — дихальний пігмент, який міститься в еритроцитах крові та здійснює перенесення кисню з легень у тканини. Створюючи найпотужнішу гемоглобінову буферну систему

крові, гемоглобін бере участь у підтримці кислотно-лужного балансу в організмі людини і тварин.

Гемоглобін - це залізовмісний білок глобіну з гемохромоном (рис.7.14), з'єднуючись з киснем, він перетворюється в оксигемоглобін, який, віддаючи свій кисень іншим речовинам, знову перетворюється в гемоглобін. Гемоглобін савці

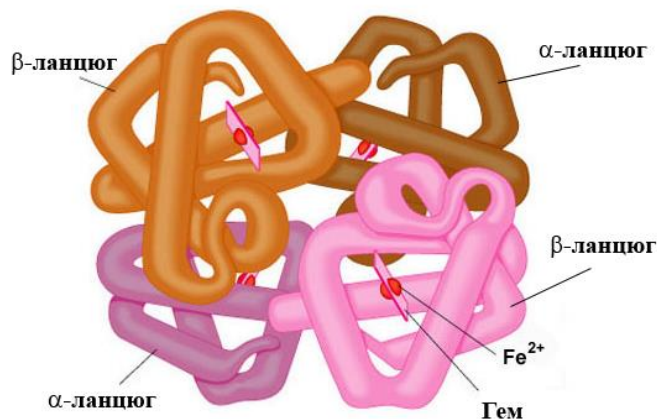
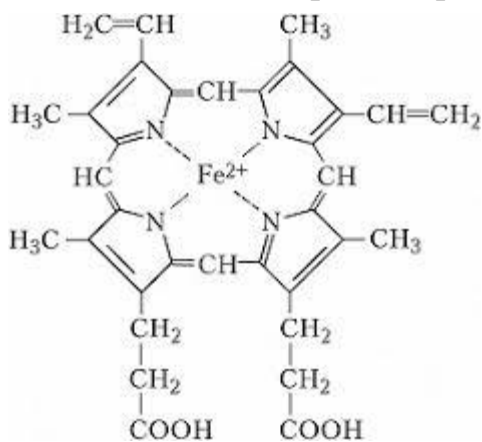


Рис.7.14 Будова гему в (у тому числі людини) має молекулярну масу 64500 складається з чотирьох поліпептидних ланцюгів, кожна з яких містить свій гем.

Переважаюча форма гемоглобіну у дорослих людей - гемоглобін А - має дві пари поліпептидних ланцюгів (α-ланцюгів, кожна з яких складається з 141 амінокислотного залишку, і β-ланцюгів - по 146 залишків. За просторовою структурою обидва типи ланцюгів нагадують молекулу міоглобіну. Схематично гемоглобін А₁ записують так: HbA₁ = α₂β₂. В гемоглобіні А₂ замість β субодиниці знаходиться δ: HbA₂ = α₂δ₂, а у фетальному гемоглобіні - γ, тобто HbF = α₂γ₂.

При утворенні четвертинної структури гемоглобіну виникають численні нековалентні зв'язки між окремими поліпептидними ланцюгами глобіну. Найбільша їх кількість утворюється між різними типами ланцюгів (α - β, α - δ, α - γ).

Ці зв'язки переважно мають характер гідрофобних взаємодій, які виникають між радикалами окремих амінокислот (лейцин, валін, фенілаланін та ін.). Небілковий компонент гемоглобіну – гем. Основою будови гему є порфірин. Порфірин складається з чотирьох пірольних кілець, з'єднаних між собою α -метиновими



містками ($-CH=$). Атом Феруму, що входить у структуру гема, утворює два ковалентні зв'язки з атомами Нітрогену двох пірольних кілець і два координаційні зв'язки з двома атомами Нітрогену двох інших пірольних кілець в площині протопорфіринового кільця. Крім цього, він бере участь в утворенні ще двох координаційних зв'язків, які розташовані перпендикулярно до площини протопорфіринового кільця. Характерною особливістю гемоглобіну є його здатність з'єдинуватися з окисом вуглецю. В результаті приєднання кисню

до катіону Fe^{2+} гему утворюється *оксигемоглобін*. Кожен з чотирьох гемів гемоглобіну здатний приєднувати одну молекулу кисню. Кисневмісна форма гемоглобіну називається оксигемоглобіном, а форма, яка не містить кисню, - дезоксигемоглобіном. Коли дезоксигемоглобін поглинає кисень, в його тривимірній структурі відбувається ряд змін, головним чином переміщення атома Fe^{2+} в площину системи кілець гема. Як і в разі міоглобіну, окиснення Fe^{2+} до Fe^{3+} призводить до утворення неактивної форми гемоглобіну - метгемоглобіну, яка не здатна приєднувати молекулярний кисень. Але незначне утворення метгемоглобіну менш небезпечно, ніж $HbCO$.

Тому метгемоглобіноутворювачі використовують як антидоти для лікування отруєнь ціанідами. Метгемоглобін може зв'язувати до 30 % смертельної дози HCN з утворенням малотоксичної сполуки *ціанметгемоглобіну*. Сприяють утворенню метгемоглобіну метиленова синька, натрій нітрит та інші окисники, які здатні перетворювати катіон Fe^{2+} гему у катіон Fe^{3+} , що супроводжується переходом червоного забарвлення розчину у коричневе (за умов кислої реакції).

Існує багато генетичних варіацій людського гемоглобіну. Найбільш відома з них знайдена при «*серповидно-клітинній анемії*» - мутації одного гена, яка в гомозиготному стані викликає деформацію еритроцитів з утворенням клітин, що мають форму серпа. Гемоглобін S серповидних клітин відрізняється від нормального гемоглобіну одним амінокислотним залишком в β -ланцюгах. У ньому відбувається заміна полярної глутамінової кислоти на неполярну амінокислоту валін, що призводить до дуже сильного зниження розчинності дезоксигемоглобіну S. Дезоксигемоглобін S утворює волокнистий осад, який викликає деформацію і руйнування еритроцитів і, як наслідок, - хронічну гемолітичну анемію. В даний час відомі понад 100 мутантних гемоглобінів.

Другий важливий білок (*міоглобін*), що транспортує кисень і вуглекислий газ знаходиться безпосередньо в клітинах. Міоглобін – невеликий глобулярний білок

(молекулярна маса 16500Да); молекула його складається з одного поліпептидного ланцюга (153 амінокислотних залишку) і одного гема.

Міоглобін є білком, що міститься у складі клітин скелетної мускулатури. Його функція пов'язана з депонуванням кисню у м'язі. Дуже багаті на міоглобін скелетні м'язи морських тварин, що достатньо часу проводять під водою. Великий вміст міоглобіну дозволяє їм запасати значну кількість кисню і тим самим забезпечувати підтримку життєдіяльності при тривалому зануренні. Велика кількість міоглобіну міститься в червоних скелетних м'язах та міокарді людини.

Цитохроми представляють собою групу невеликих гемопротейнів, у яких на відміну від гемоглобіну і міоглобіну, атом заліза, що входить в склад їх гема, легко піддається оберненому окисненню і відновленню. Ця властивість надзвичайно важливе значення при перенесенні електронів. Цитохроми містяться у всіх тварин, рослина і аеробних мікроорганізмів. На підставі природи простетичної групи і способу її зв'язку з білками цитохроми можна розділити на чотири головні групи: **a, b, c і d хлорофіли**.

Хлорофіли, зв'язані з білками (від гр. Chlogos зеленувато +phyllon лист), зелені пігменти рослин. Основу молекули хлорофілу становить магній-порфіриновий комплекс, оточений фітолом, що надає молекулі хлорофілу здатність вбудовуватися в ліпідний шар мембрани клітини. Існує кілька типів хлорофілів, що відрізняються системою зв'язків: вищі рослини і водорості в якості основного пігменту містять *хлорофіл a*, в якості додаткових *хлорофіл b* (вищі рослини і зелені водорості), *хлорофіл c* (бурі і діатомові водорості), *хлорофіл d* (червоні водорості).

Флавопротейни містять міцно зв'язані з білком простетичні групи, представлені ізоалаксазоновими похідними – окисненими флавінмононуклеотидом (FMN) і флавінаденіндинуклеотидом (FAD). Флавопротейни входять до складу оксидоредуктаз, деякі флавопротейни містять іони металів. Представниками флавопротейнів, що містять також негемове залізо, є ксантиноксидаза, сукцинатдегідрогеназа.

7.8 Роль білків в організмі тварини та їх фізико-хімічні властивості

Ферментативна – у клітині беруть участь у біохімічних реакціях більше 2000 різних ферментів, і усі вони по хімічній природі – білки (прості або складні).

Гормональна – в організмі людини 50% усіх гормонів мають білкову природу.

Рецепторна – вибіркоче зв'язування різних регуляторів – гормонів, біогенних амінів, простагландинів, медіаторів, циклічних мононуклеотидів, протікає за допомогою білків-рецепторів.

Структурна (пластична) – мембрани всіх клітин і субклітинних одиниць є подвійним шаром із білків та фосфоліпідів, тобто білки відіграють роль у формуванні всіх клітинних структур.

Імунологічна – гуморальний імунітет організму людини, зв'язаний із наявністю γ -глобулінів (антитіл).

Гемостатистична – згортання крові, зв'язане з наявністю в крові білків згортання крові (факторів).

Протизвертаюча – антитромбінова, антитромбопластична та фібринолітична системи, зв'язані з наявністю в крові відповідних білків.

Геннорегуляторна – білки-гістони, кислі білки відіграють роль у регуляції процесу трансляції.

Транспортна – перенесення O₂, ВЖК, ліпідів, стероїдів, вітамінів, лікарських речовин здійснюють різні фракції білків крові.

Скорочувальна – у роботі м'язів беруть участь білки: актин, міозин, тропонін і тропоміозин.

Знешкоджуюча – при отруєннях солями важких металів (свинець, мідь, цинк і ін.) і алкалоїдами протиотрутою є білки (особливо молочних продуктів).

Опорна (механічна) – міцність сполучної, хрящової і кісткової тканини за рахунок білків – колагену, еластину, фібронектину.

Створення біопотенціалів мембран і клітин і внутрішньої мембрани мітохондрій.

Енергетична – 1 мол. білка, окислюючись до кінцевих продуктів – сечовини, вуглекислого газу і води, дає 4,1 ккал енергії.

Методи розділення білків і пептидів

Електрофоретичні – засновані на поділі білків у постійному електричному полі в залежності від величини заряду білкової молекули.

Ультрацентрифугування – базується на різній швидкості седиментації окремих білків у залежності від їхньої молекулярної маси.

Хроматографічні: а) іоннообмінна хроматографія – ґрунтується на різній здатності окремих білків до обміну з іонами іоннообмінних смол; б) на молекулярних ситах (гель-фільтрація) – на сефадексах – білки розділяються: у залежності від величини молекули; в) афінна хроматографія – білки поділяються на індивідуальні в залежності від засобу до афінагу (наповнювача колонок).

Висолювання – частіше за допомогою сірчаноокислого амонію – ґрунтується на знятті заряду і водної оболонки різними концентраціями солей. Це старий метод поділу білків

Амінокислотний склад білків і пептидів після гідролізу визначають в амінокислотному аналізаторі.

Вода в організмі людини складає 65% , а ВМС 35%. Вона заповнює всі простори клітин і тканин, складаючи внутрішнє середовище організму, а ВМС знаходяться в ній, щоб утворити розчини з особливими властивостями. Якщо одна речовина подрібнена і рівномірно розподілена в іншій речовині, (наприклад, у воді), то утвориться дисперсна система.

Дисперсні системи в залежності від роздробленості часток можуть бути:

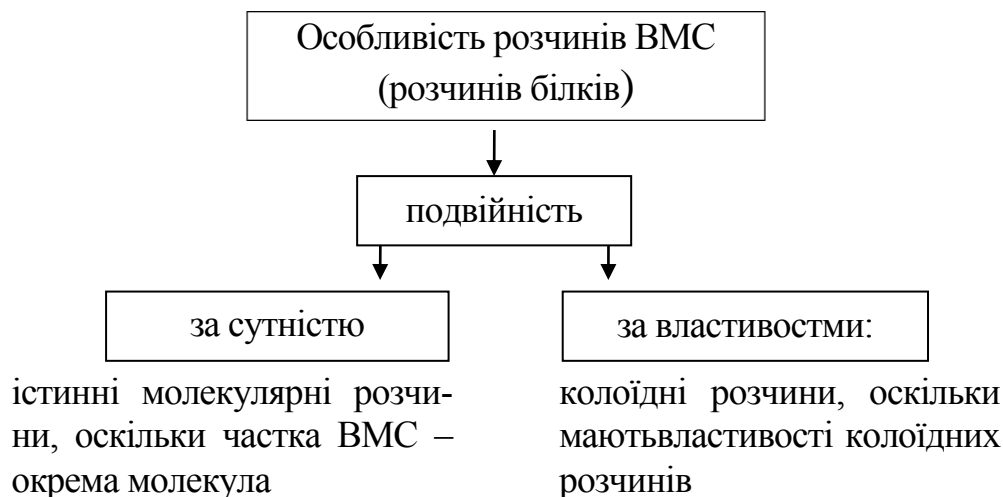
- грубодисперсними суспензіями (частки більше 100 нм);
- колоїдними розчинами (частки від 1 до 100 нм);
- іонно-молекулярними розчинами (частки менше 1 нм).

Розчини ВМС в організмі людини за своїми властивостями наближаються до колоїдних розчинів – їх називають «молекулярні колоїди».

Ознаки колоїдного стану:

1. Наявність двох фаз – дисперсної фази і дисперсійного середовища.
2. Гетерогенність системи – наявність поверхні поділу між дисперсною фазою і дисперсійного середовища.
3. Визначений ступінь роздроблений: хвости часток (від 1 до 100 нм).
4. Визначений ступінь стійкості, обумовлений двома факторами – зарядом і водною оболонкою.

Подібність розчинів ВМС і колоїдних розчинів:



1. Розмір часток (від 1 до 100 нм). 2. Наявність двох факторів стійкості: заряду і водної оболонки. 3. Явище опалесценції. 4. Здатність до коагуляції. 5. Здатність до діалізу. 6. Повільна дифузія. 7. Здатність до седиментації. 8. Низький осмотичний тиск. Метод діалізу ґрунтується на здатності малих за геометричними розмірами молекул (кристалоїдів) дифузно проникати через напівпроникні мембрани та на відсутності цієї здатності в макромолекул (колоїдів). **Білки – це високомолекулярні колоїдні речовини, які не дифундують через напівпроникні мембрани (наприклад, колоїєва чи целофанова плівка).** Цю властивість покладено в основу очищення білків від низькомолекулярних органічних і молекулярних домішок.

7.9 Реакція осадження білків та порушення стабілізуючої структури білкової молекули

Порушення факторів, які стабілізують структуру молекули білка, призводять до **осадження** білків. Так, внаслідок кип'ятіння порушуються зв'язки в молекулі нативного білка. Кращий спосіб осадження білків – кип'ятіння в середовищах, які мають рН, що дорівнює ізоелектричній точці білків. Внесення в розчин білка нейтральних солей (сульфату амонію, хлориду натрію тощо) полегшує та прискорює осадження під час кип'ятіння внаслідок дегідратування білкових часток.

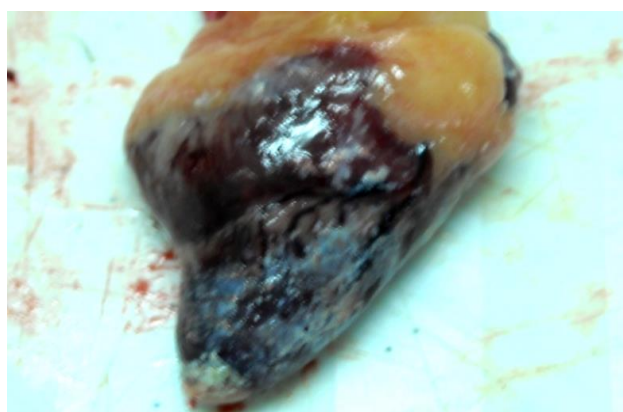
Кінцевим продуктом обміну нуклеопротейдів є сечова кислота та її солі (урати), які в нормальних умовах знаходяться в розчинному стані й виділяються з організму переважно нирками.

При порушенні обміну нуклеопротейдів спостерігається надмірне утворення й відкладання сечової кислоти та її солей в тканинах, що трапляється при сечокиислому діатезі й сечокиислому інфаркті.

Вісцеральна форма сечокиислого діатезу зустрічається у птахів. Сечова кислота осаджається у вигляді крейдоподібних мас на серозних оболонках грудочеревної порожнини, нирок, печінки, селезінки, кишечника, серця та легень (*Рис. 7.15*)



А



Б

Рис. 7.15 Сечокиислий діатез у курки. Білі крейдоподібні маси уратів на повітроносних мішках (А), перикардії (Б). (фото Скрипки М.В.)

Подагра (суглобовий сечокиислий діатез) – зустрічається у собак, курей і частково у людини.

Характеризується підвищеною кількістю концентрації солі сечової кислоти в крові (гіперурикемія) та сечі (гіперурикурія), які потім відкладаються в капсулі та хрящах суглобів, синовіальних оболонках, сухожилкових вагінах, на серозних оболонках.

Суглоби курячих лап збільшені в об'ємі, деформовані, при розрізі цих вузлів у них знаходять розростання сполучної тканини та просякання її солями сечової кислоти у вигляді біло-жовтих мас (*рис. 7.15 (А)*).

Сечокам'яна хвороба, як і подагра, може розвиватися внаслідок порушення пуринового обміну та пов'язана з розвитком сечокиислого діатезу. При цьому в нирках і сечових шляхах утворюються переважно урати, відбувається виразне потовщення сечоводів (*рис. 7.15 (Б)*).

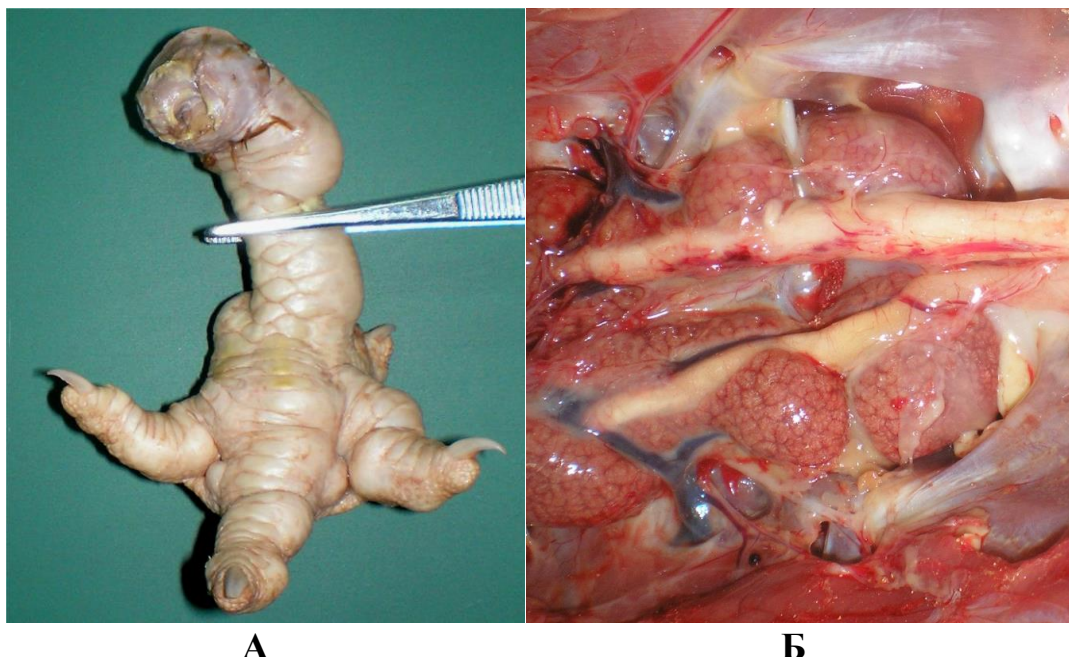


Рис. 7.16 Подагра курки віком 2 роки (А). Урати в сечоводах за сечоки-
слового діатезу курки (Б).

Механізм **осадження** білків алкалоїдними реактивами (таніном, пікриновою, гексаціановою, фосфорно-вольфрамовою, фосфорно-молібденовою, феритовою кислотами та їх солями) зумовлений утворенням нерозчинних сполук цих реактивів із азотистими групами білка. В таких сполуках алкалоїдні реактиви є аніонами, а білки – катіонами. Для надання молекулі білка позитивного заряду розчин білка підкислюють оцтовою кислотою. В результаті позитивно заряджені частки білка легко взаємодіють із від'ємно зарядженими молекулами осаджувача. Білки, що мають позитивний заряд (протаміни, гістони), добре осаджуються алкалоїдними реактивами в середовищі без попереднього підкислення середовища інкубації.

Солі важких металів (міді, ртуті, цинку, срібла, свинцю) осаджують білки в результаті утворення комплексних сполук із сульфгідрильними групами білків. Осад білка в надлишку солей деяких важких металів (ацетату свинцю, сульфату міді) розчиняється. Це пов'язано з тим, що надлишок іонів цих металів, адсорбуючись на поверхні білкових часток, викликає перезарядку білкового комплексу, внаслідок чого він переходить у розчин.

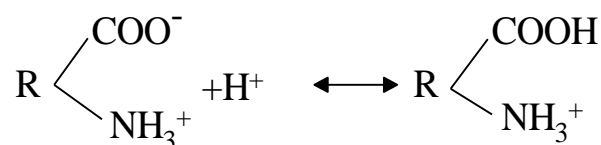
У водному розчині більшість білків та їх часток (міцел) заряджені й гідратовані, що зумовлює осадженню білків у розчинах. Але за високої концентрації середніх солей (сульфату амонію, хлориду натрію), молекули яких у водних розчинах гідратовані, руйнуються водні оболонки білкових молекул. У результаті цього знижується електричний заряд білкової молекули іонами солі, які адсорбуються на ній, частки білка злипаються одна з одною, укрупнюються та випадають в осад.

Ізoeлектрична точка білків.

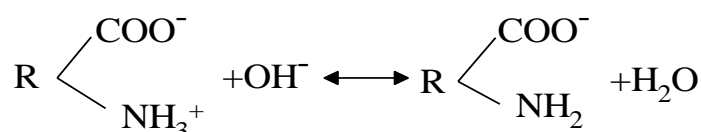
Заряд білкової молекули у нейтральному середовищі визначає співвідношення кількості вільних $-COOH$ і $-NH_2$ груп та ступінь дисоціації їх.

Чим більше карбоксильних груп -COOH, тим вищий негативний заряд, і білок буде виявляти властивості слабкої кислоти. Перевага амінних груп надає білку основних властивостей і позитивного заряду.

У кислому середовищі білок заряджається **ПОЗИТИВНО**:



У лужному середовищі – **негативно**:



Таким чином, заряд білка залежить від реакції середовища і від співвідношення кількості карбоксильних і амінних груп та їх ступеня дисоціації. Значення рН, при якому білок знаходиться в **ізоелектричному стані**, тобто у такому стані, при якому число різнойменних зарядів у білковій частинці однакове і її загальний заряд дорівнює нулю, називається **ізоелектричною точкою** цього білка.

Більшість білків містить 25-30% дикарбонових амінокислот (глутамінової і аспарагінової) і, звичайно, належать до кислих білків. Існує невелика група основних білків, із домінуванням вільних -NH₂ груп за рахунок підвищеного (до 80%) вмісту діамінових амінокислот (аргініну, лізину, орнітину, цитруліну).

Ізоелектрична точка кислих білків лежить у слабкислому, основних – у слаболужному середовищі (**табл. 7.9.1**).

Висолювання або драглілля білків найкраще проводити в ізоелектричному стані, тому що у ізоелектричній точці білки мають інші властивості, ніж у звичайних умовах. В умовах ізоелектричного стану білки не володіють електрофоретичною рухливістю, характеризуються мінімальною стійкістю, розчинністю, гідратацією, в'язкістю, осмотичним тиском, електропровідністю, ступенем набрякання. Вивчення **ізоелектричних точок** багатьох колоїдів організму тварини і людини викликає велику зацікавленість для діагностики захворювань та оцінки змін, що відбуваються в організмі, органах, тканинах, клітинах і субклітинних структурах.

Таблиця 7.9.1

Ізоелектричні крапка деяких білків

Білки	Ізоелектрична точка
Пепсин	2,0
Казеїн	4,6
Ячний альбумін	4,71
Альбумін сироватки крові	4,64
α-глобулін крові	4,8

β-глобулін крові	5,2
γ-глобулін крові	6,4
Міозин м'язів	5,0
Гістон клітинних ядер	8,5

Висолювання білків

Висолювання білків концентрованими розчинами середніх солей є одним з головних методів фракціонування білкових сумішей на альбуміни і глобуліни. Зниження розчинності білків можна досягти додаванням спирту, солей та охолодженням. На цьому базуються методи детального фракціонування білкових сумішей, наприклад, з сироватки крові за допомогою цього методу вилучено понад двадцять білків.

Специфічне необоротне осадження білків називають **денатурацією**. Вона відбувається під впливом зміни температури, при дії сильних кислот та лугів, ультразвуку, високого тиску, променевої енергії.

При денатурації порушується форма і розміри молекул, змінюється оптична активність білків, збільшується в'язкість розчинів, тому що глобулярна форма розкривається з утворенням ниткоподібних молекул, зменшується розчинність білків і ступінь набрякання, відбувається зняття з колоїдних частинок електричного заряду та ін. Денатурація викликає зміни специфічних біологічних властивостей білків – втрату ферментативної та імунологічної активності.

7.10 Відмінність та подібність ВМС від колоїдних розчинів

Відмінність розчинів ВМС від колоїдних розчинів:

1. У розчинах ВМС частки – молекули ВМС, а не міцели.
2. У часток ВМС у розчинах інший механізм виникнення заряду: дисоціація власних іоногенних груп, а не адсорбція з розчинів іонів, що визначають потенціал, доданих у надлишку.
3. У часток гідрофільних ВМС інший механізм утворення водної оболонки: поряд із зарядом частки водна оболонка утвориться за рахунок гідрофільних груп, розташованих на поверхні частки.
4. Розчини ВМС термодинамічно більш стійкі ($\Delta G < 0$).
5. Розчини ВМС утворюються самочинно (не потрібний «стабілізатор»).
6. Розчини ВМС зворотні.

Подібність розчинів ВМС з іонно-молекулярними розчинами:

1. У розчині ВМС знаходяться у вигляді молекул.
2. Термодинамічно стійкі ($\Delta G < 0$).
3. Утворюють гомогенні системи.
4. Утворюються самовільно, не вимагають «стабілізатора».

Специфічні властивості розчинів ВМС:

1. Здатність до набрякання.
2. Здатність до желатинування.
3. Наявність аномальної в'язкості.

4. Вільне обертання окремих ланок полімерів зі зміною конформації.

Мембранна рівновага Доннана показує, як розподіляється електроліт по обидва боки напівпроникної мембрани клітин, якщо в клітині є ВМС (білки).

1. До початку розподілу –

у клітині:

$R-Na-$ (сіль білка) $NaCl$ – електроліт

$[R^-] == C_1$

$[Na^+] == C_1$

поза клітиною:

$[Na^+] == C_2$

$[Cl^-] == C_2$

Іонів хлору зовсім немає в клітині, тому вони переходять у клітину з позаклітинного простору, а разом з ними в клітину переходить частина іонів натрію.

2. Позначимо кількість речовин, що перейшли в клітину X , тоді після перерозподілу електроліту:

у клітині:

$[R^-] == C_1$

$[Na^+] == C_1 + X$

$[Cl^-] == X$

поза клітиною:

$[Na^+] == C_2 - X$

$[Cl^-] == C_2 - X$

Перехід іонів електроліту здійснюється доти, доки установиться іонна рівновага, тобто добуток концентрацій іонів по два боки мембрани мають бути рівні:

$$[Na^+]_{\text{кл.}} \times [Cl^-]_{\text{кл.}} == [Na^+]_{\text{поза кл.}} \times [Cl^-]_{\text{поза кл.}}$$

$$(C_1 + X) \times X == (C_2 - X) \times (C_2 - X),$$

звідки $X = \frac{C_2^2}{C_1 + 2C_2}$ – це рівняння мембранної рівноваги Доннана.

Аналіз мембранної рівноваги Доннана

1. Якщо в клітині немає білка і його солі, то $C_1 = 0$, тоді $X = \frac{C_2}{2}$, тобто при відсутності в клітині ВМС електроліт розподіляється порівну по два боки мембрани. 2. Якщо в клітині концентрація білка (і його солі) дорівнює концентрації електроліту поза клітиною, тобто $C_1 = C_2$, тоді $X = \frac{C_2}{3}$, тобто в клітину з позаклітинної рідини перейде 1/3 частина електроліту.

3. Якщо в клітині велика концентрація білку (і його солі), тобто $C_1 > C_2$, це однаково величина X -позитивна, тому що C_2 і в клітину перейде невелика кількість електроліту з позаклітинної рідини.

4. Якщо концентрація білку (і його солі) у клітині невелика, а концентрація електроліту поза клітиною велика, тобто якщо $C_2 > C_1$, то з C_2^2 – величина дуже велика і X – величина велика. У клітину в цьому випадку перейде велика частина електроліту.

Висновок. У клітині при наявності ВМС концентрація електроліту завжди більша, ніж у позаклітинній рідині, що обумовлює підвищений осмотичний тиск у клітині, тургор клітин і тканин.

7.11 Перетравлення білків у шлунково-кишковому тракті. Всмоктування амінокислот. Регуляція і порушення перетравлення і всмоктування

На добу дорослій людині в середньому необхідно спожити 100 г білку. Білки можуть бути повноцінними і неповноцінними. Повноцінні білки містять усі *незамінні* амінокислоти: валін, лейцин, ізолейцин, лізин, метіонін, треонін, аргінін. За добу розкладається і знову синтезується 400 г білка, обновлюються всі білки за 35 днів.

Про стан білкового обміну в організмі роблять висновки, зважаючи на азотистий баланс – це кількісне співвідношення азоту, що потрапляє у складі всіх продуктів до організму і виведеного азоту протягом доби:

1) *азотиста рівновага*: кількість азоту, що вводиться протягом доби дорівнює кількості виведеного азоту;

2) *позитивний азотистий баланс*: кількість введеного азоту більша кількості виведеного азоту за добу;

3) *від'ємний азотистий баланс*: кількість введеного азоту менша кількості виведеного азоту за добу.

Оскільки білки організмів відрізняються чіткою видовою і тканинною специфічністю, живий організм володіє здатністю використовувати білок тільки після його повного гідролізу до амінокислот, з яких організм будує властиві йому специфічні білки. Тому білки, що надходять із харчовими продуктами, піддаються перетравленню в шлунково-кишковому тракті людини під дією протеолітичних ферментів.

Перетравлення білків

У шлунку білки розщеплюються під дією ферменту пепсину (ендопептидаза) при $\text{pH} = 1,5-2,5$ у присутності соляної кислоти. Високомолекулярні поліпептиди, що утворилися, надходять у дванадцятипалу кишку і при $\text{pH} = 7,8-8,4$ піддаються дії *трипсину, хімотрипсину, еластази (ендопептидази) і карбоксипептидаз А і В (екзопептидази)*.

У результаті дії всіх ферментів утворюються оліго-, ди- і трипептиди, а також вільні амінокислоти, що потім надходять у тонкий кишечник, де при $\text{pH} = 7,8-8,4$ під дією моно-, ди-, три- і олигопептидаз (екзопептидази) відбувається розщеплення їх до вільних амінокислот.

Всмоктування амінокислот через мембрану тонкого кишківника відбувається за участю глутатіону під дією ферменту, що знаходиться на мембрані слизової оболонки кишківника - *γ -глутаматтрансферази*.

Амінокислота утворює комплекс із глутатіоном, що проходить через мембрану, де розпадається на вільну амінокислоту і глутатіон, що регенерується з витратою трьох молекул АТФ. Всмоктування протікає проти градієнта концентрацій. Амінокислоти надходять у кров ворітної вени, потім у печінку, де піддаються рядові перетворень.

Регуляція процесу травлення

Травлення - це сукупність механічних, хімічних і біологічних процесів, що забезпечують розщеплення складних поживних речовин, які потрапили з їжею, на відносно прості сполуки, які можуть бути асимільовані організмом. В ході травлення відбувається перетворення макромолекул їжі у дрібніші молекули, зокрема, розщеплення біополімерів їжі на мономери. Цей процес здійснюється за допомогою травних ферментів, відомих також як гідролітичні ферменти.

Отримані відносно прості речовини піддаються всмоктуванню, а з них в органах і тканинах знову синтезуються складні органічні сполуки.

Гістамін збільшує кількість соку, що виділяється і утворюється в слизовій оболонці шлунку, стимулює виділення соляної кислоти.

Гастрин діє на головні й обкладові клітини шлунку, стимулюючи тим самим вироблення соляної кислоти і пепсиногену.

У слизовій оболонці тонкої кишки виробляється **секретин** – підсилює секреторну функцію підшлункової залози, стимулюючи секрецію бікарбонатів.

Холецистокінін впливає на підшлункову залозу, стимулюючи виділення ферментів підшлункової залози.

Хімоденін стимулює виділення хімотрипсिनотрипсину.

Ентерогастрин гальмує секрецію соляної кислоти і пепсиногену.

Вілікінін викликає скорочення кишкових ворсинок.

Проміжний обмін амінокислот

Амінокислоти (АК) з кишечника всмоктовуються і потоком крові через порталну вену транспортуються в печінку і разносяться кров'ю по всьому організму. У печінці АК використовуються для синтезу власних білків і білків плазми крові, а також для синтезу біологічно активних речовин (гормонів, амінів, пептидів) і специфічних азотовмісних з'єднань (нуклеотидів, гема, НАД⁺, креатину та ін.).

Печінка забезпечує пул вільних амінокислот організму.

Амінокислоти, що утворилися при розпаді білків у клітинах тканин, піддаються розпадові з утворенням кінцевих продуктів білкового обміну і звільненню енергії.

Амінокислоти, як і білки, не накопичуються і не затримуються в тканинах.

Проміжний обмін амінокислот – це сукупність перетворень амінокислот в організмі людини від моменту надходження їх у кров до виведення з організму у виді сечовини, вуглекислого газу і води.

Умовно проміжний обмін поділяють на:

а) загальні шляхи обміну АК;

б) специфічні (індивідуальні) шляхи перетворення АК.

Частина вільних амінокислот, особливо незамінних, відразу ж використовується мікроорганізмами для синтезу білка, незначна частина всмо-

ктується стінкою рубця, а решта - розпадається. Основною реакцією розпаду є дезамінування під впливом *бактеріальних дезаміназ*. *Кінцеві продукти дезамінування - аміак, вуглекислий газ та коротколанцюгові жирні кислоти*. Оптимальною реакцією для дії більшості дезаміназ є рН близько 7,0. Аміак, що утворюється в рубці при дезамінуванні амінокислот, частково всмоктується через його стінку у кров, а в основному використовується мікроорганізмами рубця для синтезу амінокислот і білка. Більшість мікроорганізмів рубця (86-92 %) для синтезу білка використовують аміак та амінокислоти, і тільки невелика група бактерій - виключно амінокислоти.

Вважається, що лише *бактерії* здатні використовувати азот аміаку в синтетичних процесах (50-80 % азоту мікроорганізмів походить із азоту аміаку), інфузорії не використовують або ж використовують незначну його кількість. Аміак зв'язується бактеріями двома шляхами - утворенням глутаміну або глутамінової кислоти. Найбільш ефективно використовується аміак у синтезі амінокислот мікроорганізмами при концентрації його в рідині рубця 5 ммоль/л (9 мг/100 мл).

Мікроорганізми рубця в синтезі власних білків використовують синтезовані ними амінокислоти та амінокислоти, які звільняються при розщепленні протеїну кормів. Амінокислоти, що звільняються в результаті розщеплення мікробного протеїну, становлять від 50 до 90 % загальної кількості амінокислот, що всмоктуються в тонкому кишечнику жуйних тварин. Синтез мікробного протеїну в рубці жуйних залежить насамперед від вмісту в раціоні енергії і розчинного протеїну.

Він становить від 24 до 36 г азоту мікробного протеїну на 1 кг перетравленої в рубці органічної речовини, або 1,0-1,5 г азоту на 1 мДж обмінної енергії. Валовий синтез мікробного протеїну в рубці овець та корів становить відповідно 50-100 і 700-1500 г за добу. Найбільш інтенсивний синтез бактеріального протеїну в рубці корів із добовим надоем 10-14 кг виявлений при вмісті у сухій речовині раціону 12-12,5 % сирого протеїну, 17-18,5 клітковини і 24-27 % цукру і крохмалю.

В останні роки велика увага при нормуванні протеїну високопродуктивним коровам надається співвідношенню між легкорозщеплюваним протеїном раціону і його загальною кількістю. Відомо, що 50-80 % протеїну, який надходить із кормом, у рубці жуйних гідролізується під дією ферментів мікрофлори рубця. Протеїн, що не розщепився в рубці, та білок бактерій і найпростіших надходять у кишечник.

При високій розчинності протеїну в рідині рубця, а значить і при швидкому розщепленні його під дією бактеріальних ферментів, утворюється багато аміаку, який рубцева мікрофлора неспроможна повністю використати для синтетичних процесів, що спричинює його великі втрати.

Згідно з рекомендаціями, кількість протеїну, що розщеплюється в рубці, повинна становити на початку лактації 50-60 %, а в середині та наприкінці - близько 70 %.

7.12 Загальні шляхи обміну амінокислот

Амінокислоти, як і білки, не нагромаджуються в організмі і не відкладаються в тканинах про запас, а при забезпеченні білками їжі підтримується нормальний рівень амінокислот у крові.

Амінокислоти, що надходять у тканини з кров'ю і утворюються при розпаді тканинних білків, зазнають перетворень:

- Трансамінування (переамінування).
- Пряме окисне дезамінування.
- Непряме окисне дезамінування.
- Неокислювальне дезамінування.
- Внутрімолекулярне дезамінування.
- Декарбоксилування.

Реакція трансамінування – загальна для катаболічних і анаболічних шляхів проміжного обміну амінокислот.

Суть реакції – перенесення аміногрупи від амінокислот, що знаходяться в надлишку в даний момент в організмі, на α -кетокислоту з утворенням нової амінокислоти й α -кетокислоти.

Ферменти – трансамінази (амінотрансферази). Вони складаються з білка, що визначає специфічність ферменту, і фосфопіридоксала, що здійснює перенесення аміногрупи. Локалізація реакцій трансамінування – у цитозолі печінки, м'язів, мозку й інших тканин.

Біологічне значення реакцій трансамінування:

1. Синтез 10 замінних АК.
2. Перша стадія в реакції непрямого окисного дезамінування.
3. Транспортування аміногрупи АК з м'язів у печінку в циклі «аланін – глюкоза».
4. Транспортування аміногрупи АК печінки через аспартат у біосинтезі сечовини.



А.О.Браунштейн

Клінічне значення визначення активності трансаміназ

Для клінічних цілей найбільше значення мають трансамінази: АсАт і АлАт. Трансаміназний тест використовується не тільки для постановки діагнозу захворювання, але і для прогнозу і контролю ефективності лікування.

Процес трансамінування та ферменти, що його каталізують, були вперше описані в 1937 р. А.О.Браунштейном.

У сироватці крові здорових людей активність АсАт і АлАт у тисячі разів нижче, ніж у клітинах паренхіматозних органів. Тому органічні ураження при гострих і хронічних захворюваннях призводять до ушкодження клітин, виходові трансаміназ у кров з місця ураження:

1. При інфаркті міокарду рівень АсАт у сироватці крові вже через 3-4 год після настання інфаркту різко підвищується (у 20-30 разів). Максимум активності припадає на кінець 1-ї доби, а вже через 2-3 дні при успішному результаті хвороби рівень сироваткових трансаміназ повертається до норми.
2. При гострому інфекційному гепатиті вміст АлАт звичай вищий, ніж АсАт.
3. При цирозі печінки вміст АсАт вищий, ніж АлАт.
4. При метастазах у печінці або первинній пухлині печінки активність АсАт вища, ніж АлАт.
5. При гіпоксії АлАт і АсАт підвищуються одночасно.
6. При стенокардії АсАт і АлАт залишаються в нормі.

Зниження АсАт і АлАт відбувається: при недостатності піридоксину (вітаміну В₆); у результаті повторних процедур гемодіалізу; при нирковій недостатності; при вагітності.

Пряме окисне дезамінування відбувається в мітохондріях клітин печінки і нирок під впливом α -оксидаз з коферментом ФМН⁺, оптимум рН = 10.

Через те, що в тканинах рН > 7, α -оксидази малоактивні й в основному прямому окисному дезамінуванню активно піддається глутамінова кислота. Фермент – глутаматдегідрогеназа, кофермент – НАД⁺.

1-а стадія – ферментативна, продукт – імінокислота.

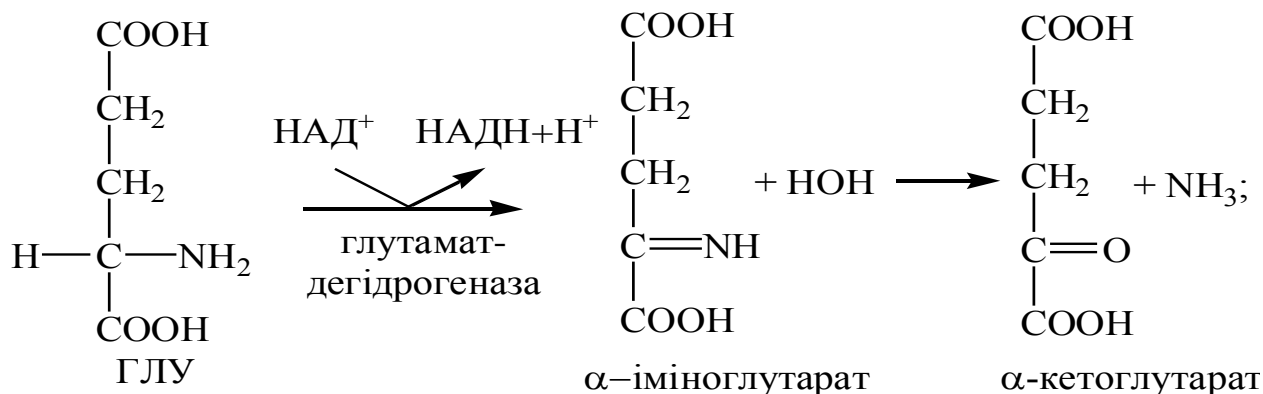
2-а стадія – неферментативна, продукт – α -кетоглутарова кислота й аміак.

Непряме окисне дезамінування (трансдезамінування).

1-а стадія – 10 амінокислот вступають у реакції переамінування з α -кетоглутаровою кислотою.

У результаті утворюється глутамінова кислота,

2-а стадія – глутамінова кислота піддається прямому окисному дезамінуванню. У результаті утворюється α -кетоглутарат і аміак, що йде на біосинтез сечовини.



Неокисне дезамінування

У печінці й інших тканинах відкриті 3 специфічні ферменти: сериндегідратаза, треоніндегідратаза, цистатіонін- γ -ліаза, що каталізують дезамінування відповідно серину, треоніну, цистеїну.

Шляхи обміну безазотистого залишку амінокислот

α -кетокислоти, що утворюються в результаті дезамінування піддаються в тканинах тварин різним перетворенням. При участі трансаміназ може відбуватися відбудовне амінування кетокислот **з утворенням замісних АК**.

Вуглецеві ланцюги 20 АК можуть включатися в ЦТК через наступні з'єднання: піруват, ацетил-КоА, ацетоацетил-КоА, α -кетоглутарат, сукциніл-КоА, фумарат і оксалоацетат.

Амінокислоти, що розпадаються з утворенням ацетил-КоА або ацетоацетил-КоА, називаються кетогенними, тому що в результаті їхнього розпаду підвищується вміст кетонових тіл.

Амінокислоти, розпад яких призводить до утворення пірувату, α -кетоглутарату, сукцинілу-КоА, фумарату або оксалоацетату, називають глюкогенними, тому що ці компоненти ЦТК і піруват можуть перетворюватися у фосфоенолпіруват і потім у глюкозу.

ІЛЕ, ЛІЗ, ФЕН, ТРИ, ТИР відносяться одночасно і до кетогенних і глюкогенних амінокислот. З 19 АК винятково кетогенними є тільки ЛЕЙ. Інші 13 амінокислот є винятково глюкогенними:

АЛА, АРГ, АСП, ЦИС, ГЛІ, ГЛУ, ГІС, ПРО, ПРО-ОН, МЕТ, СЕР, ВАЛ, ТРЕ.

Декарбоксілування амінокислот у тканинах

Декарбоксілування- це процес відщеплення карбоксильної групи аміно-кислот у вигляді CO_2 . Це загальний шлях обміну амінокислот.

Декарбоксілювання не є основним шляхом перетворення амінокислот у живому організмі, однак цим шляхом утворюються ряд біологічно активних речовин, так званих біогенних амінів.

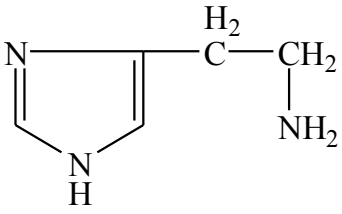
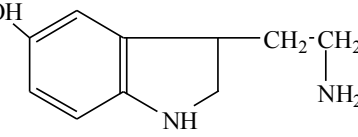
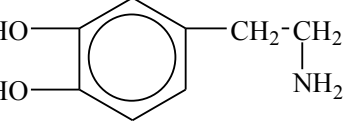
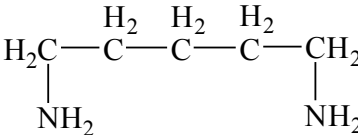
Процес декарбоксілювання амінокислот у тканинах відбувається в незначній мірі, основне місце локалізації процесу – **у кишківнику**:

а) у здорових людей – у незначному обсязі під впливом декарбоксілаз непатогенних бактерій;

б) при кишкових захворюваннях (дизентерія, черевний тиф, холера та ін.) підвищується активність дикарбоксілаз патогенних бактерій, у результаті утворюються аміни, що створюють картину інфекційного кишкового захворювання.

Субстрати декарбоксілювання – амінокислоти. При декарбоксілюванні дикарбонових амінокислот утворюються моноамінокарбонові кислоти, що дають аміни, а діаміномонокарбонові кислоти – діаміни.

7.13 Біологічна роль амінів

<p>Гістамін утворюється при декарбоксилюванні гістидину.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Стимулює секрецію шлункового соку і слини. 2. Чинить судинорозширювальну дію. 3. Велика кількість утворюється у вогнищі запалення. Викликаючи розширення судин у вогнищі запалення, гістамін прискорює приплив лейкоцитів, спричиняючи активацію захисних сил організму. 4. Скорочує гладенькі м'язи легень, що може призвести до нападу удушення і викликає «гістаміновий» шок. 5. Знижує тиск. 6. Підвищує проникність судин. 7. Є медіатором болю. 8. Бере участь у патогенезі алергії. 	 <p style="text-align: center;">гістамін</p>
<p>Серотонін утворюється при декарбоксилюванні і подальшому окисненні триптофану.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Потужний судиннозвужуючий засіб. 2. Підвищує кров'яний тиск. 3. Бере участь у патогенезі гіпертонічної хвороби. 4. Бере участь у регуляції температури тіла, подихи. 5. Медіатор нервових процесів у ЦНС. 	
<p>Дофамін утворюється при декарбоксилюванні диокси-фенілаланіну (ДОФА). При подальшому окислюванні і метилюванні утворюються норадреналін і адреналін – гормони мозкового про-шарку наднирників. Дофамін, норадреналін і адреналін є катехоламінами, регулюють діяльність серцево-судинної системи. Адреналін стимулює мобілізацію депонованих вуглеводів і жирів.</p>	 <p style="text-align: center;">дофамін</p>
<p>Кадаверин утворюється при декарбоксилюванні лізину. Група отрута.</p>	 <p style="text-align: center;">кадаверин</p>

<p>Путресцин утворюється при декарбоксилюванні орнітину та при утворенні гною і гнитті трупів. З лізину й орнітину під впливом декарбоксилаз утворюються поліаміни, що є попередниками біологічно активних речовин спермину і спермидину. Спермин і спермидин стабілізують структуру мембран клітин.</p>	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{C}-\text{C}-\text{CH}_2 \\ \quad \quad \\ \text{NH}_2 \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$ <p>путресцин</p>
<p>Гамма-аміномасляна кислота (ГАМК) кислота (ГАМК) утворюється при декарбоксилюванні глутамінової кислоти. Роль її така:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Нейрогуморальний інгібітор; впливає на гальмуючу дію в корі головного мозку. 2. Застосовується в психіатрії для зняття порушення в сірій речовині кори мозку. <p>Етаноламін утворюється при декарбоксилюванні серину. В організмі використовується для синтезу холіну, ацетилхоліну, фосфатидилетаноламінів, фосфатидилхолінів. При кишкових інфекціях утворюються велика кількість ди- і моноамінів у кишківнику під дією декарбоксилаз патогенних бактерій.</p> <p>Вплив на організм:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Загальна інтоксикація. 2. Порушення проникливості мембран слизової оболонки кишківника, що призводить до проносів. 3. Зневоднювання тканин. 4. Підвищення температури тіла. <p>Знешкодження біогенних амінів відбувається в печінці під дією двох ферментів: моноамінооксидаз (МАО) у мітохондріях і діамінооксидаз (ДАО) у цитозолі.</p>	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{-NH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$ <p>γ-аміномасляна кислота</p> $\begin{array}{c} \text{H}_2 \quad \text{H}_2 \\ \text{HO}-\text{C}-\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$ <p>етаноламін</p> $\begin{array}{c} \text{H}_2 \quad \quad \text{CH}_3 \\ \quad \quad / \quad \backslash \\ \text{H}_2\text{C}-\text{C}-\text{N}^+-\text{C}-\text{CH}_3 \\ \quad \quad \backslash \quad / \\ \text{OH} \quad \quad \text{CH}_3 \end{array}$ <p>холін</p>

7.14 Обмін аміаку в організмі. Біосинтез сечовини

У результаті обміну білків у організмі в усіх тканинах постійно утворюється аміак.

Джерела аміаку в організмі:

1. Амінокислоти;
2. Аміді АК: глутамін, аспарагін;
3. Біогенні аміни;
4. Пуринові нуклеотиди;
5. Піримідинові основи.

Аміак є токсичною речовиною для організму, особливо для центральної нервової системи.

Існує п'ять шляхів знешкодження аміаку:

1. Біосинтез сечовини в печінці.
2. Відновне амінування в тканинах.
3. Утворення амідів кислот у тканинах.
4. Утворення піримідинових основ у цитозолі клітин.
5. Утворення амонійних солей у нирках.

Основний шлях знешкодження аміаку в організмі – біосинтез сечовини в печінці (орнітиновий цикл). У біосинтезі сечовини на першому етапі бере участь карбамоїлфосфатсинтетаза, локалізована в мітохондріях клітин тільки печінки.

У печінку аміак потрапляє з мозку та інших тканин не у вільному вигляді, а у вигляді глутаміну, що гідролітично розщеплюється глутаміназою на аміак і глутамінову кислоту. З м'язів і кишківника аміак подається у вигляді аланіну. У крові 4,5-10 мг% глутаміну і 2,5 – 7,5%мг аланіну.

Біосинтез сечовини здійснюється в 5 етапів: 1-й і 2-й етапи біосинтезу проходять у мітохондріях клітин печінки; 3-й, 4-й та 5-й етапи – в цитозолі печінки.

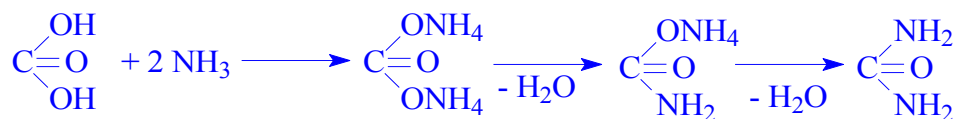
Кінцевий обмін

Під час проміжного обміну утворюється ряд хімічних сполук, які виділяються з організму як продукти розпаду білків. Зокрема, вуглекислий газ, що утворився, виділяється легенями, вода – нирками, потом, у складі калу, з повітрям, що видихається. Багато інших продуктів обміну білків, особливо азотні, виділяються в знешкоджуваному вигляді – у вигляді сечовини, парних сполук і т.д.

Перетворення аміаку.

Аміак утворюється при дезамінуванні амінокислот, пуринових і піримідинових основ, нікотинової кислоти і її похідних, інших азотовмісних сполук. За добу в організмі людини дезамінується 100 – 120 г амінокислот, утворюється 1,6 – 19 г азоту або 18 – 23 г аміаку. В основному аміак в організмі людини і тварин знешкоджується у вигляді сечовини, частково – у вигляді алантоїну, сечової кислоти і амонійних солей (*амоніотелічні*). У ссавців, птахів і рептилій основним кінцевим продуктом азотного обміну є сечова кислота (*уреотелічні організми*).

Сечовина – головний кінцевий продукт азотного обміну у більшості хребетних і людини. Вона складає 80 – 90% всіх азотних речовин сечі. Процеси біосинтезу сечовини вперше були вивчені М.В. Ненцьким (90-ті роки XIX ст.).

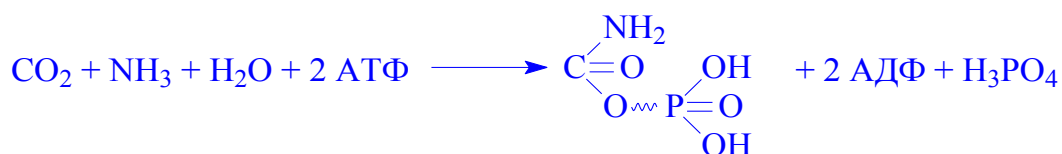


Деталі утворення сечовини вивчалися С.С. Салазкіним, І.Я. Ратнером, Х.А. Кребсом і ін. Була створена сучасна теорія утворення сечовини в печінці – орнітиновий цикл Кребса.

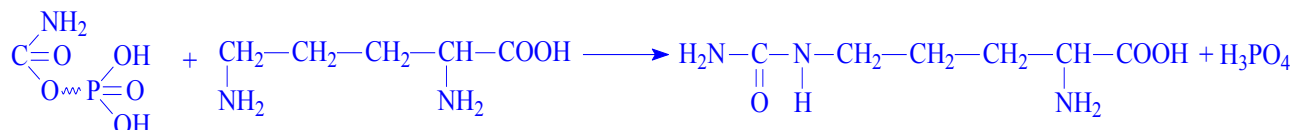
Процес утворення сечовини протікає в декілька стадій.

Біосинтез сечовини в печінці

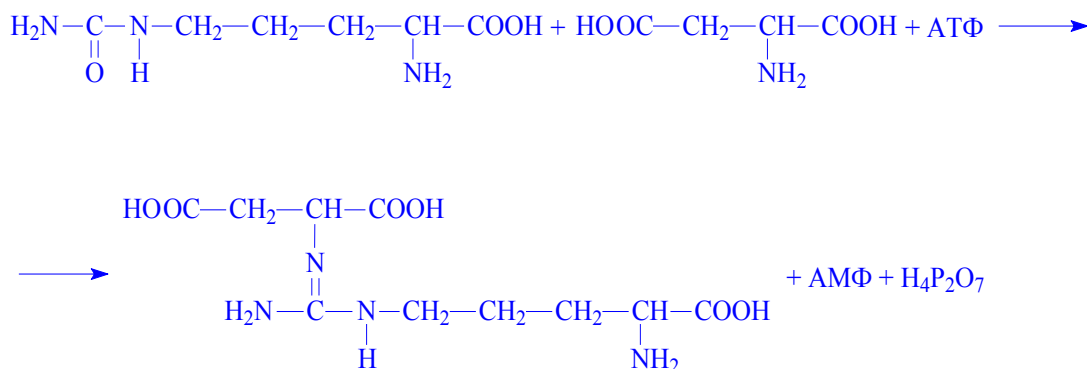
1. NH_3 і CO_2 , що відщепилися в процесі дезамінування і декарбоксилювання під впливом ферменту карбамоїлфосфатсинтази з'єднуються, утворюючи карбамоїлфосфат:



2. Карбамоїлфосфат реагує з орнітином за участю ферменту орнітин-карбамоїлтрансферази, що призводить до утворення цитруліну:

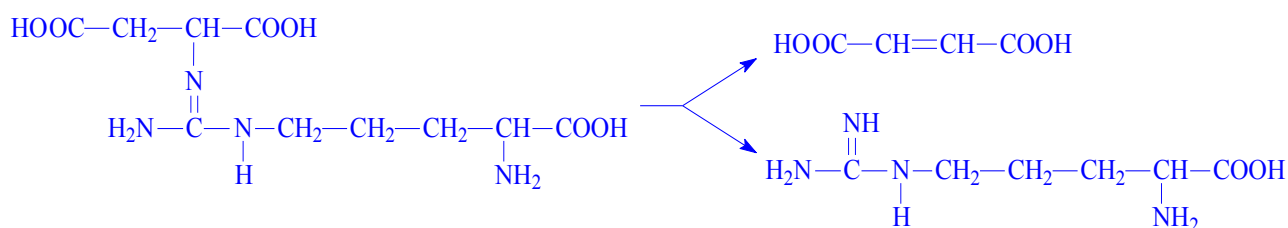


3. Під впливом ферменту аргініносукцинат-синтетази цитрулін взаємодіє з аспарагіноювою кислотою, утворюючи аргінініянтарну кислоту:

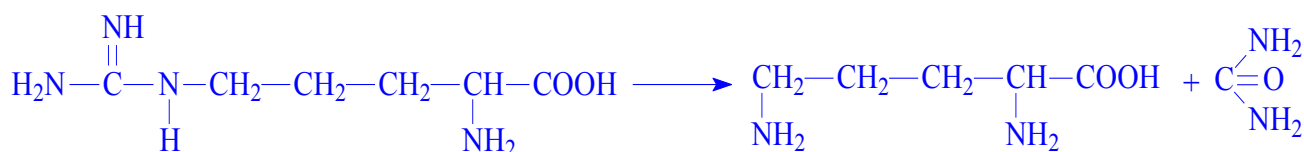


4. Аргінініянтарна кислота під впливом ферменту аргініносукцинат-ліази розще-

плюється на аргінін і фумарову кислоту:



5. Аргінін під впливом ферменту аргінази розщеплюється на орнітин і сечовину, яка видаляється з організму з сечею і потом:



Орнітин вступає в реакцію з новими порціями карбамоїл-фосфату, і цикл повторюється.

Частина аміаку в тканинах зв'язується в процесі утворення амідів – аспарагіну або глутаміну, які транспортуються в печінку. В печінці вони гідролізуються, після чого з аміаку утворюється сечовина.

Деяка кількість аміаку використовується тканинами для відновного амінування кетокислот, що приводить до утворення амінокислот.

Сумарне рівняння синтезу сечовини печінки:



Біологічне значення орнітинового циклу:

1. Знешкодження аміаку в організмі.
2. Регуляція азотистого балансу в організмі – при надходженні великої кількості білка в організм швидкість циклу зростає.
3. Постачає фумарат у ЦТК.
4. Біосинтез замінних амінокислот через оксалоацетат.
5. Поставляє оксалоацетат для біосинтезу глюкози.

Джерела азоту, вуглецю і кисню в циклі сечовини:

1-ша аміногрупа – із вільного аміаку, що утворився при окисному дезамінуванні глутамату;

2-га аміногрупа поставляється аспартатом, що утворився у реакції трансамінування оксалоацетата з амінокислотами.

Карбон – із молекули CO_2 , що утворились у мітохондріях у процесі дихання. Кисень – із молекули води.

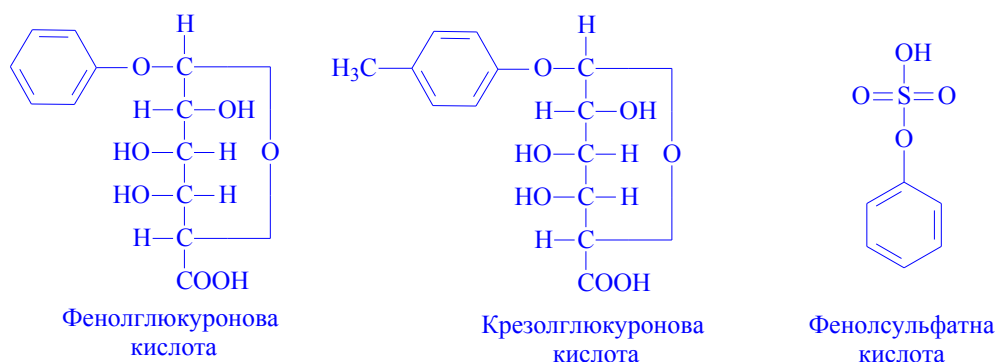
Крім того, в тканинах нирок аміак бере участь в процесі знешкодження органічних і неорганічних кислот, утворюючи з ними нейтральні і кислі солі:



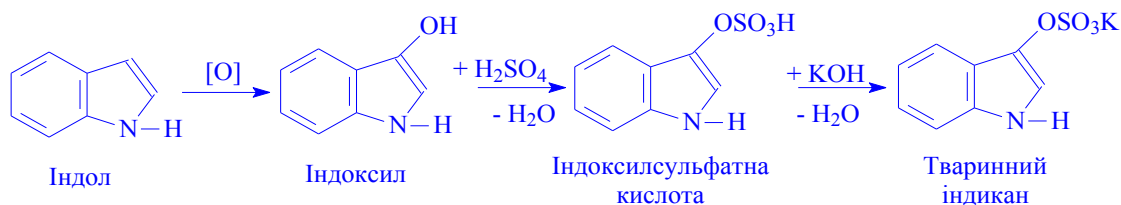
Перетворення інших продуктів кінцевого обміну білків. Гниття амінокислот у товстому кишечнику

У процесі обміну білків утворюються й інші продукти кінцевого обміну, зокрема, похідні пуринових і піримідинових основ, гази (виділяються у складі кишкових газів при дефекації), феноли, індол, скатол, сірчана кислота та ін. Особливо багато таких речовин утворюється в товстій кишці при гнитті білків.

Ці отруйні сполуки нейтралізуються в печінці з утворенням парних кислот, які виділяються у складі сечі, частково – поту і калу:



Індол і скатол, що утворюються при гнильному розкладанні триптофана, перетворюються на індоксил і скатоксил, які далі утворюють парні сполуки з глюкуроною або сірчаною кислотами:



Перетворення продуктів розпаду хромопротеїдів

При розщепленні хромопротеїдів утворюються глобін і гем. Глобін піддається звичним перетворенням, типовим для протеїнів. Гем в печінці і кишках служить джерелом утворення пігментів жовчі, сечі і калу. Ці процеси відбуваються поетапно. Гемоглобін, окислюючись, перетворюється у вердогемоглобін (холеглобін). Вердогемоглобін втрачає білкову частину та атоми заліза, що сприяє утворенню речовини зеленого кольору – білівердина. Білівердин відновлюється в пігмент червоного кольору – білірубін. З білірубін у після реакції відновлення утворюється мезобілірубін, який після чергового відновлення стає уробіліногеном. Уробіліноген в кишківнику перетво-

рюється на пігменти калу – стеркобіліноген і стеркобілін, в нирках – в пігмент сечі уробілін.

Продукти реакції розпаду гема використовуються організмом для різних потреб. Так, залізо депонується в органах, де розпадається гемоглобін, у складі білків феритинів. Білівердин та білірубін є пігментами жовчі, решта речовин – пігментами сечі і калу. Розщеплення міоглобіну в організмі протікає аналогічно.

Регуляція білкового обміну

Всі етапи білкового обміну регулюються центральною нервовою системою та залозами внутрішньої секреції. Особливе місце в регуляції належить корі великих півкуль головного мозку і підкоровим центрам. У гіпоталамусі знайдений центр білкового обміну. Регуляція здійснюється рефлекторно, у відповідь на роздратування.

Дія гормонів на біосинтез білка здійснюється шляхом стимуляції утворення іРНК. Гормон передньої частини гіпофіза – *соматотропін* – посилює синтетичні процеси білка. Біосинтез білків стимулюється інсуліном, деякі андро- і естрогеном, тироксином. *Глюкокортикоїди* кори наднирників стимулюють розщеплення білків і виділення азотистих речовин. Дія гормонів на обмін білків пов'язана зі зміною швидкості і напряму ферментативних реакцій. Біосинтез і, отже, активність ферментів, що беруть участь в обміні білків, залежить від наявності в продуктах харчування достатньої кількості вітамінів, які беруть участь в утворенні коферментів і простетичних груп багатьох ферментів. Зокрема, піридоксальфосфат є коферментом декарбоксилаз амінокислот, вітамін В₂ – складова частина кофермента амінооксидаз, вітамін В₅ – основа дегідрози глутамінової кислоти, без вітаміну С не може проходити біосинтез проліна і оксипроліна.

Патології білкового обміну

Обмін білків порушується при багатьох інфекційних, інвазивних і незаразних хворобах. Часто причиною порушень білкового обміну є неправильно складений раціон, не дотримання режиму прийому їжі та ін. Патології білкового обміну виявляються у різних формах.

Білкове голодування. Розрізняють два види білкового голодування: первинне, коли в їжі немає достатньої кількості незамінних амінокислот, і вторинне, викликане захворюваннями харчового каналу, печінки, підшлункової залози.

Протеїнове голодування супроводжується посиленням розпадом білків тканин організму, поступово розвивається негативний азотистий баланс. Раніше за інших витрачаються білки печінки і крові, внаслідок чого зменшується їхня кількість у крові (*гіпопротеїнемія*), що спричинює зниження *онкотичного тиску* крові та перехід рідини із крові у тканини з наступним розвитком набряків. У подальшому витрачаються білки попереочносмугастих м'язів і шкіри та інших тканин, пізніше інших - білки міокарда і головного мозку.

Розвивається аліментарна дистрофія, яка супроводжується розладом функцій серцево-судинної (брадикардія, подовження атріовентрикулярної

провідності, зменшення тривалості діастолі, що у свою чергу спричинює зменшення систолічного об'єму крові та кисневе голодування тканин), дихальної та травної (дистонія передшлунків) систем. У крові зменшується вміст сечовини до 1,2-1,3 ммоль/л (у здорових корів 3,5-6), гемоглобіну - 80-91 г/л, загального білка (66-70 г/л) та альбумінів (22-24 г/л або 29-34 % від загальної кількості).

Порушується білоксинтезуюча функція печінки, що підтверджується гіпоальбумінемією та позитивними результатами колоїдно-осадових проб. У сироватці крові підвищується активність індикаторних для печінки ферментів - аспарагінової (АСТ) та аланінової (АЛТ) трансфераз (Тишківський М.Я., 2002).

Надмірне протеїнове живлення у жуйних спричинює посилене утворення аміаку в передшлунках, який у печінці нейтралізується і перетворюється в перипортальних гепатоцитах у сечовину. Першими в кишківнику з'являються у вільному вигляді ароматичні амінокислоти.

Порушення обміну амінокислот

Структурно-функціональні зміни в шлунку і кишківнику спричинюють порушення гідролізу білків та всмоктування амінокислот, подовжують період від утворення окремих амінокислот до їх асорбції з двох до 5-6-ти годин. Окремі амінокислоти надходять у печінку нерівномірно, що зменшує синтез білка, особливо при порушенні абсорбції незамінних амінокислот.

Інші амінокислоти, що всмоктуються в достатній кількості, використовуються для синтезу білка не повністю, тому їх рештки перетворюються в жири і вуглеводи та виводяться із сечею (**аміноацидурия**), що поступово знижує ефективність використання кормів, зумовлює гормональні порушення і накопичення в організмі проміжних продуктів обміну амінокислот. Наприклад, зниження засвоєння тирозину зменшує синтез гормонів щитоподібної залози, триптофану - нікотинової кислоти.

При деяких хворобах печінки (гепатитах, цирозах, жовтяниці) у крові і сечі різко збільшується вміст амінокислот – настає **алкаптонурия**, яка є наслідком порушення обміну тирозину, що супроводжується різким потемнінням сечі.

При **цистинозі** відбувається відкладання цистину в печінці, нирках, селезінці, лімфатичних вузлах, кишках і спостерігається поява великої кількості цистину в сечі (**цистинурия**). При фенілкетонурії в сечі з'являється велика кількість фенілпіровиноградної кислоти. Часто причиною таких порушень є авітамінози.

Порушення обміну складних білків

Порушення обміну складних білків найчастіше виявляється у нуклеїновому та порфіриновому обміні на прикладі обміну гемоглобіну, міоглобіну та інших залізовмісних білків. Так, при різних ураженнях печінки (гепатитах, фасціольозі, ін.) виникає **гіпербілірубінемія**, при якій вміст білірубіну в крові зростає до 0,3 – 0,35 г/л. Сеча стає темною, оскільки в ній з'являються

великі кількості уробіліну, виникає **уробілінурія**. Іноді спостерігається **порфірія** – різке збільшення в крові і тканинах вмісту порфіринів. Це приводить до **порфінурії** і сеча стає червоною.

Порушення перетравлення протеїну в передшлунках жуйних спостерігається при **ацидозі** та **алкалозі** рубця. При гострому перебігу ацидозу рубця величина рН рідини становить 4,0-5,0, а при хронічному - від 5,0 до 5,8. При кислій реакції (рН 5,7) активність бактеріальних протеїназ рубця зменшується удвічі. При ацидозі порушується також перетворення амінокислот. Якщо величина рН знижується до 5 і менше, розщеплення амінокислот може відбуватися під впливом інших бактеріальних ферментів - декарбоксілаз. Оптимальною величиною рН для них є 3,0-5,5. Ці ферменти продукують мікроорганізми – клостридії, гриби. При декарбоксілюванні утворюються аміни, більшість з яких є токсичними для тварин. Із орнітину утворюється путресцин, з лізину - кадаверин, гістидину - гістамін, тирозину - тирамін.

Порушення перетравлення білків у шлунку (сичузі) та кишківнику, насамперед, може бути спричинене структурними змінами, які виникають при ураженні цих органів, а також підшлункової залози, при багатьох хворобах (гострому і хронічному гастриті та гастроентериті, панкреатиті, виразковому гастриті та абомазиті, інфекційних та паразитарних хворобах, що супроводжуються ураженням шлунка і кишечника).

При гіпоацидному гастриті зменшується виділення вільної соляної кислоти, а при анацидному - вона відсутня. Відповідно знижується й активність пепсину, що спричинює порушення перетравлення протеїну корму. Хронічний гастрит зі зниженою секрецією НСІ часто супроводжується атрофічними процесами у слизовій оболонці шлунка. При цьому зменшується секреція шлункового соку, у ньому відсутні соляна кислота і ферменти (*ахілія*).

Структурні зміни в органах травлення виникають також при хворобах серця, нирок, набряковій хворобі поросят.

Унаслідок порушення водного обміну спостерігається набряк слизових оболонок шлунка і кишківника, пригнічується їхня секреторна і всмоктувальна функції, знижується активність протеолітичних ферментів. У новонароджених телят-гіпотрофіків слизова оболонка сичуга побудована за ембріональним типом, диференціація ворсинок дванадцятипалої і голодної кишок слабо виражена, що зумовлює зниження протеолітичної активності реніну, пепсину та інших гідролаз.

Порушення перетравлення білків може бути **рефлекторним**. Спочатку виникають функціональні розлади шлунка і кишок у результаті ураження інших органів: передшлунків, печінки, легень, нирок, підшлункової залози. Функціональні зміни можуть виникати внаслідок посилення екскреції продуктів обміну речовин або токсинів слизовою оболонкою шлунка і кишок при зниженні видільної функції уражених органів (легень, нирок), при порушенні функцій вегетативної нервової та ендокринної систем.

Тривалі функціональні розлади шлунка і кишечника **рефлекторного і**

компенсаторного походження здебільшого зумовлюють структурні зміни у їхніх тканинах.

Дослідження вчених показали, що при пневмоніях у лоша́т (Скородумов М.Т.) і поросят (Ковбасенко М.Х.) пригнічується секреторна функція шлунка, а у телят - сичуга, зменшується кількість вільної соляної кислоти, у телят гальмується виділення соку підшлунковою залозою, знижується перетравлювальна активність пепсину та трипсину (Костина М.О.).

При гіпотонії та тимпанії рубця секреторна функція сичуга в телят нижча на 50 % (Ганжа 1.Д).

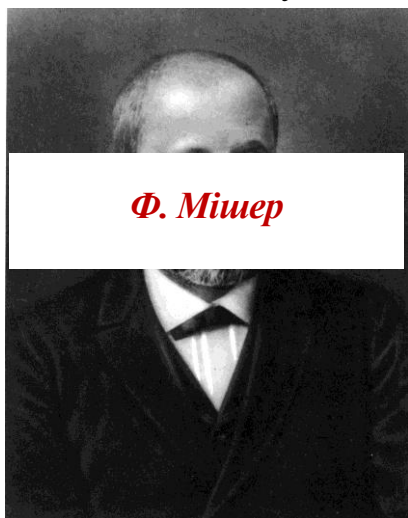
Порушення перетравлення білків проявляється також **кормовою алергією**, що виникає внаслідок всмоктування частини білків і високомолекулярних пептидів у кишківник і кров у незміненому вигляді і діють як алергени. У тварин кормова алергія виникає при поїданні кормів, до яких вони не адаптовані (замінники молока із соєю), уражених мікотоксинами, з домішками лікарських препаратів та незвичних для організму хімічних речовин.

За незвичайного антигенного кормового навантаження відбувається швидке виснаження механізмів місцевого захисту. У таких умовах відбувається абсорбція антигенів із кишківника в кров. Клінічно кормова алергія проявляється ураженням органів шлунково-кишківникового каналу: у хворих тварин раптово з'являються абдомінальні болі, нудота, блювання, проноси або запори. З'являються ураження шкіри - набряки, висипи, ділянки еритемного запалення.

ТЕМА 8. НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ

8.1 Хімічний склад і будова нуклеїнових кислот

Нуклеїнові кислоти були відкриті швейцарським ученим Ф. Мішером у 1869 р. в ядрах лейкоцитів. У зв'язку з тим, що вони вперше були виявлені в ядрах клітин, то спочатку їх називали нуклеїном (nucleus – ядро).

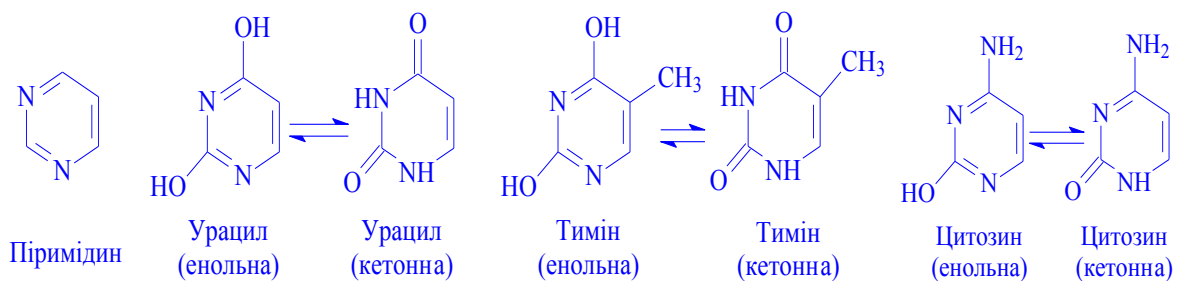


Ф. Мішер

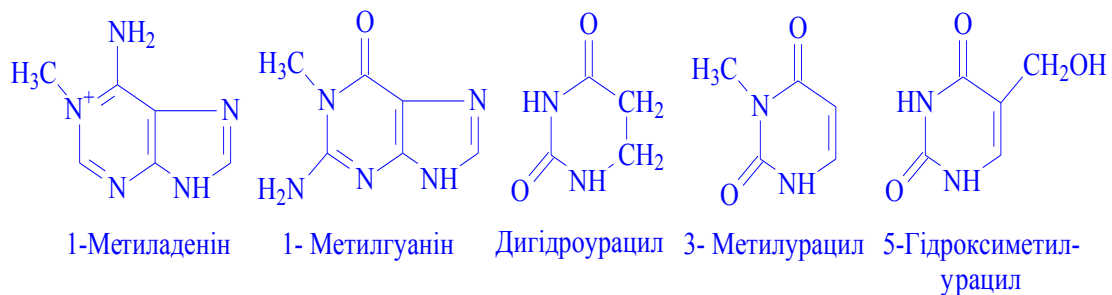
Пізніше в нуклеїні була відкрита фосфорна кислота і його стали називати нуклеїновою кислотою. Ще пізніше було встановлено, що нуклеїнова кислота міститься не тільки в ядрах лейкоцитів, а й в ядрах і в цитоплазмі клітин. Так було доведено, що нуклеїнові кислоти містяться в усіх клітинах організмів і відіграють важливу біологічну роль, є основними носіями передачі спадковості, беруть безпосередню участь у синтезі білків в організмі. Нуклеїнові кислоти, як і білки, є високомолекулярними сполуками. Вони побудовані з великої кількості структурних одиниць, які називаються нуклеотидами, тобто нуклеїнові кислоти – полінуклеотиди.

Нуклеїнові кислоти і білки називають інформаційними молекулами. Послідовність нуклеотидів в ДНК визначає структуру всіх білків клітки. Ділянки ДНК (гени), кодуєчі певні білки, копіюються (транскрибуються) у вигляді полінуклеотидного ланцюга матричної РНК, яка потім служить матрицею для синтезу білка. Таким чином, генетична інформація, записана в ДНК (в генотипі) забезпечує утворення фенотипічних ознак клітини, тобто генотип трансформується у фенотип.

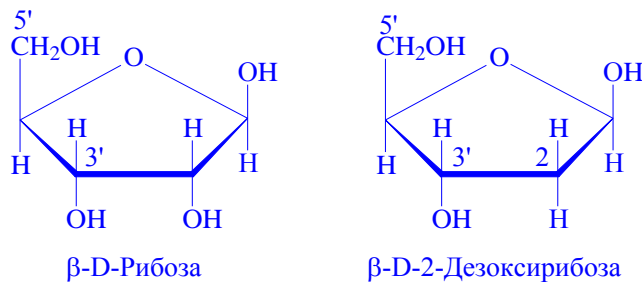
Нуклеотиди – це трикомпонентні сполуки. Вони складаються з пуринових або піримідинових основ, пентоз і фосфорної кислоти. З пуринових основ до складу нуклеотидів входить в основному аденін (6-амінопурин) або гуанін (2-аміно-6-оксипурин). З піримідинових основ у складі нуклеотидів виявлені переважно урацил (2,4-дигідроксипіримідин), тимін (2,4-дигідрокси-5-метилпіримідин) і цитозин (2-гідрокси-4-амінопіримідин):



Крім основних азотистих основ у складі нуклеїнових кислот в невеликих кількостях містяться так звані мінорні (рідкісні) основи як пуринового, так і піримідинового ряду. Прикладом їх можуть бути 1-метиладенін, 1-метилгуанін, дигідроурацил, 3-метилурацил, 5-гідроксиметилцитозин, псевдоуридин (нуклеозид) та ін.:



Підвищену кількість мінорних основ (до 20 %) виявлено в транспортних РНК. Із вуглеводних компонентів – пентоз – до складу нуклеотидів входить в β-D-рибофуранозній формі рибоза або дезоксирибоза:



Встановлено, що в складі окремих фагових ДНК крім рибози і дезоксирибози виявлена також глюкоза.

Як уже зазначалося, компонентом нуклеотидів є фосфорна кислота:

Азотисті основи, сполучаючись з пентозою, утворюють дещо простіші за нуклеотиди сполуки – нуклеозиди. У нуклеозидах пуринові або піримідинові основи зв'язуються з рибозою або дезоксирибозою β -N-глікозидним зв'язком. Існують два види глікозидних зв'язків – α і β . Вони визначаються природою вуглеводного компонента.

У складі нуклеїнових кислот є лише β -глікозидні зв'язки, оскільки до їх складу входить рибоза або дезоксирибоза в β -формі. В зв'язку з цим N-глікозидний зв'язок має β -конформацію. В утворенні N-глікозидного зв'язку в пуринових основах бере участь азот N-9, в піримідинових – N-1, а в пентозах – вуглець C-1:

Назва нуклеозидів походить від назви азотистої основи. Так, сполуки аденіну з рибозою називають аденозином, цитозину з рибозою – цитидином. Якщо в їх складі замість рибози була б дезоксирибоза, то нуклеозиди мали б назву відповідно дезоксиаденозин і дезоксицитидин.

Нуклеозиди, приєднуючи до себе фосфорну кислоту, утворюють основну структурну одиницю нуклеїнових кислот – нуклеотиди. Отже, нуклеотиди містять у своєму складі азотисту основу, пентозу і залишок фосфорної кислоти. Назва нуклеотидів походить від назви основ, що входять до їх складу, або від назви нуклеозиду.

Так, якщо нуклеотид містить азотисту основу аденін, то він називається аденіловою кислотою, або аденозинмонофосфорною кислотою (АМФ); якщо азотистою основою є цитозин, то нуклеотид називається цитидиловою кислотою, або цитидинмонофосфорною кислотою (ЦМФ).

Встановлено, що в складі окремих фагових ДНК крім рибози і дезоксирибози виявлена також глюкоза.

Азотисті основи, сполучаючись з пентозою, утворюють дещо простіші за нуклеотиди сполуки – нуклеозиди. У нуклеозидах пуринові або піримідинові основи зв'язуються з рибозою або дезоксирибозою β -N-глікозидним зв'язком.

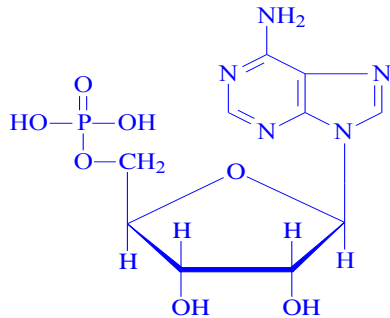
Існують два види глікозидних зв'язків – α і β . Вони визначаються природою вуглеводного компонента. У складі нуклеїнових кислот є лише β -глікозидні зв'язки, оскільки до їх складу входить рибоза або дезоксирибоза в β -формі.

В зв'язку з цим N-глікозидний зв'язок має β -конформацію. В утворенні

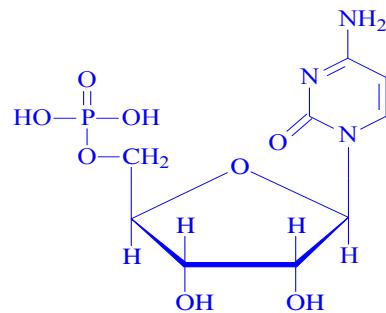
N-глікозидного зв'язку в пуринових основах бере участь азот N-9, в піримідинових – N-1, а в пентозах – вуглець С-1.

Нуклеїнові кислоти ДНК і РНК є полімерами нуклеотидів, сполучених 3'-5'-фосфодіефірними зв'язками. Їх мономерні ланки (нуклеотиди) складаються з азотистої основи, рибози (або дезоксирибози) і фосфорної кислоти.

Рибонуклеотиди, що входять до складу РНК



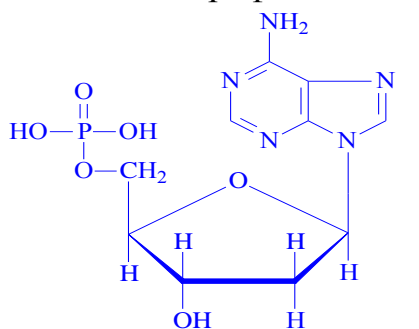
Аденілова кислота, або АМФ



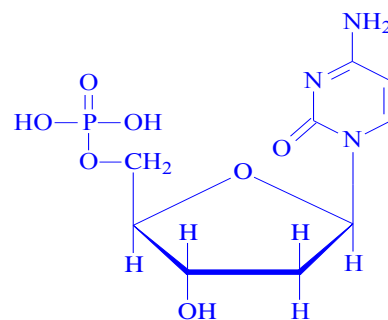
Цитидилова кислота, або ЦМФ

Дезоксирибонуклеотиди, що входять у ДНК

Аналогічний принцип назви властивий і для нуклеотидів, які замість рибози містять дезоксирибозу. Відмінність полягає тільки в тому, що до назви нуклеотиду додається префікс *дезокси-* (д):



Дезоксиаденозинмонофосфорна кислота (дАМФ)



Дезоксицитидинмонофосфорна кислота (дЦМФ)

Первинна структура НК – це послідовність розташування мононуклеотидів у полінуклеотидному ланцюзі.

Вторинна структура ДНК – відповідно до моделі Уотсона і Кріка (1953 р.) молекула ДНК складається з двох правозакручених навколо загальної осі спіралей. Напрямок фосфодіефірних зв'язків (3'-5') у двох ланцюгах антипаралельний. Пуринові і піримідинові основи спрямовані усередину подвійної спіралі й утворюють пари А = Т, Г = Ц, стабілізовані водневими зв'язками.

Третинна структура ДНК – це суперспіраль, кільце (бактерії, віруси). Нуклеїнові кислоти забезпечують збереження і передачу спадкової інформації і безпосередньо беруть участь у механізмах реалізації цієї інформації шляхом програмування синтезу всіх клітинних білків.

8.2 Біологічні функції ДНК

При вивченні первинної структури ДНК певний інтерес становило дослідження щодо співвідношення окремих нуклеотидів у полінуклеотидних ланцюгах. Молекула ДНК є матрицею в процесі *транскрипції* – перекодування інформації в структуру молекул РНК, що необхідно для синтезу білкових молекул.

1. Молекула ДНК є матрицею в процесі реплікації – копіювання інформації в дочірніх молекулах ДНК.

При вивченні первинної структури ДНК певний інтерес становило дослідження щодо співвідношення окремих нуклеотидів у полінуклеотидних ланцюгах. Американським ученим Е. Чаргаффом та його співробітниками було виконано комплекс досліджень і на основі добутих даних виведено ряд важливих правил, які дістали назву *правил Чаргаффа*:

1. Сума пуринових нуклеотидів дорівнює сумі піримідинових нуклеотидів:

$$(\text{Пур} = \text{Пір}, \text{ або } \frac{\text{Пур}}{\text{Пір}} = 1).$$

2. Молярний вміст аденіну (А) дорівнює молярному вмісту тиміну (Т):

$$(\text{А} = \text{Т}, \text{ або } \frac{\text{А}}{\text{Т}} = 1).$$

3. Молярний вміст гуаніну (Г) дорівнює молярному вмісту цитозину (Ц):

$$(\text{Г} = \text{Ц}, \text{ або } \frac{\text{Г}}{\text{Ц}} = 1).$$

4. Відношення суми молярних концентрацій Г і Ц до суми молярних концентрацій А і Т у різних видів ДНК відрізняється між собою.

5. В одних видах ДНК, зокрема виділених з організму тварин, вищих рослин і багатьох мікроорганізмів, нуклеотиди, що містять аденін і тимін, переважають над нуклеотидами, що містять гуанін і цитозин ($\text{А} + \text{Т} > \text{Г} + \text{Ц}$). Такі дезоксирибонуклеїнові кислоти називаються ДНК АТ-типу.

В інших ДНК, виділених із мікроорганізмів і бактерій, нуклеотиди, які містять гуанін і цитозин, переважають над нуклеотидами, які містять аденін і тимін ($\text{Г} + \text{Ц} > \text{А} + \text{Т}$). Такі ДНК утворюють ГЦ-тип дезоксирибонуклеїнових кислот. У природі переважають ДНК АТ-типу.

Вивчення нуклеотидного складу ДНК різних організмів показало, що він коливається у мікроорганізмів, водоростей, грибів і особливо у бактерій. Специфічний склад ДНК у них настільки виражений, що може бути однією з надійних систематичних ознак. Нуклеотидний склад ДНК у тварин і вищих рослин, на відміну від мікроорганізмів, коливається в значно менших межах. Так, якщо у бактерій коефіцієнт специфічності ДНК, тобто відношення

$$\frac{\text{Г} + \text{Ц}}{\text{А} + \text{Т}}, \text{ змінюється від } 0,45 \text{ до } 2,8 \text{ (у } 6 \text{ разів), то у вищих рослин і різних видів}$$

тварин він становить 0,54 – 0,94 (змінюється лише в 2 рази).

8.3 Рівні структурної організації ДНК еукаріот

1. Послідовності, які складають 64 % геному і включають ділянки ДНК, що містять структурні гени або цистрони. Вони несуть інформацію про синтез молекул іРНК.

2. Послідовності, що повторюються і кодують переважно тРНК та сполуки, що необхідні організму в значних кількостях. Дані послідовності утворюють так звані тандемні повтори.

3. Послідовності, що часто повторюються (сотні тисяч і мільйони разів). Вони складають так звану сателітну ДНК (від лат. *Satelles* – супутник). Таку назву вона дістала в зв'язку з тим, що її можна відділити методом центрифугування в градієнті концентрацій хлориду цезію.

Сателітна ДНК мишей містить послідовності 5'-AAAAAGTAA-3' 3'-TTTТАЦГ-5", які повторюються більше 300 разів. Особливістю сателітних ДНК є наявність в їхньому складі чергування комбінацій з трьох, а не чотирьох нуклеозидмонофосфатів.

У людини виявлено чотири сателітні ДНК, які становлять 4% хромосомної ДНК. Сателіти, як правило, знаходяться в центромерному гетерохроматині і беруть участь у спарюванні та розходженні хромосом.

4. Зворотні повтори – **паліндроми** (від грец. *Palindromos* – перевертень, той, що вертається) (*схема 8.3.1*). Паліндроми – послідовності мононуклеотидів, що повторюються в зворотньому порядку. При цьому послідовності нуклеозидмонофосфатів в одному з ланцюгів паліндрому співпадають з послідовностями нуклеозидмонофосфатів у другому ланцюгу, якщо зчитувати його в протилежному напрямку:



Схема 8.3.1 Зворотні повтори (паліндроми).

Паліндроми, як правило, мають різну довжину. Вони не впливають на формування вторинної структури, однак при формуванні вищих рівнів структури довгі паліндроми можуть утворювати хрестоподібні структур, які відіграють певну роль у розпізнаванні окремих ділянок ДНК відповідними фер-

ментами та білковими факторами, що забезпечують регуляцію діяльності генів. Оскільки у прокариот уся ДНК хромосоми використовується для кодування структури іРНК, що виконує роль матриці при синтезі білків з специфічною структурою, генетична інформація на структурі ДНК прокариот, локалізована на певних ділянках, дістала назву **оперону** (від лат. *operon* – працюю, дію).

Оперон – ділянка ДНК, обмежена **промотором і термінатором**, яка містить **цистри** або структурні гени (кодують первинну структуру іРНК, які забезпечують синтез білків-ферментів одного метаболічного циклу) і знаходиться під регуляторним впливом гена-регулятора. У прокариот відомі оперони, до складу яких входить кілька структурних генів або цистронів, що кодують структуру ферментів одного метаболічного ланцюга (поліцистронні іРНК). Оперон складається з промотора, гена-оператора, структурних генів, або цистронів, та гена-термінатора.

Промотор – місце початку транскрипції, є короткою послідовністю монукулеотидів ДНК, з якою зв'язується фермент ДНК-залежна-РНК-полімераза. Ген-оператор – це ділянка ДНК, що безпосередньо прилягає до структурних генів і регулює їхню функціональну активність за участю білка репресора, синтез якого кодується геном-регулятором.

Структурні й регуляторні гени

За функціями гени живих організмів можна поділити на дві великі групи: структурні й регуляторні. Структурні гени містять інформацію про будову молекул білків та РНК, які входять до складу органел або цитоплазми клітин. Багато які із цих білків і РНК беруть участь в утворенні структур клітини, що й дало назву цьому типу генів. До цієї групи входять також гени ферментів та речовин, які клітина виділяє у навколишнє середовище (наприклад, слиз або речовини нектару).

Регуляторні гени теж містять інформацію про структуру молекул білків або РНК. Але їхнє завдання – регулювати роботу структурних генів. Вони можуть її прискорити чи вповільнити. Або й зовсім припинити синтез продукту гена, який клітині на певний час не потрібен. Ці гени можуть діяти на різних етапах синтезу продуктів генів. Вони здатні впливати як на синтез або дозрівання РНК, так і на синтез білка.

Регуляція роботи генів

У геномі еукаріотів міститься кілька тисяч генів, але для життєдіяльності й виконання своїх функцій кожній окремій клітині потрібно набагато менше генів. Так, у ссавців нервовій клітині зорового нерва не треба виробляти ферменти слини або статеві гормони.

А клітині м'язів не потрібний синтез гемоглобіну. Тому більша частина генів у клітинах є неактивною, «вимкненою».

Але й ті гени, які працюють не завжди, повинні працювати однаково інтенсивно. Якщо є потреба у виробленні травних ферментів, то гени, які їх виробляють, працюють активно. А коли потреба минає, інтенсивність їхньої роботи слід зменшувати. Таким чином клітини економлять ресурси організму.



Характерною особливістю еукаріотів є те, що кількість генів у них менша (часто набагато менша), ніж кількість білків, які синтезуються в їхніх клітинах. Це стало можливим завдяки тому, що з одного гена організм може отримувати кілька функціональних продуктів (мол

Рис. 8.3.1 *Експресія генів у еукаріотів* екул білків).

Саме для вирішення перелічених проблем і потрібні механізми регуляції реалізації спадкової інформації. І еукаріоти здійснюють таку регуляцію надзвичайно ефективно.

Експресія генів

Унаслідок дії регуляторних механізмів змінюється експресія генів. **Експресія генів** - це процес, під час якого спадкова інформація певного гена використовується для синтезу його продукту (молекули білка або РНК) (**Рис. 8.3.1**). Якщо експресія збільшується - продукту синтезується більше, а якщо зменшується - продукту синтезується менше.

Експресія може змінюватися як напрямом (шляхом дії регуляторних генів) так і опосередковано (як побічний ефект дії іншого гена, наприклад, за умови недостатнього синтезу речовини, яка є субстратом для роботи ферменту).

Регуляція активності генів

У клітинах регуляція реалізації генетичної інформації може відбуватися за допомогою кількох механізмів. Вони діють на різних рівнях реалізації спадкової інформації:

- на рівні хроматину,
- під час транскрипції,
- під час дозрівання та транспорту РНК,
- під час трансляції,
- після завершення трансляції (пост-трансляційна модифікація).

Ген-регулятор може знаходитись поряд чи на певній відстані від оперона. Завершується оперон геном-термінатором, який сигналізує про закінчення транскрипції (**схема 8.3.2**). Для структурних генів еукаріот характерними є не поодинокі регуляторні ділянки, а цілі їх серії; відрізняються також ферментні системи, що забезпечують зчитування інформації та модифікацію продуктів транскрипції

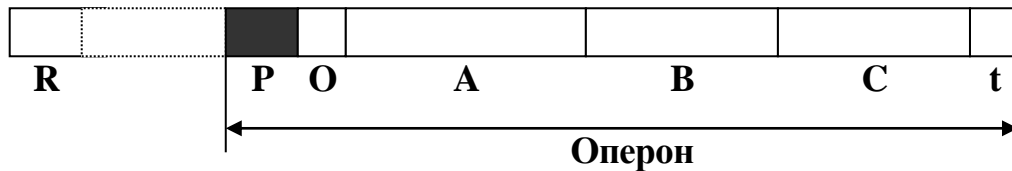


Схема 8.3.2. Будова оперону (транскриптову) прокариот: *R* – ген-регулятор; *P* – промотор; *O* – оператор; *A*, *B*, *C* – структурні гени; *t* – термінатор.

На структурі оперона еукаріот інформативні ділянки – **екзони** – чергуються з неінформативними – **інтронами**(схема 7.3.3):

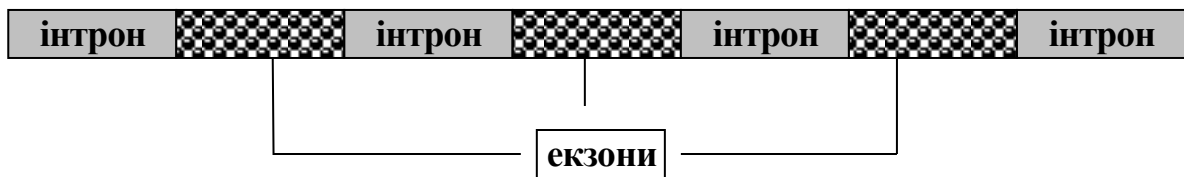


Схема 8.3.3. Інформативні ділянки – екзони

Вторинна структура. Просторова конфігурація полінуклеотидних ланцюгів ДНК становить її вторинну структуру. Модель структури молекули ДНК вперше була запропонована вченими із Кембріджського університету (Англія) Дж. Уотсоном і Ф. Кріком у 1953 р.

Основою для побудови даної моделі стали відомості про хімічний склад ДНК, одержані Е. Чаргаффом, а також дані рентгеноструктурного аналізу, одержані Л. Уілкінсом, Р. Гослінгом і Р. Франкліном. Принципи побудови моделі відповідають властивостям носія спадкової інформації, тобто дають можливість пояснити, як здійснюється запис інформації, як вона відтворюється і змінюється при мутації.

Відповідно до моделі Дж. Уотсона і Ф. Кріка молекула ДНК це подвійна спіраль, тобто вона складається з двох полінуклеотидних ланцюгів, які закручені правильними витками навколо однієї спільної осі (**Рис. 8.3.2**). Без розкручування вони не можуть відокремитися одна від одної.

Полінуклеотидні ланцюги ДНК розміщені антипаралельно: 5'-кінець одного полінуклеотидного ланцюга знаходиться напроти 3'-кінця другого ланцюга. Вони обернені один до одного азотистими основами, а зовні розміщені залишки дезоксирибози і фосфорної кислоти.

Діаметр спіралі ДНК становить 2 нм, крок її 3,4 нм, кожний виток спіралі містить 10 пар нуклеотидів так, що кожна пара їх займає 0,34 нм по осі спіралі. Стабілізація подвійної спіралі здійснюється за рахунок водневих зв'язків і гідрофобної взаємодії.

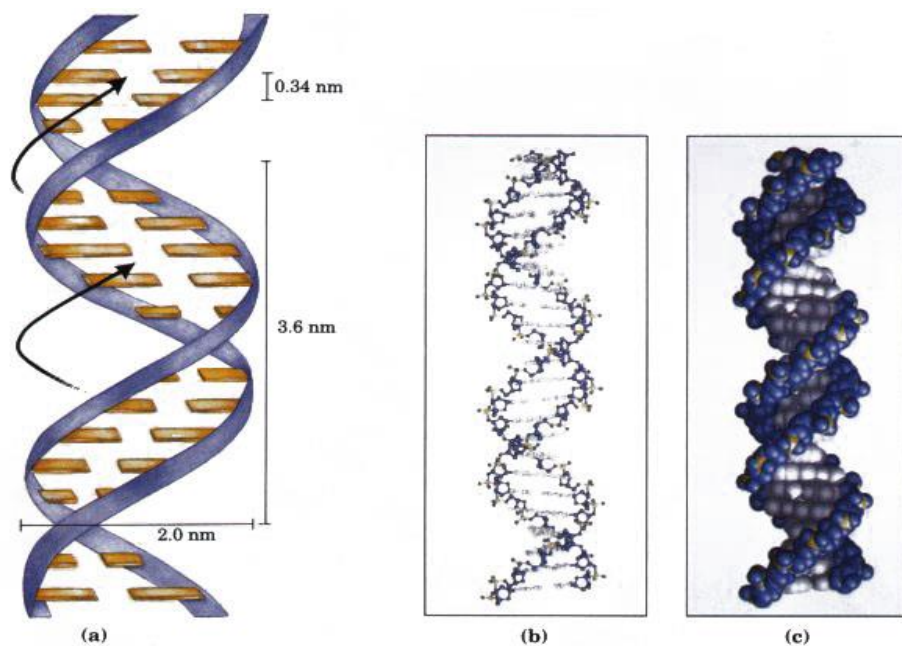


Рис. 8.3.2 Зображення подвійної спіралі ДНК (а)– за Дж. Уотсоном, Ф. Кріком; (b)– молекулярна; (c)– атомна.

Утворення водневих зв'язків у молекулі ДНК – процес точно визначений. Так, аденін одного полінуклеотидного ланцюга завжди зв'язується двома водневими зв'язками з тиміном другого полінуклеотидного ланцюга, а гуанін постійно зв'язується трьома водневими зв'язками з цитозином:

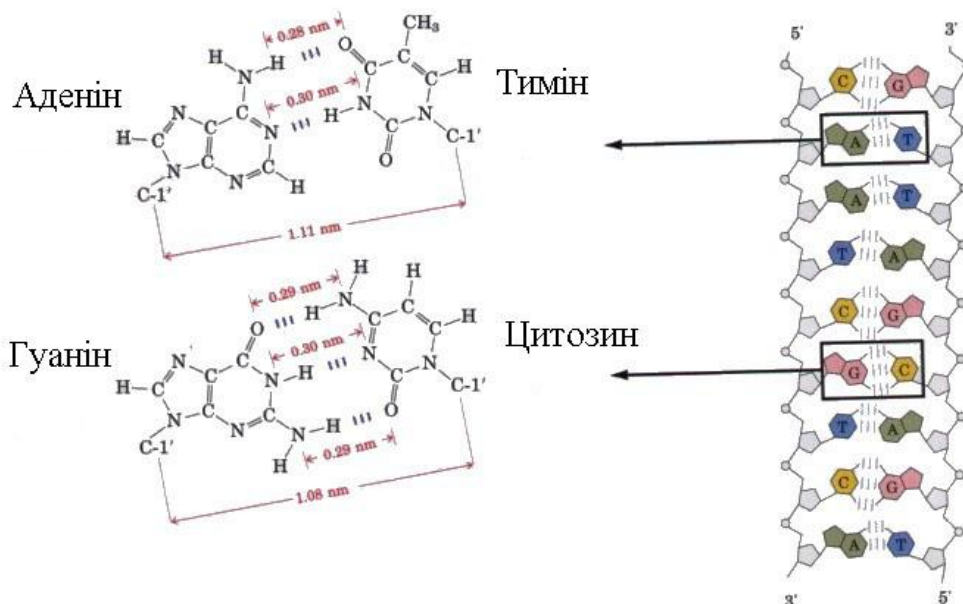


Рис. 8.3.3. Принцип комплементарності в подвійній спіралі ДНК.

Ця закономірність називається **комплементарністю** (доповнюваністю). У подвійній спіралі ДНК аденін ніби доповнює тимін, а гуанін – цитозин і навпаки (**Рис.8.3.3**).

Отже, кожна пара нуклеотидів складається з однієї пуринової основи і однієї

піримідинові, які доповнюють одна одну. З такого принципу будови ДНК випливає правило Чаргаффа, що вміст аденіну дорівнює вмісту тиміну, а вміст гуаніну дорівнює вмісту цитозину. Значний інтерес становить вивчення таких форм ДНК, як А, В, С. При зміні вологості і катіона солі ці форми ДНК можуть переходити одна в одну. **В-форма** відповідно з моделлю Уотсона-Кріка є формою ДНК, яка найчастіше зустрічається в живих організмах і в розчинах

Так, на основі вивчення солей ДНК різних лужних металів з різною вологістю виявлено ряд форм двоспіральної ДНК.

В деяких мікроорганізмах виявлені одноланцюгові ДНК, які мають як лінійну, так і кільцеву структури. Так, в окремих вірусів (вірус поліомієліту, дрібний вірус мишей) знайдено лінійні одноланцюгові ДНК. Вони, на відміну від дволанцюгових ДНК, мають меншу молекулярну масу, в них часто не зберігається відповідне співвідношення між азотистими основами: А – Т і Г – Ц і т.д.

Третинна структура ДНК. Дослідження будови ДНК показало, що лінійні дволанцюгові або кільцеві форми ДНК можуть бути зорієнтовані у просторі з утворенням спіралізованих і суперспіралізованих форм, тобто третинної структури. Про певне укладання (упаковку) ДНК у клітинах свідчить той факт, що молекула ДНК з молекулярною масою 10^6 повинна була б мати довжину 5 мкм, а насправді довжина її становить 0,5 мкм. Так, розмір подвійної спіралі ДНК бактерії *E. coli* більше 1 мм, а розмір самої клітини не перевищує 5 мкм.

Третинна структура ДНК (прокаріот і еукаріот) має свої особливості, пов'язані з будовою та функціями їх клітин. Для третинної структури ДНК вірусів і бактеріофагів характерним є наявність специфічної суперспіралізації одно- або дволанцюгових її кільцевих форм. Суперспіралізовані структури утворюють в основному ліву спіраль. Зустрічаються також суперспіралізовані кільцеві дволанцюгові ДНК, які закручуються самі на себе. Такі суперспіралі характерні для онкогенних вірусів і нехромосомних ДНК бактерій (плазмід) та мітохондрій.

Для третинної структури ДНК еукаріотичних клітин характерна також суперспіралізація, яка забезпечує економну упаковку ДНК в хроматині. Однак особливістю суперспіралізованої третинної структури ДНК еукаріот є те, що вона реалізується у формі складних комплексів ДНК з гістоновими і негістоновими білками, РНК та іонами металів.

Основну масу хроматину становлять білки – гістони, які за вмістом залишків аргініну і лізину поділяють на п'ять груп: H_1 ; H_{2A} ; H_{2B} ; H_3 ; H_4 . Взаємодія між гістонами і молекулами ДНК забезпечується за рахунок утворення іонних зв'язків між негативно зарядженими залишками фосфату та позитивно зарядженими групами діаміномонокарбонових кислот (аргініну і лізину). Розрізняють кілька рівнів упаковки ДНК еукаріот у хроматині. Перший, найбільш вивчений, до складу нуклеосом входять відрізки двоспіральної молекули ДНК довжиною 120 – 250 пар основ, H_1 і по дві молекули інших груп гістонів (октет гістонів). Гістоновий октамер утворює ядро нуклеосоми, або нуклеосомний кор, який являє собою диск діаметром 11 і товщиною 5,7 нм. 1,75 витка.

Третій рівень упаковки ДНК у хроматині вивчено недостатньо. Вважа-

ють, що соленоїди утворюють *суперспіралізовані петлі*, що призводить до зменшення лінійних розмірів ДНК у 200 разів. Суперспіралізовані петлі – це домени ДНК, які відповідають, очевидно, одиницям транскрипції і реплікації хроматину.

8.4 Біологічні функції та рівні структурної організації РНК

Відомо 3 види РНК: матричні РНК (м-РНК), рибосомальні РНК (р-РНК), транспортні РНК (т-РНК).

1. *м-РНК* виконують функції матриць білкового синтезу, визначають амінокислотну послідовність білку.
2. *р-РНК* виконують роль структурних компонентів рибосом.
3. *т-РНК* – адапторні молекули, беруть участь у трансляції інформації м-РНК у послідовність амінокислот у білках.

Рибонуклеїнові кислоти, (РНК) як і дезоксирибонуклеїнові кислоти (ДНК), є досить важливими компонентами клітин усіх живих організмів. Молекули РНК, що містяться в клітині, відрізняються будовою, функціями, розмірами, складом та локалізацією. Основна маса РНК міститься в цитоплазмі (90 %), решта – в ядрі та інших органелах клітин.

У цитоплазмі клітин міститься РНК кількох видів: рибосомальна (рРНК), транспортна (тРНК), інформаційна (іРНК) або матрична (мРНК). Частина РНК знаходиться в ядрі – ядерна РНК (яРНК). Вміст ядерної РНК становить 4 – 10% загального вмісту РНК клітини. В ядрі, як правило, синтезуються високомолекулярні попередники – преРНК, інформаційної, транспортної і рибосомальної РНК.

Первинна структура. Основою хімічної будови РНК є полінуклеотиди різної довжини. Послідовність чергування залишків відповідних мононуклеотидів в ланцюгах становить первинну структуру РНК.

Нині вивчено первинну структуру більш як п'ятидесяти тРНК. Назва цих тРНК походить від амінокислот, які вони переносять до місця біосинтезу білка. Успішно ведуться дослідження з вивчення первинної структури інших видів РНК. Так, вивчена первинна структура різних видів низькомолекулярних рибосомальних РНК. Повністю з'ясовано первинну структуру РНК бактеріофага MS2 (бактеріофаг MS2 є мікрівірусом, що паразитує на кишечній паличці), яка складається із 3569 нуклеотидних залишків.

Вторинна структура. РНК, на відміну від ДНК, побудована з одного полінуклеотидного ланцюга, для якого властива своєрідна спіралізація. Полінуклеотидний ланцюг РНК закручується навколо своєї умовної осі, утворюючи водневі зв'язки між азотистими основами аденін – урацил і гуанін – цитозин.

Особливістю вторинної структури РНК є те, що полінуклеотидний ланцюг спіралізований не повністю. У РНК немає повної відповідності в чергуванні комплементарних основ, що призводить до утворення виступів в окремих нуклеотидів на поверхні спіралі полінуклеотидного ланцюга.

Вищий ступінь спіралізації (понад 50%) властивий для транспортних і рибосомальних РНК.

Крім указаних загальних закономірностей кожен вид РНК характеризується особливостями структури, певними властивостями та функціями.

Інформаційні, або матричні, РНК. Це досить важливий вид РНК клітини. Вміст її становить 2 – 6% загальної кількості РНК. Уперше наявність у клітині іРНК передбачили А.М. Білозерський та О.С. Спирін у 1956 р. на основі досліджень АТ і ГЦ типу нуклеїнових кислот.

Враховуючи те, що дана РНК бере участь у забезпеченні матричного синтезу білка і передачі генетичної інформації, вона дістала назву матричної або інформаційної (мРНК, або іРНК). Синтезується іРНК на ДНК (процес транскрипції). У прокаріот синтезована іРНК може зразу без будь-яких змін використовуватися у вигляді матриці, а в еукаріот в процесі транскрипції утворюється високомолекулярна проРНК, яка піддається процесінгу, внаслідок чого утворюється зріла молекула іРНК.

Генетична інформація закодована на структурі іРНК у **цистронах** або структурних генах. іРНК, що кодує один білок, називається моноцистронною, якщо кілька білків – поліцистронною. В цьому випадку між цистронами знаходяться **снейсери** – ділянки, що не кодують синтез білків. Для прокаріот характерна поліцистронна, а для еукаріот моноцистронна іРНК.

Основою хімічної будови іРНК є полінуклеотиди різної довжини. Послідовність чергування нуклеотидів у ланцюгах є первинною структурою іРНК.

Загальна будова іРНК прокаріот і еукаріот однакова, хоча існують певні особливості.

У клітинах еукаріот іРНК знаходиться в комплексі з білками, які стабілізують її структуру. Матричні рибонуклеопротеїдні комплекси, що утворюються при цьому, називаються **інформосомами**. Особливістю іРНК еукаріот є наявність в її складі структур, які не кодуються відповідними генами ДНК, а добудовуються в процесі посттранскрипційної модифікації первинних транскриптів, які піддаються процесінгу.

Так, на 5'-кінці іРНК еукаріот знаходиться ділянка, що дістала назву **кеп** (від англ. **cap – шапочка**), в складі якої міститься мінорний нуклеозидтрифосфат-7-метилгуанозин. За кепом знаходиться ділянка з метильованими нуклеозидмонофосфатами.

Далі розміщується 5'-нетрансляюча послідовність (**5'-НТП**) нуклеотидів, багата АГ-парами. Вважають, що ця ділянка забезпечує сполучення іРНК з рибосомою. Ділянка рРНК, з якою контактує іРНК, багата УЦ-парами, тобто ділянки комплементарні одна одній.

Після нетрансляючої зони на структурі іРНК міститься ініціюючий кодон **АУГ**, а в деяких іРНК **ГУГ**. Вони пізнаються як ініціюючі лише тоді, коли знаходяться на місці, з якого починається синтез поліпептиду. Якщо кодони розміщені всередині структурних генів, то вони читаються як метіонін (**АУГ**) і валін (**ГУГ**). Далі розміщуються цистрони або структурні гени, в

яких у вигляді триплетів закодовані певні амінокислоти. Завершується цистрон термінаторними кодоном УАА, УАГ або УГА. У випадку поліцистронної іРНК термінаторні кодони розміщуються в кінці кожного цистрону.

Вважають, що біологічна функція поліаденілової послідовності – стабілізація молекули іРНК та продовження часу її функціонування. За один цикл проходження іРНК крізь рибосому відщеплюється один залишок аденозинмонофосфату від поліаденілової послідовності. Втрата поліаденілової послідовності призводить до руйнування іРНК.

Вторинна структура іРНК представлена у вигляді кількох двоспиральних шпильок, які утворюються в межах одного полінуклеотидного ланцюга внаслідок комплементарного спарювання А–У і Г–Ц пар. Шпильки зв'язані між собою короткими одноланцюговими ділянками. Вважають, що шпильки на структурі іРНК відіграють певну роль у забезпеченні процесів ініціації і термінації. При зв'язуванні з рибосоною вся просторова структура іРНК не порушується, а відбувається лише деспіралізація ділянок у місцях безпосереднього контакту іРНК з рибосоною.

Третинна структура іРНК вивчена недостатньо. Припускають, що молекули іРНК можуть змінювати третинну структуру залежно від умов зовнішнього середовища, температури, іонної сили, розчину, рН тощо.

Транспортні РНК (тРНК). Це один з видів рибонуклеїнових кислот клітини, який відіграє важливу роль у забезпеченні перенесення активних форм амінокислот – аміноациладенілатів до рибосомального апарату, де вони використовуються при білковому синтезі. тРНК становлять 10 – 15% всієї РНК клітини. Вони локалізовані переважно в гіалоплазмі клітини, ядерному соку і в безструктурній частині мітохондрій хлоропластів.

Характерною ознакою тРНК є невелика молекулярна маса – 20 – 35 тис. При вивченні **первинної структури тРНК** встановлено, що вони побудовані переважно з 70 – 90 нуклеотидних залишків і мають певні спільні ознаки. Так, на 5'-кінці полінуклеотидного ланцюга здебільшого знаходиться залишок гуанозинмонофосфорної (ГМФ), а на 3'-кінці – фрагмент, який складається з двох залишків цитидинмонофосфорної кислоти і одного залишку аденозинмонофосфорної кислоти (ЦМФ, ЦМФ, АМФ). Між ними в полінуклеотидному ланцюгу в точно визначеній послідовності розміщені всі інші пуринові і піримідинові нуклеотидні залишки. Серед них близько 8 – 10% нуклеотидів, які містять мінорні основи: псевдоуридин, різні метильовані похідні аденіну, гуаніну, цитозину тощо.

Для тРНК характерними є і вищі рівні структури (вторинна, третинна), що забезпечуються спіралізацією в межах одного полінуклеотидного ланцюга, що при цьому закручується „на себе”, утворюючи складну просторову структуру тРНК.

Вторинна структура тРНК однотипна для всіх їх видів і представлена у вигляді листка конюшини (**Рис. 8.4.1**), що містить п'ять спіралізованих ділянок, чотири з яких закінчуються петлеподібними структурами.

Вони не містять спарених нуклеотидів, а п'ята закінчується додатковою

петлею, функції якої не з'ясовані. В центрі молекули знаходиться неспіралізована ділянка; 3'- та 5'-кінці молекули, сполучені за рахунок комплементарних пар основ і утворюють акцепторне стебло.

Акцепторне стебло – найдовша спіралізована структура в молекулі тРНК, що містить сім спарених основ. Завершується ця ділянка неспареною послідовністю нуклеотидів ЦЦА, розміщеною на 3'-кінці молекули. До 3'-ОН групи кінцевого залишку аденіну приєднується відповідна амінокислота, яка переноситься від аміноациладенілатів на етапі рекогніції.

Утворені при цьому аміноацил-тРНК використовуються у вигляді адапторів, забезпечуючи переведення послідовності нуклеотидів іРНК на амінокислотну послідовність білкової молекули, тобто забезпечують один з етапів трансляції.

На протилежному кінці молекули тРНК міститься антикодонова ділянка, що містить п'ять спарених і сім неспарених нуклеотидів, які утворюють антикодонову петлю. У центральній ділянці антикодонової петлі міститься антикодон– триплет, комплементарний кодону іРНК, що кодує відповідну амінокислоту.

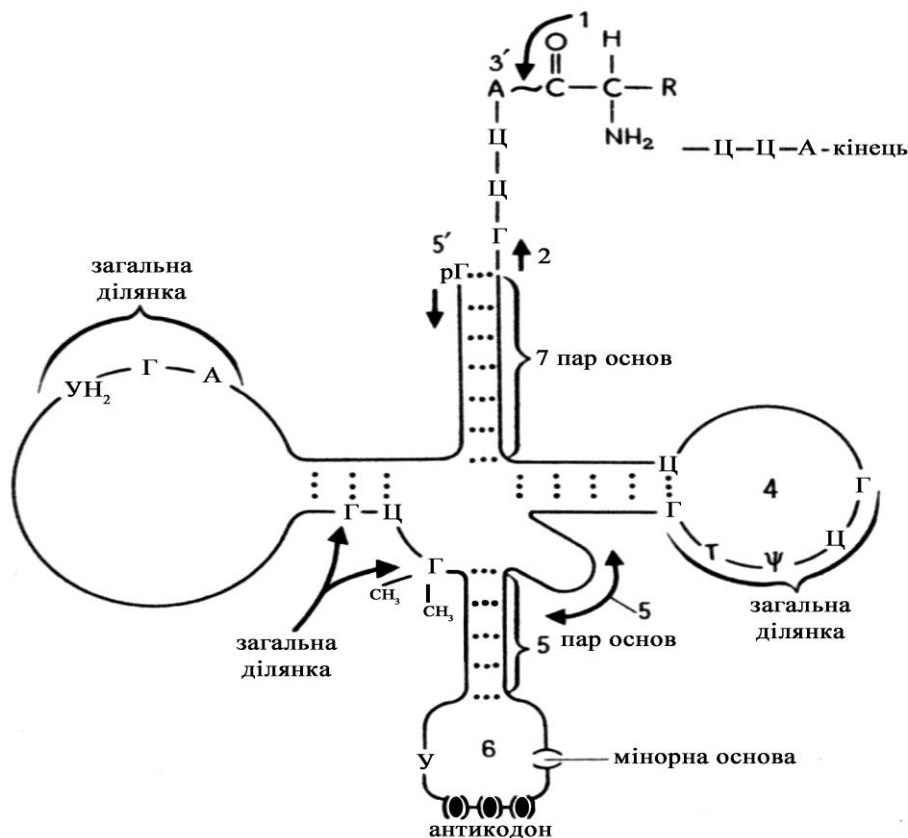


Рис. 8.4.1. Вторинна структура тРНК

Так, кодону на іРНК 5'-ГЦЦ-3' відповідає антикодон 3'-ЦГГ-5'. У процесі трансляції кодон іРНК сполучається з антикодоном тРНК водневими зв'язками (кодон-антикодонова взаємодія). Антикодон тРНК є точною копі-

єю кодогену ланцюга ДНК, в якому тимін замінено на урацил.

Серед інших петлеподібних структур тРНК найважливіше значення мають:

а) псевдоуридилова петля. Складається вона з семи мононуклеотидних ланок, серед яких завжди зустрічається послідовність 5'-ТψЦГ-3', що містить псевдоуридин, який зв'язується водневим зв'язком з мінорною основою РНК – тиміном. Вважають, що дана петля забезпечує взаємодію тРНК з рибосомою (50S-субодиницею);

б) дигідроуридилова петля (D-петля) містить кілька мононуклеотидів, в складі яких знаходиться мінорна азотиста основа дигідроуридин. Дигідроуридилова петля забезпечує взаємодію тРНК з специфічним ферментом (аміноацилсинтетазою);

в) додаткова петля, функції якої мало вивчені.

Третинна структура тРНК досить компактна (**Рис. 8.4.2**). Утворюється вона внаслідок наближення окремих ділянок вторинної структури. L-Подібна структура, що утворюється при цьому, дістала назву ліктявого згину (**Рис. 8.4.3**). В утвореній структурі антикодонова петля розміщується на одному кінці молекули, а акцепторна – на іншому. При цьому за рахунок акцепторної ділянки утворюється одна подвійна спіраль, а за рахунок спареної ділянки антикодонової петлі – друга. Спіралізовані ділянки розміщуються одна відносно одної під кутом 92°. D-Петля і ТψЦГ-петля взаємодіють одна з одною, утворюючи кут ліктявого згину.

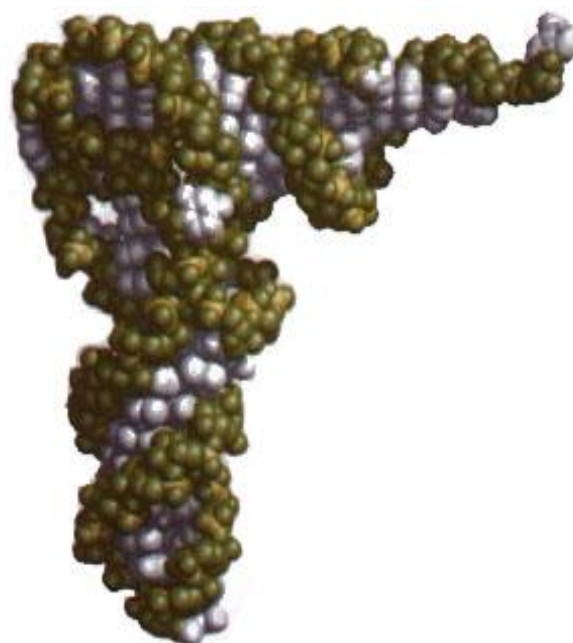
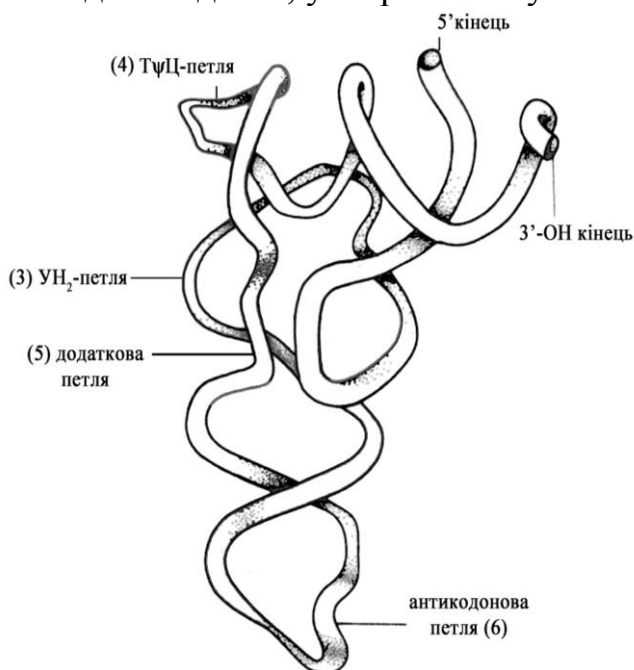


Рис. 8.4.2. Третинна структура тРНК

Рис. 8.4.3 «Ліктявий згин»

Структура тРНК стабілізується водневими зв'язками та стекінг-взаємодією. Певну роль у стабілізації вищих рівнів структури відіграють іони Mn^{2+} і Mg^{2+} . Вважають, що третинна структура спільна для всіх тРНК.

Незначні відмінності в будові різних тРНК забезпечує специфічне пізнавання їх ферментом аміноацил-тРНК-синтетазою і сполучення з відповідними амінокислотами.

Рибосомальні РНК (рРНК). Рибосомальні РНК є досить важливою групою рибонуклеїнових кислот клітин про- і еукаріот. Вони є структурною основою рибосом – клітинних органел, на яких відбувається досить важливий етап синтезу білка – трансляція. Крім цитоплазматичних рибосом, рРНК забезпечує структуру та функціональну активність рибосом таких важливих органел клітин, як мітохондрії та хлоропласти, що містять автономний апарат синтезу білка.

У складі рибосом рРНК знаходиться в комплексі з білками (рибонуклеопротеїдні комплекси). Молекули рРНК мають, як правило, Y-подібну форму й утворюють каркас, до якого прикріплюються білки, внаслідок чого утворюється щільна компактна структура, яка формує великі та малі субодиниці рибосом. Залежно від набору білків та рРНК великі і малі субодиниці рибосом мають різні константи седиментації: 30S, 50S, 40S, 60S та ін. 30S- і 50S-субодиниці формують 70S-рибосому прокариот, а 40S і 60S відповідно 80S-рибосому еукаріот.

Подібний набір рРНК характерний і для субодиниць рибосом, виділених з клітин печінки: 23S, 18S, 5S та 5,8S-РНК, з молекулярною масою відповідно $1,6 \cdot 10^6$; $0,65 \cdot 10^6$; $4 \cdot 10^4$; $5 \cdot 10^4$.

Вторинна структура р-РНК утворюється за рахунок спіралізації молекули в межах одного полінуклеотидного ланцюга, внаслідок чого відбувається формування коротких двоспіральних структур – шпильок. У вигляді шпильок організовано близько $\frac{2}{3}$ поверхні молекули рРНК, решта представлена одноланцюговими „аморфними” ділянками, з якими зв'язуються білки рибосом.

Вірусні РНК. Вірусні РНК є складовою частиною РНК-вмісних вірусів і фагів. На відміну від більшості клітин про- та еукаріот геном вірусів, як правило, організований за участю одного виду нуклеїнових кислот. У зв'язку з цим розрізняють ДНК- та РНК-вмісні віруси. На відміну від канонічних форм біополімерів клітини (дволанцюгова ДНК і одноланцюгова РНК), будова, властивості та просторова орієнтація компонентів вірусного геному можуть бути найрізноманітнішими. Молекули вірусних РНК відрізняються між собою молекулярною масою – від сотень тисяч до десятків мільйонів, якісним складом, кількісним вмістом та чергуванням мононуклеотидних ланок у полінуклеотидному ланцюгу (первинною структурою), способом укладання молекули в просторі та здатністю до передачі генетичної інформації. Високомолекулярні вірусні РНК зі значеннями молекулярної маси наближаються до значень молекулярної маси, характерних для ДНК.

8.5 Властивості та функції нуклеїнових кислот

Нуклеїнові кислоти – це речовини білого кольору, волокнистої будови, погано розчинні у воді. Їх солі (лужних металів) добре розчинні у воді. Нуклеїнові кислоти розчиняються також у розчинах солей: РНК – у розбавлених, а ДНК – у більш концентрованих.

Оскільки молекули нуклеїнових кислот асиметричні, то їх розчини мають високу *в'язкість*. В'язкість розчинів нуклеїнових кислот використовується для характеристики дволанцюгових ДНК, зокрема їх молекулярної маси. Так, відносна в'язкість 0,01%-го розчину ДНК з молекулярною масою $(5 - 10) \cdot 10^6$ близька до 1,5. Таку ж приблизно в'язкість мають розчини ДНК, в яких концентрація нуклеїнової кислоти в п'ять разів більша, а молекулярна маса значно менша – $0,3 \cdot 10^6$. Руйнування водневих зв'язків у ДНК і розкладання її на два полінуклеотидні ланцюги приводить до зниження в'язкості розчинів.

Для нуклеїнових кислот характерна також висока *оптична активність*. Їх розчини здатні обертати площину поляризації світла вправо на певний кут (позначається знаком плюс). Він помітно зменшується по мірі зменшення ступеня впорядкованості полінуклеотидних ланцюгів. Так, питома активність розчинів біспіральної ДНК дорівнює 150° . Для розчинів мономерних нуклеотидів, одноланцюгових РНК і ДНК при тій же довжині хвилі питома активність у 4 – 6 разів менша. Отже, даний показник є важливим критерієм наявності в нуклеїнових кислотах спіральних і дволанцюгових ділянок.

Усі нуклеїнові кислоти мають здатність *поглинати світло* в ультрафіолетовій області з максимумом 260 нм. Порушення нативності нуклеїнових кислот супроводжується підвищеним поглинанням світла, тобто має місце так *званий гіпохромний ефект*. Він залежить від, вмісту в складі нуклеїнових кислот азотистих пар – А–Т. Гіпохромний ефект найбільш характерний для дволанцюгових нуклеїнових кислот, зокрема ДНК. Наявність гіпохромності є однією з важливих ознак утворення дволанцюгових, спіралізованих ділянок у нуклеїнових кислотах. Одноланцюгові нуклеїнові кислоти, в яких спіралізація нуклеотидних ланцюгів незначна, мають гіпохромний ефект дуже малої величини. В зв'язку з цим гіпохромний ефект використовується при вивченні процесів денатурації і ренатурації нуклеїнових кислот, утворенні гібридних спіралей ДНК – РНК тощо.

Денатурація і ренатурація нуклеїнових кислот. Нуклеїнові кислоти мають здатність до денатурації. Даний процес полягає в розриві водневих і вандерваальсових зв'язків, в деспіралізації та розходженні полінуклеотидних ланцюгів ДНК і двоспіральних ділянок молекул РНК. Денатурацію нуклеїнових кислот можуть викликати кислоти, луги, спирти тощо. Внаслідок денатурації кожний із полінуклеотидних ланцюгів молекули нуклеїнової кислоти набуває форми клубка, скрученого безладно. Тому даний процес ще називають переходом спіраль – клубок.

Денатурація нуклеїнових кислот супроводжується зміною цілого ряду їх фізичних властивостей. Так, підвищується поглинання світла в області 260 нм, зменшуються в'язкість розчинів і кут обертання площини поляризації.

Під час денатурації нуклеїнових кислот настає такий момент, коли кількість спіралізованих ділянок дорівнює кількості неспіралізованих.

Температуру, при якій настає така рівновага, називають температурою плавлення. Температура плавлення нуклеїнових кислот підвищується із збільшенням довжини молекули полінуклеотиду, а також із підвищенням вмісту (%) в ньому пар азотистих основ (Г–Ц). Вважають, що пари азотистих основ у молекулах ДНК утворюють термостабільні ланки або ядра, і підвищують їх стійкість проти денатурації, і, навпаки, молекули ДНК, які містять більшу кількість пар азотистих основ (А–Т), легше піддаються денатурації.

Для вивчення біологічної ролі і функції ДНК в організмі важливе значення має вивчення причин і умов, за яких може відбуватися відновлення нативної двоспіральної структури ДНК. У результаті, досліджень було встановлено, що при підвищенні температури приблизно на 5°C вище температури плавлення ланцюги денатурованої ДНК розходяться. Якщо розчин таких ДНК різко охолодити, то полінуклеотидні ланцюги так і залишаються розділеними, а якщо охолодження такого розчину проводити поступово, то внаслідок рекомбінації відбувається ренатурація (відновлення) подвійної спіралі ДНК.

Процес ренатурації молекул ДНК залежить від їх розмірів, кількості азотистих пар Г–Ц та інших факторів. Так, ДНК вірусів і бактерій, яка за своєю будовою більш проста, ніж ДНК вищих організмів, піддається ренатурації значно легше. Позитивно впливає на процес ренатурації також підвищення кількості пар Г–Ц. При ренатурації ДНК відновлюються її біологічні та фізико-хімічні властивості.

Гібридизація ДНК. Встановлено, що полінуклеотидні ланцюги денатурованих ДНК можуть взаємодіяти на основі принципу комплементарності з одноланцюговими РНК або ДНК, які належать іншим організмам. Такий вид ренатурації називається *молекулярною гібридизацією*. Вважають, що для утворення гібридної молекули ДНК достатньо, щоб у полінуклеотидних ланцюгах містилось близько 12 комплементарних пар азотистих основ. Чим більше буде комплементарних пар, тим вищим буде вміст (%) біспіральних ділянок у гібридній молекулі ДНК.

Відкриття процесу гібридизації ДНК має важливе значення для вивчення первинної структури різних видів нуклеїнових кислот, а також для наукових досліджень у галузі генної інженерії.

Хімічні реакції нуклеїнових кислот. Мутагени. У зв'язку з наявністю в азотистих основах і пентозах нуклеїнових кислот різних функціональних груп вони можуть вступати в різні хімічні реакції. Це призводить до видозміни основ, що впливає на структуру і функції нуклеїнових кислот.

Так, наприклад, аміногрупи азотистих основ можуть взаємодіяти з азотистою кислотою, при цьому перетворює цитозин на урацил, а аденін і гуанін відповідно на гіпоксантин і ксантин, тому вона є ефективним хімічним мутагеном.

Аналогічну мутагенну дію має гідроксиламін, який вступає в реакцію з карбонільними групами азотистих основ, зокрема з піримідиновими, що приводить до перетворення одного виду основ в інші. Крім того, високу мутагенну дію мають алкілюючі агенти, наприклад нітрозамін.

Ці сполуки мають високу канцерогенну дію. Нітрозаміни можуть утворюватися при взаємодії будь-якого вторинного аміну з азотистою кислотою.

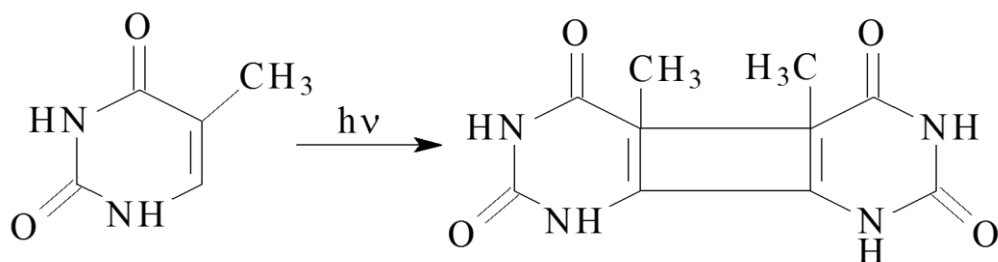
Така реакція може відбуватися і в шлунку людини, де нітрозаміни легко всмоктуються і можуть викликати злоякісні пухлини в різних органах і тканинах організму.

Значний інтерес становить взаємодія нуклеїнових кислот з окремими поліциклічними ароматичними (основними) барвниками, зокрема з акридинним оранжевим, профлавіном і т.д. Вибірково зв'язуючись з ДНК або РНК, вони дають можливість легко їх виявляти.

В останній час ці барвники набули важливого значення як мутагени, які мають селективну дію. Вони здатні викликати вставки, або *делеції* (включення або випадання окремих одиночних нуклеотидів), при реплікації ДНК, отже пригнічувати її.

Нуклеїнові кислоти під дією кислот піддаються гідролізу. Глікозидні зв'язки в ДНК більш лабільні, ніж у РНК.

Репарація пошкоджень ДНК. Пошкодження ДНК, які зумовлені дією різних хімічних і фізичних факторів, можуть бути репаровані (виправлені) за участю спеціальних механізмів („ремонтних систем”). Наприклад, при дії ультрафіолетового випромінювання на ДНК утворюються тимінові димери внаслідок взаємодії між собою в одному ланцюзі ДНК сусідніх тимінових залишків з утворенням циклобутанового кільця:



Утворення тимінових димерів порушує структуру ДНК і тим самим блокує її реплікацію. Цим, очевидно і пояснюється летальна та мутагенна дії ультрафіолетового випромінювання на живі організми. Отже, клітини організмів містять цілі набори ферментів, які переміщуються по подвійних спіралях ДНК, відновлюють їх пошкодження і цим самим сприяють зменшенню появи частоти мутацій. Для виправлення пошкоджень ДНК у живих системах існує декілька механізмів, зокрема **фотореактивація, ексцизійна і пострепліка-**

тивна репарації.

Фотореактивація відбувається внаслідок дії світла. При цьому відбувається активація фотореактивного ферменту (ДНК-фотолази), який розщеплює димери на мономери і відновлює водневі зв'язки між тиміном і аденином комплементарних полінуклеотидних ланцюгів ДНК (рис. 8.5.1).

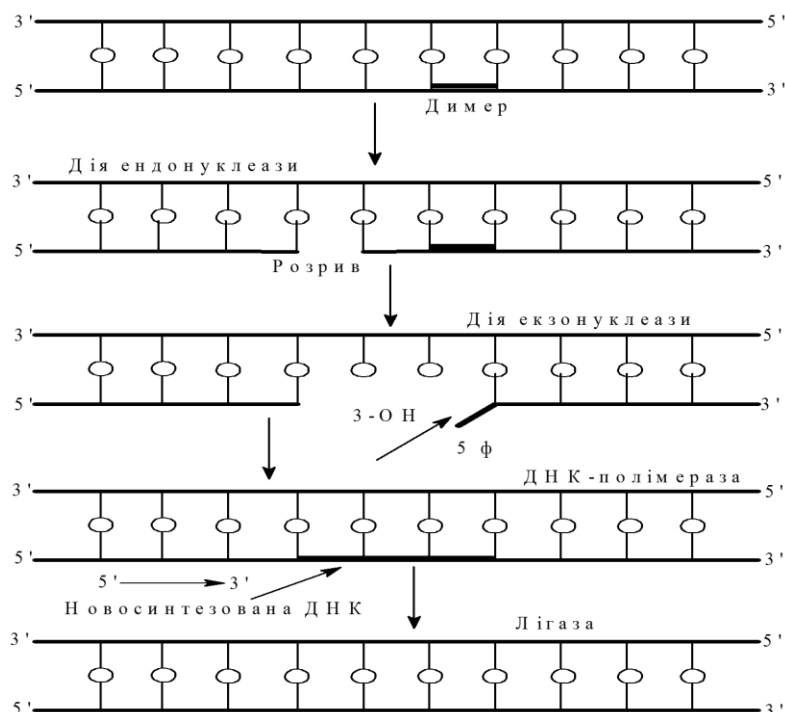


Рис. 8.5.1. Схема ферментативної репарації ДНК

При ексцизійній репарації (від лат. excisio – вирізання) видаляються пошкоджені ділянки ДНК за участю цілого комплексу ферментних систем. Так, спочатку діє фермент ендонуклеаза, яка ніби розрізає полінуклеотидний ланцюг ДНК, на якому є пошкодження нуклеотидів. Потім починає діяти фермент **екзонуклеаза**, яка видаляє пошкоджену частину нуклеотидного ланцюга.

Функції нуклеїнових кислот

Нуклеїнові кислоти в організмі виконують різноманітні функції, але найважливішими серед них є участь у передачі спадкових ознак і процесах біосинтезу білка. Основними носіями генетичної інформації в більшості організмів є ДНК. Винятком є тільки окремі фаги, дрібні віруси тварин і більшість рослинних вірусів, в яких носіями генетичної інформації є молекули РНК.

Основна кількість ДНК зосереджена в ядрах. Ядра тваринних клітин містять близько 2 мг ДНК на 1 г сирової маси тканини. Вміст ДНК у клітинах залежить в основному від числа набору в них хромосом. Бактеріальні клітини містять в сотні разів менше ДНК, ніж тваринні.

Передача генетичної інформації від покоління до покоління здійснюється при самовідтворенні копій батьківських ДНК. Цей процес називається **реплікацією**.

Так під час поділу клітин обидва полінуклеотидні ланцюги ДНК, які обвиті по спіралі навколо однієї спільної осі, розкручуються і розходяться. Після того як кожний із ланцюгів розкрутиться, він добудовує собі подібний полінуклеотидний ланцюг (за принципом комплементарності).

У результаті реплікації з однієї молекули утворюється дві нові цілком однакові молекули ДНК, одна з яких залишається в материнській клітині, а друга – переходить у дочірню (*Рис. 8.5.2*). Якщо до цього додати, що в ДНК сконцентрована спадкова інформація (у вигляді триплетного коду), то стає зрозумілою та функція, яку відіграє ДНК у передачі спадкових ознак від покоління до покоління.

Реплікація так само, як і будь-який інший процес побудови і розкладання в організмі, відбувається за допомогою цілого ряду ферментів і тісно пов'язана з обміном речовин.

Генетична роль ДНК встановлена після проведення дослідів на бактеріях різних типів з різними властивостями. Наприклад, з одного типу бактерій виділяли чисту ДНК і діяли нею на інший тип бактерій, при цьому останні набували властивостей, характерних для тих бактерій, з яких було виділено ДНК.

Отже, ДНК є субстратом, за допомогою якого здійснюється передача спадкових ознак. Спадкова інформація організму закладена і зберігається в самій молекулярній структурі ДНК, а реалізується (виявляється) у процесі біосинтезу білка. При біосинтезі білка певну роль відіграють не тільки ДНК, а й різні види РНК.

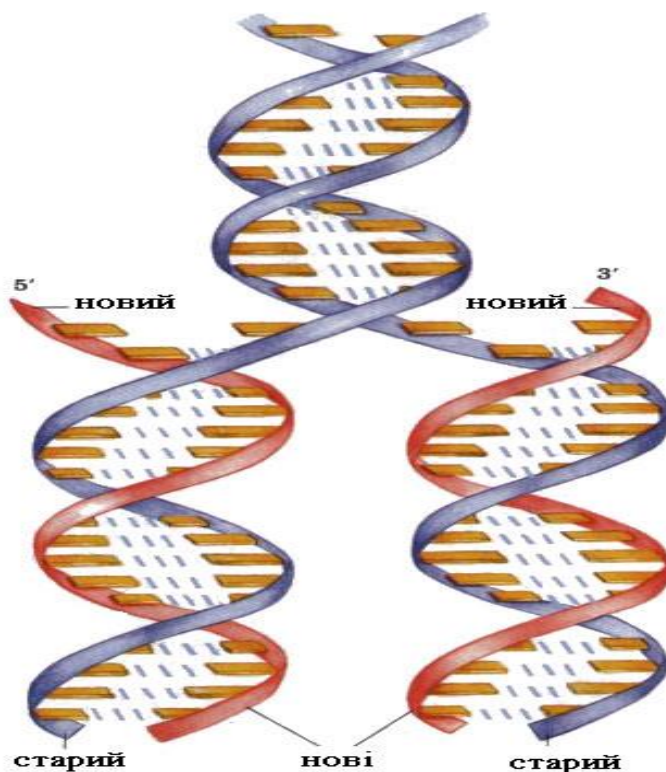


Рис. 8.5.2. Схема реплікації ДНК

Встановлено, що РНК міститься в усіх клітинах організму. Однак їх кількість залежить від типу клітин, виду тканини, віку і фізіологічного стану організму. Оскільки процеси росту і розмноження передусім пов'язані із збільшенням маси білка

цитоплазми, то це свідчить про тісний взаємозв'язок між РНК і біосинтезом білка в клітинах. У результаті досліджень було доведено, що клітини, в яких відбувається інтенсивний синтез білка, характеризуються високим вмістом РНК. Наприклад, велику кількість РНК знайдено в залозах, які продукують білки – гормони або ферменти (підшлункова, залози травного каналу).

Необхідно зауважити, що основна кількість клітинної РНК (до 80%) зосереджена в рибосомах, тобто в тих компонентах клітин, в яких відбувається біосинтез білка. У рибосомах міститься переважно рибосомальна РНК. Інші види зосереджені частково в ядрі, а частково в цитоплазмі.

Встановлено, що всі три види рибонуклеїнових кислот беруть участь у біосинтезі білка. При цьому кожний з них виконує свою функцію. Так, іРНК одержує інформацію про специфічність біосинтезу білка в ядрі від ДНК і переносить її до рибосом, тРНК переносить активовані амінокислоти до місця біосинтезу білка.

У морфологічній практиці широкого розповсюдження набули гістохімічні методи досліджень, які дозволяють визначати хімічну статистику та динаміку організму людини, тварини, рослини на рівні тканин.

Гістохімія знаходиться на перетині двох наук – гістології та біологічної хімії. Кожен окремий метод дозволяє виявити локалізацію тих чи інших речовин в тканинах та клітинах.

Нижче наведених приклад із застосуванням забарвлення гістозрізів за Браше, вказує на зменшення кількості ДНК в ядрах та РНК в цитоплазмі переважної більшості епітеліальних клітин каналців нирок, стінок кровоносних судин, в яких відбуваються патологічні процеси. Цитоплазма епітеліоцитів каналців, що не містять ознак набряку, забарвлюється в інтенсивно рожевий колір, що свідчить про досить високу кількість ДНК в ядрах та РНК в цитоплазмі (*Рис. 8.5.3*).

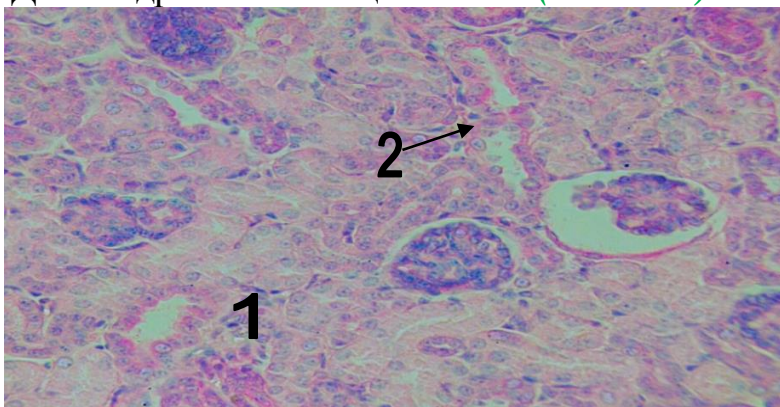
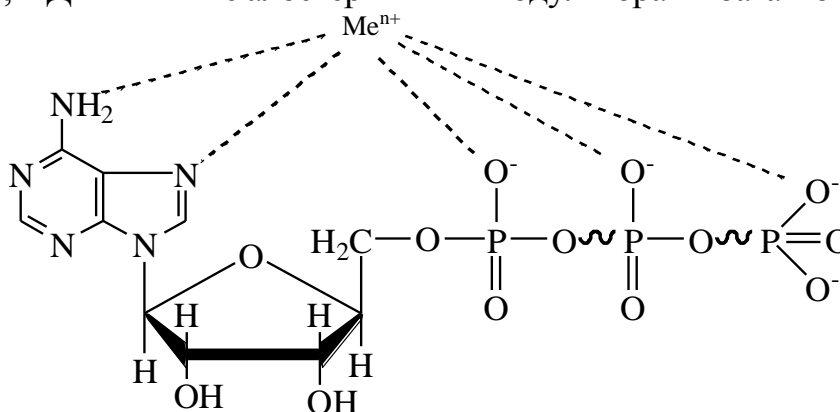


Рис. 8.5.3 Гістопрепарат нирки поросяти віком одна доба: 1 – зменшення вмісту РНК у цитоплазмі та ДНК в ядрах епітеліальних клітин; 2 – піронінофільність цитоплазми епітеліальних клітин окремих звивистих каналців. Забарвлення за Браше; $\times 200$.

Вільні нуклеотиди

До вільних нуклеотидів відносяться нуклеозидтрифосфати: АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ, ТТФ, а також ц-АМФ, ц-ГМФ.

АТФ – універсальний акумулятор енергії в живих організмах і субстрат для біосинтезу нуклеїнових кислот. У нормі в тканинах на частку АТФ припадає 75% аденінових нуклеотидів. У клітках енергія, накопичена у вигляді АТФ, використовується у численних процесах: різноманітні форми руху, внутрішньоклітинний транспорт йонів і інших речовин, біосинтез білків, НК, жирних кислот, ліпідів, вуглеводів і т.д. АТФ, АДФ і АМФ є алостеричними модуляторами багатьох ферментів



Аденінові нуклеотиди в організмі людини і тварини знижують кров'яний тиск, посилюють скорочувальну діяльність серцевого м'яза, тому знаходять застосування при спазмах судин, міокардіострофії, м'язовій дистрофії та ін.

ТЕМА 9. ВІТАМІНИ

Хоча до відкриття вітамінів вважалось, що для нормальної життєдіяльності людині потрібні тільки білки, жири, вуглеводи, вода і мінеральні солі, спостереження показували, що одноманітне харчування без свіжих овочів і фруктів призводить до виникнення різних захворювань.

Так моряки під час довгих подорожей хворіли цингою, смертність від якої становила 70 – 80%, а в країнах Азії, де основною стравою був полірований рис, значна частина населення була уражена «бері-бері» (формою поліневриту). У 1881 році російський лікар М. Лунін у своїй **Христіан Ейкман**



Христіан Ейкман
(1858-1930)

праці «Про значення мінеральних солей для живлення тварин» дійшов висновку, що у їжі є якісь додаткові невідомі термолабільні речовини, необхідні для нормальної життєдіяльності.

У 1897 році нідерландець Христіан Ейкман досліджував «бері-бері» у Голландській Ост-Індії. У час його роботи в одній із лабораторій, розташованій у військовому госпіталі, кури захворіли поліневритом, дуже схожу на цю хворобу у людей. Ейкман взявся з'ясувати причину захворювання, але не встиг він закінчити обстеження, як кури одужали, з метою економії годував курей вареним очищеним рисом. Подальші експерименти із дієтою птахів показали, що годівля нешліфованим рисом не викликає появи хвороби.



Таким чином можна було припустити, що у рисових висівках наявна певна речовина, нестача якої викликає поліневрит. Цю сполуку – а саме **тіамін (вітамін B1)** – у 1911 році виділив польський вчений *Казимир Функ* і довів її ефективність у лікуванні «бері-бері». Молекули тіаміну мають у своєму складі аміногрупу, тому Функ назвав його вітаміном (аміном життя), звідки й походить назва цілого класу речовин, хоч не всі вони нітрогенвмісні.

Казимир Функ 1929 р. Христіан Ейкман разом зі Фердеріком Гопкінсом, який відкрив вітаміни A і D, був нагороджений Нобелівською премією з фізіології медицини.

Роботи, виконані в нашій країні і за рубежом по вивченню вітамінів, послужили основою для створення вчення про вітаміни - *вітамінології*. Великий внесок в її розвиток внесли радянські біохіміки А.В.Палладін, Р.В.Чаговець та інші.

Вітаміни - це група низькомолекулярних органічних речовин, що володіють різноманітною хімічною природою і фізико-хімічними властивостями, абсолютно необхідних для нормальної життєдіяльності будь-якого організму і виконують в ньому самотійно або в складі більш складних сполук каталітичні і регуляторні функції.

На відміну від інших харчових факторів, вітаміни не включаються живою кліткою в якості джерела енергії, більшість із них легко руйнуються під дією різних фізичних і хімічних чинників.

Вітамінами характеризуються нижче наведеними загальними властивостями:

1. Біосинтез вітамінів здійснюється в основному поза організмом людини і тварин, тому вони отримують їх головним чином з тваринною і рослинною їжею.
2. Вітаміни не є джерелами енергії або пластичного матеріалу.
3. Вітаміни біологічно активні в дуже малих кількостях і у край необхідні для всіх життєвих процесів.
4. При попаданні до кровоносного русла вітаміни впливають на біохімічні процеси, що протікають в різних тканинах і органах.
5. Недостатнє надходження в організм окремих вітамінів або порушення їх засвоєння веде до розвитку патологічних процесів у вигляді специфічних гіпо- і авітамінозів.

Частково потреба тварин у вітамінах, особливо у дорослих жуйних, задовольняється в результаті синтезу мікроорганізмами в харчовому каналі деяких вітамінів з більш простих сполук.

Вітаміни є регуляторами обміну речовин, так як вони є кофакторами багатьох ферментів і забезпечують здійснювати перебіг біохімічних реакцій.

9.1 Класифікація вітамінів

На даний час відомо понад двадцять вітамінів. З них найбільше значення мають близько дванадцяти. У міру відкриття вітаміни позначалися буквами латинського алфавіту і дістали назву за їх біологічною функцією: вітамін А – аксерофтол, вітамін Е – токоферол і т.д. В ході розвитку вчення про вітаміни буквенні позначення довелося розширити, оскільки виявлялися нові індивідуальні речовини близького, аналогічного або нового біологічного значення.

Існує декілька класифікацій вітамінів. Основні з них – фізична і хімічна.

Згідно **фізичної класифікації** всі вітаміни за ознакою розчинності в жирах або воді поділяються на дві групи: жиророзчинні і водорозчинні. Ця класифікація є загально визнаною. Деякі вчені виділяють ще одну групу – вітаміноподібні сполуки, в яку входять холін, ліпоева кислота, оротова кислота, вітамін В₁₅, інозит, γ-амінобензойна кислота, карнітин, вітамін U.



Хімічна класифікація вітамінів заснована на характеристиці будови молекул: вітаміни аліфатичного ряду, вітаміни аліциклічного ряду, вітаміни ароматичного ряду, вітаміни гетероциклічного ряду.

Ми розглядаємо

вітаміни за фізичною класифікацією.

Жиророзчинні вітаміни не розчиняються у воді, але розчиняються в органічних розчинниках, термостабільні, стійкі до зміни рН середовища, можуть частково депонуватися в тканинах людського і тваринного організмів.

Найчастіше виконують пластичні функції – беруть участь у формуванні структури і функціях клітинних мембран, рості і розвитку ембріонів (вітамін Е), утворенні і регенерації кісткової (вітамін D) і епітеліальної (вітамін А) тканин, у процесах зсідання крові (вітамін К).

Жиророзчинні вітаміни зазвичай не синтезуються в організмах людини і тварини. До цієї групи вітамінів належать вітаміни **А, D, Е, К, F і УХ**.

Водорозчинні вітаміни не розчиняються в жирах і багатьох органічних розчинниках, але добре розчиняються у воді, термолабільні, не стійкі до змін рН, не можуть депонуватися в тканинах. Є складовими частинами ферментів і безпосередніми учасниками більшості реакцій обміну речовин у всіх живих, організмах. До водорозчинних відносяться вітаміни **В₁, В₂, В₃, В₅, В₆, В_с, В₁₂, Н, С і Р**.

Таблиця 9.1.1

Класифікація і номенклатура вітамінів (за Ф.Ф. Боєчко, 1995)

Буквені позначення	Назва		Фізіологічна дія	Добова потреба, мг	Ознаки авітамінозу
	раціональна	тривіальна			
Жиророзчинні вітаміни					
A ₁ A ₂	Ретинол Дегідроретинол	Антиксерофтальмічний фактор	Стимулює процеси росту, запобігає розвитку ксерофтальмії	0,7 – 1,5	Сухість шкіри та слизових оболонок, пригнічення процесів росту та імунних реакцій
D ₂ D ₃	Холекальциферол Ергокальциферол	Антирахітичний фактор	Регулює фосфорно-кальцієвий обмін	0,0012	Підвищена дратівливість, остеомаляція, гіпотонія м'язів
E	Токоферолі (α -, β -, γ -)	Антистерильний фактор	Забезпечує нормальний перебіг вагітності	11 – 24	Схильність до раннього переривання вагітності
K ₁ , K ₂	Філохінони	Антигеморагічний фактор	Забезпечує процес зсідання крові	10 – 15	Геморагічний діатез
F	Полієнові вищі жирні кислоти	Фактор росту	Стимулює ріст та розвиток організму	8000 – 10000	Сповільнення росту, некрози, гематурії
Водорозчинні вітаміни					
C	Аскорбінова кислота	Антискорбутний фактор	Посилує еритропоез, фагоцитарну активність лейкоцитів, стимулює обмін речовин	50 – 70	Ламкість та підвищення проникності капілярів, точкові крововиливи, ураження ясен, цинга
P	Рутин, цитрин	Капілярозміцнюючий	Виявляє проти-запальну та протиалергічну дію	50 – 60	Геморагії, патехії, гіперкератоз, пігментації, еритема кистей рук
B ₁	Тіамін	Антиневритний фактор	Стимулює процеси обміну вуглеводів	2 – 3	Психічна та фізична втома, біль у м'язах, парестезії

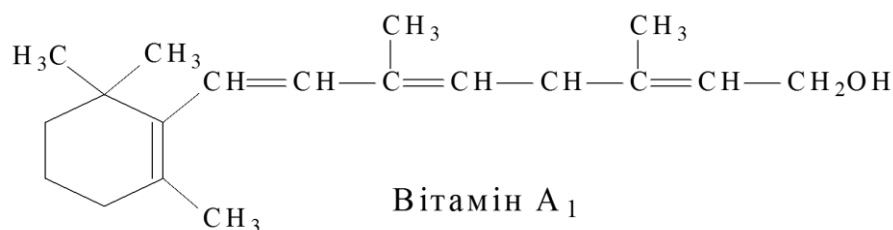
Буквені позначення	Назва		Фізіологічна дія	Добова потреба, мг	Ознаки авітамінозу
B ₂	Рибофлавін	Фактор росту	Стимулює енергетичні процеси	2,5 – 3,5	Ангулярний стоматит, глосит, себорейна екзема
B ₃	Пантотенова кислота	Фактор росту	Забезпечує синтез біологічно активних сполук	7 – 10	Дерматити, депігментація волосся, затримка росту
B ₅ (PP)	Нікотинова кислота	Антипелагрічний фактор	Стимулює обмін речовин, енергетичні процеси	5 – 15	Хвороба трьох Д (дерматит, діарея, деменція)
B ₆	Піридоксин	Антидерматичний фактор	Стимулює білковий обмін та кровотворні процеси	2 – 4	Епілептоформні судоми, хейлоз, глосит, симетричний дерматит
B ₁₂	Ціанкобаламін	Антианемічний фактор	Посилює кровотворні процеси	0,0015	Перніціозна анемія, ахлоргідрія, діарея
B _C (B ₁₀ , B ₁₁)	Фолієва кислота	Антианемічний фактор	Стимулює еритропоез, забезпечує синтез холіну	0,2 – 0,3	Макроцитарна мегабластична анемія
H	Біотин	Антисеборейний фактор	Стимулює білковий та ліпідний обмін	0,1 – 0,2	Себорейний дерматит, м'язова слабкість, атрофія сосочків язика
Вітаміноподібні сполуки					
	Холін	Ліпотропний фактор	Стимулює обмін речовин	10 – 75	Дерматити
	Ліпоєва кислота	Фактор окислення пірувату	Стимулює вуглеводний та ліпідний обмін	60 – 70	М'язова слабкість, дерматити
B ₁₃	Оротова кислота	Фактор росту мікроорганізмів	Стимулює еритропоез, анаболічні процеси	1000 – 2000	Сповільнення росту, дерматити, м'язова слабкість

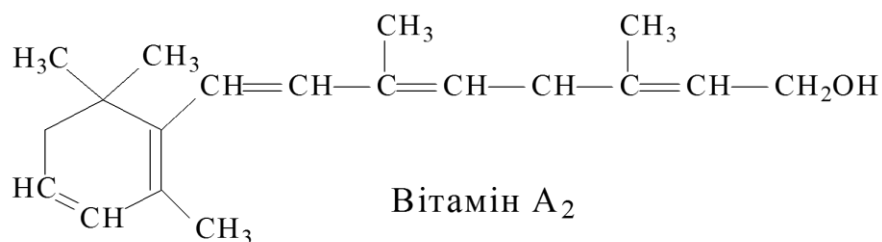
Буквені позначення	Назва		Фізіологічна дія	Добова потреба, мг	Ознаки авітамінозу
B ₁₅	Пангамова кислота	Ліпотропний фактор	Стимулює ліпідний обмін	2 – 3	Порушення ліпідного обміну
	Інозит	Антиалопеційний фактор	Виявляє ліпотропну дію, стимулює обмін речовин	200 – 500	Нормоцитарна анемія, сповільнення росту, алопеція
B _x	n-Амінобензойна кислота	Фактор хромотрихії	Нормалізує основний обмін, стан нервової системи	100 – 500	Депігментація волоссяного покриву, пір'я, депресія, гіпотонія
U	Метилметіонін сульфоній-хлорид	Антивиразковий фактор	Стимулює процеси регенерації епітеліальних клітин	250 – 300	Розвивається виразкова хвороба шлунку

9.2 Структура та біологічна роль жиророзчинних вітамінів

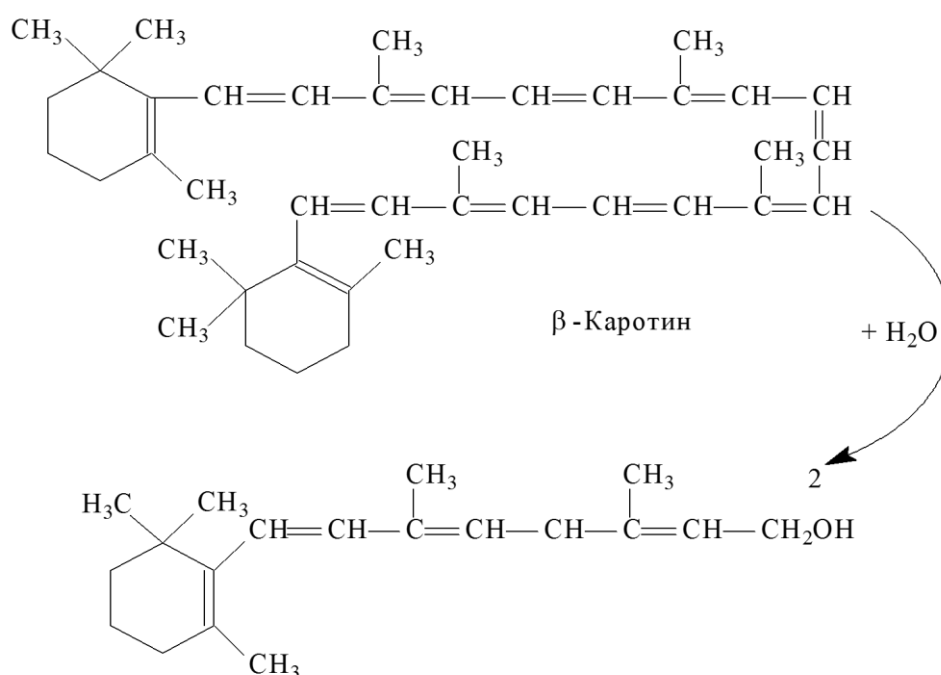
Вітамін А. При недостатній кількості вітаміну А в раціоні сповільнюється ріст і розвиток, порушується структура покривних тканин – ороговіває епітелій. У людини і тварин порушується діяльність слізних залоз, виникає сухість рогівки ока (ксерофтальмія), розм'якшується і дегенерує рогівка (кератомаліяція), слабшає, особливо в темноті, і зникає зір (гемералопія).

Хімічна будова і властивості. Група вітаміну А включає декілька вітамінів, головними з яких є вітамін *A₁(ретинол)* і вітамін *A₂(дегідроретинол)*. Хімічна будова цих вітамерів (різні форми одного і того ж вітаміну) вельми схожа. Всі вони в основі молекули мають β-іононове кільце, сполучене бічним ланцюгом з двома залишками ізопрена із спиртовою групою:





Чистий вітамін А міститься у печінці, особливо в печінці риб (наприклад, морського окуня – до 37%, палтуса – до 2,5 – 5% загальної маси), коров'ячому маслі і молоці. Існують α-, β-, і γ-каротини. Найбільшу цінність представляє β-каротин, при гідролізі молекули якого в харчовому каналі утворюється дві молекули вітаміну А:



Каротинами багатий стручковий перець (853 мг/кг), червона морква, пасовищна трава, зелена конюшина, кормова морква, люцерна.

Біологічна роль. Вітамін А – незамінний компонент плазматичної мембрани, де він виконує функції рецептора речовин – сигналів. Вітамін А впливає на тканинне дихання і енергетичний обмін, оскільки від забезпеченості організму вітаміном залежать швидкість окислення трикарбонових кислот і процеси окислювального фосфорилювання. Виключно важлива роль вітаміну А для зору. Фотони через зіницю поступають в заломлюючі середовища очей (рогівку, кришталік, склоподібне тіло) і на сітківку. В сітківці є два види фоторецепторів – палички і колби. Палички і колби містять **зоровий пурпур**, або білок **родопсин**. До складу родопсину входить альдегід вітаміну А 11-цис-ретиналь (хромофорна група) і білковий компонент **опсин**.

Раціон багатий каротином, і препарати вітаміну А застосовуються при лікуванні гіпо- і авітамінозів, при захворюванні очей, травних органів, дихальних і сечостатевої системи, дерматитах, повільній епітелізації ран і язв,

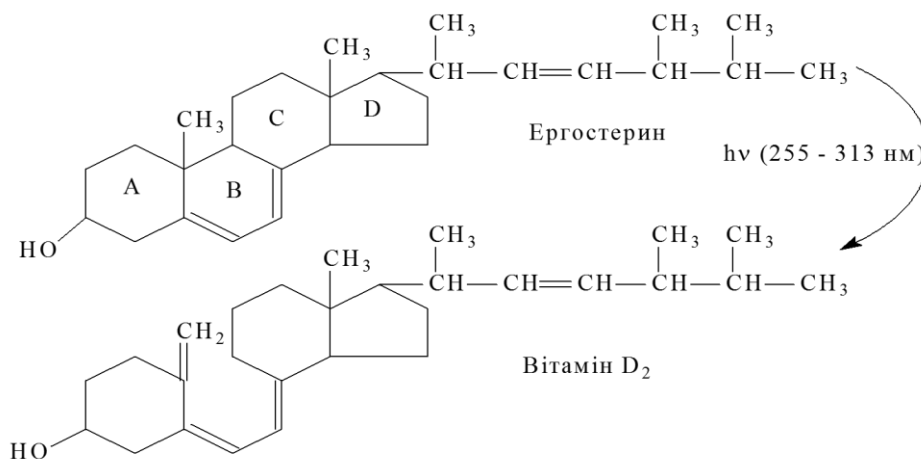
аліментарній дистрофії та ін.

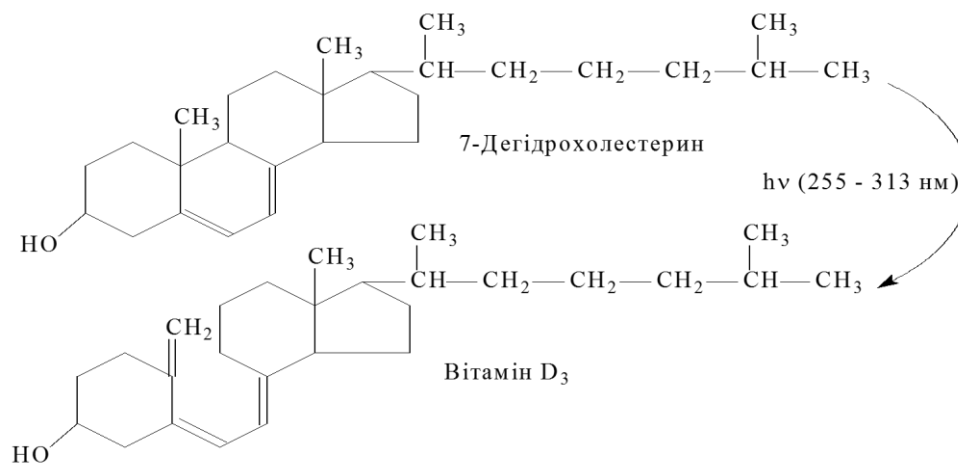
Вітамін D. З групи вітамінів D найважливішими є два вітамери: **D₂(ергокальциферол)** і **D₃(холекальциферол)**. Назва вітаміну D₁ не вживається, оскільки він є неочищеним препаратом, що складається з суміші кальциферолу та інтактної речовини люмістерину. Вітамін D часто називають **антирахітичним**, оскільки він застерігає організм людини і тварини від рахіту.

За відсутності або недостатньої кількості в раціоні вітаміну D у дітей і молодняка тварин, розвивається рахіт, у дорослих – остеомаляція, у старих – остеопороз. Іноді ці явища виникають при порушенні в раціонах співвідношення Ca : P (норма 2:1 або 1:1, патологія – 3:1 або 1:2). **Остеомаляція** – захворювання організму, що характеризується розм'якшенням і деформацією кісток у результаті порушення мінерального обміну. Декальцинуються хвостові хребці і інші кістки скелета.

У людей похилого віку та у дорослих тварин при недостатній кількості або відсутності вітаміну D, порушеннях співвідношення в раціоні Ca:P, виникає **остеопороз** – розрідження губчастої і компактної речовини кісток у результаті розсмоктування кісткової тканини. Виникають спонтанні переломи.

Хімічна будова і властивості. Вітамін D є похідним вуглеводня циклопентанпергідрофенантрена. Вітамери D₂ і D₃ мають попередників (провітамінів): ергостерин, що міститься в рослинних кормах і дріжджах, і 7-дегідрохолестерин, що утворюється в тканинах тварин з холестерину. Обидва попередники перетворюються на вітаміни в підшкірній жировій клітковині під впливом ультрафіолетового опроміння через ряд проміжних реакцій:





Дегідрохолестерин, як попередник вітаміну D, утворюється з холестерину в шкірі при ультрафіолетовому опроміненні.

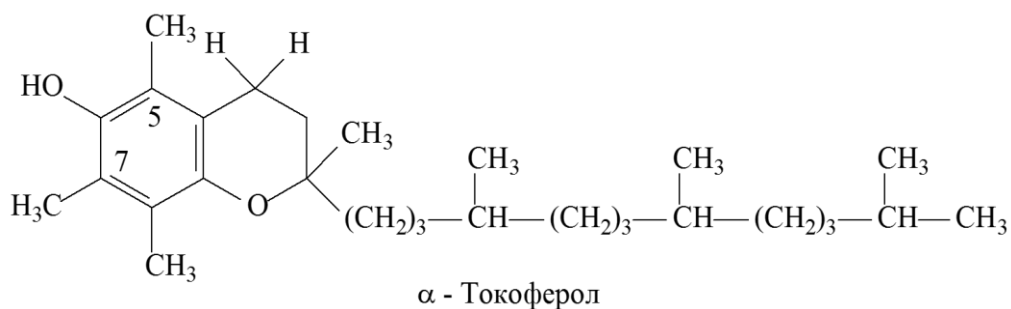
Біологічна роль. Вітамін D всмоктується в тонкому кишківнику. Через лімфатичну систему у вигляді хіломікронів і біокомплексів вітамін D потрапляє в загальне кровоносне русло, потім у печінку, вітамін бере участь в регуляції співвідношення Ca : P у крові, стимулює їх всмоктування в кишках.

Вітамін D рекомендується вживати людині і тваринам при рахіті, остеопорозі, остеомаліції, тетанії поросят, переломах кісток, дерматитах в поєднанні з ультрафіолетовим опроміненням.

Вітамін E. Вітамін E об'єднує групу природних і синтетичних речовин, які мають різний ступінь E-вітамінної активності, названу **токоферолами**.

При недостатній кількості або відсутності вітаміну E в раціоні перш за все порушуються функції розмноження. У самців дегенерує епітелій насінних каналців, гальмується сперматогенез і згасають статеві рефлексі. У самок порушується розвиток плоду, що завершується абортom і безплідністю. Порушується фосфорний обмін, окислювальне фосфорилювання.

Хімічна будова і властивості. Р. Еванс, О. Емерсон і Г. Емерсон у 1936 р. з масла зародків пшениці виділили дві речовини, які володіли E-вітамінною активністю: α - і β -токоферолі. E-вітамінною активністю володіє також γ -токоферол. Однак найбільшою біологічною активністю володіє α -токоферол.

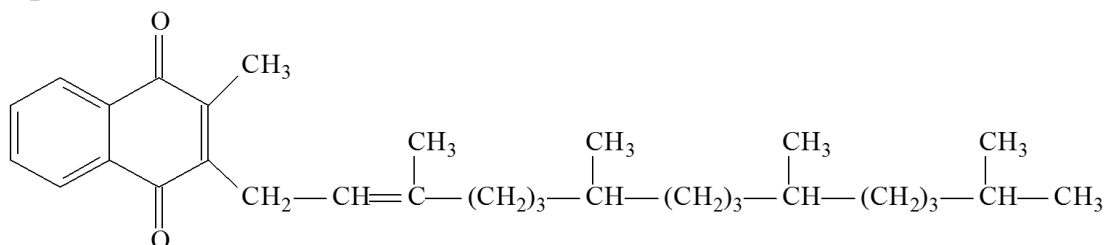


Вітамін E синтезується в рослинах, дріжджах, водоростях. Деяка кількість токоферолів накопичується в м'ясі, салові, молоці, ячному жовтку.

Біологічна роль. До 80% прийнятого з харчами вітаміну Е всмоктується в тонкому кишківнику. Депонується в печінці, жировій тканині, менше – в м'язовій, міокарді, наднирниках, селезінці, плаценті. З наявністю в клітках вітаміну Е пов'язана активність ферментів, що містять сульфгідрильні групи. Він бере участь у клітинному диханні як переносник електронів.

Вітамін К. Вітамін К складається з чотирьох природних форм – вітаміну K_1 (філохінона) і вітаміну K_2 (фарнохінона), K_3 і K_4 . **синтетичний аналог – вікасол.** При недостатній кількості або відсутності в раціоні вітаміну К у людини і тварин виникає геморагічний діатез, крововиливи (підшкірні, носові, внутрішньом'язові, порожнинні), знижується здатність крові зсідатися і знижується в ній рівень протромбіна. Виникають явища анемії.

Хімічна будова і властивості. Вітамери К – похідні нафтохінона з ізопреновими бічними ланцюгами різної довжини. Вітамін K_1 включає ядро нафтохінона і залишок фітола:



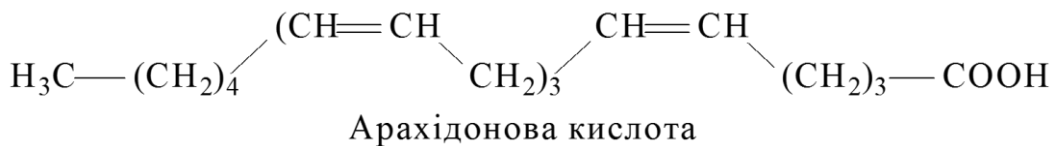
Біологічна роль. Вітамін К всмоктується разом з ліпідами в краніальних ділянках тонкого кишківника. Ці процеси активуються жовчю. 25 – 51% введеного в організм вітаміну депонується в мікросомах печінки. Частина вітаміну депонується в тканинах міокарду, селезінки, в ретикулоендотеліальній системі. Вітамін К бере участь в біосинтезі компонентів, необхідних для зсідання крові. За його участю в гепатоцитах утворюється протромбін, який при необхідності переходить в тромбін.

Вітамін К є протетичною групою ферментів. Він бере участь у перенесенні електронів від відновленого НАДФ·Н₂ на молекулярний кисень через систему цитохромів, а також є стимулятором процесів окислювального фосфорилування.

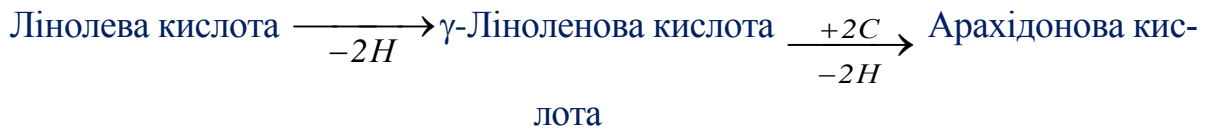
Вітамін F. Вітамін F є комплексом ненасичених жирних кислот, які не можуть синтезуватися в організмі людини і тварини. Це лінолева, ліноленова і арахідонова кислоти.

Причиною гіпо- і авітамінозів є недостатня кількість або повна відсутність у раціоні ненасичених вищих жирних кислот. Ознаки F-авітамінози у людини невідомі. У тварин виникає сухість і лущення шкіри, випадає шерсть і спостерігається кільчасте відкладення лупи на лапах, вухах і хвості, відмирає кінчик хвоста, затримується ріст, порушується лактація і репродукція.

Хімічна будова і властивості. Для ненасичених жирних кислот, які складають вітамін F, характерні подвійні зв'язки:



Найбільшою біологічною активністю володіє арахідонова кислота, однак у харчових продуктах її міститься незначна кількість. При наявності піридоксину лінолева кислота перетворюється на ліноленову та арахідонову:



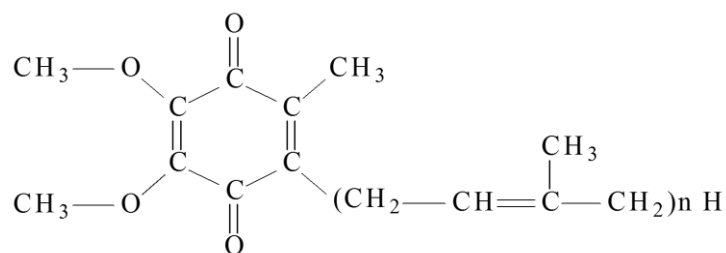
Ненасичені жирні кислоти містяться переважно у рослинних оліях: горіховій (63 – 76%), маковій (63 – 74%), соняшниковій (52 – 64%). Лінолева кислота входить до складу тригліцеридів рослинних олій і тваринних жирів (китового). До 30% залишків ліноленової кислоти міститься в тригліцеридах льняної олії. Арахідонова кислота – складова частина жирів рослин бобів.

Біологічна роль. Вітамін F поступає в організм у складі жирів. Перетравлювання і всмоктування їх аналогічно перетравлюванню і всмоктуванню жирів. Відкладається в печінці, з током крові поступає в різні тканини і клітини; служить сировиною для біосинтезу більшості ліпідів.

Біологічна активність вітаміну пов'язана з наявністю в його молекулі подвійних зв'язків. Бере участь у обміні ліпідів, у посиленні ліпотропного впливу холіна, сприяє виділенню надлишку холестерину з організму, утворюючи з ним розчинні стериди.

Убіхінон.

Хімічна будова і властивості. Вітамін є похідним хінона, який містить метильну, дві метоксильних групи в ядрі і угруповання ізопрена, що складається з 6 – 10 мономерів – в бічному ланцюзі:



Убіхінон присутній у всіх живих організмах. Сам вітамін може синтезуватися в організмі тварини з бензохінона і поліізопренового ланцюга. Вітамін знайдений в мітохондріях, мікросомах і розчинній фракції кліток. Багато його міститься в тканинах міокарду.

Біологічна роль. Організми одержують убіхінон з їжею та кормами і частково в результаті синтезу власними тканинами. Обмін вітаміну в організмі вивчений недостатньо. Убіхінон – обов'язковий компонент дихального ланцюга при біологіч-

ному окисненні, локалізується на внутрішніх мембранах мітохондрій, бере участь у перенесенні електронів і протонів у дихальному ланцюзі на ділянці між флавопротеїдом і цитохромом b. Біологічна дія вітаміну як кофермента основана на його здатності до оборотних окисно-відновних перетворень. Він акцептує протони і електрони, що поставляються різними дегідрогеназами (СДГ, ЛДГ, МДГ, АДГ), і передає їх у цитохромний ланцюг.

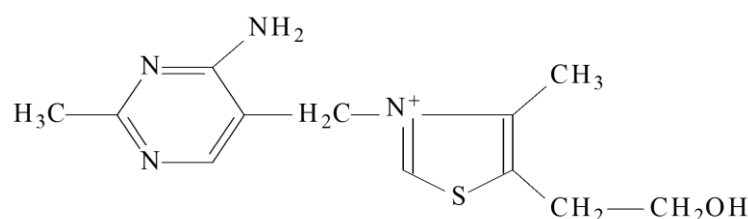
Убіхінон застосовується в клініці. Були отримані позитивні результати при лікуванні деяких серцево-судинних захворювань, зокрема, інфаркту міокарду.

9.3 Структура, біологічна роль водорозчинних вітамінів та їх коферментні властивості

Вітаміни групи В зазвичай супроводжують один одного в харчових продуктах, кормах, характеризуючись відносною стійкістю до нагрівання, у багатьох випадках є складовими частинами ферментів або коферментів і необхідні для їх функціонування.

Вітамін B₁ (антиневритний) – тіамін – за хімічною природою є похідним кілець піримідину та тіазолу, виконує функції коферментів декарбоксилази і дигідрокси піровиноградної кислоти.

Хімічна будова і властивості



Біологічна роль. Біологічне значення тіаміну перш за все обумовлене його коферментними функціями. Тіамін, який поступає в тканини з током крові, може фосфорилуватися під впливом ферменту тіамінпірофосфокінази.

В присутності піруватдекарбоксилази відбувається декарбоксилювання піровиноградної кислоти з утворенням **ацетил-КоА**. При недостатній кількості тіаміну в тканинах накопичується піровиноградна кислота, виникає явище ацидозу, при якому руйнуються клітини, перш за все, нервової системи.

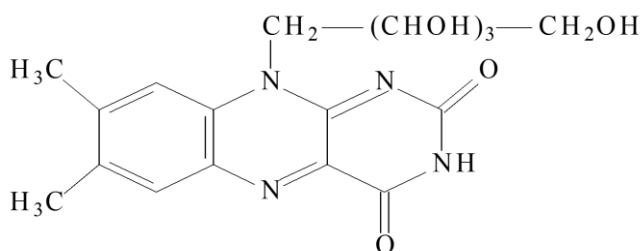
Тіамінпірофосфат складає 70 – 90% всіх фосфорних ефірів тіаміну тканин, решта кількості припадає на тіамінмонофосфат і тіамінтрифосфат. Тіамінпірофосфат є коферментом **піруватдекарбоксилази**, яка каталізує окислювальне декарбоксилювання піровиноградної і інших α -кетокислот:

Вітамін B₂ (рибофлавін) вперше був виділений із сироватки молока і названий лактофлавіном. Він входить до складу „жовтого дихального ферменту”.

Ранніми ознаками арибофлавінозу є характерні ураження слизових оболонок губ, ротової порожнини, внутрішніх органів. Досить типовим є своєрідний глосит – з’являються виразки в ротовій порожнині, запалений язик стає пурпурно-червоним, шорстким, з’являються тріщини. Виникають себорейні дерматити та екземи,

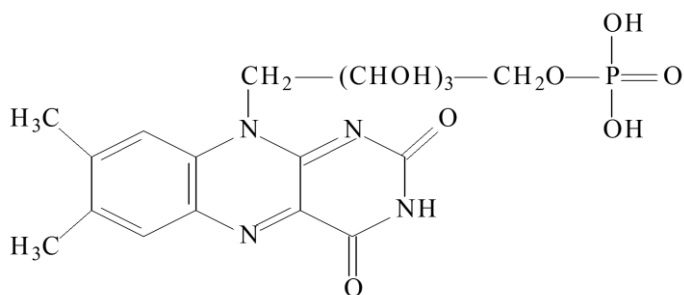
з'являється світлобоязнь, спостерігаються зміни з боку нервової системи – апатія, головний біль, парестезії, почуття жару в ступнях ніг.

Хімічна будова і властивості. Вітамін В₂ – похідне гетероцикла ізоалоксазина і спирту рибітолу:

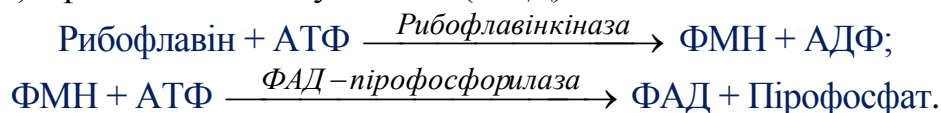


Біологічна роль. Вітамін В₂ у вигляді ФАД і ФМН входить до складу таких флавінових ферментів: ацетил-КоА-дегідрогенази, оксидаз α- і D-амінокислот, ксантиноксидази, гліциноксидази, НАД⁺-дегідрогенази, моноаміно-оксидази, альдегідоксидази, сукцинатдегідрогенази.

Під впливом протеолітичних ферментів і соляної кислоти зв'язана форма вітаміну розщеплюється до білка і рибофлавіну. Рибофлавін всмоктується в тонкій кишці. Після всмоктування він фосфорилується в слизовій оболонці кишок, тканинах печінки, нирок і інших органів, оскільки вітамінними властивостями володіє не вільна, а фосфорильована форма вітаміну В₂:

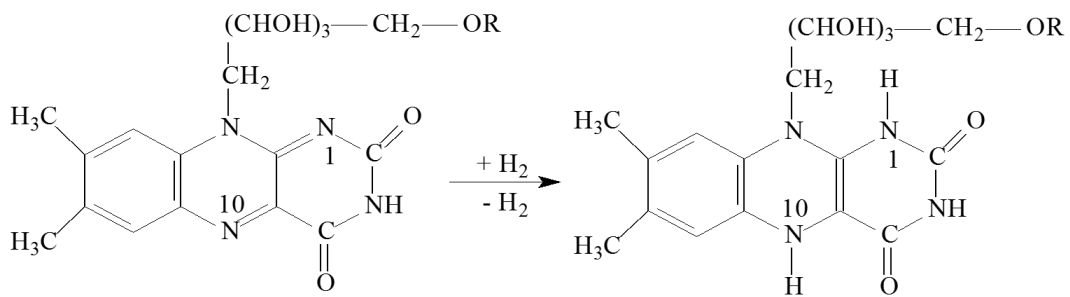


Під впливом специфічних ферментів фосфорильована форма перетворюється на моно- і динуклеотиди. При цьому утворюється два коферменти: флавінмононуклеотид (ФМН) і флавінаденіндинуклеотид (ФАД):



Рибофлавін – складова частина більш ніж 60 флавінових ферментів, які беруть участь у клітинному диханні й інших реакціях обміну речовин. Частина ферментів – НАД·Н₂-цитохром-с-редуктаза і НАДФ·Н₂-цитохром-с-редуктаза – є акцепторами водню і його переносниками.

Здатність флавінових ферментів бути переносником водню пояснюється наявністю в ядрі ізоалоксазина в 1-му і 10-му положеннях подвійних зв'язків, по місцю розриву яких і приєднується водень:



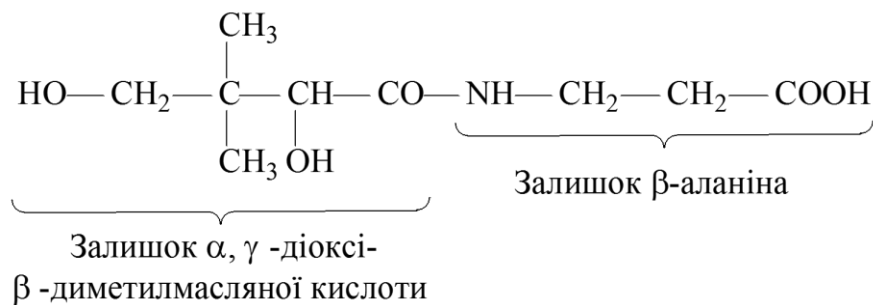
де R – залишок нуклеотиду і білок-носій. Після приєднання водню ФФ стає безбарвним. Обмін рибофлавіну тісно пов'язаний з обміном білків, нуклеїнових кислот, вуглеводів, ліпідів, з окислювальним фосфорилуванням та ін.

Рибофлавін і природні джерела, багаті ним, використовуються при лікуванні багатьох захворювань (променевої хвороби, гепатитів, дерматитів, іритів, кератитів) і авітамінозів.

Вітамін B_3 (пантотенова кислота) іноді називають антидерматичним вітаміном. Вперше виділений із рисових висівок і тканин печінки.

При недостатній кількості або відсутності вітаміну у раціоні в людини спостерігається слабкість, швидка втомлюваність, парестезії (оніміння) кінцівок, дерматити, схильність до інфекційних захворювань, зниження кислотності шлункового соку. У тварин спостерігається втрата шерсті (у птахів – пір'я), порушується координація рухів, знижується кров'яний тиск, затримується і зупиняється ріст, зменшується продуктивність.

Хімічна будова і властивості. В утворенні пантотенової кислоти беруть участь α -, γ -діоксі- β -диметилмасляна кислота і β -аланін:

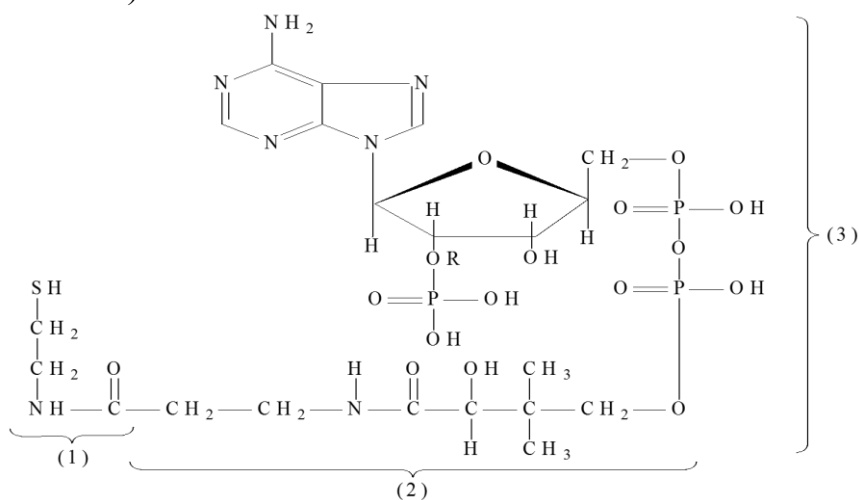


Вітамін є маслянистою рідиною світло-жовтого кольору, добре розчинною у воді, оптично активною, нестійкою до дії кислот або лугів (гідролізується) і до високих температур.

Вітамін синтезується всіма рослинами, дріжджовими клітинами, багатьма мікробами, у тому числі і тими, що мешкають в передшлунках жуйних і кишках.

Біологічна роль. Вітамін, що міститься в раціоні і синтезований мікрофлорою, депонується в печінці, частково – в нирках, міокарді і скелетних м'язах. В організмі вітамін в основному зв'язаний з білками. Вітамін B_3 є складовою частиною КоА. КоА складається з трьох частин – залишку тіоламіна (1), залишку пантотенової кислоти (2) і залишку 3'-фосфоаденозин-5'-дифосфата (3):

КоА впливає на обмін речовин, бере участь у біосинтезі й окисненні ліпідів, вуглеводів, у функціонуванні циклу трикарбонових кислот, утворенні ацетилхоліну, порфіринів, глюкозаміна, гіпурової кислоти і т.д. КоА функціонує як проміжний акцептор і переносник ацилів, утворюючи відповідні ацил-КоА (ацетил-, бутирил-, сукциніл-, малоніл-КоА).



При цьому відбувається їх активація, оскільки залишок карбонової кислоти зв'язується з SH-групою КоА макроергічним ацилтіоефірним зв'язком ($-\text{CO}\sim\text{S}-\text{CoA}$). Особливе значення має ацетил-КоА („активна оцтова кислота”). Це головний продукт проміжного обміну ліпідів, вуглеводів і білків. Це основне „паливо” для циклу трикарбонових кислот та сировина для біосинтезу багатьох сполук.

Вітамін B₅ (PP). Відкриття вітаміну B₅ (нікотинаміду) пов'язано з дослідженням природи хвороби пелагри. Функ в 1914 р. встановив, що причиною хвороби є відсутність якогось вітаміну. Ним виявилася ніотинова кислота і її амід.

При недостатньому надходженні до організму людини або при білковому голодуванні виникає захворювання, яке дістало назву „пелагра”. Для неї характерними є три групи симптомів: дерматит, діарея і деменція, у зв'язку з чим вона дістала назву *хвороби „трьох Д”*.

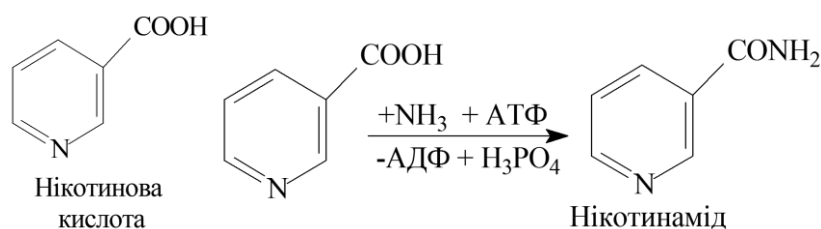
Дерматит виявляється в тому, що шкіра на відкритих ділянках тіла червоніє, стає шорсткою, покривається пухирцями, які лопаються, утворюючи виразки, темно-коричневі плями. Особливо у людей уражаються кисті рук, шия, шкіра обличчя.

Друга група симптомів пелагри – порушення функцій органів травлення (діарея). При цьому спостерігається запалення слизових оболонок ротової порожнини, язик стає червоним, блискучим, з'являються тріщини. В процесі травлення зменшується вміст соляної кислоти в шлунку, виникають поноси, нудота і, як наслідок, виснаження організму.

Третя група симптомів, яка виникає в особливо важких випадках, – розлад діяльності нервової системи, втрата пам'яті, марення, недоумство (деменція). Пелагра може протікати в хронічній рецидивній формі протягом кількох років. Загострення хвороби найчастіше спостерігається на початку весни і затухає влітку і восени.

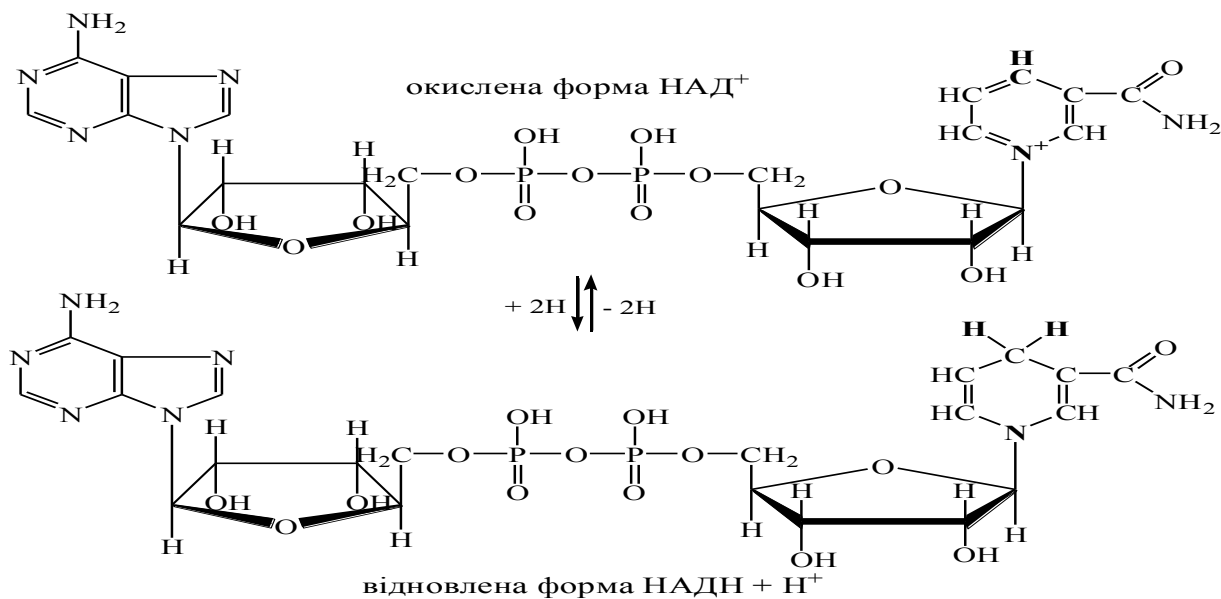
Хімічна будова і властивості. Вітамін PP представлений двома хімічними сполуками – ніотиновою кислотою та її амідом. Ніотинова кислота в організмі

легко перетворюється на амід за участю АТФ:



Їх хімічна назва – 3-піридинкарбонова кислота і нікотинамід. Нікотинова кислота і її амід – кристалічні безбарвні речовини, розчиняються у воді і етанолі, стійкі до високих температур.

Біологічна роль. Вітамін широко поширений у природі, частково синтезується мікрофлорою харчового каналу за наявності в раціоні достатньої кількості триптофану. Нікотинамід є складовою частиною багатьох ферментів, що беруть участь в процесах біологічного окиснення. В молекулу ферментів входить у вигляді коферментів – нікотинамідаденіндинуклеотида (**НАД**) і нікотинамідаденіндинуклеотид-фосфата (**НАДФ**). Молекула НАД містить залишок аденіна, амід нікотинової кислоти, два залишки рибози і два залишки фосфорної кислоти:



У більшості хімічних реакцій НАД або НАДФ як коферменти приєднують протон і два електрони від субстрата, що окислюється, і передають їх іншим переносникам дихального ланцюга або транспортують від відновленого кофермента до субстрата. Окислені форми коферментів позначаються НАД і НАДФ, відновлені – **НАД·Н₂** і **НАДФ·Н₂**.

До ферментів, що містять НАДФ, відносяться дегідрогеназа ізолимонної кислоти, дегідрогенази глюкозо-6-фосфата і 6-фосфоглюконової кислоти та ін. Відновлені форми НАД і НАДФ є донаторами гідрогену для різних синтезів в клітинах і тканинах. НАД і НАДФ неміцно зв'язані з білками дегідрогеназ, тому вони легко здійснюють функції переносника.

Вітамін В₆ (піридоксин) об'єднує три сполуки: піридоксин, піридоксаль і піридоксамін. Відкриття вітаміну було пов'язано із з'ясуванням причин „щурячої пеллагри”.

Гіпо- і авітамінози спостерігаються найчастіше у тварин з однокамерним шлунком – свиней, собак, курей, голубів і лабораторних ссавців (щурів, мишей). При цьому виникають дерматити, з'являються епілептичні судоми, гальмується діяльність червоного кісткового мозку, затримується і припиняється ріст і розвиток. У свиней і собак переважає ушкодження нервової системи.

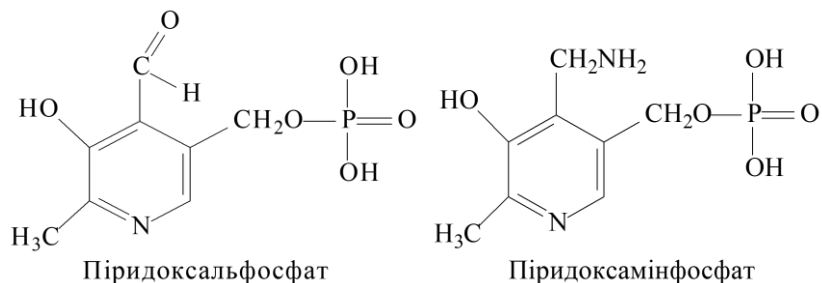
Хімічна будова і властивості. Під терміном вітамін В₆ розуміють три близькі речовини – похідні піридину, які можуть взаємно перетворюватися одна в одну:



Біологічна роль. Вітамін в основному поступає в організм з їжею. Деяка кількість піридоксина синтезується мікрофлорою харчового каналу. Вітаміном багаті риба, жовток яйця, дріжджі, пшеничні і рисові висівки, зелені частини рослин, сояшниковий шрот.

Вітамін у вигляді фосфатів входить до складу ферментів, що беруть участь в дезамінуванні, переамінуванні і декарбоксилюванні амінокислот (три, мет, цис), в перенесенні сірки з метіоніна на серин, в утворенні адреналіну і норадреналіну, серотоніна і гістаміну.

З током крові вітамін поступає в печінку, а потім до інших органів, де використовується для біосинтезу піридоксалевих ферментів та інших цілей. Вільний вітамін фосфорилюється під впливом ферменту піридоксалькінази, утворюючи фосфати:



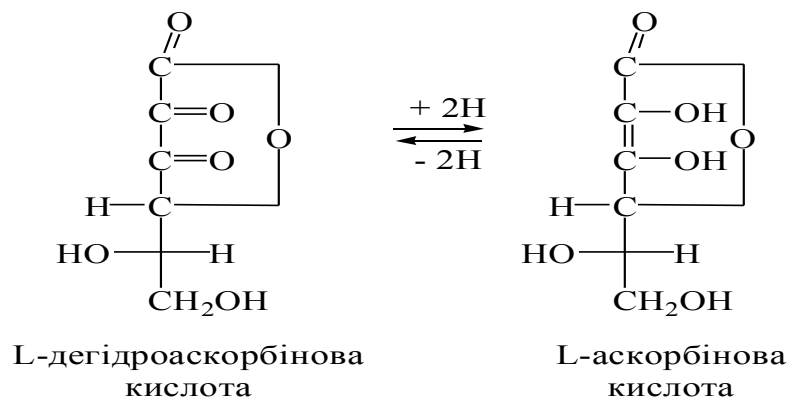
Вітамін як кофермент входить до складу молекул багатьох рацемаз, бере участь в обміні триптофану і тирозину та ін. Піридоксаль-5-фосфат бере участь у створенні третинної структури фосфорилази.

Вітамін С (антицинготний)

Хімічна будова і властивості. За хімічною природою – аскорбінова кислота

Біологічна роль. Вітамін С є кофактором ферментних систем: 1-, 11-, 17-, 21-, 25-гідроксилаз, гідроксилаз проліну, лізину, триптофану, фенілаланіну, а також бере участь у відновленні Fe^{3+} у Fe^{2+} . Гіпо- і авітаміноз вітаміну С призводить до порушення біосинтезу колагену, стероїдних гормонів, адреналіну, карнітину, гемоглобіну і серотоніну. С-авітаміноз викликає в організмі тварини та людини тяжке захворювання – цингу, яка характеризується підвищеною проникливістю стінок кровоносних судин, внаслідок чого з'являються крововиливи, кровотечі і враження десен, захворювання та розхитування зубів- парадантоз.

Джерела: шипшина, чорна смородина, болгарський перець, картопля,



цитрусові, ягоди горобини, хрін, кріп, капуста.

Цинга викликає патологічні явища в кістковій системі – ламкість кісток, як наслідок, порушення синтезу колагену, в якому бере участь аскорбінова кислота.

9.4 Якісні реакції на деякі вітаміни та їх кількісне визначення

Якісні реакції на вітамін А

Принцип реакції: Хлороформний розчин вітаміну А або риб'ячого жиру з трихлороцтовою сурмою забарвлюється в специфічний синій колір. Вітамін А з концентрованою сірчаною кислотою в бензольному розчині утворює комплекс синього кольору, а з сульфатом заліза (II) у кислому середовищі – сполуку червоно-рожевого кольору.

Кількісне визначення вітаміну А в риб'ячому жирі

Принцип методу. В основу методу покладено колориметричне визначення інтенсивності забарвлення, яке утворюється в реакції вітаміну А з трихлористою сурмою за наявності оцтового ангідриду.

Методика визначення

1. У пробірку до 0,4 мл хлороформного розчину риб'ячого жиру додати одну-дві краплі оцтового ангідриду, щоб запобігти появі каламуті в розчині, і 4мл розчину трихлористої сурми. Через 10 хв. суміш фотометрують за

$\lambda=620$ нм (червоний світофільтр), використовуючи розчин трихлористої сурми.

2. Концентрацію вітаміну А в риба'ячому жирі визначити за калібрувальним графіком, де кожному значенню знайденої екстинкції відповідає вміст вітаміну А в 0,4 мл розчину.

3. Для побудови калібрувального графіка використовувати стандартну концентрацію вітаміну А в риба'ячому жирі. Якщо вміст вітаміну А в 1 мл концентрату становить 500 одиниць (інтернаціональні одиниці), то для приготування початкового розчину 10 мл риба'ячого жиру розчиняють у 50 мл хлороформу. В 1 мл такого розчину міститься 100 одиниць вітаміну А.

4. Із цього розчину приготувати ще п'ять-шість розведень із таким розрахунком, щоб у 0,4 мл одержаних розчинів містилось від 20 до 70 одиниць вітаміну А.

5. Дану кількість (0,4 мл) стандартних розчинів обробити трихлористою сурмою й визначити їх оптичну густину.

6. Одержані значення оптичної густини використати для побудови калібрувального графіка. Залежність оптичної густини розчину вітаміну А від його концентрації є лінійною.

Вміст вітаміну А в 1 мл риба'ячому жиру розраховують за формулою:

$$C = aV/Q,$$

де c – вміст вітаміну А в 1 мл риба'ячого жиру; a – кількість вітаміну А в 1 мл досліджуваного розчину (для одержання цієї величини необхідно знайдено за графіком кількість вітаміну А в 0,4 мл розчину розділити на 0,4); Q – взята в пробі кількість риба'ячого жиру, мл; V – загальний об'єм дослідного хлороформного розчину риба'ячого жиру, мл.

Якісні реакції на вітамін D

Принцип реакції: Вітамін D у хлороформному розчині з насиченим розчином хлориду сурми (V) утворює жовте забарвлення. Під час нагрівання хлороформного розчину вітаміну D або риба'ячого жиру з сумішшю аніліну та концентрованої соляної кислоти розчин забарвлюється в червоний колір. Розчин вітаміну D або риба'ячий жир із розчином бром у хлороформі забарвлюється в *зелено-блакитний* колір.

Кількісне визначення вітаміну D

Принцип методу. Визначення засноване на утворенні жовто-рожевого забарвлення в реакції вітаміну D із трихлористою сурмою. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації вітаміну D й визначається за допомогою фотоелектроколориметра.

Методика визначення

1. У конічну колбу зі зворотним холодильником внести 10 г молочного жиру, 40 мл етанолу та 8 мл розчину гідроксиду калію.

2. Колбу розмістити у водяній бані, нагрівати до температури 85–90 °С.

3. Через 40-50 хв. вміст колби перенести у розділювальну лійку й тричі екстрагувати диетиловим ефіром (порціями 50, 25 і 25 мл).

4. Одержаний ефірний екстракт перенести у другу розділювальну воронку, додати 7 г сульфату натрію, зачекати, поки розчин стане прозорим, відфільтрувати його і звільнити від ефіру на водяній бані.

5. Сухий залишок розчинити у 5 мл хлороформу.

6. До 1 мл цього розчину додати три краплі ацетилхлориду та 6 мл розчину $SbCl_5$.

7. Через 5 хв. інтенсивність забарвлення зафіксувати на фотоелектроколориметрі за λ 500 нм. Контрольний розчин – 1 мл хлороформу, 6 мл розчину $SbCl_5$ і три краплі ацетилхлориду.

8. Концентрацію вітаміну D у досліджуваному розчині розраховують за калібрувальним графіком. Для побудови графіка готують кілька розчинів кальциферолу в хлороформі, які містять у 1 мл від 200 до 1000 одиниць вітаміну D, використовуючи спиртовий розчин кальциферолу, й проводять кольорову реакцію.

Масову концентрацію вітаміну D (одиниці в 1 г жиру) розраховують за формулою:

$$C = xV\rho / a,$$

де x – кількість вітаміну D, взята за калібрувальною кривою (одиниці в 1 мл розчину); V – розбавлення, мл; a – г маса жиру, г; ρ – густина жиру, г/см³.

Якісні реакції на вітамін K

Принцип реакції: Спиртовий розчин вітаміну K в лужному середовищі з диетилмалоновим ефіром має червоно-фіолетове забарвлення, а за наявності диетилдитіокарбонату за таких же умов утворюється сполука, забарвлена в блакитний колір. За наявності аніліну спиртовий розчин вітаміну K забарвлюється в **червоний колір**, що зумовлено утворенням І-метил-2-феніламінонафтохінону.

Кількісне визначення вітаміну K

Принцип методу. Якщо змішати вітамін K із диетиловим ефіром у лужному середовищі, це призведе до утворення кольорової сполуки, інтенсивність забарвлення якої визначають за допомогою фотоелектроколориметра.

Методика визначення

1. Потерту моркву (10-15 г) ретельно розітерти у фарфоровій ступці з кварцовим піском і невеликою кількістю карбонату натрію.

2. У ступку долити 10 мл диетилового ефіру й знову розтирати.

3. Гомогенат перенести у лійку Бюхнера, два рази зливаючи невеликими порціями ефіру.

4. Відфільтрувати і три рази промити осад на фільтрі тим же екстрагентом.

5. Ефірні витяжки з'єднати і висушити безводним сульфатом натрію, після чого ефір випаровувати на теплій водяній бані, а залишок розчинити у 5 мл хлороформу.

6. До одержаного розчину додати 1 мл спиртового розчину диетилового ефіру та 0,2 мл розчину гідроксиду калію.

7. Загальний об'єм довести водою до 10 мл. Одноразово проводячи визначення із стандартним розчином вітаміну К. Забарвлений розчин колориметрують.

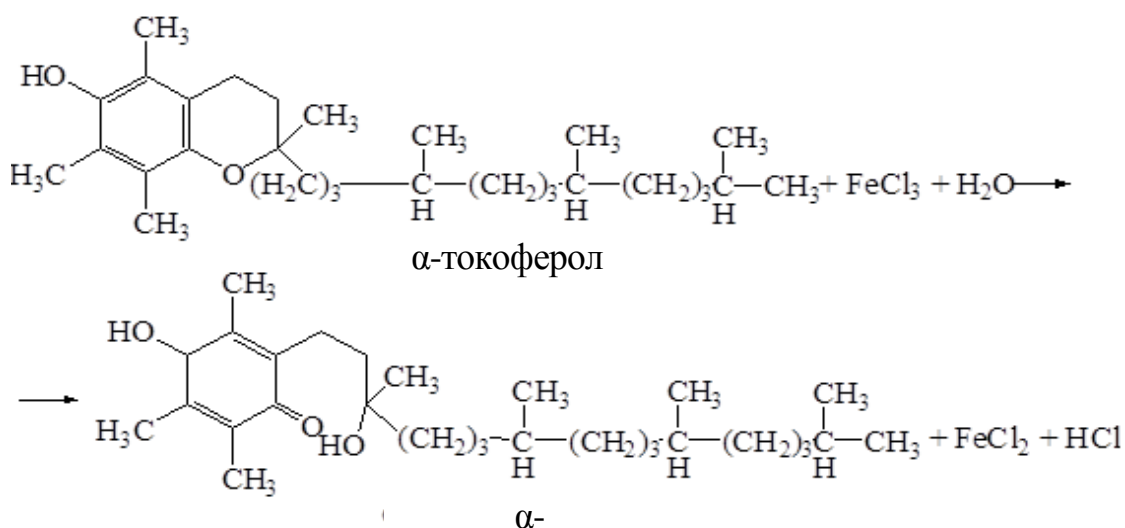
Масу вітаміну К, мкг, у 1 г моркви розраховують за формулою:

$$C = C_0 E_0 V / E_{cm} a, \text{ де}$$

C_0 – масова концентрація стандартного розчину вітаміну К, мкг/мл;
 V – об'єм екстракту (10 мл); E_0 і E_{cm} – екстинкція досліджуваного та стандартного розчинів; a – маса речовини, взятої для аналізу, г.

Якісні реакції на вітамін Е

Принцип методу. Взаємодія α -токоферолу з концентрованою азотною кислотою зумовлює забарвлення реакційної суміші в червоний колір. Це спричинено тим, що продукт окиснення α -токоферолу має хіноїдну структуру. Під час взаємодії з хлорним залізом (III) α -токоферол окислюється до α -токоферолхінону – сполука *червоного* кольору:



Кількісне визначення вітаміну Е

Принцип методу. Під час взаємодії спиртового розчину α -токоферолу з концентрованою азотною кислотою суміш забарвлюється в червоний колір, інтенсивність якого пропорційна концентрації вітаміну Е й може бути визначена за допомогою фотоелектроколориметра.

Методика визначення

1. У дві пробірки помістити по 2,5 мл спиртового розчину вітаміну Е, додати по 0,5 мл розчину азотної кислоти й поставити на киплячу водяну баню (3 хв).

2. Пробірки охолодити і залишити у темному місці на 15 хв.

3. Об'єм рідини в кожній пробірці довести абсолютним етанолом до 5 мл, перемішати і фотоколориметрувати за λ 470 нм (синій світлофільтр).

4. Концентрацію вітаміну Е в дослідному розчині визначити за калібрувальним графіком, де кожному значенню знайденої екстинкції відповідає певний вміст вітаміну Е в 1 мл розчину.

5. Для побудови калібрувального графіка використати спиртовий препарат, який містить в 1 мл 100 мг α -токоферолу. З цією метою 0,5 мл такого препарату розчиняють абсолютним етанолом у колбі об'ємом 50 мл (у 1 мл міститься 1 мг препарату). У чотири пробірки наливають по 0,5, 1,0, 1,5, 2,0 мл цього розчину й доводять загальний об'єм рідини абсолютним етанолом до 2,5 мл в кожній пробірці.

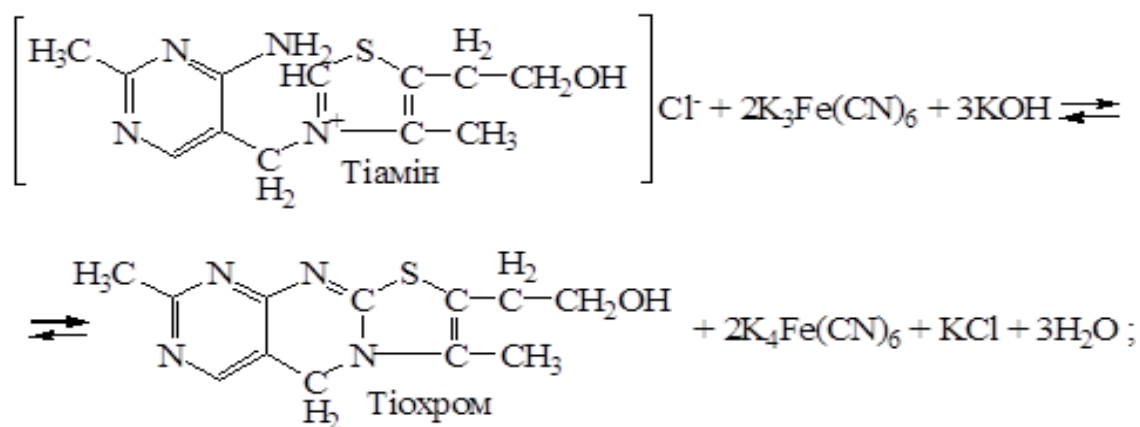
6. За значеннями оптичної густини розчинів, які мають різну кількість вітаміну Е, будують калібрувальний графік. На осі ординат відкладають екстинкції, на осі абсцис – відповідні концентрації вітаміну Е в 1 мл.

Якісні реакції на тіамін (вітамін B₁)

Принцип методу. Метод, заснований на здатності вітаміну B₁ у лужному середовищі з діазореактивом (суміш солянокислого або сірчанокислого розчину сульфанілової кислоти з розчином нітрату натрію) утворювати складну комплексну сполуку *жовтогарячого або червоного* кольору.

Реакція окислення тіаміну в тіохромом

Принцип методу. Вітамін B₁ у лужному середовищі під дією гексаціано-III-ферату калію окислюється в тіохромпигмент жовтого кольору, який у ізобутиловому спирті зумовлює інтенсивно синю флуоресценцію:



Кількісне визначення тіаміну в сечі флуориметричним методом за методом Ванга та Харріса

Принцип методу. Визначення базується на реакції окислення тіаміну в тіохром (попередня реакцій) та екстракції тіохрому органічними розчинниками й вимірюванні інтенсивності блакитної флуоресценції. Для кількісно-

го визначення тіаміну порівнюють флуоресценцію окислених стандартних і дослідних розчинів тіамінхромом на флуориметрі.

Методика визначення

1. У розподільну лійку налити 6–8 мл сечі, додати стільки ж ізобутилового спирту й струшувати протягом 2 хв.

2. Промиту сечу (нижній шар) злити у дві сухі розподільні лійки (по 2 мл) і додати по 1 мл розчину гідроксиду натрію.

3. У дослідну лійку по краплях внести свіжовиготовлений розчин гексаціано-(III)-ферату калію доти, доки забарвлення не зберігатиметься протягом 30 хв.

4. У дослідну та контрольну лійки додати V_0 5 мл дистильованої води, по 10 мл ізобутилового спирту й інтенсивно струшувати протягом 2 хв.

5. Нижній шар сечі злити, а верхній (ізобутанол) зібрати у дві сухі пронумеровані пробірки.

6. У третю розподільну лійку внести 1 мл робочого стандартного розчину тіаміну та 1 мл води, в четверту – 2 мл дистильованої води.

7. У обидві лійки додати 1 мл розчину гідроксиду натрію, по десять крапель розчину гексаціано-(III)-ферату калію, струшувати, долити по 5 мл води та по 10 мл ізобутанолу, знову струшувати протягом 2 хв.

8. Нижній шар вилити, а верхній зібрати у дві сухі пронумеровані пробірки.

9. Для просвітлення розчинів у всі пробірки – дослідну, стандартну та дві контрольні – додати по 2 мл етанолу.

10. Порівняти інтенсивність флуоресценції дослідної сечі та контролю. Вміст тіаміну визначити на флуориметрі за флуоресценцією тіохрому.

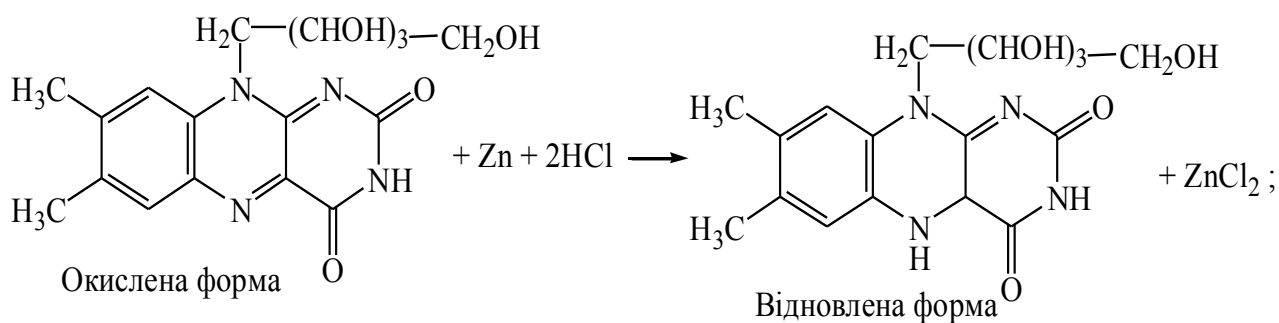
Масову концентрацію тіаміну, у досліджуваному матеріалі знайти за формулою: (мкг)

$$X = C(E_d - E_k)V_0 / E_{cm}V_1,$$

де X – масова концентрація тіаміну в сечі; C – концентрація тіаміну в 1 мл стандартного розчину (10 мкг), V_1 – об'єм сечі, яку було взято для аналізу (2 мл); V_0 – загальний об'єм сечі за добу, мл; E_d , E_k , E_{cm} – інтенсивність флуоресценції дослідної, контрольної та стандартної проб.

Реакції відновлення рибофлавіну (вітамін B_2)

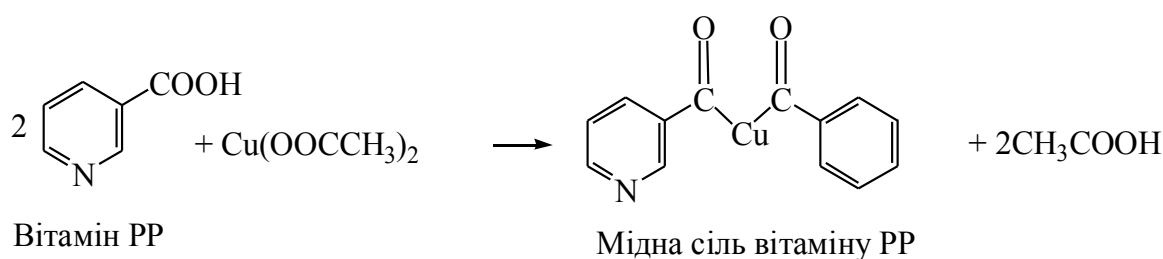
Принцип методу. Під час змішування металічного цинку з концентрованою соляною кислотою утворюється водень, який відновлює жовтий рибофлавін спочатку на родофлавін (проміжне сполучення) червоного кольору, а потім на безбарвний лейкофлавін:



Якісні реакції на вітамін РР (антипелагричний, В₅)

Реакція з ацетатом міді

Принцип методу. Під час нагрівання вітаміну РР із розчину ацетату міді утворюється важкорозчинний осад мідної солі вітаміну РР синього кольору:



Реакція з гідросульфідом натрію

Принцип реакції: Вітамін РР відновлюється гідросульфідом натрію з утворенням сполуки жовтого кольору.

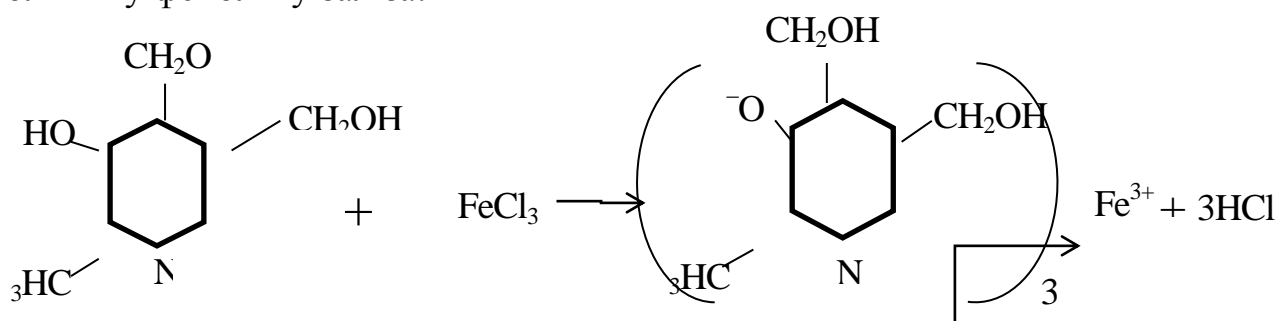
Реакція з 2,4-динітрохлорбензолом

Принцип реакції: Вітамін РР під час нагрівання з 2,4-динітрохлорбензолом у лужному середовищі утворює сполуку **червоно-фіолетового забарвлення**.

Якісні реакції на піридоксин (вітамін В₆)

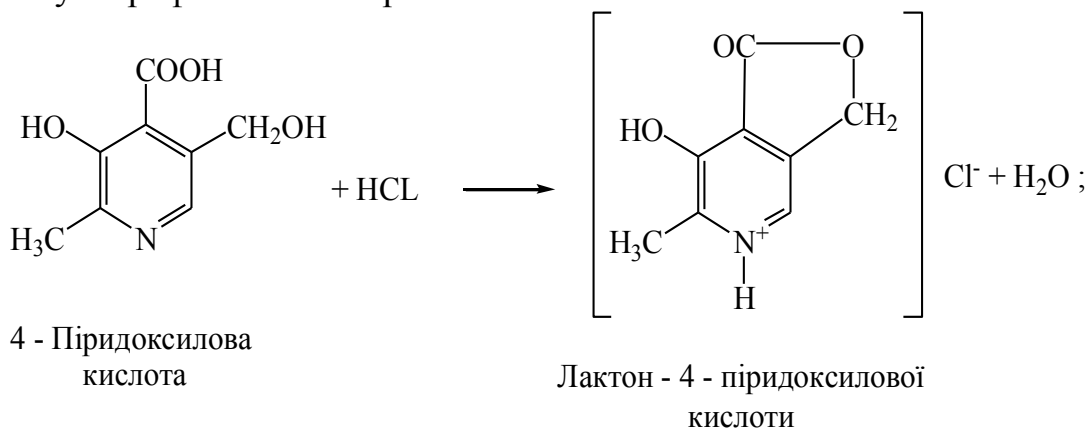
Реакція з хлоридом заліза

Принцип реакції: Під час взаємодії піридоксину з розчином хлориду заліза рідина забарвлюється в червоний колір завдяки утворенню комплексної солі типу феноляту заліза.



Виявлення піридоксислової кислоти у сечі

Принцип методу. Вітамін В₆ виводиться з організму у вигляді піридоксислової кислоти. Розчин лактону піридоксислової кислоти має синю флуоресценцію в ультрафіолетових променях:

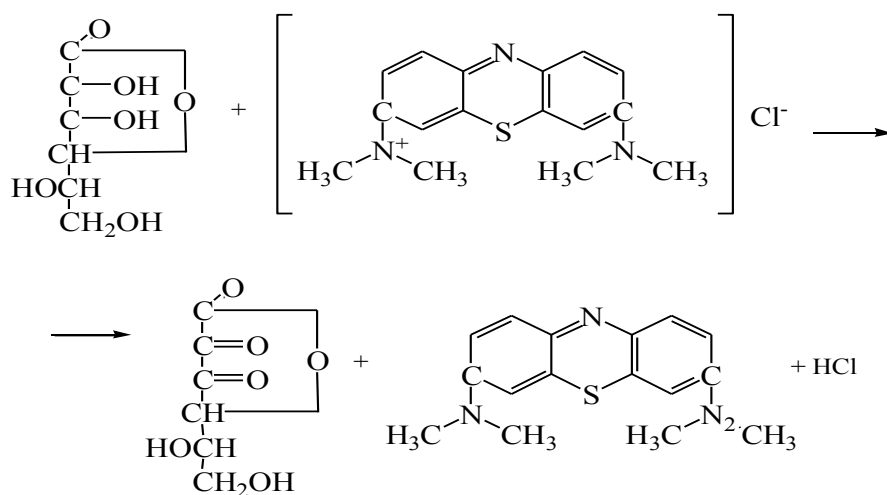


Методика визначення

1. У пробірку налити 0,5 мл сечі та 0,5 мл розчину соляної кислоти.
2. Змішати, а потім поставити на 20 хв. у киплячу водяну баню для утворення лактону піридоксислової кислоти.
3. Пробірку охолодити, додати три краплини розчину гідроксиду натрію (рН9,0) і розчин тетраборату натрію до половини об'єму пробірки, змішати.
4. Спостерігати появу синьої флуоресценції в ультрафіолетових променях

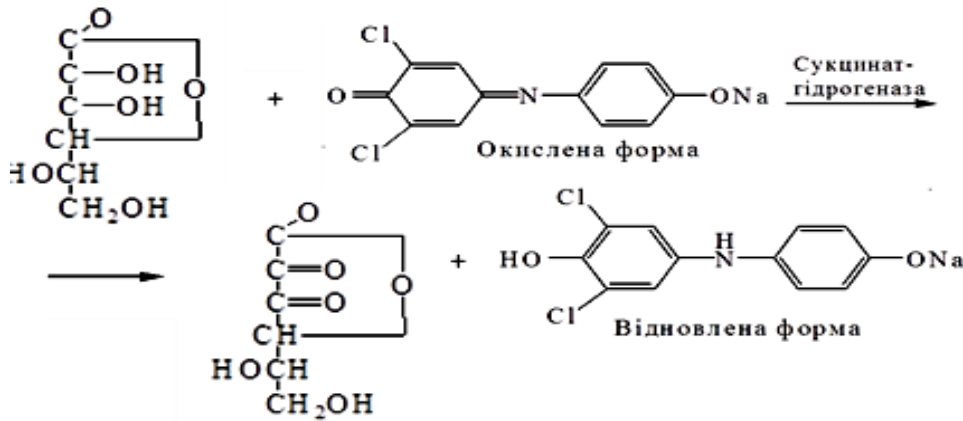
Якісні реакції на вітамін С

Принцип методу. Аскорбінова кислота може легко вступати в окисно-відновні реакції й відновлювати 2,6-дихлорфеноліндофенол, гексоціано-(III)-ферат калію, нітрат срібла, метиленовий синій. При цьому окислена форма 2,6-дихлорфеноліндофенолу (синього кольору) та метиленовий синій відновлюється на безбарвні лейко-сполуки, а $K_3[Fe(CN)_6]$ – на $K_4Fe(CN)_6$, який із іонами валентного заліза утворює сіль $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ синього або зеленого кольору. Реакція відновлення метиленового синього відбувається за рівнянням:



Кількісне визначення вітаміну С за методом Тільманса

Принцип методу. Метод ґрунтується на здатності аскорбінової кислоти окислюватися 2,6-дихлорфеноліндофенолом до дегідроаскорбінової кислоти. За кількістю 2,6-дихлорфеноліндофенолу, витраченого для титрування, визначають кількість аскорбінової кислоти в досліджуваному матеріалі.



Коли весь вітамін С окисниться, розчин, що титрується, набуде рожевого кольору за рахунок утворення не дисоціюючих молекул 2,6-дихлорфеноліндофенолу (в кислому середовищі). У лужному середовищі 2,6-дихлорфеноліндофенол *має синє забарвлення, в кислому – червоне, а після відновлення знебарвлюється.*

Методика визначення

У фарфоровій ступці 1 г харчового продукту ретельно розтирають із кварцовим піском. До розтертої маси додають 9 мл розчину соляної кислоти, відстоюють і через 10 хв. фільтрують. Для кількісного визначення беруть 3 мл фільтрату, вносять у колби й титрують розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу до появи *рожевого забарвлення*, яке зберігається протягом 30 с.

Масову концентрацію аскорбінової кислоти, мг, розраховують за формулою:

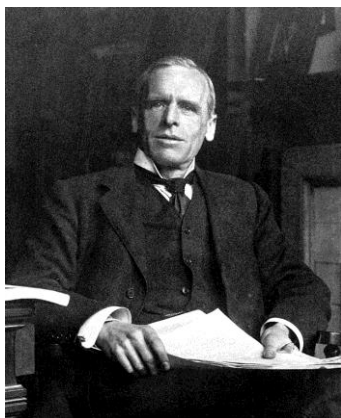
$$C = QAV_0/V_1a, \text{ або } x = \frac{0.088 * A * 25 * 100}{2 * 1} = \text{мг}\%$$

де Q – кількість аскорбінової кислоти (0,088 мг), який відповідає 1 мл 0,0005 моль/л розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу; A – кількість 0,0005 моль/л розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу, витрачена на титрування, мл; V_0 – загальна кількість екстракту, мл; V_1 – об'єм екстракту, взятий для титрування, мл; a – кількість харчового продукту, г.

Для порівняння див. ДОДАТКИ(Табл. Вміст вітаміну С у рослинній сировині).

ТЕМА 10. ГОРМОНИ. ГОРМОНАЛЬНА РЕГУЛЯЦІЯ МЕТАБОЛІЗМУ В ОРГАНІЗМІ ТВАРИНИ

10.1 Загальна характеристика гормонів



Генрі Старлінг
(1866 - 1927)

Гормони відкриті англійським вченим Ернестом Генрі Старлінгом, який народився в 1866 році в Лондоні і є автором багатьох праць з біохімії та фізіології людини, він є основоположником історії відкриття гормонів. Цей геніальний вчений відкрив людству таємницю регуляції і функціонування органів і систем. Теорія Старлінга про збудливість серцевого м'яза лягла в основу розуміння кардіології.

Старлінг разом з Уільмом Бейлісом відкрили серотонін, а в 1905 році ввів поняття і термін *гормон*, який став загальноновизнаним і застосовується в медицині

Гормони – (др.-греч. ὁρμάω- «приводжу до руху»), органічні біологічні речовини, що виробляються в ендокринних залозах або клітинах, транспортуються кров'ю і чинять регуляторну дію на обмінні процеси та фізіологічні функції в організмі тварини і людини. Гормони є первинними посередниками між центральною нервовою системою і тканинними процесами. До ендокринних залоз відноситься гіпоталамус, гіпофіз, епіфіз, тимус, щитовидна залоза, паращитовидна залоза, підшлункова залоза, надниркові залози, статеві залози і дифузна нейроендокринна система (Рис. 10.1.1).

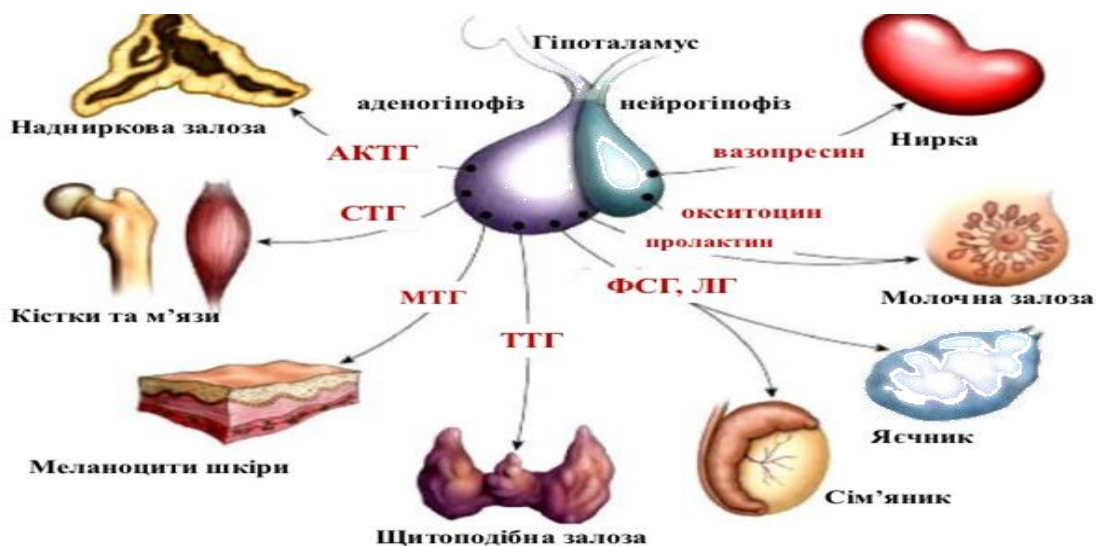


Рис. 10.1.1. Гіпоталамно-гіпофізна регуляція ендокринних залоз організму

Єдиний принцип номенклатури гормонів відсутній. Їх називають за місцем утворення (інсулін від insula- острівець), за фізіологічним ефектом (вазопресин), гормони передньої долі гіпофізу мають закінчення - тропін, закінчення - ліберин - статин вказує на гіпоталамічні гормони.

Загальне для всіх гормонів:

1. Дія на відстані від місця виділення.
2. Специфічність ефекту.
3. Висока швидкість утворення і розпаду.
4. Висока біологічна активність.
5. Роль посередника між ЦНС і тканинами.
6. Підтримка гомеостазу в організмі;
7. Адаптація організму до умов зовнішнього середовища, що змінюються;
8. Підтримка циклічних змін в організмі (день – ніч, стать, вік та ін.);
9. Підтримка морфологічних і функціональних змін в онтогенезі.

10.2 Класифікація гормонів за хімічною природою. Механізм дії гормонів на клітину-мішень

Гормони регулюють вже існуючі біохімічні процеси.

За хімічною будовою гормони поділяються на дві великі групи:

I група – гормони-білки, пептиди, похідні амінокислот;

II група – похідні циклопентанопергідрофенантрена – стероїдні гормони.

Приклади:

▪ гормони-білки: інсулін, пролактин, соматотропін, фоллікулоstimу-ючий гормон (ФСГ), лютеїнізуєчий гормон (ЛГ) та ін.

▪ гормони-пептиди: глюкагон, адренкортикотропний гормон (АКТГ), вазопресин та ін.

▪ гормони, похідні амінокислот: адреналін, тироксин, трийодтиронін.

▪ гормони-стероїди: тестостерон, кортизон, прогестерон.

За біохімічними діями, функціями розрізняють 5 видів гормонів:

▪ Гормони, що регулюють обмін білків, вуглеводів, ліпідів: інсулін, глюкагон, адреналін, кортизол.

▪ Гормони, що регулюють водно-сольовий обмін в організмі: альдостерон, вазопресин.

▪ Гормони, що регулюють обмін іонів кальцію і фосфатів в організмі: паратгормон, кальцитонін, кальцитріол.

▪ Гормони, що регулюють репродуктивну функцію в організмі: статеві гормони (чоловічі і жіночі).

▪ Гормони, що регулюють функції ендокринних залоз: тиреотропний, лютеїнізуєчий, фоллікулоstimулюєчий, соматотропін, меланотропний.

На ЦНС тварини діють зовнішні і внутрішні фактори, викликаючи утворення нервових імпульсів, які надходять у гіпоталамус, у результаті чого в гіпоталамусі синтезуються ліберини і статини: кортиколіберин, фолліберин, соматоліберин і соматостатин, пролактоліберин і пролактостатин, меланоліберин і меланостатин, що є пептидами за хімічною природою. Ліберини і статини (релизинг-фактори) діють на гіпофіз (аденогіпофіз), викликаючи секрецію ланцюгових гормонів: соматотропіну, АКТГ, ФСГ, ЛГ, тиреотропіну, ліпотропіну, що впливають на периферичні ендок-

ринні залози, стимулюючи вироблення гормонів: інсуліну, адреналіну, тироксину, статевих гормонів, глюкагону, стероїдних гормонів наднирників.

Механізм дії гормонів на клітину-мішень. Гормони впливають на клітини різних тканин вибірково: клітини, що мають білок-рецептор, що специфічно взаємодіє з даним гормоном, називають клітинами-мішенями. Білки-рецептори можуть бути розташовані як на поверхні, так і в цитозолі клітин. В залежності від хімічної природи гормонів і розташування білків-рецепторів розрізняють два механізми передачі гормонального сигналу в клітині-мішені.

Перший механізм – мембранно-внутрішньоклітинний (для гормонів – білків, пептидів, адреналіну, на 10% тиреоїдних). Білки-рецептори розташовані на зовнішній поверхні цитоплазматичної мембрани. Гормони ніколи не проникають у цитозоль клітини. Взаємодія гормону з білком-рецептором приводить до активації аденілатциклази й утворенню вторинного посередника – ц-АМФ чи ц-ГМФ, що у клітині запускає каскадний механізм активації ряду ферментів, що змінюють інтенсивність обміну вуглеводів, білків, ліпідів.

Другий механізм – цитозольний (для гормонів стероїдної природи і на 90% – для йодтиронінів). Гормони з ліпофільними властивостями проникають через цитоплазматичну мембрану в цитозоль клітини, взаємодіючи з білками-рецепторами, що знаходяться в цитозолі. Утворений комплекс «гормон-білок-рецептор» проникає у ядро клітини і на рівні оперона впливає на рецептор.

10.3 Біологічна роль деяких гормонів та вплив їх на обмін речовин

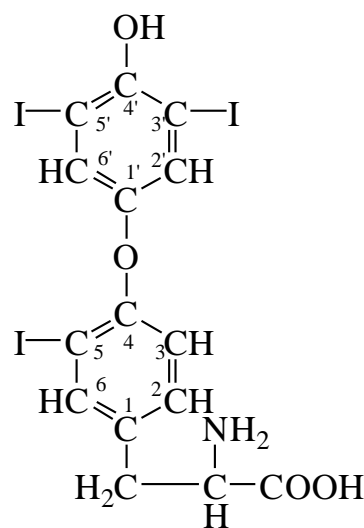
Гормони щитовидної залози

Тиреоїдні гормони **йодтироніни** – **тироксин (тетра-йодтиронін) – T_4** і **трийодтиронін T_3** – синтезуються в щитовидній залозі під впливом тиреотропіну, що виділяється гіпофізом. На виділення тиреотропіну гіпофізом впливає тиреоліберин, який секретує гіпоталамус. Хімічна природа йодтиронінів – йодовані похідні амінокислоти тирозину. Клітинами-мішенями для йодтиронінів є гепатоцити печінки, адипоцити жирової тканини, клітини м'язової тканини, у тому числі міокарду. Немає рецепторів, чутливих до йодтиронінів у клітинах сполучної тканини, мозку.

Механізм дії: 10% – мембранно-внутрішньоклітинний, 90% – цитозольний.

Біологічна дія йодтиронінів:

1. Індукують біосинтез більш ніж 100 окисно-відновних ферментів, активуючи тканинне дихання.
2. Активують ферменти човникового транспорту водню з цитозолі клітини в митохондрії, підсилюючи активність ЛПЕ.
3. Активують процеси реплікації ДНК.
4. Активуючи аденілатциклазу, потім каскадним механізмом:



Трийодтиронін T_3

а) активують глікогенфосфорилазу, викликаючи розпад глікогену, підвищують рівень глюкози в крові; знижують біосинтез глікогену, інактивуючи глікогенсинтазу;

б) активують ТАГ-ліпазу, підсилюють ліполіз (розпад) триацилгліцеринів.

5. Активують протеоліз білків у тканинах.

6. Активують роботу натрій-калієвого насоса.

7. Через підвищення генерації АТФ підсилюють виділення енергії.

8. Чинять проліферативний ефект.

9. Впливають на диференціювання тканин.

У крові основна частина йодтиронинів знаходиться у зв'язку з білками: тироксинзв'язуючим глобуліном (ТЗГ), тироксинзв'язуючим преальбуміном (ТЗПА), тироксинзв'язуючим альбуміном (ТЗА). Гормональну дію чинять лише вільні форми гормонів. Біосинтез білків, що зв'язують йодтироніни, активізується статевими гормонами, тому при клімаксі, після видалення яєчників, знижується виділення статевих гормонів збільшується кількість вільних форм йодтиронинів в крові, що веде до появи агресивного стану в організмі. T_4 функціонує 15 днів, T_3 функціонує 3 дні.

Катаболізм йодтиронинів відбувається спочатку в печінці, серці, нирках, м'язах під впливом трансамінази, йодтироніндегалогенази і тироксиндегалогенази, що призводить до утворення дифенільних похідних, які після утворення фенолів у печінці піддаються реакції кон'югації з ФАФС і УДФ з утворенням парних сірчаних і глюкуронових кислот, що виділяються нирками із сечею.

Патологія:

1) гіперфункція щитовидної залози – Базедова хвороба (хвороба Гревса),

2) гіпофункція щитовидної залози – мікседема, гіпотеріоз.

3) ендемічний зоб.

Гормони мозкового шару надниркових залоз (адреналін, норадреналін).

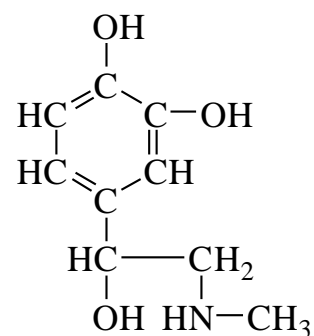
Адреналін – гормон мозкового шару наднирників, синтезується у відповідь на стан фізичного чи нервового стресів. Його секреція не залежить від концентрації глюкози у крові. Біосинтез адреналіну йде за схемою: тирозин + диоксифенілаланін (ДОФА) → дофамін → норадреналін → адреналін.

Адреналін і норадреналін називають катехоламінами, але гормональною активністю володіє адреналін, а норадреналін є нейромедіатором. Клітинами-мішенями для адреналіну є клітини скелетних м'язів, печінки, серця, серцево-судинної системи і жирової тканини. Функціонує адреналін 1 хв. **Механізм дії** – мембранно-внутрішньоклітинний.

Біологічна дія адреналіну:

I. Вплив на вуглеводний обмін (насамперед у скелетних м'язах, а потім у печінці):

1. Підсилює розпад глюкози в процесі гліколізу, активуючи фосфофруктокіназу.



Адреналін

2. Активує глюконеогенез у печінці за рахунок ферментів: піруваткарбоксилази, карбоксикінази, фруктозо-1,6-бісфосфатази і глюкозо-6-фосфатази.

3. Підсилює розпад глікогену, активуючи каскадним механізмом, через аденілатциклазну систему – глікогенфосфорилазу.

4. Пригнічує біосинтез глікогену, так як через аденілатциклазну систему інактивується глікогенсинтаза.

У результаті адреналін підвищує вміст глюкози в крові.

II. Вплив на обмін ліпідів:

1. Підсилює розпад ТАГ, активуючи каскадним механізмом ТАГ-ліпазу.

2. Підсилює розпад ВЖК у процесі β -окислення.

3. Підвищує вміст ВЖК, холестерину і фосфогліцеринів у крові.

4. Адреналін пригнічує секрецію інсуліну, підвищує секрецію глюкагону.

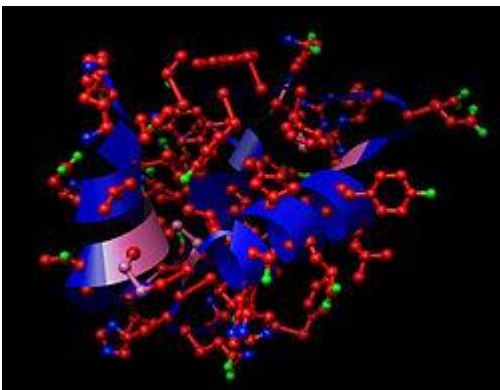
Катаболізм адреналіну протікає в гепатоцитах печінки під впливом ферментів моноамінооксидази (MAO) і катехол-0-метилтрансферази (КОМТ) з утворенням 80% вініліл-миндальної кислоти, 15% – метадреналіну, що виділяється нирками із сечею, лише 5% адреналіну виділяється із сечею незміненими.

Гормональні механізми реалізації стресу

Стан фізичного й емоційного стресів людини та тварини сприймають клітини ЦНС і посиляють нервові імпульси у мозковий шар наднирників і в гіпоталамус. У мозковому шарі наднирників проходить секреція адреналіну, а в гіпоталамусі синтезується кортиколіберин (кортикотропін – релізинг-гормон), під впливом якого в гіпофізі виробляється адренокортикотропний гормон (АКТГ), що впливає на корковий шар наднирників. Тривале виділення адреналіну призводить до розростання коркового шару наднирників і значному збільшенню виділення кортикостероїдних гормонів. Отже, гормональні зміни метаболізму при стресі обумовлені виділенням великої кількості адреналіну і кортикостероїдних гормонів. Біохімічна картина при надлишку в організмі кортикостероїдів викладено в наступному питанні: «Гормони стероїдної природи».

Гормон підшлункової залози

Інсулін синтезується β -клітинами острівців Лангерганса-Соболева підшлункової



залози у відповідь на підвищення в крові концентрації глюкози, іонів кальцію, аргініну, лейцину і глутамінової кислоти під контролем гормонів – соматотропіну та соматостатину. За хімічною природою – білок, що має четвертинну структуру,

Рис. 10.3.1 Гормон інсулін

складається з 4 субодиниць, кожна з яких включає 51 залишок амінокислот. У кожній субодиниці є 2 поліпептидні ланцюги: лан-

цюг А, що містить 21 залишок амінокислот, і ланцюг В, що містить 30 залишків амінокислот. Поліпептидні ланцюги зв'язані двома дисульфідними містками. У крові присутній як вільний, так і зв'язаний з білками інсулін, що функціонує 20 хв.

Клітини-мішені для вільного інсуліну: гепатоцити печінки і клітини скелетних м'язів; для зв'язаного інсуліну – адипоцити жирової тканини. У нервовій тканині відсутні клітини мішені для інсуліну. Механізм дії інсуліну на клітини-мішені – мембранно-внутрішньоклітинний, через ц-АМФ.

Біологічна дія інсуліну

I. Вплив на обмін вуглеводів:

1. Прискорює транспорт глюкози в клітини, тому що:
 - а) утворює «канальці» з білками-рецепторами, якими глюкоза проникає в клітини;
 - б) активує через аденілатциклазу роботу натрій-калієвого насосу.
2. Активує гліколіз-дихотомічний розпад глюкози, тому що зростає активність глюкокінази, гексокінази, фосфофруктокінази, піруваткінази.
3. Активує цикл трикарбонових кислот, тому що відновлює активність піруватдегідрогеназного (ПДК) і α -кетоглутаратдегідрогеназного (α -КГДК) комплексів.
4. Підсилює процес біосинтезу глікогену, тому що зростає активність гексокінази, глюкокінази, глікогенсинтази.
5. Активує пентозофосфатний шлях розпаду глюкози, тому що зростає активність глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази.
6. Знижує розпад глікогену, тому що активація фосфодіестерази приводить до руйнування ц-АМФ та інактивації через ряд ферментів глікогенфосфорилази.
7. Пригнічує глюконеогенез, знижуючи активність трьох ферментів обхідних реакцій: піруваткарбоксилази, фосфоенолпіруваткарбоксикінази і фруктозо-1,6-ди(біс)фосфатази.

У результаті інсулін знижує рівень глюкози у крові.

II. Вплив на обмін ліпідів:

1. Підсилює біосинтез ВЖК, тому що зростає активність ацетил-КоА-карбоксилази, що веде до більш інтенсивного утворення малоніл-КоА.
2. Активує біосинтез ТАГ та ліпопротеїнів, так як активація гліколізу приводить до утворення субстрату для біосинтезу ТАГ – фосфодіоксиацетону, з якого утвориться α -гліцерофосфат; іншим субстратом є ВЖК, біосинтез яких також активований інсуліном.
3. Пригнічує розпад ВЖК у процесі β -окислення, так як малоніл-КоА, що інтенсивно утворюється, є негативним алостеричним модулятором регуляторного ферменту β -окислення – карнітин- ацил-трансферази 1.
4. Пригнічує розпад ТАГ, тому що, активуючи фосфодіестеразу, знижує кількість ц-АМФ і через ряд ферментів інгібує ТАГ-ліпазу.
5. Знижує біосинтез кетонових тіл (кетогенез) за рахунок активації ЦТК і зменшення кількості субстрату – ацетил-КоА, що витрачається в ЦТК.

У результаті вплив інсуліну на обмін ліпідів є анаболітичним.

III. Вплив на обмін білків:

1. Підвищує проникливість амінокислот у клітини тканин за рахунок утворення «каналців» з білками-рецепторами цитоплазматичної мембрани.
2. Підсилює біосинтез білків у клітинах тканин, тому що в клітинах збільшена кількість субстратів – амінокислот і енергії – АТФ.
3. Знижує концентрацію амінокислот у крові.

У результаті вплив інсуліну на обмін білків є анаболітичним.

IV. Вплив на мінеральний обмін:

Інсулін через аденілатциклазу активує роботу натрій-калієвого насоса, що зумовлює зростання проникливості іонів калію через цитоплазматичну мембрану в клітини. Особливо важливо це враховувати для клітин міокарда при лікуванні захворювань серця серцевими глікозидами.

Катаболізм інсуліну відбувається в гепатоцитах печінки під впливом двох ферментних систем: глутатіон-інсулін-трансдегідрогенази та інсулін-протеїнази (інсулінази).

Біохімічна картина інсулінозалежного цукрового діабету.

Причини виникнення інсулінозалежного цукрового діабету: повна відсутність секреції інсуліну внаслідок склерозування підшлункової залози, хронічного панкреатиту, вроджене порушення біосинтезу інсуліну, відсутність ферментів, що перетворюють препроінсулін (чи проінсулін) в інсулін, пухлинного росту, хронічних стресів, гемохроматозу.

Причинами цукрового діабету при достатній секреції інсуліну можуть бути:

1. Порушення молекулярної структури інсуліну.
2. Порушення біосинтезу білків-рецепторів на поверхні цитоплазматичних мембран клітин-мішеней: глюкоза не проникає в клітини тканин.
3. Порушення сполучення між інсулін-рецепторним комплексом і другою ланкою передачі сигналу в клітину при звичайній кількості рецепторів у клітинах-мішенях.
4. Феохромоцитома.

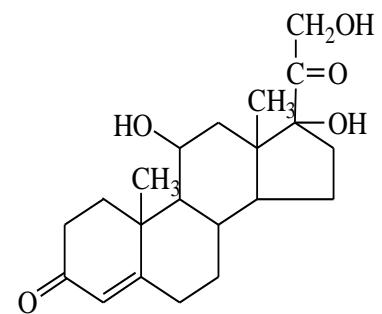
Біохімічні порушення при цукровому діабеті:

1. Гіперглікемія і глюкозурія;
2. Кетонемія і кетонурія;
3. Азотемія й азотурія;
4. Поліурія і полідипсія;
5. Метаболічний ацидоз.

Гормони стероїдної природи

Регуляція біосинтезу глюкокортикоїдів

Ендогенний ритм організму людини (сон – пильнування, день – ніч, харчування – голод), емоційні і фізичні



кортизол

стреси впливають на ЦНС, що у відповідь посилає нервові імпульси в гіпоталамус, що виробляє кортиколіберин (кортикотропін-релизинг-гормон-КРГ). КРГ впливає на гіпофіз, що виділяє АКТГ, під впливом якого в корковому шарі наднирників синтезуються глюкокортикоїди і мінералокортикоїди. Гормональну дію здійснюють вільні гормони. Механізм дії глюкокортикоїдів – цитозольний.

Клітини-мішені для глюкокортикоїдів – печінка, м'язи, лімфоїдна тканина, з'єднувальна тканина, жирова тканина, клітини ЦНС.

На добу в середньому синтезується 10-20 мг глюкокортикоїдів; вміст в крові вдень – 0,28-0,41 мкмоль/л, вночі – 0,55-2,2 мкмоль/л.

Біологічна дія глюкокортикоїдів

I. Вплив на обмін вуглеводів

Глюкокортикоїди активують фермент фосфатазу, результатом є процеси, що протікають у печінці і скелетних м'язах:

У печінці глюкокортикоїди:

1. Активують біосинтез глікогену та підсилюють процес дефосфорилювання.
2. Пригнічують розпад глікогену, так як після дефосфорилювання знижується активність глікогенфосфорилази «а».
3. Знижується гліколіз і як наслідок - інтенсивно протікає біосинтез глікогену.

У скелетних м'язах глюкокортикоїди:

Пригнічують біосинтез глікогену, активація глікогенсинтази в м'язах не відбувається (у м'язах відсутня фосфатази).

Активують розпад глікогену до глюкозо-б-фосфату.

Активується гліколіз при розпаді глікогену, у результаті чого в м'язах утворюється більше енергії.

У печінці глюкокортикоїди активують глюконеогенез, так як зростає активність 7 ферментів:

- піруваткарбоксилази,
- фосфоенолпіруваткарбоксикінази,
- триптофанпіролази,
- сериндегідратази,
- треоніндегідратази,
- тирозинамінотрансферази,
- аланінамінотрансферази.

Останні 5 ферментів сприяють утворенню з амінокислот субстратів для глюконеогенезу. Концентрація глюкози в крові зростає. Таким чином, глюкокортикоїди на печінку чинять анаболітичний вплив, на скелетні м'язи, жирому, сполучну і лімфоїдну тканини – катаболічну дію.

II. Вплив на обмін білків

1. У скелетних м'язах лімфоїдній і сполучній тканинах глюкокортикоїди інгібують біосинтез білків, підсилюють протеоліз білків і вихід амінокислот у кров.

2. У сполучній і кістковій тканинах глюкокортикоїди гальмують біосинтез колагену і фібропектину, що є причиною зморщування шкіри (поява зморшок) і однією з причин посилення резорбції кістки – остеопорозу.

3. Зниження біосинтезу γ -глобулінів в імунокомпетентних клітинах приводить до зниження імунитету в організмі людини.

4. Мають протизапальну дію:

- інактивуючи фосфоліпазу А і знижуючи кількість одного з медіаторів запалення – простагландинів;
- знижують фагоцитоз, зменшуючи біосинтез лімфоцитів, моноцитів;
- знижують накопичення лейкоцитів у місцях запалення.
- знижуючи біосинтез колагену і фібропектину.
- мають антиалергічну дію.

III. Вплив на обмін ліпідів

У м'язовій, лімфатичній, сполучній і жировій тканинах глюкокортикоїди виявляють катаболічну дію та викликають зниження проникливості клітинних мембран і відповідно гальмування поглинання глюкози й амінокислот, а в печінці – протилежну дію. У жирових клітинах внаслідок зниження надходження і розпаду глюкози відсутній α -гліцерофосфат, необхідний для біосинтезу ТАГ, тому:

- біосинтез ТАГ у жирових депо знижений;
- концентрація ВЖК у крові збільшується;
- активується розпад ВЖК у процесі β -окислення;
- збільшується біосинтез кетонових тіл у печінці і вихід їх в кров;
- у кінцівках тварини активується ліполіз ТАГ (розпад ТАГ);

Патологія виділення глюкокортикоїдів

I. Надлишок – гіперкортицизм – приводить до захворювання – хвороба Іценко – Кушинга. Основні ознаки: гіперглікемія, посилений глюконеогенез, зниження імунитету, остеопороз, атрофія шкіри.

II. Зниження біосинтезу глюкокортикоїдів – гіпокортицизм – хвороба Аддісона. Основні ознаки: гіпоглікемія, схуднення, гіперпігментація шкіри, гіпотонія, м'язова слабкість.

Термін дії глюкокортикоїдів – 70 – 90 хв. Катаболізм глюкокортикоїдів відбувається в печінці до 17- кетостероїдів, що потім вступають у реакції кон'югації з ФАФС чи з УДФ ГК, утворюючи парні сірчані та глюкуронові кислоти, що виділяються нирками та з сечею.

Гормони статевих залоз

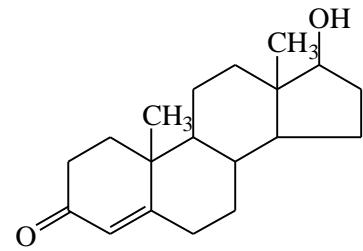
Механізм їхньої дії на організм тварини

Статеві залози – залози зі змішаною секрецією: у кров виділяють статеві гормони, назовні – статеві клітини – гамети. Статеві гормони – це стероїдні гормони, у процесі біосинтезу яких є основний попередник – холестерин (C_{27}), прогестаген

(C₂₁); всі стероїдні гормони синтезуються за допомогою тих самих ферментів, по єдиному шляху.

Чоловічі статеві гормони.

Біосинтез чоловічих статевих гормонів протікає в сім'яниках. Регуляція біосинтезу: гіпоталамус секретує гонадоліберин (декапептид), що впливає на гіпофіз і у відповідь на це виділяється 2 гормони: що стимулюють фолікули (фолітропін – ФСГ) і лютеїнізуючий (лютропін – ЛГ). ФСГ, впливаючи на сім'яники, сприяє сперматогенезу і дозріванню сперматозоїдів. ЛГ, впливаючи на клітини Лейдига сім'яників, стимулює біосинтез андрогенів, в основному тестостерону. У передміхуровій залозі тестостерон під впливом ферменту C₁₉-стероїд- α -редуктази відновлюється в дигідротестостерон, що володіє більшою гормональною активністю. Андрогени за механізмом зворотного зв'язку впливають на біосинтез гонадоліберинів у гіпоталамусі.



тестостерон

Метаболітом біосинтезу тестостерону є жіночий статевий гормон прогестерон, що утворився з прогестагенів. У перетворенні прогестерону (C₂₁) у тестостерон (C₁₉) беруть участь ферменти: C₁₇₋₁₉-ліаза і 17-гідроксилаза. У крові андрогени знаходяться у зв'язаному стані з глобуліном.

Вплив андрогенів на чоловічий організм. Андрогени беруть участь у:

- статевому диференціюванню;
- сперматогенезі;
- розвитку вторинних статевих ознак;
- характерному поведженню;
- рості скелетно-м'язової системи.

Вплив андрогенів на метаболізм:

Забезпечують індукцію ферментів: тканинного дихання; ферментів синтезу ядерних ДНК (реплікації); ферментів процесу транскрипції; індукцію ферментів біосинтезу білка – трансляції (осо бливо важливо: білків-рецепторів для ЛНГ, тироксинзв'язуючого глобуліну, білків м'язів та ін.); ферментів розпаду ліпідів у тканинах (ліполіз).

Жіночі статеві гормони

Жіночі статеві гормони – **естрогени**, синтезуються у фолікулах яєчників; впливають на організм жінки з 15-го по 28-й день оваріального циклу (а якщо наступила вагітність, то майже до початку пологів), називаються **прогестинами** (прогестерон) і синтезуються в жовтому тілі, що утворюється на місці дозрілої фолікули яєчника.

Регуляція біосинтезу жіночих статевих гормонів: гіпоталамус виділяє гонадоліберин, що впливає на гіпофіз, виділяє 2 гормони – ФСГ і ЛГ.

Під впливом ФСГ з 1-го дня оваріального (менструального) циклу у фолікулі (або фолікулах) яєчника жінки починає дозрівати яйцеклітина, що знаходиться в Граафовому міхурці. При цьому фолікула яєчника, що дозріває, виділяє в кров гормони – естрогени, в основному естрадіол (C₁₈).

При визначеній концентрації ФСГ, ЛГ і естрогенів у результаті їх спільного гормонального впливу, відбувається розрив дозрілої фолікули і вихід зрілої яйце-клітини (овуляція). На місці фолікули, що розірвалася спочатку утворюється кров'яний згусток, у який відкладаються ліпіди, і виникає нова ендокринна залоза – жовте тіло.

Жовте тіло під впливом ЛГ розростається і продукує жіночий статевий гормон – **прогестерон** (C₂₁), що впливає на організм жінки, при вагітності, жовте тіло розростається, укриваючи майже весь яєчник, і виділення прогестерону ним продовжується майже аж до пологів.

Біосинтез прогестерону відбувається із прогестагенів (C₂₁) під впливом ЛГ і двох ферментів: ізомерази і 3-гідроксистероїддегідрогенази. Із прогестерону синтезується тестостерон (C₁₉), а з тестостерону під впливом ФСГ і ферментів C₁₀₋₁₉-ліази синтезується естрадіол.

Вплив жіночих статевих гормонів на організм жінки

Жіночі статеві гормони беруть участь у:

- статевому диференціюванню;
- розвитку вторинних статевих ознак;
- характерній поведінці жінки;
- овуляції;
- рості і розвитку хрящів;
- забезпечують репродуктивну функцію.

Вплив на метаболізм:

Індукують: біосинтез ферментів гліколізу; біосинтез ферментів пентозофосфатного шляху розпаду глюкози; біосинтез ферментів трансляції (біосинтезу білків) (особливо білків-рецепторів для ЛНГ, білків, що зв'язують гормони в крові); індукують ферменти біосинтезу ліпідів у тканинах (ліпогенез); активація анаболічних процесів.

Вплив естрогенів на організм жінки:

- обумовлюють фазу проліферації в ендометрії матки;
- підтримують температуру тіла 36,4 -36,5°C;
- підвищують збудливість та скорочення міометрії;
- при визначеній концентрації стимулюють секрецію лютропіну гіпофізом;
- при визначеній концентрації ФСГ, ЛГ і естрогенів впливають на овуляцію.

Вплив прогестерону на організм жінки:

- обумовлює фазу секреції в ендометрії;
- підтримує температуру тіла 36,8 -36,9°C;
- гальмує дозрівання яйце-клітини у фолікулах;
- гальмує овуляцію;
- гальмує дозрівання нового фолікула і виділення естрогенів;
- знижує скоротливість і збудливість міометрія;
- створює умови для імплантації заплідненої яйце-клітини;

- стимулює розвиток молочної залози.

10.4 Якісні реакції на деякі гормони

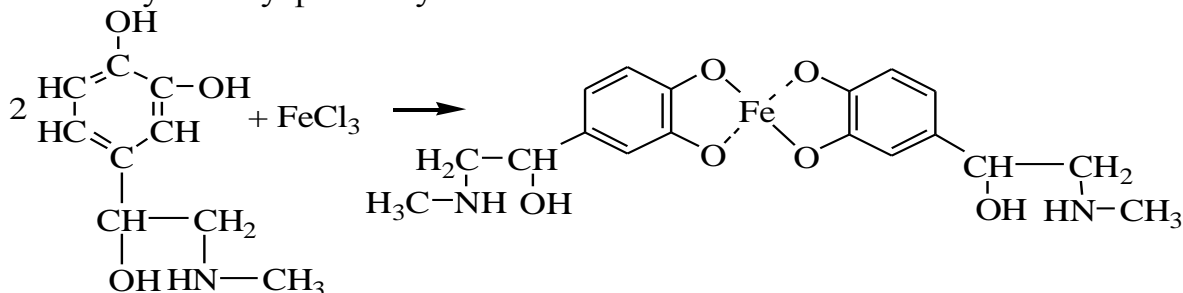
Якісні реакції на гормони щитовидної залози

Принцип методу. Гормони щитовидної залози є йодовмісними сполуками. Внаслідок руйнування утворюється йодистий калій, який окислюється KIO_3 у кислому середовищі з виділенням молекулярного йоду. Під час взаємодії з крохмалем виникає синє забарвлення:



Якісні реакції на гормони мозкового шару надниркових залоз (адреналін, норадреналін)

Принцип реакції. Внаслідок додавання до розчину адреналіну хлориду заліза (III) рідина забарвлюється в смарагдово-зелений колір за рахунок утворення комплексної сполуки типу феноляту заліза:



Адреналін має слабколужну реакцію й легко окислюється на повітрі з утворенням адренохрому, що супроводжується забарвленням розчину в червоний колір.

Якісні реакції на гормон підшлункової залози (інсулін)

Принцип реакції. Інсулін вступає в реакції, специфічні для білків: біуретову, Геллера, Фоля, Міллона. Ці реакції свідчать, що інсулін має білкову природу. Для якісних реакцій використовують розчин інсуліну в ампулах.



Рис. 10.4.2 Роль інсуліну в захопленні та метаболізмі глюкози.

Зв'язування рецептора з інсуліном (1) запускає активацію великої кількості білків (2). Наприклад: перенос Glut-4-переносника на плазматичну мембрану і надходження глюкози всередину клітини (3), синтез глікогену (4), гліколіз(5), синтез жирних кислот (6).

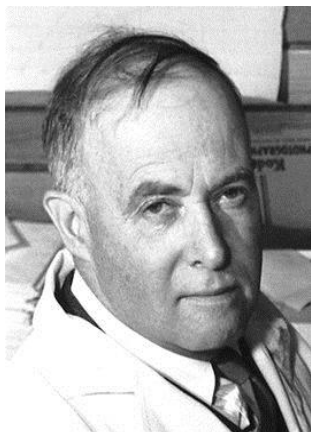
ТЕМА 11. ФЕРМЕНТИ

11.1 Загальні властивості ферментів

Білкову природу ферментів безперечно довів Джеймс Самнер (1926), який отримав кристалічні препарати ферменту уреазу, за що й був нагороджений Нобелівською премією.

Хімічні процеси в організмі каталізуються особливими речовинами (біокатализаторами), що називаються **ферментами**, або ензимами. На тепер встановлено, що немає жодного процесу в організмі, який би відбувався без участі ферментів. Травлення, енергозабезпечення, побудова структурних компонентів клітин і тканин, ріст, розмноження, м'язове скорочення, згортання крові пов'язані з роботою ферментів.

Ферментативні процеси людина використовувала ще в глибокій давнині. Протягом тисячоліть люди випікали хліб, виготовляли сир, вина, чай, барвники, дубили шкіри. Але застосовування тут ферментативних технологій мало суто емпіричний



Джеймс Самнер

характер. Термін «фермент» вперше був запропонований голландським ученим XVII ст. **Ван-Гельмонтом** для речовин, що стимулюють перетворення виноградного соку у вино. При цьому відбувається виділення бульбашок газу, що нагадує кипіння (з лат. fermentatio – кипіння, бродіння). Цей процес назвали ферментацією, а речовини, що його викликають – ферментами. Деяко пізніше був запропонований ще один термін – **ензими** (від грец. en zyme – в дріжджах).

Зараз обидва ці терміни вживаються як синоніми. Вчення про ферменти виділилось у самостійну науку – ензимологію або ферментологію. Зараз нараховується понад 2500 ферментів, встановлена їх природа, для деяких і структура, а для багатьох – існування різних молекулярних форм – ізоферментів. Усі ферменти мають свої особливості функціонування, але можна виділити **загальні властивості** для всіх них:

- каталізують лише енергетично можливі реакції;
- прискорюють як пряму, так і зворотну реакцію, але не зміщують напрямку хімічної рівноваги;
- у ході реакції не змінюються та не входять до складу кінцевого продукту;

- мають високу специфічність дії (здатність каталізувати перетворення однієї або групи подібних молекул); значно більш ефективні, ніж звичайні небіологічні каталізатори – кожна молекула ферменту може виконувати від декількох тисяч до мільйонів «операцій» за секунду та прискорювати реакції у мільйони і мільярди разів;
- діють у відносно м'яких умовах (фізіологічних значеннях рН, температури, нормальному атмосферному тиску);
- вони є каталізаторами, активність яких може бути регульована, тобто збільшена або зменшена.

Більшість ферментів має високу **субстратну специфічність**, яка може бути абсолютною, відносною і стереохімічною. Субстратна специфічність означає здатність каталізувати перетворення тільки одного або декількох близьких за структурою речовин. Специфічність визначається будовою активного центру, що зв'язує субстрат. Тому фермент з усіх наявних у клітині речовин вибирає і приєднує лише свій субстрат. Для ферментів характерна специфічність не тільки по відношенню до субстрату, але й відносно шляху перетворення субстрату, **тобто сувора вибірковість і спрямованість дії**.

Термолабільність ферментів

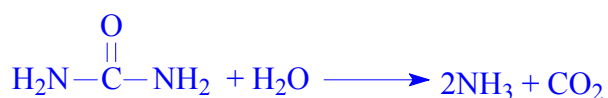
Зі збільшенням температури біохімічної реакції росте число зіткнень молекул, що приводить до збільшення швидкості реакції. Голландський вчений Я. Г. Вант-Гофф на підставі численних спостережень встановив, що при підвищенні температури на 10° С швидкість гомогенної реакції збільшується в 2 – 4 рази. Число, що показує, у скільки разів збільшується швидкість реакції при збільшенні температури на 10° С, називається температурним коефіцієнтом (γ).

Специфічність дії ферментів.

Кожний фермент діє на певний субстрат або групу речовин, схожих за своєю будовою. Специфічність дії ферментів пояснюється подібністю просторових конфігурацій активного центру ферменту і субстрату, їх хімічною спорідненістю, що призводить до утворення фермент-субстратного комплексу і здійснення каталітичного процесу. Без специфічності ферментів був би неможливий впорядкований ланцюг реакцій обміну речовин.

Розрізняють **індивідуальну** (абсолютну і стереохімічну) і **групову** (абсолютну і відносну) специфічність ферментів. Ферменти, які каталізують лише одну реакцію і діють на один точно визначений субстрат, мають **абсолютну індивідуальну специфічність**.

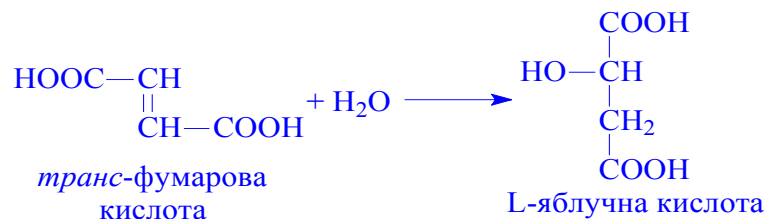
Абсолютною специфічністю володіє уреаза, яка розщеплює сечовину на аміак і вуглекислий газ:



Довгий час вважали, що сечовина є єдиним субстратом уреазы. Однак зовсім недавно було доведено, що кристалічна уреаза може діяти також на окремі сполу-

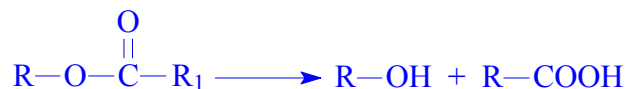
ки – похідні сечовини, зокрема на оксисечовину.

Стереохімічна абсолютна специфічність ферментів проявляється тоді, коли вони діють на оптично активні сполуки, або сполуки, для яких характерна цис- і транс-ізомерія. Прикладом стереохімічної специфічності є фумаратгідратаза. Вона каталізує приєднання води до фумарової кислоти, але не впливає на *цис*-ізомер – малеїнову кислоту:



Так, більшість ферментів ссавців каталізує перетворення тільки L- ізомерів амінокислот, але не D-ізомерів. Ферменти, що беруть участь в обміні моносахаридів, навпаки, каталізують перетворення тільки D-, але не L- фосфосахарів. Глікозидази специфічні не лише до моносахаридного фрагменту, а й характеру глікозидного зв'язку.

Групова абсолютна специфічність характерна для ферментів, які діють на різні субстрати, що мають однаковий тип зв'язку. Прикладом абсолютної групової специфічності може бути дія пепсину на різні білки (прості і складні) тваринного, рослинного і мікробного походження. До ферментів з груповою специфічністю належать також естерази, які каталізують гідролітичне розщеплення зв'язку складно-ефірного типу:



Відносну групову специфічність проявляють лужна і кисла фосфатази, які каталізують гідроліз моноефірів ортофосфорної кислоти. Зустрічається подвійна специфічність, наприклад, ксантинооксидаза, яка специфічно окислює пуринові основи і неспецифічно – альдегіди. Іноді подвійна специфічність позначається на механізмі реакції між субстратом і ферментом. Так, ізоцитратдегідрогеназа залежно від умов викликає або декарбоксілювання, або окислення ізоцитрата.

Активатори і інгібітори ферментів.

На активність ферментів впливає багато речовин. Деякі з них підвищують активність ферментів, інші – гальмують. Перші речовини називають **активаторами**, другі – **інгібіторами**, або паралізаторами. Нерідко одні і ті ж речовини для одних ферментів можуть бути активаторами, для інших – інгібіторами. Так, соляна кислота є активатором для пепсину і інгібітором для амілази слини. Активність ферменту зменшується у міру збільшення концентрації продуктів, що утворюються в результаті хімічних реакцій та каталізуються даним ферментом.

Розрізняють **специфічні і неспецифічні активатори і інгібітори**. Прикладом специфічного активатора для пепсину є соляна кислота, для трипсину – ентеропептидаза. Під їх впливом від молекули попередника (пепсиногена і трипсиногена) ві-

дщеплюється пептид, відкривається активний центр і формується молекула ферменту. Пептиди, що відщепилися, можна розглядати як специфічні інгібітори. До типових специфічних активаторів слід віднести жовчні кислоти, що активують ліпазу. Типовими специфічними інгібіторами є антиферменти – антипепсин, антитрипсин та ін. Багато лікарських речовин відносяться до специфічних інгібіторів, оскільки вони, з'єднуючись з ферментами мікроорганізмів, блокують їх (білий стрептоцид і ферменти стрептокока).

До *неспецифічних активаторів* відносяться різні неорганічні катіони), рідше – аніони: Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Cl^- та ін. Вплив катіонів на ферменти більш специфічний, ніж аніонів. Деякі іони для одних ферментів є активаторами, для інших – інгібіторами (наприклад, Ca^{2+} – активатор для лужної фосфатази і інгібітор для гліцил-лейцин-дипептидази). В активації або гальмуванні ферменту може брати участь один або декілька видів іонів.

До *неспецифічних інгібіторів* відносяться ферментні отрути (HCN , KCN , NaCN), іони важких металів, алкалоїдні реактиви, азиди, флуориди, сульфіді та ін. Інгібітори взаємодіють з активними центрами молекули ферменту, інактивуючи функціональні групи білків. Вони можуть взаємодіяти з металами, що входять до складу молекул ферментів і фермент-субстратних комплексів. Високі концентрації інгібіторів руйнують четвертну і третинну структуру молекули ферменту, викликаючи його денатурацію.

Розрізняють *оборотне і необоротне гальмування*. Прикладом оборотного гальмування є дія антиферменту на фермент. Так, антипепсин, який інактивує, пепсин, в порожнині шлунку під впливом соляної кислоти стає неактивним, оскільки комплекс фермент-інгібітор в цих умовах дисоціює. Прикладом необоротного гальмування є дія ізопропіл-фторфосфату на ацетилхолінестеразу.

Активність ферментів регулюється в процесі їх біосинтезу (у тому числі завдяки утворенню *ізоферментів*, які каталізують ідентичні реакції, але відрізняються будовою і каталітичними властивостями), а також умовами середовища (рН, температура, іонна сила розчину) і численними інгібіторами і активаторами, присутніми в організмі. Інгібіторами і активаторами можуть служити самі субстрати (в певних концентраціях), продукти реакції, а також кінцеві продукти в ланцюзі послідовних перетворень речовини.

Каталітична активність ферменту – це здатність ферменту *перетворювати* визначену кількість молекул субстрату, тоді як сам ензим до кінця реакції залишається незмінним. Ферменти розрізняються по своїй каталітичній здатності.

Міжнародна одиниця активності (E) — це кількість ферменту, яка каталізує перетворення 1 мкмоль субстрату за 1 хвилину в оптимальних умовах.

Одиниця активності в системі СІ - катал – відповідає кількості ферменту, яка каталізує перетворення 1 моля субстрату в 1 секунду.

Співвідношення між одиницями активності: **1 E = 16,67 нанокатал ; 1 катал = 6×10^7 E.**

Питома активність ферменту— це активність ферменту, виражена в одиницях активності на 1 мг (або 1 г) *білка або 1 мг (1г) препарату ферменту*. Використовується в біохімічній практиці.

11.2 Кінетика ферментативних реакцій

Кожна хімічна реакція протікає з певною швидкістю. Біологічне призначення ферментів полягає в направленому підвищенні швидкості хімічних реакцій.

Ферментативна кінетика – розділ хімічної кінетики, що вивчає залежність швидкостей ферментативних реакцій від хімічної природи реагуючих речовин (субстратів, ферментів) і умов їх взаємодії (концентрації компонентів, рН, складу середовища, температури, дії активаторів або інгібіторів та ін.).

Розрізняють декілька типів ферментативних реакцій: необоротні реакції з одним субстратом, оборотні реакції з одним субстратом, необоротні реакції з двома субстратами і т.д. Найбільш поширені необоротні реакції з одним субстратом.

Згідно теорії ферментативного каталізу (Л. Міхаеліс і М. Ментен; Дж. Бріггс і Дж. Холдейн), фермент E спочатку реагує з субстратом S , що призводить до утворення фермент-субстратного комплексу ES (в багатьох реакціях – двох і більше комплексів, що виникають в певній послідовності). Фермент-субстратний комплекс характеризується константою швидкості реакції його утворення k_{+1} і константою швидкості реакції розпаду k_{-1} :



Для характеристики утворення фермент-субстратного комплексу була прийнята субстратна константа, або константа дисоціації K_s , яка рівна:

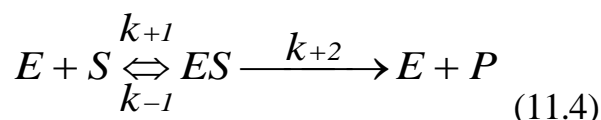
$$K_s = \frac{k_{+1}}{k_{-1}} = \frac{[E] \times [S]}{[ES]} \quad (11.2)$$

Величина субстратної константи залежить від природи субстрату і ферменту. При однакових початкових концентраціях ферменту і субстрату концентрація комплексу $[ES]$ буде тим більша, чим менша величина K_s :

$$[ES] = \frac{[E] \times [S]}{K_s} \quad (11.3)$$

Субстратна константа визначає ступінь спорідненості ферменту і субстрату. Так, для інвертази, яка здійснює гідролітичне розщеплення сахарози до глюкози і фруктози, $K_s=0,0167$. Тут концентрація фермент-субстратного комплексу перевищує концентрацію вільних ферменту і субстрата приблизно в 60 разів.

У другій фазі ферментативного каталізу фермент-субстратний комплекс розпадається на фермент E і продукт реакції P . Обидві фази ферментативного каталізу з'єднано в систему, типову для необоротних реакцій з одним субстратом:



В системі k_{+2} означає константу швидкості розпаду фермент-субстратного комплексу на фермент E і продукт реакції P .

Для повної характеристики ферментативного процесу використовується константа Міхаеліса K_m . Вона виражає відношення констант трьох реакцій, показаних в системі:

$$K_m = \frac{k_{+1} + k_{+2}}{k_{-1}} \quad (11.5)$$

Числовий вираз K_m завжди дещо більше, ніж K_s . Так, значення K_s для фермент-субстратного комплексу сахароза – сахароза рівно 0,0167, а величина K_m – 0,0280 моль/л. K_m для різних ферментів неоднакова.

Швидкість хімічної реакції, що каталізується ферментом, вимірюється кількістю молей субстрата, які перетворюються за одиницю часу. Так, швидкість ферментативної реакції, що протікає за оптимальних умов (повне насичення ферменту субстратом, температура 25°C або 37°C, рН), позначається символом V і називається максимальною, або початковою, швидкістю. Вона визначається константою швидкості розпаду фермент-субстратного комплексу і концентрацією ферменту: $V = k_{+2} \times [E]$

При незначній концентрації субстрату швидкість ферментативної реакції лінійно залежить від $[S]$, а при дуже високій концентрації субстрату вона прагне максимальної швидкості V_{max} вже не змінюється із збільшенням $[S]$. Рівняння також показує, що при збереженні рівня $[S] > [E]$ швидкість реакції пропорційна концентрації ферменту E .

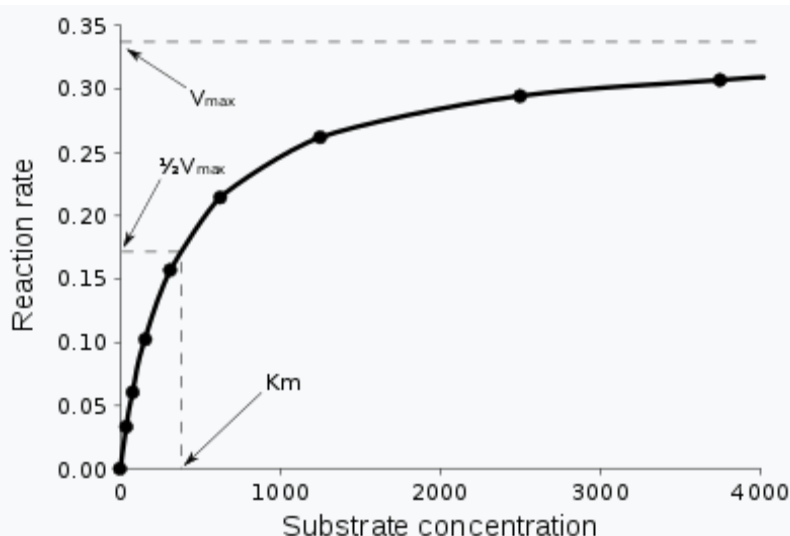


Рис.11.1 Крива насичення хімічної реакції (рівняння Міхаеліса- Ментен), що ілюструє співвідношення між концентрацією субстрату $[S]$ і швидкістю реакції V .

За правилом Вант-Гоффа при кожному підвищенні температури на 10 °C шви-

дкість ферментативних реакцій зростає у 1,5–3 рази, однак ця закономірність працює лише до досягнення температурного оптимуму, притаманного тому чи іншому ферменту (у більшості ензимів він досить низький). Після того, як температура перевищить температурний оптимум, швидкість ферментативної реакції зростає непропорційно або взагалі зменшується внаслідок зміни природної структури білка.

11.3 Будова ферментів

За хімічною природою **ферменти** – це білки, що проявляють каталітичні властивості, тобто вони прискорюють перебіг різних хімічних процесів, які відбуваються в живому організмі. Ферментам притаманні всі фізико-хімічні властивості білків: висока молекулярна маса, розщеплення до амінокислот під час гідролізу, утворення колоїдоподібних розчинів; вони не стійкі до впливу високих температур та солей важких металів, проявляють антигенні властивості, піддаються фракціонуванню.

Нативні властивості і функції ферментів визначаються наявністю певної просторової структури (конформації) їх поліпептидного ланцюга. Зміна цієї структури в результаті теплової денатурації призводить до втрати каталітичних властивостей.

Наявність у ферментів високої молекулярної маси обумовлює їх нездатність до діалізу, а присутність в молекулах заряджених функціональних груп – рухливість в електричному полі (електрофорез). Як і інші білки, ферменти утворюють колоїдні розчини, з яких можуть бути осаджені ацетоном, спиртом, сульфатом амонію – речовинами, що сприяють руйнуванню гідратної оболонки і нейтралізації електричного заряду. Доказами білкової природи ферментів також є:

- чутливість до рН, t , факторам денатурації та ін;
- при парентеральному введенні утворюють антитіла;
- гідроліз ферментів дає вільні амінокислоти, що входять до складу білків;
- штучний синтез ферментів.

Для реакцій ферментативного каталізу характерні:

- висока ефективність
- суворі вибірковість і спрямованість дії
- субстратна специфічність
- тонка і точна регуляція.

Усі ферменти є білками, але не всі білки є ферментами. Як і інші протеїни ензими складаються з амінокислот. І що цікаво, на створення кожного ферменту відста до мільйону амінокислот, нанизаних, немов перли на нитку. Але ця нитка не буває рівною, зазвичай вона зігнута в сотні разів. Таким чином, створюється тривимірна унікальна для кожного ферменту структура (**Рис.11.3.1**). Між тим, молекула ензиму – велике утворення і лише невелика частина його структури, так званий **активний центр**, бере участь у біохімічних реакціях.

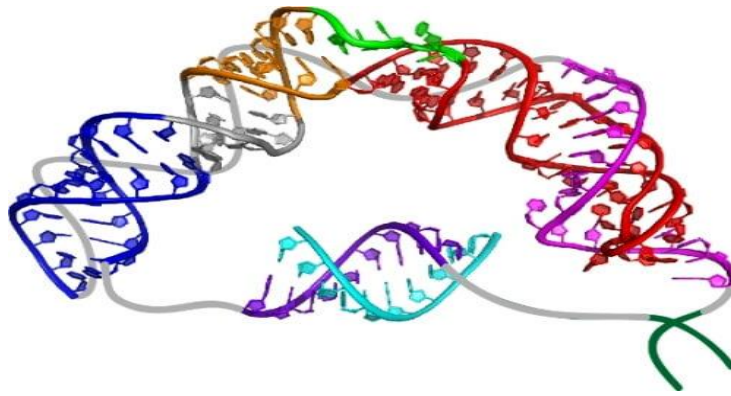


Рис.11.3.1 Тривимірна структура ферменту.

Як і білки, ферменти поділяються на прості й складні.

Прості, або **однокомпонентні**, ферменти містять у своєму складі тільки амінокислоти. Наприклад, пепсин, уреаза, РНКаза та інші. Більшість ферментів є **двокомпонентними**, тобто складаються з білкової і небілкової (простетичної) частин. Їх називають ще **голоферментами**, а їх складові, відповідно, **апоферментами** (білкова частина) і **простетичною групою**, або **коферментом** (небілкова частина ферменту).

Холофермент \Rightarrow **апофермент** + **кофермент**, або **простетична група**

Простетична група міцно і постійно зв'язана з апоферментом. Якщо небілкова частина ферменту зв'язана з апоферментом непостійно, тобто знаходиться в дисоційованому стані й приєднується до апоферменту тільки під час каталітичного процесу, то її називають коферментом, іноді – кофактором

Усе ж термін **кофактор** більше вживається в тих випадках, коли небілкова частина ферменту представлена якимось мікроелементом (металом), якому притаманна ще й функція активатора. Загалом, небілкова частина складного ферменту – низькомолекулярна і термостабільна, тоді як білкова – високомолекулярна і термолабільна. Важливо, що апофермент і кофермент проявляють ферментативні властивості тільки при їх поєднанні.

Апофермент у складному ферменті вказує на тип перетворень, відповідає за так звану специфічність дії ферменту. Небілкова частина голоферменту сприяє зв'язуванню ферменту з речовиною, на яку він діє (субстратом), здійснює передачу електронів, атомів, іонів з однієї речовини в іншу. Важливо, що одна і та ж небілкова речовина в одних ферментах може бути зв'язана з білковою міцно (як простетична), а в інших – слабо, і то лише під час реакції (кофермент). Наприклад, ФАД легко відщеплюється від білкової частини оксидази D-амінокислот, а з ферментами тканинного дихання він утворює міцний зв'язок.

11.4 Класифікація та номенклатура ферментів.

В основу класифікації покладено найважливіша ознака, за якою один фермент відрізняється від іншого це реакція, яку він каталізує. Число типів хімічних реакцій порівняно невелико, що дозволило розділити всі відомі в даний час ферменти на 6 найважливіших класів, залежно від типу реакції, що каталізуються. Такими класами є:

- Оксидоредуктази, каталізують окислювально-відновні реакції.
- Трансферази- перенесення функціональних груп.
- Гідролази – реакції розщеплення за участю води.
- Ліази – розрив зв'язків без участі води, з утворенням подвійних зв'язків.
- Ізомерази –аталізують реакції ізомеризації.
- Лігази – синтез з витратою молекул АТФ.

Ферменти кожного класу ділять на підкласи, керуючись будовою субстратів. У підкласи об'єднують ферменти, що діють на схоже побудовані субстрати. Підкласи розбивають на підпідкласи, в яких ще суворіше уточнюють структуру хімічних груп, що відрізняють субстрати один від одного. Усередині підпідкласів перераховують індивідуальні ферменти. Усі підрозділи класифікації мають свої номери. Таким чином, будь який фермент отримує *свій унікальний кодовий номер*, що складається з чотирьох чисел, розділених крапками. Перше число позначає клас, друге – підклас, третє – підпідклас, четверте – номер ферменту в межах підпідкласу. Наприклад, фермент α -амілаза, що розщеплює крохмаль, позначається як 3.2.1.1, де:

- 3 - тип реакції (гідроліз) ;
- 2 - тип зв'язку в субстраті (глікозидний) ;
- 1 - різновид зв'язку (О- глікозидний) ;
- 1 - номер ферменту в підпідкласі.

Поняття про систематичну і робочу назви ферментів, їх використання.

Згідно з рекомендаціями міжнародного союзу номенклатури і класифікації, ферменти отримують два виду назв: систематичну і робочу.

Систематична назва складається з двох частин. Перша частина містить назву субстрату або субстратів, часто найменування коферменту, друга частина вказує на природу реакції, що каталізуються, і включає назву класу, до якого належить даний фермент.

При необхідності наводиться додаткова інформація про реакцію в дужках після другої частини назви. Систематична назва надається тільки тим ферментам, каталітична дія яких повністю вивчена.

Наприклад, систематичне назва α -амілази – 1,4- α -D-глюкан- глюканогідролаза. Тому поряд з систематичною існує робоча (спрощена) назва ферментів.

Робоча назва ферменту має бути достатньо короткою для вживання. Як робочі назви в ряді випадків може бути використано тривіальна назва, якщо вона не є помилковою або двозначною. В інших випадках вона будується на тих же загальних принципах, що і систематичне назва, але з мінімальною деталізацією.

Приклад: основні правила побудови систематичних і робочих назв різних класів ферментів:

Оксидоредуктази. Назва ферментів цього класу будується за схемою донор: акцептор-оксидоредуктаза. Згідно тривіальної номенклатури, оксидоредуктази, відщеплюють атоми водню або електрони і переносять їх на будь який акцептор, крім кисню, називаються дегідрогеназами.

Оксидоредуктази, що використовують кисень як акцептор атомів водню або електронів, називаються оксидазами. Деякі ферменти, яким властива переважно відновлююча дія, носять назву редуктаз.



Харчові ферменти

Ферменти, присутні в людському організмі, можна розділити на 2 групи: метаболічні; травні.

Метаболічні - здійснюють нейтралізацію токсичних речовин, а також сприяють виробленню енергії і білків та прискорюють біохімічні процеси в організмі. За що відповідають травні - зрозуміло з назви. Але і тут спрацьовує принцип селективності: певний тип ферментів впливає тільки на один вид їжі.

Харчові ферменти - каталізатори, які розщеплюють продукти харчування до стану, при якому організм здатний поглинати з них корисні речовини. Травні ензими бувають декількох типів. У людському організмі різні види ферментів містяться у різних відділах травного тракту. Так, фермент альфа-амілаза розщеплює вуглеводи – крохмаль, глікоген, що містяться у картоплі, фруктах, овочах, печінці та інших продуктах харчування. Пепсин, трипсин, хімотрипсин расщеплює білки до стану пептидів та амінокислот, а желатиназа – желатин и колаген і т.д.

Підшлункова залоза

На цьому етапі працюють:

- трипсин – відповідає за расщеплення білків;
- альфа-хімотрипсин –сприяє засвоєнню протеїнів;
- еластаза – розщеплює деякі види білків;
- амілаза – відповідає за засвоєння крохмалю;
- ліпаза – розщеплює жири (ліпіди), що містяться в молокопродуктах, оріхах, маслі ім»ясі.

Тонкий кишківник

Харчові частинки розщеплюють:

- пептидази - розщеплюють пептидні сполуки до амінокислот;
- сахараза – каталізує розщеплення сахарози до моноцукрів -фруктози і глюкози;
- мальтаза - дисахариди до стану моносахаридів (солодовий цукор);
- лактаза - розщеплює лактозу (глюкозу, що міститься в молочних продуктах);
- ліпаза - сприяє засвоєнню тригліцеридів, жирних кислот.

Товстий кишківник

Тут функції ферментів виконують: кишкова паличка та лактобактерії.

Крім названих ензимів, існують ще:

- діастаза - перетравлює рослинний крохмаль;
- інвертаза - розщеплює сахарозу (столовий цукор);
- глюкоамілаза - перетворює крохмаль в глюкозу;
- альфа-галактозидаза - сприяє перетравленню бобів, насіння, соєвих продуктів, кореневих овочів і листових;
- папаїн - фермент, виділений із сирої папайї, сприяє розщепленню дрібних і великих протеїнів, ефективний в широкому діапазоні субстратів і кислотності;
- целюлаза - розщеплює целюлозу, рослинні волокна (в людському організмі не знайдено);
- ендопротеаза – здійснює каталіз пептидних зв'язків;
- екстракт бичачої жовчі - ензим тваринного походження, стимулює моторику кишечника;
- панкреатин - фермент тваринного походження, прискорює перетравленню жирів і білків; панкреліпаза - тваринний фермент, сприяє засвоєнню білків, вуглеводів і ліпідів; пектиназа - розщеплює полісахариди, що містяться у фруктах;

Ферменти мають велике значення для здоров'я людини та тварини у процесах розщеплення харчових компонентів та їх засвоєння організмом. Значна кількість ензимів, що сприяють травленню, міститься також і в багатьох продуктах.

Ферментовані продукти є практично ідеальним джерелом корисних бактерій, необхідних для правильного травлення. І в той час, коли аптечні пробіотики «працюють» тільки у верхньому відділі травної системи, ефект від ферментативних продуктів впливає на увесь шлунково-кишковий тракт.

Наприклад, абрикоси містять в собі суміш корисних ензимів, в тому числі інвертазу, яка відповідає за розщеплення глюкози і сприяє швидкому вивільненню енергії. Банан, мабуть, найвідоміший джерело калію, поставляє в організм амілазу і мальтазу. Амілаза міститься також у хлібі, картоплі, крупах. Мальтаза сприяє розщепленню мальтози, так званого солодового цукру, який у великій кількості знаходиться у пиві і кукурудзяному сиропі. Інший екзотичний фрукт - ананас містить в собі цілий набір ферментів, в тому числі і *бромелайн*, що володіє протираковими та протизапальними властивостями.

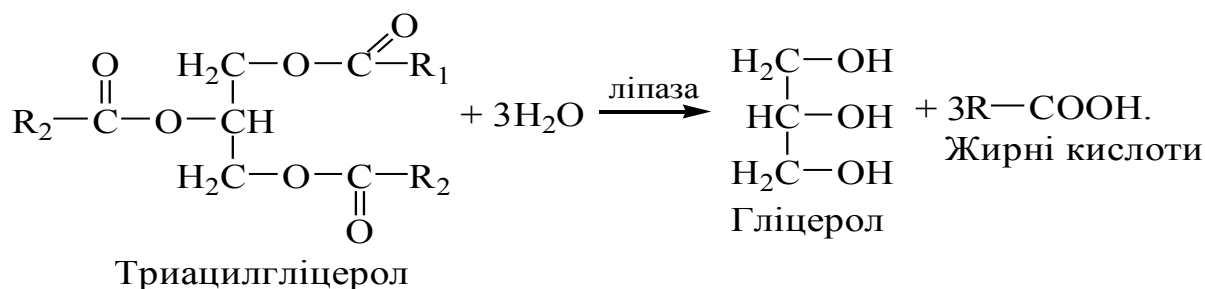
11.5 Каталітична дія деяких ферментів

Дія амілази

Принцип реакції. Амілаза є ферментом, яка здійснює гідролітичний катализ α -глюкозидного зв'язку в α -1-4-крохмалю та глікогену до проміжних продуктів-декстринів. Крохмаль утворює з йодом сполуки синього кольору, амілодекстрин – фіолетового, еритродекстрин – червоно-бурого, ахродекстрин – жовтого.

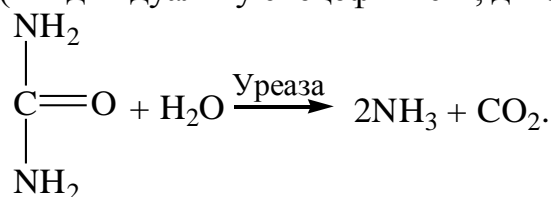
Дія ліпази

Принцип реакції. Ліпаза каталізує гідроліз тригліцеролів на гліцерол та жирні кислоти, кількість яких можна визначити за зміною рН середовища:



Дія уреазы

Принцип реакції. Уреаза прискорює розщеплення сечовини з утворенням CO_2 і NH_3 , зі зміною рН середовища у лужне завдяки утворенню NH_3 і можна зробити висновок про дію уреазы (її індивідуальну специфічність, див. тему «Ферменти»):

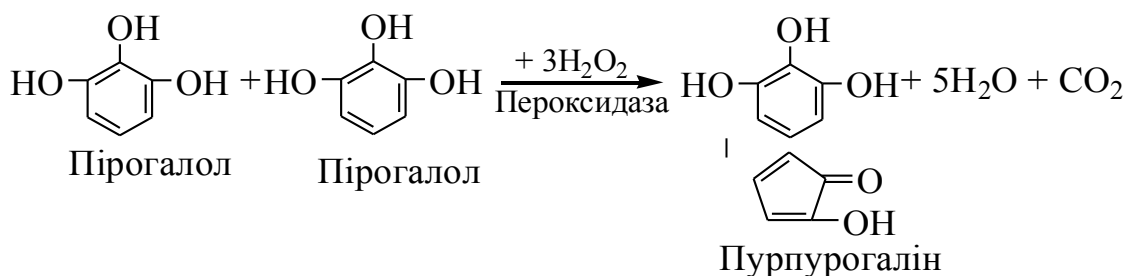


Дія пероксидази

Принцип реакції. Пероксидаза прискорює реакцію окислення органічних речовин під впливом H_2O_2 :



Бензидин під дією пероксидази окислюється з утворенням сполуки оранжевого кольору. За наявності пероксидази (екстракт хрону) пероксид водню окислює пірогалол із утворенням сполуки червоного кольору - пурпурогалін:



Дія сахаразы

Принцип реакції. Сахараза каталізує гідроліз сахарози до глюкози та фруктози:



Моносахариди, які утворюються, визначають реакцією Фелінга. Сахароза не містить вільної альдегідної групи й тому не має відновних властивостей.

Вплив температури на активність амілази слини

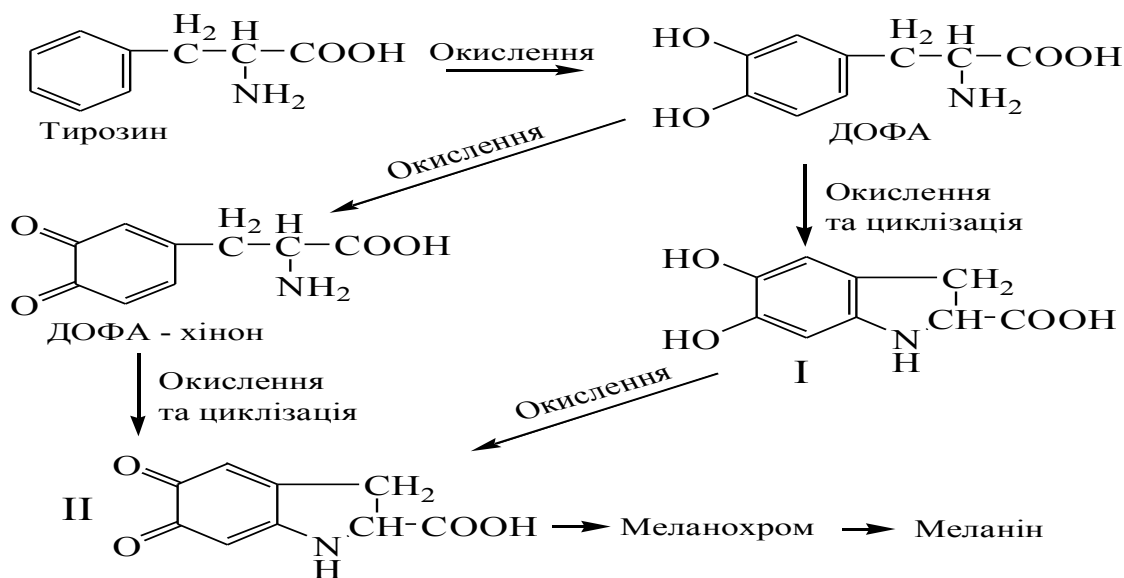
Принцип реакції. Швидкість розщеплення крохмалю під дією амілази залежить від температури й визначається за інтенсивністю забарвлення розчину крохмалю або продуктів його перетворення з йодом.

Вплив температури на активність уреазы

Принцип реакції. За різних значень температури уреазы неоднаково гідролізує сечовину, внаслідок чого утворюється різна кількість NH_3 , що зумовлює різну інтенсивність забарвлення його розчинів за наявності фенолфталеїну.

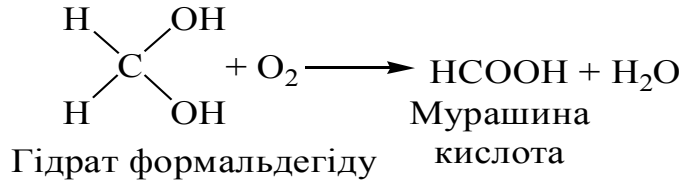
Дія тирозинази

Принцип реакції. Тирозиназа каталізує перетворення тирозину в меланін (пігмент чорного кольору) через забарвлені в червоний колір проміжні продукти – 3,4-діоксифенілаланін (ДОФА), який внаслідок окислення та циклізації перетворюється на 2,3-дигідро-5,6-діокси-р-індолілкарбонову кислоту (I). Сполука (I), окислюючись, перетворюється на 2,3-дигідро-5,6-дикето-р-індолілкарбонову кислоту (II) – пігмент червоного кольору:

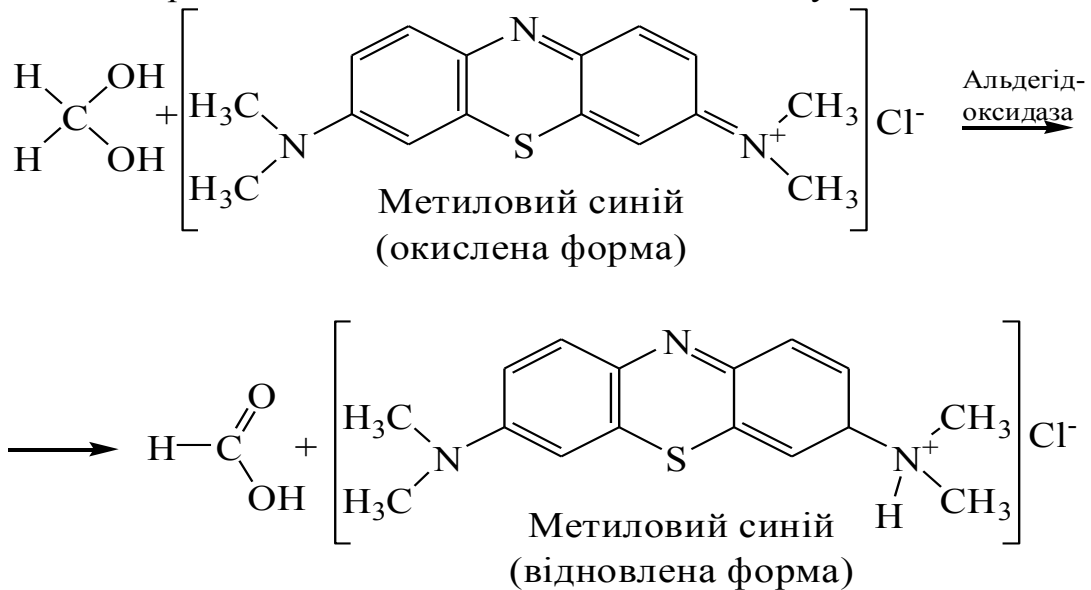


Дія альдегідоксидази

Принцип реакції. Альдегідоксидаза прискорює дегідрування різних аліфатичних і ароматичних альдегідів (ацетальдегіду, формальдегіду, саліцилового альдегіду тощо) В aerobic умовах (за наявності газоподібного кисню) фермент каталізує реакцію дегідрування шляхом перенесення водню на кисень з утворенням пероксиду водню:



За наявності метиленового синього мурашина кислота є акцептором, на який альдегідоксидаза переносить водень із окислюваного альдегіду:



В aerobic умовах дію альдегідоксидази можна виявити за знебарвленням метиленового синього.

11.5.1 Вплив реакції середовища на активність ферментів

Вплив рН на активність амілази

Принцип реакції. За впливом рН на активність амілази визначають зміну інтенсивності забарвлення розчину крохмалю з йодом. Оптимум рН для амілази слини становить 6,8, в кислому та лужному середовищах активність амілази знижується. **Вплив рН на активність пепсину**

Принцип реакції. Вплив рН на активність пепсину можна визначити за розщепленням цим ферментом білка фібрину за різних значень рН.

Вплив активаторів та інгібіторів на активність ферментів

Дія активаторів та інгібіторів на активність амілази

Принцип реакції. Активатором амілази є NaCl, а інгібітором- CuSO₄. Вплив цих речовин на активність амілази визначають за ступенем гідролізу крохмалю під впливом ферменту за наявності NaCl і CuSO₄.

Вплив жовчі на активність ліпази

Принцип реакції. Жовч містить поверхневоактивні солі жовчних кислот, які є активаторами ліпази. Жовч сприяє диспергуванню жирів із утворенням емульсії, що полегшує їх взаємодію як субстратів з ліпазою під час гідролітичних реакцій.

11.5.2 Специфічність дії ферментів

Специфічність дії амілази та сахарози

Принцип реакції. Амілаза розщеплює полісахарид крохмаль і не діє на дисахариди (мальтозу або сахарозу). Сахараза розщеплює тільки сахарозу на α -D-глюкозу і один залишок β -D-фруктози й не розщеплює крохмаль та інші дисахариди. Продукти ферментативного гідролізу сахарози та рафінози мають позитивну реакцію з реактивом Фелінга.

Визначення активності ферментів

Визначення активності амілази слини за методом Вольгемута

Принцип реакції. Метод Вольгемута ґрунтується на визначенні мінімальної кількості ферменту, яка здатна за певних умов повністю гідролізувати 1 мл 0,1%-го розчину крохмалю. Амілазна активність слини визначається кількістю 0,1 %-го розчину крохмалю, мл, яку може гідролізувати 1 мл нерозбавленої слини за температури 38 °С протягом 30 хв. У нормі амілазна активність становить 160-320. Метод Вольгемута широко застосовується в клінічній практиці для визначення амілазної активності крові та сечі, в пивоварінні – солоду. Різке підвищення амілазної активності крові та сечі (в 10-30 раз) спостерігається при гострих панкреатитах, пухлинах підшлункової залози.

Методика визначення

1. У десять пробірок налити по 1 мл дистильованої води.
2. У першу додати 1 мл розведеної в десять разів слини.
3. Перемішати і 1 мл суміші перенести у другу пробірку.

4. Вміст цієї пробірки знову перемішати, 1 мл суміші перенести у третю пробірку й так до десятої.

5. З останньої пробірки відібрати 1 мл суміші й вилити. Таким чином, у кожній наступній пробірці вміст ферменту вдвічі менший, ніж у попередній і розведення слини в пробірках становитиме: 1:10, 1 : 20, 1 : 40, 1 : 80, 1 : 160, 1 : 320, 1 :640, 1 : 1280, 1 :2560, 1 :5120, 1 : 10240.

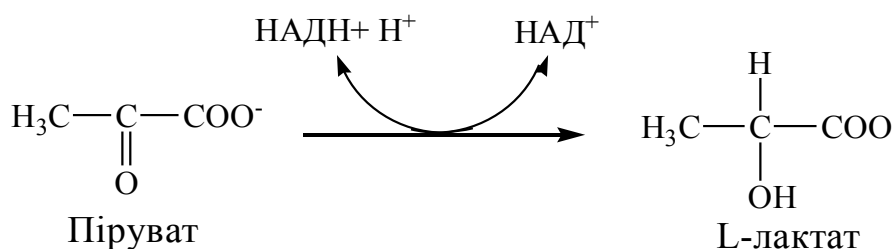
6. В усі пробірки додати по 1 мл води та по 2 мл розчину крохмалю, перемішати і поставити у термостат за температури 38 °С на 30 хв.

7. Після інкубації пробірки охолодити водопровідною водою для припинення дії ферменту, додати по дві краплини розчину йоду, добре збовтати і спостерігати за зміною забарвлення. Під час реакції з йодом рідина забарвлюється в жовтий, рожевий та фіолетовий кольори.

8. Зазначити, за якого розведення відбувся повний гідроліз крохмалю з мінімальним вмістом ферменту (пробірка з жовтуватим забарвленням рідини). За кількістю нерозведеної слини (*A*) в цій пробірці розрахувати амілазну активність слини (*A* мл слини розщеплює *x* мл 0,1%-го розчину крохмалю). Наприклад, жовтуватий колір з'явився в четвертій пробірці, де слина розведена в 160 разів. Цю кількість слини може гідролізувати 2 мл 0,1%-го розчину крохмалю, а 1 мл нерозведеної слини за подібних умов гідролізує 320 мл. Отже, амілазна активність слини дорівнює 320.

Кількісне визначення лактатдегідрогенази

Принцип реакції. Метод ґрунтується на визначенні швидкості реакції під час перетворення лактату на піруват. Лактатдегідрогеназа каталізує зворотну окисно-відновну реакцію (за рН 10,0 рівновага реакції зміщується в бік перетворення лактату на піруват), де лактат втрачає два атоми водню:



Мірою активності ферменту є швидкість зростання екстинкції за λ 340 нм, оскільки спектри поглинання відновлених і окислених форм НАД різні.

Методика визначення

1. В дві пробірки вносити по 0,1 мл розчину НАД⁺ 2 мл фосфатного буферу, 0,5 мл розчину DL-лактату, 1 мл дистильованої води.

2. В одну з них (досліджувана проба) додати 0,1 мл сироватки, а в другу (контрольна проба) – 0,1мл води, перемішують і поставити у термостат на 30 хв. за 37 °С.

3. Реакцію припиняють, занурюючи проби в киплячу водяну баню на 3 хв.

4. Досліджувану пробу спектрофотометрувати за $\lambda = 340$ нм проти контрольної.

5. За допомогою секундоміра за значенням оптичної густини зафіксувати початок реакції (вимірювання повторюють кожні 30 с протягом 3 хв.). Збільшення оптичної щільності свідчить про утворення $\text{НАДН}^+ + \text{H}^+$.

Активність лактатдегідрогенази визначають за збільшенням екстинкції (ΔE) на 0,001 в умовних одиницях і розраховати за формулою:

$$E = \Delta E \cdot 1000 / t,$$

де E – активність ферменту, виражена в умовних одиницях екстинкції; ΔE – сума значень екстинкції, одержаних протягом 5хв. і вимірених із інтервалом 1 хв.; t – час, хв., інкубації; 1000 – коефіцієнт для перерахунку на 100 мл сироватки крові.

ТЕМА 12. БІОЕНЕРГЕТИКА. ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН

12.1 Катаболізм білків, ліпідів, вуглеводів

Здатність отримувати і перетворювати енергію, яка витрачається на біологічні процеси, є фундаментальною властивістю всіх живих організмів. Ця властивість була з'ясована ще на ранній стадії клітинної еволюції. Живі організми використовують хімічну енергію клітинних «паливних» молекул для синтезу складних високомолекулярних макромолекул з простих молекул-попередників. Вони також перетворюють хімічну енергію клітинного «палива» в градієнти концентрацій і градієнти електричних потенціалів, в рух і тепло. Фотосинтезуючі організми перетворюють світлову енергію в інші форми енергії.



Антуан Лавуазьє
(1743-1794)

Французький хімік Антуан Лавуазьє зауважив, що тварини якимось чином перетворюють хімічне «паливо», тобто зробив висновок, що дихання - життєво важливий процес, в загальному, дихання не що інше, як повільне горіння вуглецю і водню, яке дуже схоже на процес, що відбувається при горінні свічки.

За античними твердженнями, можна сказати, що «факел життя запалюється у той момент, як тільки дитина починає дихати, і він не гасне до тих пір, поки не настає смерть». Загальна енергія Всесвіту залишається постійною; загальна ентропія непереривно зростає, (Рудольф Клаузиус, «Механічна теорія тепла в додатку до парового двигуна і фізичним властивостям тіл», 1865р.) Завдяки ізоморфізму ентропії можна встановити взаємозв'язки між двома формами енергії: енергією, що здійснює дію і енергією, що направляє дію (Франсуа Жакоб, *La logique du vivant: une histoire de l'hérédité* (Логика життя: історія наследственності), 1970р.).

Основною межею, що відрізняє живу матерію від неживих тіл, є **постійний**

обмін речовин з навколишнім середовищем, причому з припиненням цього обміну речовин припиняється і життя.

Обмін речовин складається з двох взаємозв'язаних і взаємообумовлених процесів – асиміляції і дисиміляції. **Асиміляція** – це комплекс фізіологічних і біохімічних перетворень речовин, які поступають в організм, у сполуки, необхідні для його існування. Обмін речовин у тваринному і рослинному організмі має принципові відмінності. Так, рослина будує складові частини свого тіла в процесі фотосинтезу в результаті використання сонячної енергії, води, вуглекислого газу і мінеральних речовин, а людина і тварина одержують речовини рослинного і тваринного походження після їх попереднього розщеплення в травному тракті.

У різних органах, тканинах і клітинах утворюються окремі речовини, необхідні для самозбереження і функціонування живого організму. Ці речовини не є незмінними: у процесі життя вони постійно синтезуються, розпадаються і самовідновлюються. При розкладанні цих речовин утворюються шкідливі для організму сполуки, які виводяться з нього як кінцеві продукти обміну. Цей процес називається **дисиміляцією**.

Біохімічні методи використовуються, головним чином, для вивчення закономірностей процесів асиміляції і дисиміляції в живих організмах з тим, щоб направлено впливати на ці процеси.

Перетворення енергії у біологічних системах підпадають під дію законів термодинаміки. Численні кількісні дослідження про взаємоперетворення різних форм енергії, що досліджені багатьма вченими фізиками і хіміками, дозволили у ХІХст. сформулювати **два основних закони термодинаміки**. **Перший закон** - це закон збереження енергії: при будь-якій фізичній або хімічній зміні загальна кількість енергії у Всесвіті залишається постійною; енергія може переходити з однієї форми в іншу або може перерозподілятися, але не може зникнути. **Другий закон термодинаміки** про те, що всі процеси у Всесвіті прагнуть до збільшення безладу (дезорганізації): в результаті будь-яких природних процесів ентропія всесвіту зростає.

Живі організми - це сукупність набагато більш високоорганізованих молекул, ніж навколишні речовини. Організми здатні створювати і підтримувати властиву їм упорядкованість, що, здавалося б, суперечить другому закону термодинаміки. Однак, насправді, живі організми теж підпорядковані цьому закону і діють строго в його рамках.

Однак живі клітини і організми є відкритими термодинамічними системами, які обмінюються і речовинами, і енергією. Живі системи ніколи не приходять до рівноваги з навколишнім середовищем. Постійні взаємодії між системою і оточуючим середовищем пояснюють, яким чином організми можуть підтримувати внутрішню впорядкованість і при цьому діяти в рамках другого закону термодинаміки.

Залежно від способу вилучення енергії всі живі організми поділяють на фото- і хемотрофи. **Фототрофи** у вигляді джерела енергії використовують енергію квантів світла. До фототрофів належать зелені рослини, водорості, деякі бактерії. Такі організми синтезують складні органічні сполуки з неорганічних (CO_2 і H_2O) за рахунок енергії сонячного випромінювання, тобто вони здатні до сприймання і перетворення енергії електромагнітних коливань потоку сонячного випромінювання на енер-

гію хімічних зв'язків органічних сполук. За типом живлення дані організми належать до *аутотрофних* (від грец. *autos* – сам, *trofos* – живлення). *Хемотрофні організми* у вигляді джерела енергії використовують енергію окислення органічних чи неорганічних сполук. У першому випадку їх відносять до органотрофів, а в другому – до літотрофів. За типом живлення хемотрофні організми є гетеротрофами (від грец. *heteros* – *інший* і *trofos* – *живлення*). *Гетеротрофи* не можуть синтезувати складні органічні сполуки з неорганічних і використовувати їх в готовому вигляді. До гетеротрофів належать організми людини, тварин та деякі мікроорганізми. Слід зазначити, що поділ живих організмів на гетеро- та аутотрофи дещо умовний. Досить часто один і той самий організм може мати клітини обох типів. Так, у вищих рослин клітини листків – аутотрофи, а клітини коренів – гетеротрофи.

Для гетеротрофних організмів основним джерелом енергії, яка необхідна для забезпечення процесів життєдіяльності, є енергія хімічних зв'язків між атомами складних органічних сполук – *білків, вуглеводів, ліпідів*. Такі органічні сполуки гетеротрофні організми одержують з навколишнього середовища як компоненти їжі (поживні речовини). Поживні речовини гетеротрофними організмами використовуються у вигляді джерела енергії та джерела вуглецю. Енергія, яка акумульована в хімічних зв'язках органічних сполук, може бути виділена при розриві їх у результаті гідролізу, фосфоролізу. Так, при гідролітичному розщепленні пептидних зв'язків виділяється 2600 кДж/моль енергії, при розщепленні хімічних зв'язків у молекулі глюкози – відповідно 2881 кДж/моль, тобто кожна органічна сполука, що входить до складу живої матерії, має певний запас потенціальної енергії, акумульованої в хімічних зв'язках. Це так звана загальна внутрішня енергія системи, або енергія зв'язку. Загальна потенціальна енергія сполуки, яка при згоранні її перетворюється на теплоту, називається *ентальпією* і позначається буквою *H*.

Під час перетворення зв'язків рівень загальної потенціальної енергії змінюється. При цьому енергія, що міститься в хімічних зв'язках, розсіюється у вигляді теплоти частково, тобто вивільнення енергії проходить не одночасно, а поступово і частина її використовується для виконання роботи. В зв'язку з цим у клітині різких температурних змін не спостерігається. Зміна ентальпії (ΔH) при розриві хімічних зв'язків має такий вираз:

$$\Delta H = \Delta F + p\Delta V \quad (12.1)$$

де ΔF – зміна загальної енергії системи; p – тиск; ΔV – зміна об'єму.

Оскільки в біологічних системах зміною об'єму можна знехтувати, то $\Delta H \approx \Delta F$.

Частина загальної енергії системи, за рахунок якої може бути виконана певна робота, називається вільною енергією G^0 . Отже, за рахунок вільної енергії підтримується стабільний стан біологічної системи. Зміна рівня стандартної вільної енергії позначається ΔG^0 .

Під цим розуміють зміну вільної енергії за нормальних умов: тиск 101,3 кПа, концентрація 1 М і температура 25 °С. Зміну рівня стандартної вільної енергії при $pH = 7,0$ позначають $\Delta G^0'$. Зміна стандартної вільної енергії хімічної реакції визначається як різниця між вільною енергією вихідних сполук та вільною енергією кінцевих продуктів реакції, тобто зміна вільної енергії системи при переході її з одного

стану в інший є критерієм, який дає змогу стверджувати можливість хімічного перетворення згідно з законами термодинаміки.

Зміну *вільної енергії* системи можна визначити як ту частину зміни загальної енергії, яка може бути використана для виконання роботи системою, що прагне до рівноваги за нормальних умов. Так, зміна вільної енергії в ході реакції $A \rightarrow B$ дорівнює:

$$\Delta G^{0'} = \Delta H + T\Delta S, \quad (12.2)$$

звідки

$$\Delta H = \Delta G^{0'} + T\Delta S, \quad (12.3) \text{ де } \Delta G^{0'} -$$

зміна стандартної вільної енергії системи; ΔH – зміна загальної енергії системи; T – абсолютна температура; ΔS – зміна ентропії.

Ентропія – це частина загальної енергії системи, яка не використовується для виконання роботи і розсіюється у вигляді теплоти. При будь-якому перетворенні енергії значення ентропії збільшується. Виділення теплоти з точки зору термодинаміки слід розглядати як марну втрату енергії. З наведеного вище рівняння видно, що зміна загальної енергії системи (ΔH) складається з суми зміни стандартної вільної енергії $\Delta G^{0'}$, яка використовується організмом, та зміни тієї частини загальної енергії, яка розсіюється у вигляді теплоти ($T\Delta S$). $T\Delta S$ вільна енергія може бути більшою чи меншою від теплоти реакції.

$\Delta G^{0'}$ може мати як додатне, так і від'ємне значення. Його використовують для кількісної характеристики хімічних реакцій, що дає змогу виразити енергетичний стан клітини. Так, у ході реакції $A \rightarrow B$ від'ємне значення $\Delta G^{0'}$ свідчить про те, що продукти реакцій містять менше вільної енергії, ніж вихідні сполуки ($\Delta G^{0'}B < \Delta G^{0'}A$), тобто реакція проходить з виділенням енергії і є екзергонічною. В цьому випадку рівновага реакції зміщується в бік утворення продуктів реакції (самовільні процеси).

Якщо $\Delta G^{0'}$ має додатне значення, тобто енергоємність продуктів реакції більша, ніж вихідних сполук ($\Delta G^{0'}B > \Delta G^{0'}A$), реакція без додаткового надходження енергії не відбувається. Дані реакції є ендергонічними і проходять з поглинанням енергії, що надходить ззовні (світлова, тепла, електрична), чи від інших екзергонічних реакцій окислення.

Отже, *перетворення енергії в організмі підпорядковується законам термодинаміки: енергія не зникає і не виникає, а перетворюється з одного виду на інший без зміни загального рівня енергії*, тобто організм виграшу в енергії не має. При будь-якому перетворенні енергії відбувається зростання ентропії системи і навколишнього середовища. Ця тенденція зберігається доти, поки не настане стан рівноваги, при якому ентропія має максимальне значення для даних умов. Процес проходить спонтанно за умов збільшення суми ентропії системи (ΔS_C) і навколишнього середовища ($\Delta S_{H.C.}$)

$$\Delta S_C + \Delta S_{H.C.} > 0.$$

Зміна ентропії кількісно пов'язана із зміною загальної енергії системи, яку можна виразити як функцію $\Delta G^{0'}$. Обмін енергії включає такі процеси, як виділення, перетворення, акумулювання та використання енергії організмом, тобто обмін ре-

човин в організмі супроводжується постійним обміном енергії завдяки тісному взаємозв'язку анаболічних реакцій, характерних для асиміляції, та катаболічних реакцій, характерних для дисиміляції.

Слід зазначити, що для енергетичних процесів, які здійснюються в живих організмах, властиві певні особливості, наприклад вивільнення, акумулювання та використання енергії. Так, виділення енергії, що міститься в хімічних зв'язках органічних сполук, здійснюється в процесі дисиміляції на певних етапах проміжного обміну. При цьому процес вивільнення енергії здійснюється не одномоментно, а поступово і включає три основні етапи: підготовчий, анаеробне та аеробне окислення.

Підготовчий етап – перетравлювання та всмоктування поживних речовин. На цьому етапі відбувається ферментативне розщеплення високомолекулярних біополімерів (білків, вуглеводів, ліпідів) до мономерних сполук. Так, білки розщеплюються до амінокислот, вуглеводи – до моносахаридів, ліпіди – до гліцерину та жирних кислот. На даному етапі виділяється незначна кількість енергії – менш як 1 %, яка переважно розсіюється у вигляді теплоти. Катаболічними реакціями, що забезпечують виділення енергії на даному етапі, є гідроліз і фосфороліз.

Наступний етап виділення енергії включає анаеробне окислення продуктів гідролітичного розщеплення біополімерів (амінокислот, моносахаридів, жирних кислот) до метаболітів, таких як ацетил-КоА, α -кетоглутарова та щавелевооцтова кислоти. На даному етапі виділяється близько $\frac{1}{3}$ енергії, акумульованої в хімічних зв'язках органічних сполук.

Утворені метаболіти включаються далі в наступний етап виділення енергії – аеробне окислення до кінцевих продуктів. При цьому виділяється $\frac{2}{3}$ енергії. Аеробне окислення метаболітів здійснюється у циклі Кребса, в якому поєднуються анаболічні та катаболічні реакції, тобто в даному циклі проходить інтеграція анаболічних реакцій, характерних для асиміляції, та катаболічних реакцій, характерних для дисиміляції. Субстрати, що утворюються в циклі Кребса, можуть бути використані як при розщепленні, так і під час синтезу різних речовин. Як правило, завершальна фаза катаболізму стикується з початковою фазою анаболізму, тобто кінцеві продукти розщеплення можуть бути використані як вихідні продукти синтезу.

У процесі аеробного окислення в циклі Кребса нагромаджуються відновні еквіваленти у вигляді: **НАД \cdot Н $_2$** , **НАДФ \cdot Н $_2$** , **ФАД \cdot Н $_2$** , які є генераторами енергії і забезпечують синтез АТФ у процесі тканинного дихання.

Анаболічні реакції, як і катаболічні, складаються з кількох стадій. Синтез складних органічних сполук починається з простих метаболітів, що утворюються в процесі розкладання. При цьому спочатку синтезуються прості сполуки (мономери), які далі перетворюються під час складних ферментативних реакцій на важливі біополімери клітини – білки, вуглеводи, ліпіди. Синтез складних органічних сполук відбувається з використанням енергії АТФ. Тісний взаємозв'язок між анаболічними і катаболічними реакціями здійснюється на кількох рівнях:

1) на рівні джерел вуглецю (кінцеві продукти катаболізму часто є вихідними сполуками анаболічних реакцій);

2) на рівні відновних еквівалентів (при аеробному окисленні нагромаджуються відновні еквіваленти, які використовуються для відновлюючого синтезу складних

органічних сполук);

3) на енергетичному рівні (при катаболізмі виділяється та нагромаджується (акумулюється) енергія, яка може бути використана для процесів синтезу).

Анаболічні та катаболічні реакції спряжені за рахунок так званих амфіболічних (об'єднуючих) шляхів метаболізму, одним з яких є цикл Кребса. Треба зазначити, що анаболічні та катаболічні реакції на окремих етапах не співпадають і каталізуються різними ферментними системами. Отже, реакції синтезу не завжди є оборотними реакціями розщеплення. Так, розщеплення та синтез вуглеводів відрізняються трьома суворо специфічними реакціями, які каталізуються різними ферментами. При цьому процеси синтезу часто проходять обхідними шляхами, спряженими з меншими енерговитратами. Використання специфічних шляхів розщеплення і синтезу різних сполук у живих організмах є досить доцільним з багатьох точок зору. Насамперед це дає змогу здійснювати процеси розщеплення і синтезу одночасно і незалежно один від одного.

В організмі існує тісний взаємозв'язок між процесами виділення та використання енергії. Основна маса енергії, акумульованої в хімічних зв'язках органічних сполук, виділяється при катаболізмі на другому і третьому етапах (анаеробне та аеробне окислення), тобто попередньо перетворюється на доступну форму, в універсальну сполуку - **АТФ**, яка може бути в ролі донора, акцептора та трансформатора енергії.

Однак енергія окислення органічних сполук на АТФ не передається, оскільки в клітині безпосередня передача енергії від низько- до високоенергетичних сполук не відбувається. Цей процес здійснюється за участю посередників – **макроергічних сполук**, які утворюються під час окислення субстратів, і нагромаджують енергію окислення в макроергічних зв'язках.

Макроергічні зв'язки – це зв'язки, при перетворенні яких рівень зміни вільної енергії становить понад 20 кДж/моль. Макроергічні зв'язки позначають знаком тільда (~). Якщо при перетворенні зв'язків рівень зміни вільної енергії становить 12 – 20 кДж/моль, такі сполуки є нормальними в енергетичному відношенні. Таку розмірність зміни рівня стандартної вільної енергії мають більшість органічних сполук. Слід мати на увазі, що поняття „макроергічні зв'язки” не треба плутати з поняттям „енергія зв'язку”. Поняття „енергія зв'язку” включає характеристику енергетичного рівня хімічного зв'язку з точки зору фізичної хімії, тобто величини енергії, необхідної для розриву зв'язку між атомами. Поняття макроергічні зв'язки полягає у врахуванні енергетичного ефекту в результаті перетворення зв'язку через хімічну реакцію.

Основна відмінність між ними полягає в тому, що при перетворенні макроергічних зв'язків виділяється значно більше енергії, ніж при перетворенні звичайних зв'язків. Так, енергія хімічного зв'язку між двома кінцевими залишками фосфату в молекулі макроергічної сполуки (АТФ) і енергія зв'язку між залишком фосфорної кислоти і глюкози в молекулі глюкозо-6-фосфату приблизно однакові, тобто для розриву зв'язків в першому і другому випадках необхідно витратити однакову кількість енергії. Однак при дослідженні енергетичного ефекту гідролітичного розриву даних зв'язків є суттєва відмінність. Для АТФ зміна рівня стандартної вільної енер-

гії становить 37 – 42 кДж/моль, а для глюкозо-6-фосфату – 13,1 кДж/моль, тобто АТФ є макроергічною сполукою, а глюкозо-6-фосфат – нормальною в енергетичному відношенні.

Макроергічні сполуки, як правило, містять фосфатну групу в α -положенні, яка при розриві макроергічного зв'язку може переноситись на інші сполуки у вигляді радикалу – активного фосфорилу: $-\text{PO}_3\text{H}_2$.

Катаболізм білків, ліпідів, вуглеводів здійснюється у 3 етапи:

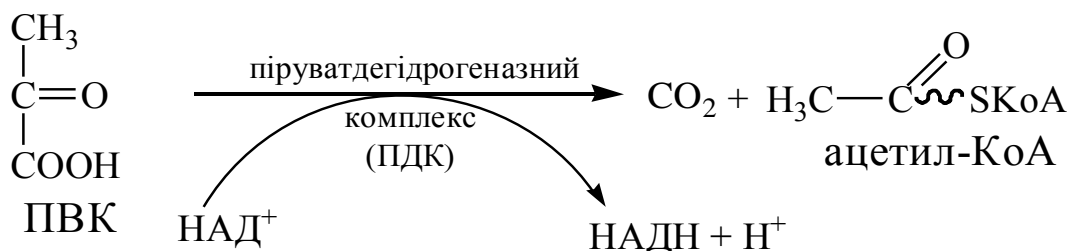
1. Переварювання й усмоктування (1% енергії).
2. Проміжний обмін (специфічні шляхи катаболізму) (29% енергії).
3. Загальний кінцевий шлях розпаду – термінальне окислення (70% енергії).

Специфічні шляхи містять у собі гліколіз, β -окислення ВЖК, а також дезамінування, переамінування і декарбоксилювання амінокислот.

Загальний кінцевий шлях розпаду включає окисне декарбоксилювання **ПВК**, цикл Кребса і **ЛПЕ**.

Окисне декарбоксилювання ПВК протікає аеробно у матриксі мітохондрій під впливом мультиензимного комплексу (3 ферменти і 5 коферментів, $M = 10$ млн) у 4 стадії.

Піруватдегідрогеназний комплекс приєднаний до внутрішньої мембрани мітохондрій з боку матрикса. Сумарна реакція:



Цикл лимонної кислоти – ЦТК – цикл Кребса

Цикл лимонної кислоти – цикл трикарбонових кислот (ЦТК), цикл Кребса – кінцевий загальний шлях окислювання білків, ліпідів, вуглеводів ЦТК являє собою серію реакцій, що протікають у мітохондріях, у ході яких здійснюється катаболізм ацетильних груп (до 2CO_3) і утворення відновлених еквівалентів ($\text{НАДН}^+ + \text{H}^+$ і ФАДН^+), що є субстратами (донорами електронів) у реакціях дихального ланцюга, що тісно зв'язаний з аеробним фосфорилуванням.

Біохімічні функції циклу Кребса:

1. Інтегративна – об'єднує 3 шляхи катаболізму білків, вуглеводів, ліпідів.
2. Катаболічна – поставляє субстрати для ЛПЕ; утворює 2 молекули O_2 , ізоцитрат, α -кетоглутарат, малат, $3\text{НАДН}^+ + \text{H}^+ + \text{ФАДН}_2$.
3. Анаболічна – проміжні метаболіти циклу лимонної кислоти включаються в наступні процеси біосинтезу:
 - а) глюконеогенез – перетворення ПВК і оксалоацетату в глюкозу;
 - б) синтез ВЖК з ацетил-КоА;

- в) синтез замісних амінокислот реакціями переамінування α -кетокислот;
- г) синтез піримідинових і пуринових основ;
- д) синтез порфіринів із сукциніл-КоА;
- е) синтез кетонів тїл з ацетил-КоА.

Центральна роль ацетил-КоА у метаболізмі визначається тим, що, будучи продуктом катаболізму вуглеводів, ліпідів і амінокислот, він може бути або цілком окислений у циклі лимонної кислоти і дихального ланцюга до CO_2 і H_2O , або ж використаний у якості активного проміжного метаболіту для синтезу різних речовин.

Енергетична роль ЦТК

За період кожного циклу утворюється 1 ГТФ, 3 НАДН⁺ + Н⁺ і 2ФАДН₂, що генерують утворення 12 молекул АТФ (ГТФ – у субстратному фосфорилуванні, а відновлені еквіваленти – в окисному фосфорилуванні). ЦТК – амфіболічний цикл, тому що він створює продукти, що окисляються, і продукти для анаболізму.

Регуляція циклу Кребса

Регуляторні ферменти циклу Кребса:

1. Піруватдегідрогеназа (інгібітори: **АТФ, НАДН⁺ + Н⁺**, цитрат, ацетил-КоА; активатори: **АДФ, НАД⁺**, глюкозо-6-фосфат, Ca^{2+} , Mg^{2+} , HS-КоА, фруктозо-2, б-дифосфат).
2. Цитратсинтаза (інгібітори: **АТФ, НАДН + Н** \ ВЖК, сукциніл-КоА; активатори: **НАД⁺, АДФ**).
3. Ізоцитратдегідрогеназа декарбоксилююча (інгібітори: АТФ, НАДН⁺ + Н⁺; активатори: **АДФ, НАД⁺, Mn⁺**).
4. α -кетоглутаратдегідрогеназний комплекс (інгібітори: **АТФ, НАДН + Н⁺**; активатори: **АДФ, НАД⁺**).

Піровиноградна кислота є одним з центральних метаболітів вуглеводного обміну. Вона утворюється в процесі розпаду глюкози і глікогену в тканинах при окислюванні молочної кислоти, а також у результаті перетворень ряду амінокислот. При окисному декарбоксилюванні ПВК утворюється ацетил-КоА, що вступає в цикл Кребса. Піровиноградна кислота є одним з основних субстратів глюконеогенезу.

Клінічне значення визначення пірувату

Найбільш різке підвищення концентрації пірувату відзначається при м'язовій роботі й вітамінній недостатності. При великих фізичних навантаженнях концентрація ПВК може підвищуватися до 5 мг/100 мол. Крім того, підвищення змісту ПВК у крові відзначається при паренхіматозних захворюваннях печінки, цукровому діабеті, серцевій декомпенсації, токсикозах. У спинномозковій рідині концентрація пірувату значно підвищується після травми черепа, при запальних процесах – менінгіті, абсцесі мозку. Підвищений зміст ПВК токсичний для організму.

12.2 Роль кисню в метаболізмі

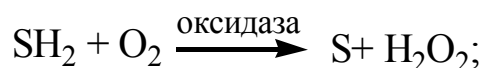
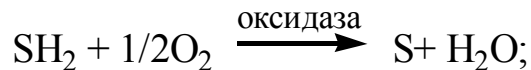
Організм людини і тварини функціонує в аеробних умовах: 90% енергії він одержує при участі кисню. Кисень виконує дві найважливіші функції в метаболізмі в процесі життєдіяльності:

1) є кінцевим акцептором електронів і протонів при біологічному окислюванні (оксидазний шлях використання кисню);

2) виконує пластичну функцію: кисень вбудовується в процесі мітосомального окислювання в гідрофобні з'єднання, переводячи них у гідрофільні (оксигеназний шлях використання кисню).

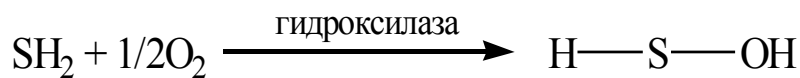
Відомо близько 200 ферментів, що використовують молекулярний кисень у якості одного із субстратів. Усі вони поділяються на два класи в залежності від того, чи включається кисень в інший субстрат у ході такої реакції:

1) оксидази: кисень не включається в субстрат, а використовується як акцептор електронів. Існує два типи оксидаз: одні утворюють у якості одного з продуктів воду, а інші – пероксид водню:



2) оксигенази – кисень включається в субстрат. Існує також два типи оксигеназ:

а) монооксигенази (або гідроксилази) – включається тільки один атом кисню:



б) диоксигеназа – включається два кисні в субстрат:



Токсичність кисню

Для організму людини токсичність кисню обумовлена токсичністю його активних форм, що можуть утворюватися при перенесенні електронів від субстратів, що окислюються, на кисень. До активних форм кисню відносяться: супероксид-іон, гідроксильний радикал, пероксид-іон, синглетний кисень. Дані частки являють собою небезпеку для життя кліток внаслідок ушкоджень, що вони здатні заподіювати всім класам біомолекул, особливо білкам і ліпідам, викликаючи перекисне окислювання.

У живій клітині відбувається детоксикація пероксиду водню і супероксид-іона при участі природних антиоксидантів (аскорбінової кислоти, вітаміну Е, глутатіона) і ферментів (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази).

12.3 Макроергічні молекули

До макроергічних відносяться сполуки, при гідролізі яких виділяється енергія не менш 7 ккал/моль. Це число – умовна одиниця, що означає всього лише якийсь рівень відліку, відповідно до якого АТФ і кілька інших сполуки відрізняються від інших природних з'єднань. Відповідно назва «макроергічний» уживається для об'єднання сполук у групу речовин макроергічних і для вказівки їхньої особливої важливості в перенесенні енергії в живій клітині.

Нуклеозидтрифосфати

Найбільш розповсюдженими високоенергетичними загальними проміжними продуктами є нуклеозидтрифосфати (НТФ), що можуть передавати свою кінцеву високоенергетичну фосфатну групу кожної з численних органічних молекул-акцепторів (найчастіше енергія утвориться у виді АТФ). Особливість високоенергетичних нуклеотидів полягає в тому, що вони виступають як універсальне джерело енергії для великого числа енергозалежних реакцій.

Молекула АТФ складається з аденілатної групи і трьох залишків фосфорної групи. Значна частина вільної енергії цієї молекули обумовлена взаємним електростатичним відштовхуванням цих фосфатних залишків аналогічно взаємному відштовхуванню однойменно заряджених зарядів. Розрив зв'язків між залишками фосфорної кислоти супроводжується звільненням енергії. З'єднанням, що грає найбільш важливу роль у клітинній енергетиці, є АТФ, тому що:

1. Хімічна енергія запасється шляхом утворення АТФ, сполученого з катаболічними реакціями розщеплення,
2. Потім хімічно енергія утилізується шляхом розщеплення АТФ, сполученого з ендергонічними реакціями синтезу в ході анаболізму й інших процесів, що вимагають витрат енергії, наприклад активного транспорту і скорочення м'язів.

Гідроліз АТФ – термодинамічна рушійна сила процесів, що самі по собі є термодинамічно не вигідними.

АТФ і інші нуклеозидтрифосфати відповідальні за перенос енергії в багатьох сполучених реакціях. АТФ – постійне джерело енергії для клітини. Він мобільний і може доставляти хімічну енергію у будь-яку частину клітини. АДФ може бути рефосфорильована в АТФ у результаті дихальної активності або за рахунок іншого високоенергетичного з'єднання, наприклад, креатинфосфату, що присутній у м'язових клітинах.

Якщо весь АДФ м'язової тканини перетворюється в АТФ, то фосфат від АТФ переноситься на креатин з утворенням креатинфосфату. При цьому знову з'являється деяка кількість АДФ, що може, приєднавши фосфат, утворити АТФ. При зниженні рівня АТФ відбувається зворотний процес: фосфат переноситься від креатину-фосфату на АДФ, і запаси АТФ відновлюються.

Таким чином, АТФ грає важливу метаболічну роль завдяки своєму центральному положенню в клітинній активності. При цьому його високоенергетичні фосфатні групи безупинно відщеплюються і заміщаються новими.

Аргінінфосфат і креатинфосфат виконують роль своєрідних акумуляторів хімічної енергії, що використовуються для швидкого фосфорилування АТФ під час енергійного м'язового скорочення. Їх називають фосфагенами.

Ацилфосфати – макроергічні з'єднання з ангідридним зв'язком, у яких карбонільний атом вуглецю ацильної групи особливо легко бере участь у реакції з нуклеофілами. Значення $\Delta G = -12,8$ ккал/моль.

Наприклад, гліцери-1,3-дифосфат + $\text{HOH} \rightarrow$ гліцери-3-фосфат + H_3PO_4 .

Тіоефіри відіграють важливу роль у метаболізмі в якості метаболічно активної форми ацильної групи. У природі основними тіолвмістними з'єднаннями є: коферменти, ліпоєва кислота, білки з -SH групою:

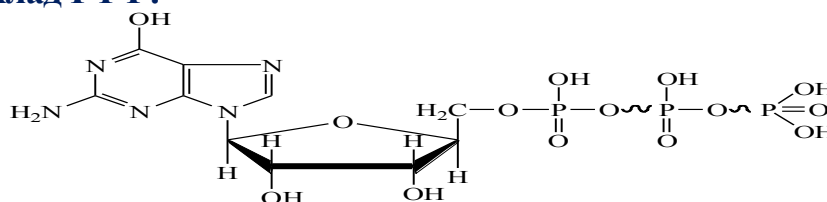


$\Delta G = -7,37$ ккал/моль.

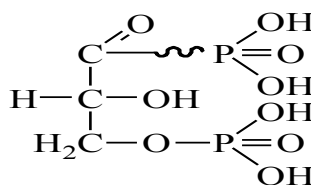
Відновлені форми **НАДН + Н⁺** і **НАДФН + Н⁺**, будучи синтезованими в клітині, потім знову окисляються, при цьому відбувається перенесення електронів на кисень. Цей спосіб використовується як основний спосіб, за допомогою якого клітина перетворює хімічну енергію живильних речовин, що надійшли ззовні, в утилізовану метаболічну енергію.

Структура макроергічних сполук:

1. Наприклад ГТФ:



2. 1,3-Дифосфогліцерат:



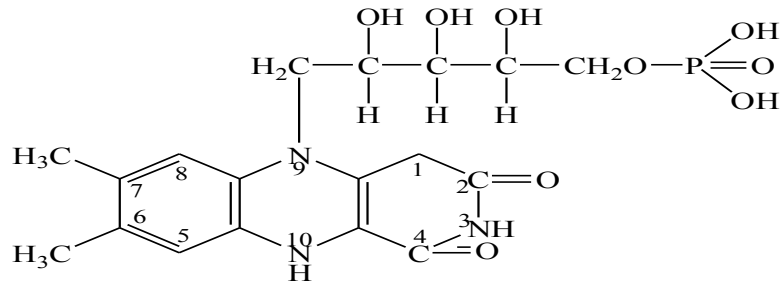
3. Фосфоенолпіруват:



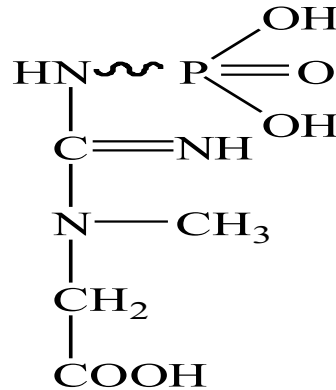
4. Ацилтіоефіри:



5. Відновлені еквіваленти, наприклад ФМН-Н₂:



6. Креатинфосфат:



12.4 Окисне фосфорилування в організмі тварини

Єдиним джерелом енергії для біологічних систем на планеті Земля є енергія Сонця. Цю енергію (у вигляді фотона) утилізують рослини: завдяки хлорофілові відбувається процес фотосинтезу, електрохімічна енергія фотона переходить в енергію хімічних зв'язків органічних сполук. Людина і тварини одержують її у вигляді енергії хімічних зв'язків органічних сполук, що надходять ззовні у вигляді поживних речовин.

У мітохондріях клітин тканин організму тварини енергія хімічних зв'язків трансформується в електрохімічну енергію (біопотенціал внутрішньої мембрани мітохондрій), що потім перетворюється в енергію хімічних зв'язків макроергічних нуклеозидтрифосфатів – в основному АТФ.

Утворення АТФ в організмі тварини протікає в процесі окисного фосфорилування в мітохондріях клітини, у яких розрізняють: зовнішню і внутрішню мембрани, міжмембранний простір, матрикс і кристи.

У мітохондріях процес окислювання субстратів супроводжується процесом фосфорилування, тобто синтезу з АДФ і фосфорної кислоти молекули АТФ (*Схема 12.4.1*).

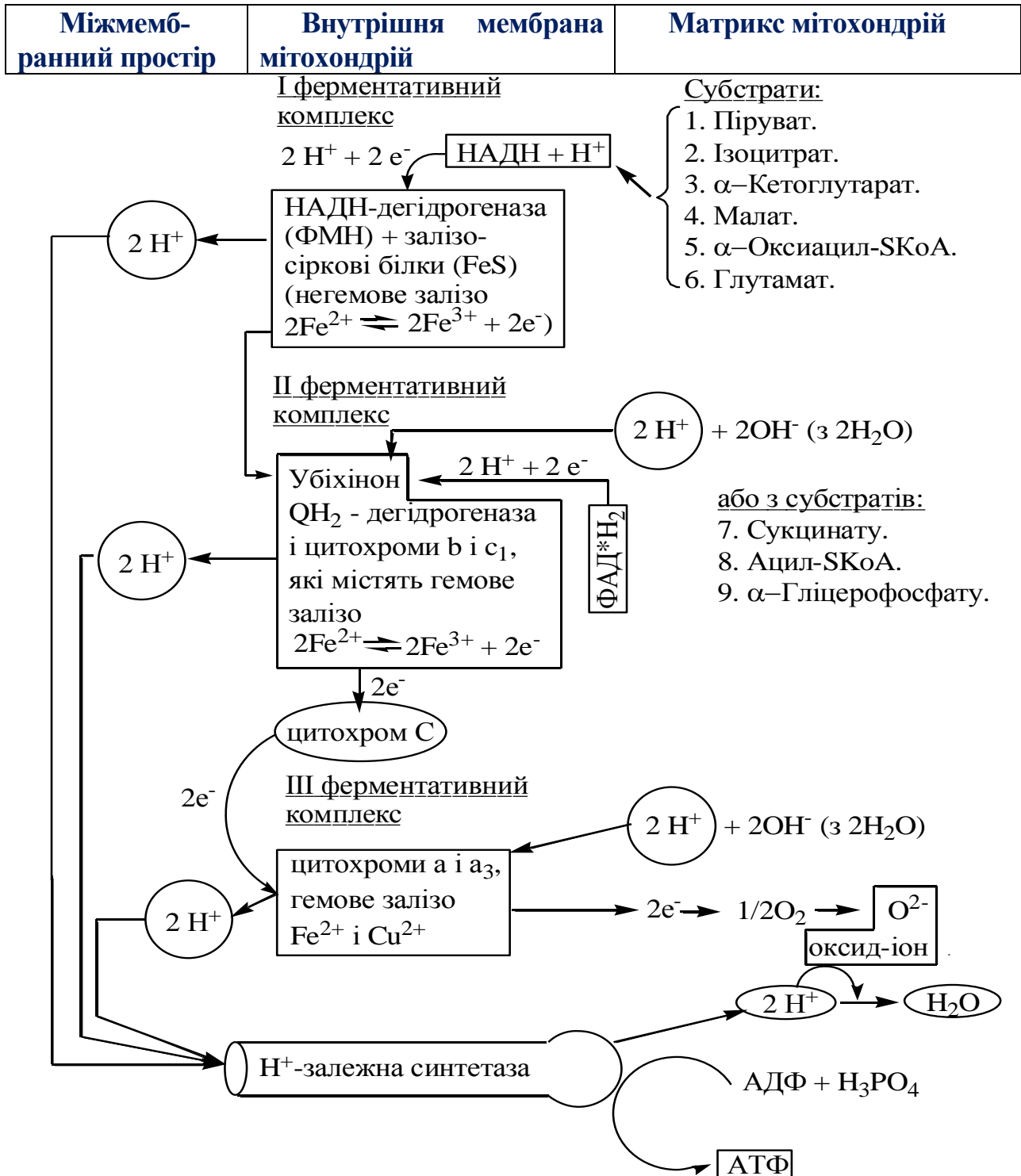


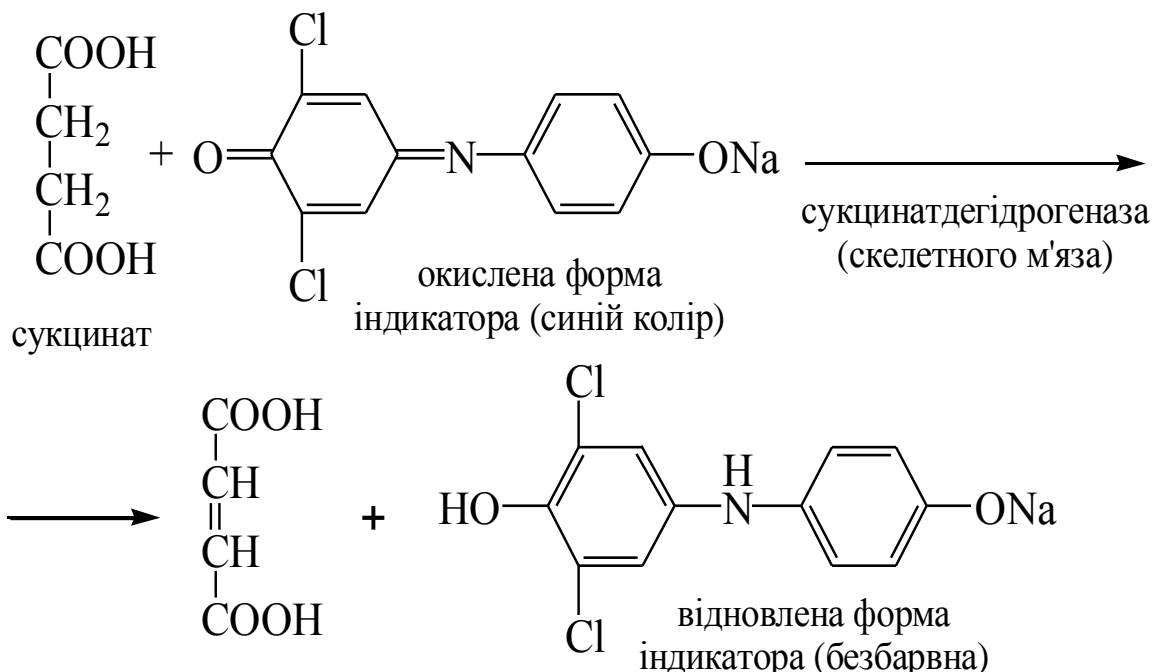
Схема 12.4.1. Схема зв'язку загального шляху катаболізму. Ланцюг перенесення електронів.

Для біосинтезу АТФ необхідні 2 умови: Потенціал понад 0,2 вольти,

1. Наявність активного ферменту – протонзалежної АТФ-синтази.

У внутрішній мембрані мітохондрій вбудований ферментний ансамбль дихального ланцюга (ланцюг переносу електронів – ЛПЕ), що складається з трьох міцно вмонтованих (крім цитохрому 3) ферментативних комплексів.

У водному розчині окиснена форма 2,6-дихлорфеноліндофенолу зафарбовується в синій колір. Відновлена форма цієї сполуки - безбарвна. Активність сукцинатдегідрогенази м'язів визначають, додаючи до м'язової суміші розчини янтарної кислоти і натрієвої солі окисненої форми 2,6-дихлорфеноліндофенолу. Якщо сукцинатдегідрогеназа активна, інтенсивність синього забарвлення послаблюється завдяки утворенню безбарвної відновленої форми 2,6-дихлорфеноліндофенолу.



Якісне визначення активності сукцинатдегідрогенази м'язів

Методика визначення

1. У дві пробірки відміряти по 3 мл фосфатного буфера з рН=7,4.
2. В одну (дослідну) пробірку додати 5 крапель 5%-го розчину янтарної кислоти і (для нейтралізації) 5 крапель 0,1 н. розчину їдкого натру, в іншу (контрольну) додати 10 крапель дистильованої води.
3. В обидві пробірки додати по 1 мл 0,001 н. розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу і по 50 мг добре роздібною тканини поперечносмугастих м'язів тільки що убитої тварини.
4. Обидві пробірки помістити на 20 хв. у термостат при 37°C.
5. Порівняти інтенсивність забарвлення у контрольній і дослідній пробірках.

В умовах досліду як акцептор водню при окислюванні сукцинату використовується 2,6-дихлорфеноліндофенол, його натрієва сіль.

ТЕМА 13. ВУГЛЕВОДИ

13.1 Загальна характеристика вуглеводів. Основні функції та класифікація.

Вперше про можливість утворення органічних сполук із карбон (IV) оксиду і води в рослинах під дією сонячного світла висловив думку Теодор де Соссюр ще у 1794 р.

Вуглеводи поряд із білками і ліпідами є найважливішими хімічними сполуками живих організмів. В організмі тварин і людини вуглеводи виконують дуже важливі функції: насамперед **енергетичну** (головний вид клітинного палива), **структурну** (обов'язковий компонент більшості внутрішньоклітинних структур), **захисну** (участь вуглеводних компонентів імуноглобулінів у підтримці імунітету).

Вуглеводи також використовуються для синтезу нуклеїнових кислот (рибоза, дезоксирибоза), вони є складовими компонентами нуклеотидних коферментів, що відіграють винятково важливу роль у метаболізмі живих істот. Останнім часом усе більше уваги приділяють змішаним біополімерам, що містять вуглеводи. До таких змішаних біополімерів належать, крім нуклеїнових кислот, глікопептиди і глікопротеїни, гліколіпіди і ліпополісахариди, гліколіпопротеїни і т.д. Ці речовини виконують складні і важливі функції в організмі.

У складі тіла людини і тварини вуглеводи присутні в меншій кількості (не більш 2% від сухої маси тіла), чим білки і ліпіди. У рослинних організмах за рахунок целюлози на частку вуглеводів припадає до 80% сухої маси, тому в цілому в біосфері вуглеводів більше, чим всіх інших органічних сполук разом узятих.

Функції вуглеводів в організмі:

1. **Енергетична (глюкоза, глікоген).**
2. **Структурна (хондроїтинсульфати, гіалуронова та інші гетерополісахариди).**
3. **Захисна (синтез імунних тіл у відповідь на антигени).**
4. **Гемостатична (згортання крові) I, II, VIII, IX, X, XI).**
 1. **Антизгортувальна (гепарин).**
 2. **Гомеостатична (підтримка гомеостазу, наприклад, водно-електролітного обміну).**
 3. **Опірна (кістки, хрящі, хондроїтинсульфати).**
 4. **Механічна (у складі сполучної тканини).**
 5. **Групоспецифічні речовини еритроцитів крові.**
 6. **Осморегулятивна (глюкоза).**
 7. **Знешкоджувальна (парні глюкуронові кислоти).**
 8. **Антиліпідемічна (гепарин).**

Вуглеводи класифікують на моносахариди, олігосахариди і полісахариди

Моносахариди

Моносахариди можна розглядати як похідні багатоатомних спиртів, що містять карбонільну (альдегідну або кетонну) групу. Якщо карбонільна група знаходиться наприкінці ланцюга, то моносахарид являє собою альдегід і називається альдозою; при будь-якому іншому положенні цієї групи моносахарид є кетоном і називається кетозою.

Найпростішими представниками моносахаридів є тріози: гліцеральдегід і діоксиацетон. При окислюванні первинної спиртової групи трьохатомного спирту – гліцеролу утвориться гліцеральдегід (альдоза), а окислювання другої спиртової групи призводить до утворення діоксиацетона (кетоза).

Моносахариди, завдяки наявності вільного кетонного чи альдегідного угруповання, можуть окислюватися до відповідних кислот, одночасно відновлюючи солі металів. Ця властивість використовується для ряду якісних та кількісних реакцій.

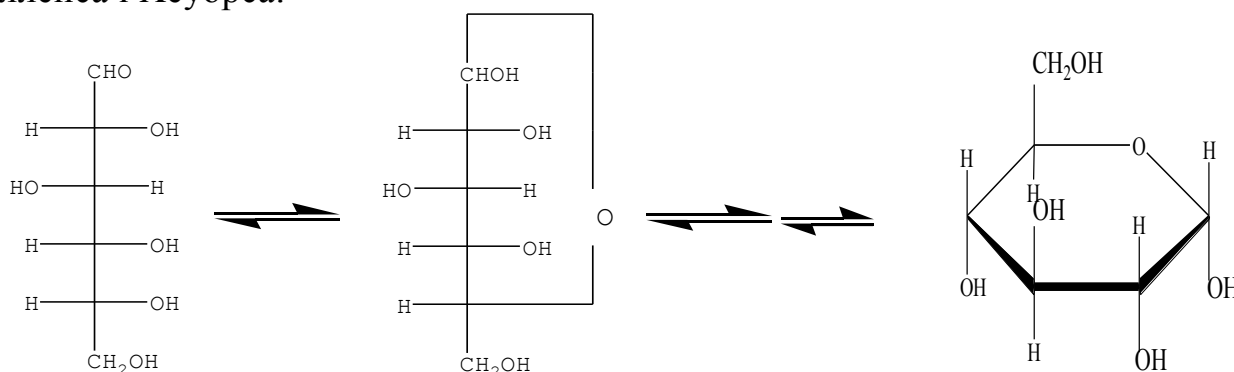
Моносахариди – вуглеводи, що не можуть бути гідролізовані до більш простих форм. Їх підрозділяють:

- в залежності від числа атомів вуглецю на: тріози, тетрози, пентози, гексози і т.д.;

- в залежності від присутності альдегідної або кетонної групи на альдози та кетози, наприклад:

Альдози		Кетози
Пентози	рибоза	рибулоза
Гексози	глюкоза	фруктоза

Структурно вуглеводи зображують трьома видами формул: Фішера, Коллі-Толленса і Хеурса:



Глюкоза (за Фішером) **α-глюкоза** (за Коллі – Толленсом) **α-D-глюкопіраноза** (за Хеурсом)

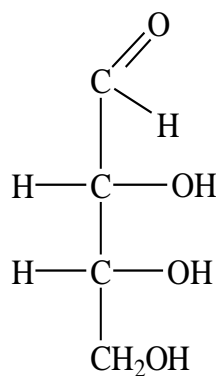
Правило написання проекційних формул Фішера:

1. Вуглецевий ланцюг записується вертикально.
2. Зверху розташовується старша функціональна група (альдегідна або кетонна).
3. Горизонтально – гідроген і групи, що містять гетероатом.

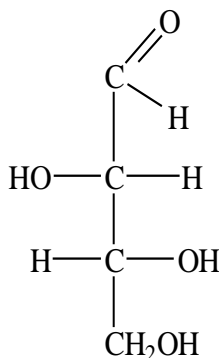
4. Моносахариди містять асиметричні атоми карбону.

5. Різноманіття моносахаридів обумовлено наявністю оптичної і стереоізомерії.

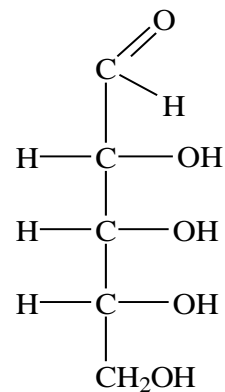
Сtereoізомери, тобто приналежність до D- або L-ряду, визначаються орієнтацією груп – «H» і «OH» – у останнього асиметричного атома вуглецю. D-ізомери на 90% обертають площину поляризованого світла вправо (+), L-ізомери – вліво (-), але 10% є винятком.



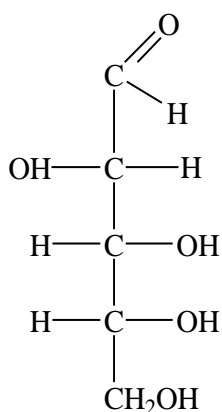
D(-)-еритроза



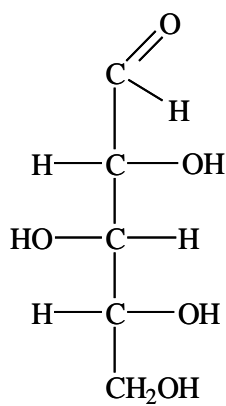
D(-)-триоза



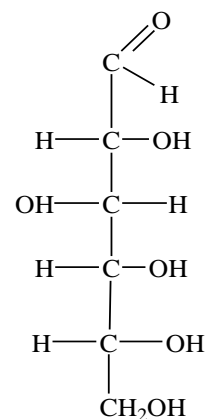
D(-)-рибоза



D(-)-арабіноза

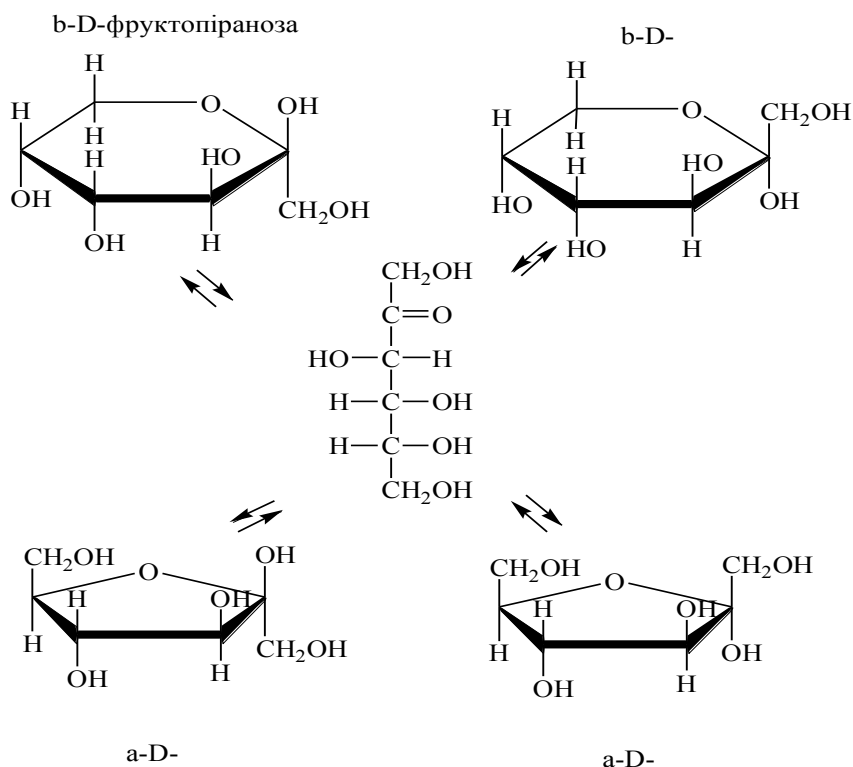


D(+)-ксилоза



D(+)-глюкоза

Кетози, як і альдози, утворюють кільчасті форми. Як приклад роздивимося кільчасто-ланцюжкову таутомерію фруктози. Як і інші моносахариди, фруктоза утворює 4 циклічні форми, що знаходяться в динамічній рівновазі з відкритою формою:



Хімічні властивості вуглеводів:

1. Окиснювання до моно-, дикарбонових і глюкуронових кислот.
2. Відновлення до спиртів.
3. Утворення складних ефірів.
4. Утворення глікозидів.

Бродіння: спиртове, молочнокисле, лимоннокисле і маслянокисле.

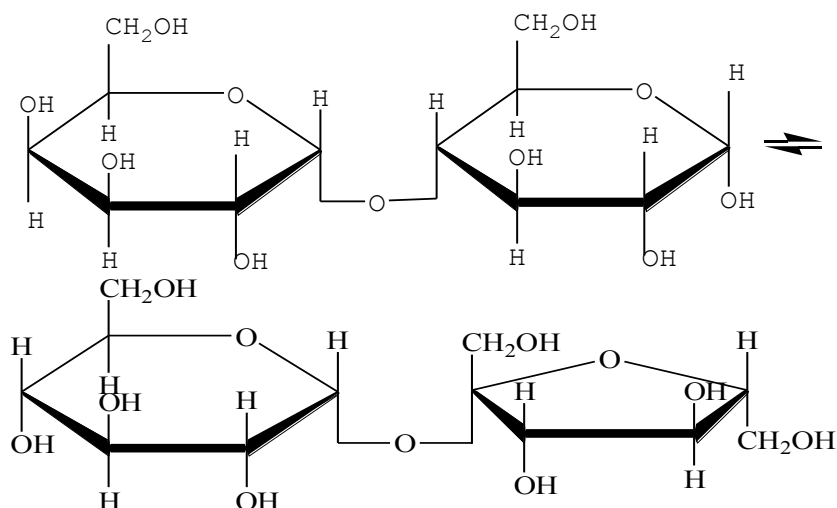
Дисахариди

Дисахариди – складні цукри, кожна молекула яких при гідролізі розпадається на дві молекули моносахаридів. Дисахариди поряд із полісахаридами є одним з основних джерел вуглеводів у їжі людини і тварин. По будівлі дисахариди є глікозидами, у яких дві молекули моносахаридів сполучені глікозидним зв'язком.

Серед дисахаридів особливо широко відомі мальтоза, лактоза і сахароза. Мальтоза, що є α -глюкопіранозил-(1-4)- α -глюкопіранозою, утвориться в якості проміжного продукту при дії амілаз на крохмаль (або глікоген), містить два залишки α -D-глюкози (назва цукру, полуацетальний гідроксил, який бере участь в утворенні глікозидного зв'язку, закінчується на «ил»).

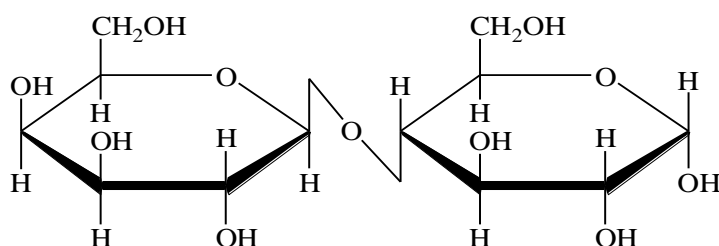
У молекулі мальтози в другому залишку глюкози є вільний полуацетальний гідроксил. Такі дисахариди мають відновлюючі властивості.

Одним із найбільше поширених дисахаридів є **сахароза – звичайний харчовий цукор**. Молекула сахарози складається з одного залишку D-глюкози й одного залишку D-фруктози. Отже, це - α -глюкопіранозил-(1 – 2)- β -фруктофуранозид:



На відміну від більшості дисахаридів (сахароз) не має вільного полуацетального гідроксиду і не має відновлюючих властивостей.

Дисахарид **лактоза** утримується тільки в молоку і складається з D-галактози і D-глюкози. Це – α -галактопіранозил-(1,4)-глюкопіраноза:



Оскільки в молекулі лактози є вільний напівацетальний гідроксил (у залишку глюкози), вона належить до числа дисахаридів, що редукують.

Серед природних трисахаридів найбільше відома рафіноза, що містить залишки фруктози, глюкози і галактози, що знаходиться у великих кількостях у цукровому буряку й у багатьох інших рослинах. Вцілому олігосахариди, що присутні у рослинних тканинах, різноманітні по своєму складу, чим олігосахариди тваринних тканин.

Редукуючі дисахариди (наприклад, лактоза чи мальтоза) можуть окислюватися до відповідних кислот, відновлювати солі металів, беручи участь у реакціях, що характерні для моносахаридів.

Але нередукуючі дисахариди (наприклад, сахароза) в подібні реакції не вступають. Для виявлення таких дисахаридів найчастіше використовують методи, що ґрунтуються на гідролізі дисахаридів до моносахаридів із наступним виявленням продуктів гідролізу – моносахаридів.

Полісахариди

Полісахариди різняться за хімічною природою моносахаридних одиниць, що повторюються, ступенем розгалуження та довжиною ланцюга. Полісахариди не містять вільних редукуючих груп, тому вони не мають відновлюючої здатності.

Продуктами повного гідролізу полісахаридів за наявності кислот чи специфічних ферментів є моносахариди, які мають редуруючі властивості.

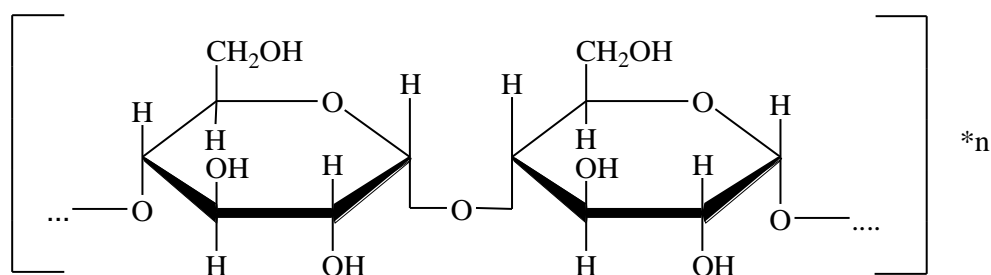
Гомополісахариди

Крохмаль – полімер α -глюкози, що складається з амілази (15-20%), що має нерозгалужену спіральну структуру, і амілопектин (80%-85%), утвореного розгалуженими ланцюгами, кожна гілка складається з 24-30 залишків α -глюкози, сполучених α , α -1,4-О-глікозидними зв'язками; у точках розгалуження залишки сполучені α , α -1,6-О-глікозидними зв'язками.

Глікоген – тваринний крохмаль, що складається з α -глюкози, у вигляді якого вуглеводи запасуються в організмі. Глікоген характеризується більш розгалуженою структурою, ніж амілопектин, лінійні відрізки ланцюга включають 11-18 залишків глюкози, з'єднаних α , α -1,4-О-глікозидними зв'язками, а в точках розгалуження – α , α -1,6-О-глікозидними зв'язками.

Декстринами називаються речовини, що утворюються при частковому гідролізі крохмалю або глікогену.

Целюлоза – головний компонент структурної основи рослин, лінійний полімер β -глюкози, сполучених між собою β , β -1,4-О-глікозидними зв'язками.



біозний фрагмент крохмалю



Рис. 12.1.1 Будова молекул крохмалю та глікогену:
А – молекула крохмалю; Б – молекула глікогену.

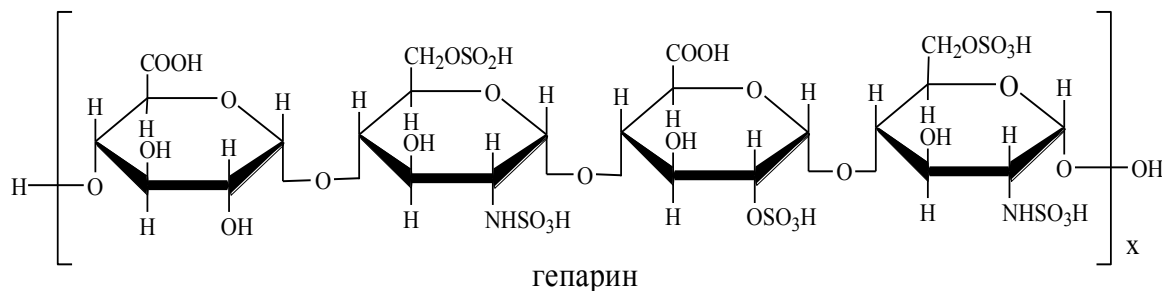
Гетерополісахариди

Гепарин – полімер, мономер якого містить у своєму розчині залишки D-глюкуронат-2-сульфату і N-ацетилглюкозамін-6-сульфату (26 од.). Гепарин бере

участь у антизгортальній системі крові, посилюючи інгібіруючу дію антитромбіну III; інгібує ряд факторів згортання крові; активує ЛП-ліпазу.

Гіалуронова кислота являє собою полімер, мономер якого складається із залишків D-глюкуронової кислоти і N-ацетилглюкозаміну. Гіалуронова кислота входить до складу сполучної тканини і бере участь у регуляції її проникливості.

Хондроїтин-4-сульфат і хондроїтин-6-сульфат – полімери, мономерами яких складаються із залишків D-глюкуронової кислоти і N-ацетилгалактозаміна.



Важливу складову частину основної речовини хряща утворюють хондроїтинсульфати, що з'язані з великим поліпептидним ланцюгом.

13.2 Синтез глікогену

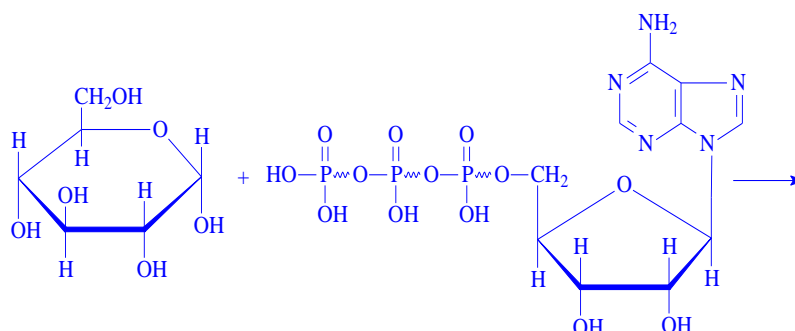
Глікоген як джерело хімічної енергії і регулятор осмотичного тиску крові має велике значення для організму. В органах відкладається у вигляді зерен.

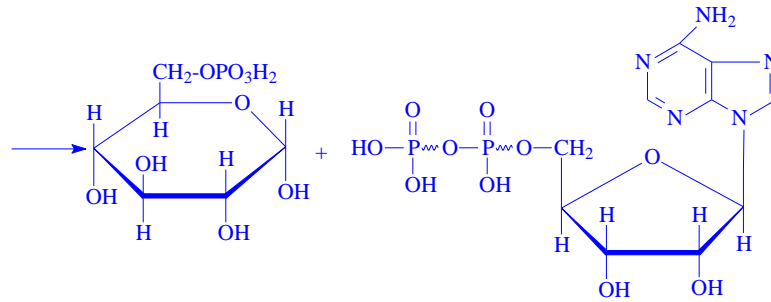
Вміст глікогену в печінці людини і тварин при надмірному вуглеводному живленні іноді складає 15 – 20% загальної сухої маси органу. В печінці людини міститься до 150 г глікогену. Багато полісахариду депонується в інших органах і тканинах. Так, у м'язах вміст глікогену досягає 0,2 – 2%, у нервовій тканині – 0,15% загальної сухої маси.

Якщо для синтезу глікогену джерелом служить глюкоза, цей процес називають **глікогенез**, якщо інші сполуки (аміно-, кето-, оксикислоти і низькомолекулярні жирні кислоти) – **гліконеогенез**.

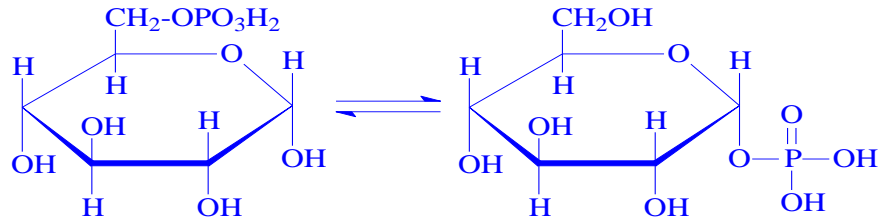
Глікогенез.

Утворення глікогену детально вивчено в печінці. В гепатоцитах глюкоза під впливом гексокінази фосфорилується:



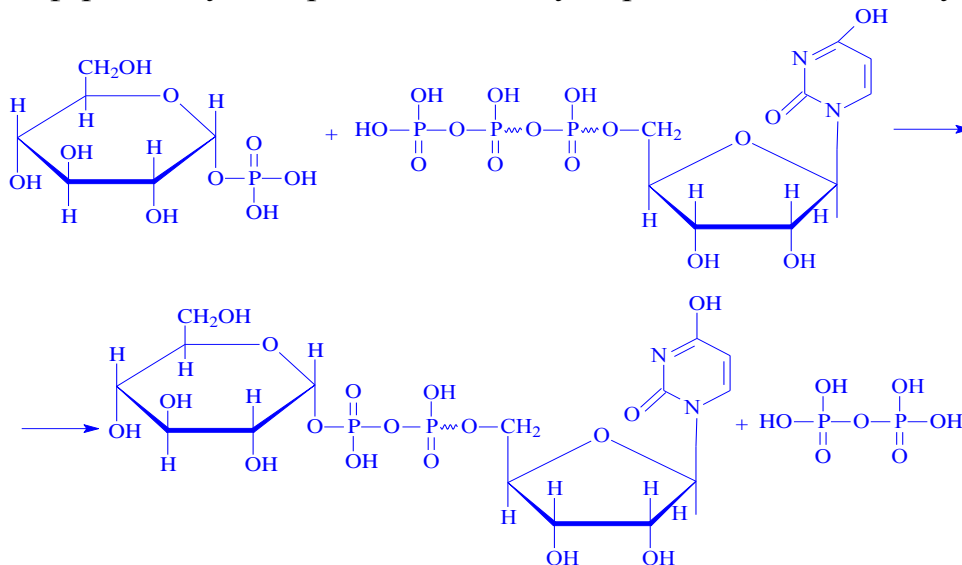


Далі глюкозо-6-фосфат під впливом фосфоглюкомутази ізомеризується в глю-



козо-1-фосфат:

Глюкозо-1-фосфат під впливом ферменту глюкозо-1-фосфат-уридилтрансферази вступає в реакцію з УТФ, утворюючи УДФ-глюкозу:



УДФ-глюкоза під дією ферменту глікогенсинтетази і за наявності невеликої кількості „затравки” глікогену переносить залишок глюкози на молекулу глікогену, що призводить до подовження ланцюга полісахариду за рахунок утворення зв'язку 1,4:



УДФ фосфорилується за рахунок АТФ, перетворюється в УТФ і вступає в реакцію з новими молекулами глюкозо-1-фосфата. При утворенні зв'язків 1,6 в реакції бере участь фермент α -глюкан-розгалуджуюча глікозилтрансфераза (фермент розгалуження). Для подовження ланцюга молекули глікогену на один мономер затрачується один макроергічний зв'язок (~), що містить у собі 32 – 40 кДж. В окремих випадках молекула глікогену може синтезуватися на поліпептидному ланцюзі білка – ініціатора синтезу глікогену, без участі „затравки”. Іноді молекула глікогену утворюється без витрати енергії АТФ під впливом ферменту фосфорилази.

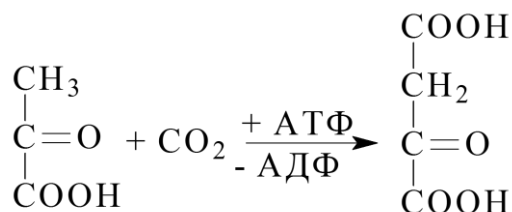
Гліконеогенез. Глікоген, так само як і глюкоза, може синтезуватися із сполук неуглеводної природи. Попередниками глікогену в даному випадку є: піровиноградна і молочна кислоти; проміжні компоненти циклу Кребса; глікогенутворюючі амінокислоти, тобто ті амінокислоти які можуть перетворюватися на піровиноградну кислоту, в проміжні продукти циклу Кребса або в пропіоніл-КоА і нарешті гліцерин, який утворюється в обміні ліпідів.

Такого роду синтез глікогену, який відбувається головним чином в печінці і нирках, називають **гліконеогенезом**. Цей процес дозволяє поповнювати резерви глікогену, але у разі потреби ланцюг перетворень не доходить до глікогену, а закінчується на глюкозо-6-фосфаті, який гідролізується до глюкози, що поступає далі через кров до клітин.

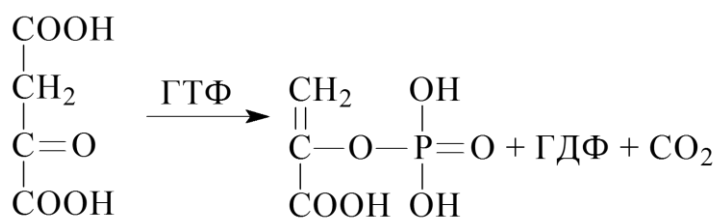
Ланцюг, що починається з піровиноградної кислоти. Гліконеогенез – це оборотний гліколізу процес, де два етапи каталізуються в протилежних напрямках не одними і тими ж, а різними ферментами. Ці етапи мають принципове значення.

Біосинтез фосфоенолпіровиноградної кислоти з піровиноградної кислоти. Цей синтез не може ефективно здійснюватися безпосередньо в прямому напрямку через дуже високий енергетичний бар'єр реакції, тому він відбувається в два етапи:

1) карбоксилювання піровиноградної кислоти до щавелевооцтової кислоти, реакцію каталізує фермент піруваткарбоксилаза. Ця реакція відбувається в мітохондріях. Фермент є тетрамером, до його складу входять чотири молекули біотину:



2) фосфорилуюче декарбоксилювання. Щавелевооцтова кислота декарбоксилюється, приєднуючи фосфат (ГТФ або ПТФ) з утворенням фосфоенолпіровиноградної кислоти, реакцію каталізує фосфоенолпіруваткарбоксикіназа:



ГТФ (або ПТФ) ресинтезується за рахунок АТФ. Таким чином, на синтез фосфоенолпіровиноградної кислоти, витрачається дві молекули АТФ.

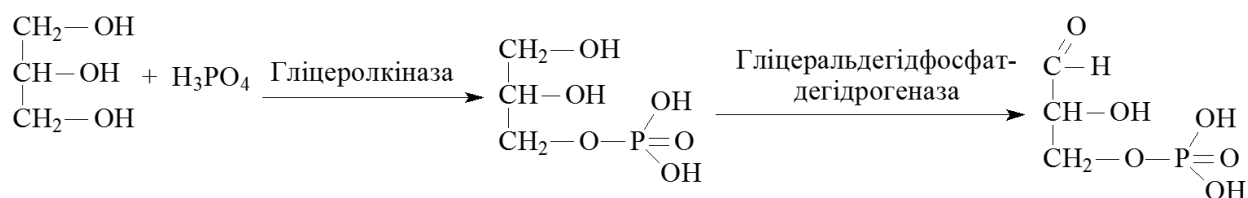
Дефосфорилування фруктозо-1,6-дифосфата до фруктозо-6-фосфата. Фруктозо-1,6-дифосфат гідролізується на фруктозо-6-фосфат і фосфорну кислоту. Реакцію каталізує фермент фруктозодифосфатаза. Цей фермент, виділений з печінки, вдалося отримати в кристалічній формі. Він утворений двома субодинаціями, його молекулярна маса 127000. Фермент каталізує реакцію:



Реакцію у зворотному напрямку каталізує фосфофруктокіназа у присутності АТФ. Активністю обох ферментів, діючих на одні і ті ж субстрати, але каталізуючих реакції, що йдуть в протилежних напрямках, управляють алостеричні інгібітори: фосфофруктокіназу гальмує АТФ; фруктозодифосфатазу – АМФ. Решта ферментів ланцюга гліколізу діє оборотно і бере участь однаково як при гліколізі, так і при гліконеогенезі.

Ланцюг, що починається з щавелевооцтової кислоти. Щавелевооцтова кислота є попередником фосфоенолпіровиноградної кислоти. В той же час вона є продуктом окислення ацетил-КоА у циклі Кребса. Тому, всі проміжні продукти циклу Кребса можуть служити попередниками глюкози і глікогену, а також, всі амінокислоти, які здатні перетворюватися в компоненти циклу Кребса, є глікогенутворюючими амінокислотами. Таким чином, щавелевооцтова кислота відіграє фундаментальну роль в гліконеогенезі, оскільки через неї в ланцюг біосинтезу глікогену і глюкози вступають піровиноградна кислота, проміжні продукти циклу Кребса і глікогенутворюючі амінокислоти.

Ланцюг, що починається з гліцерину. Гліцерин входить в ланцюг синтезу глікогену через реакцію:



У такий спосіб гліцерин теж виявляється попередником глікогену.

Гліконеогенез є фізіологічно важливим процесом, оскільки глюкоза абсолютно необхідна для клітин.

Разом з тим завдяки цьому процесу не обов'язково, щоб глюкоза входила до складу їжі – у разі відсутності в раціоні вуглеводів як попередники глікогену і глюкози можуть виступати білки. Відповідні реакції контролюються гормоном кори наднирників гідрокортизоном, а також панкреатичним гормоном глюкагоном.

13.3 Розпад глікогену

Глікоген – лабільна сполука. Протягом доби в організмі людини і тварин синтезується і розщеплюється 65 – 70% глікогену печінки.

Зменшення вмісту цукру в крові рефлекторно призводить до розпаду глікогену в печінці і нормалізації вмісту глюкози в крові. Ці процеси регулюються гормонально (синтез – інсуліном, розпад – адреналіном і глюкагоном).

Розщеплення глікогену здійснюється двома шляхами: фосфоролізом і гідролізом. Велика частина глікогену розщеплюється фосфоролітичним шляхом. Так, під впливом ферменту фосфорилази відбувається поступове зменшення молекули глікогену з утворенням глюкозо-1-фосфата.

Бічні відгалуження молекули глікогену відщеплюються під впливом гідролітичного ферменту аміло-1,6-глюкозидази.

Далі глюкозо-1-фосфат під впливом ферменту фосфоглюкомутази перетворю-

ється в глюкозо-6-фосфат. Глюкозо-6-фосфат під впливом ферменту глюкозо-6-фосфатази розщеплюється до глюкози і неорганічного фосфату (H_3PO_4). Глюкоза поступає в кровоносне русло, а неорганічний фосфат використовується для реакцій фосфорилювання.

Деяка частина глікогену розщеплюється гідролітично під впливом ферменту амілази з утворенням декстринів і мальтози:



Потім під впливом ферменту мальтази мальтоза розщеплюється до глюкози, яка поступає в кровоносне русло:



Реакції фосфоролізу глікогену оборотні. Їх швидкість залежить від вмісту глікогену, глюкозо-6-фосфата і H_3PO_4 . Так, при збільшенні концентрації глюкозо-6-фосфата реакція йде у напрямі утворення глікогену. Глюкоза крові в основному використовується для енергетичних потреб організму.

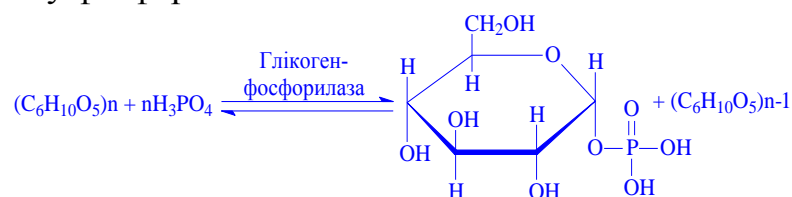
У тканинах і клітинах основними енергетичними перетвореннями вуглеводів є: анаеробне розщеплення, цикл трикарбонових кислот Кребса і пентозофосфатний шлях (ПФШ), або пентозний цикл. Всі три процеси взаємозв'язані, оскільки в кожному з них є загальні для всього проміжного обміну вуглеводів продукти хімічних реакцій, і беруть участь одні і ті ж ферментативні системи.

13.4 Анаеробне розщеплення вуглеводів

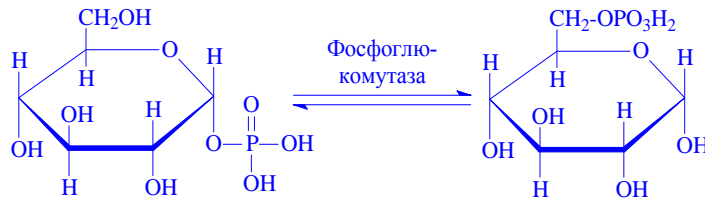
Цей процес протікає в органах, тканинах і клітинах живого організму без участі кисню. Його основні реакції схожі з хімізмом спиртового бродіння, названого Л. Пастером „життям без кисню”. Відмінності полягають в наступному: при спиртовому бродінні вуглеводів кінцевими продуктами є етанол і CO_2 , а при анаеробному розщепленні – молочна або піровиноградна кислоти.

Анаеробне розщеплення вуглеводів може починатися фосфоролітичним розщепленням глікогену (**глікогеноліз**) або фосфорилюванням глюкози (**гліколіз**). У скелетній мускулатурі обидва процеси виражені однаковою мірою, в головному мозку і міокарді переважає гліколіз. Анаеробне розщеплення супроводжується утворенням у тканинах і клітинах АТФ – сполуки з великим запасом енергії.

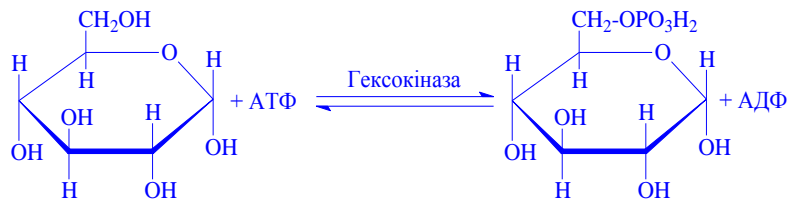
Фосфоролітичне розщеплення глікогену до глюкозо-1-фосфата відбувається під впливом ферменту фосфорилази:



Під впливом ферменту фосфоглюкомутази глюкозо-1-фосфат перетворюється в глюкозо-6-фосфат:

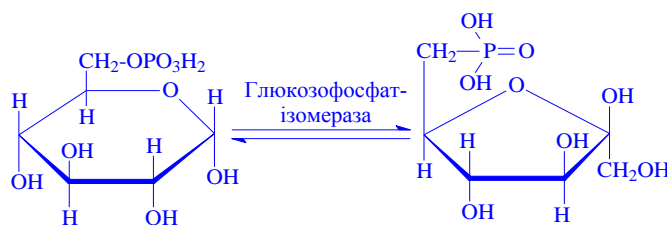


Якщо процес починається з глюкози, то її фосфорилювання відбувається під впливом ферменту фосфоглюкокінази з утворенням глюкозо-6-фосфата:

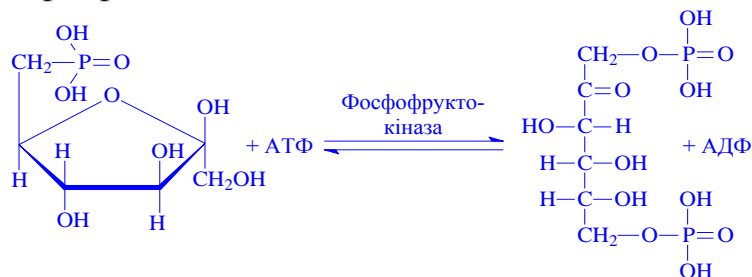


Подальші етапи глікогенолізу і гліколізу подібні і можуть розглядатися спільно.

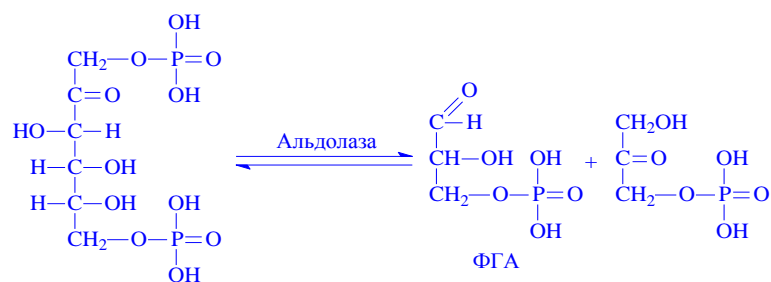
1. Глюкозо-6-фосфат під дією ферменту глюкозофосфатізомерази перетворюється у фруктозо-6-фосфат. Між обома ефірами встановлюється рівновага при вмісті 70% глюкозо-6-фосфата і 30% фруктозо-6-фосфата:



2. Під впливом фосфофруктокінази, за наявності АТФ та йонів Mg^{2+} , утворюється фруктозо-1,2-дифосфат:



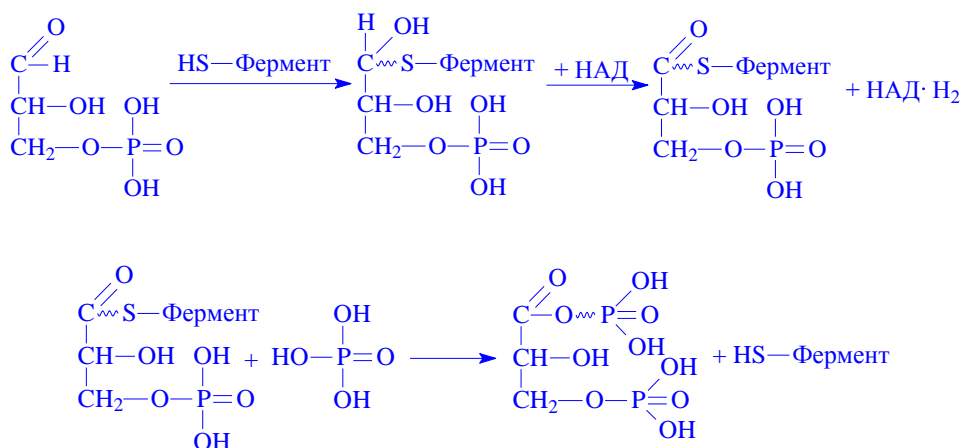
3. Наявність двох залишків фосфату на протилежних кінцях молекули гексози призводить до різкого ослаблення зв'язків між третім і четвертим атомами вуглецю. В результаті цього вуглевод легко розщеплюється на дві фосфотріози під впливом ферменту альдолази:



При цьому утворюється 3-фосфогліцеринний альдегід (ФГА) – 3% і діоксiacетонфосфат – 97%, який таутомеризується в 3-фосфогліцеринний альдегід:



4. 3-Фосфогліцеринний альдегід під впливом ферменту гліцeralьдегідфосфатдегідрогенази та НАД вступає в реакцію окисредукції, що призводить до утворення макроергічного зв'язку, а потім 1,3-дифосфогліцеринної кислоти:



5. 1,3-Дифосфогліцеринна кислота під впливом ферменту фосфогліцераткінази віддає свій макроергічний зв'язок АДФ:



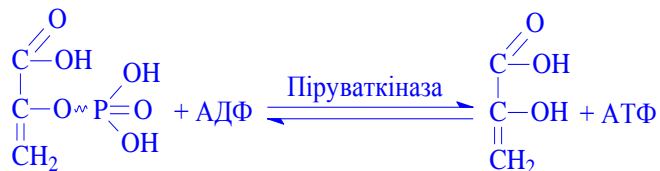
6. 3-Фосфогліцеринна кислота під впливом ферменту фосфогліцеромутази перетворюється на 2-фосфогліцеринну кислоту:



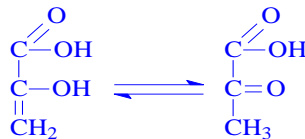
7. 2-Фосфогліцеринава кислота, під впливом ферменту фосфопіруватгідратази у присутності іонів Mg^{2+} , втрачає молекулу води, перетворюючись на енольну форму фосфопіровиноградної кислоти, яка містить макроергічний зв'язок:



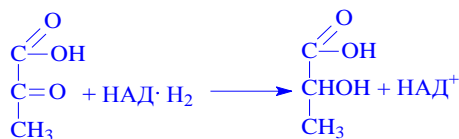
8. Фосфопіровиноградна кислота під впливом ферменту піруваткінази за наявності іонів Mg^{2+} і K^+ , віддає свій макроергічний зв'язок АДФ, перетворюючись на енольну форму піровиноградної кислоти:



Енольна форма піровиноградної кислоти таутомеризується в кетоформу:



9. При недостатній кількості кисню піровиноградна кислота під дією ферменту лактатдегідрогенази і за наявності $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$ перетворюється на молочну кислоту, яка є кінцевим продуктом анаеробного розпаду вуглеводів в тканинах:



Реакції гліколізу (глікогенолізу) часто поділяють на дві стадії. На першій стадії відбувається енергозалежний процес фосфорилювання глюкози та її розкладання на дві тривуглецеві сполуки – фосфотріози. Реакції першої стадії **ендергонічні**, вони проходять з поглинанням енергії АТФ. Цю стадію вважають підготовчою.

Як видно з наведених вище рівнянь хімічних реакцій, під час гліколізу з однієї молекули глюкози утворюється дві молекули фосфотріоз. Кожна з них у процесі перетворення на молочну кислоту зумовлює утворення двох молекул АТФ, тобто всього утворюється чотири молекули АТФ. Однак дві з них використовуються для фосфорилювання глюкози (гексокіназна реакція) та утворення фруктозо-1,6-дифосфату (фруктокіназна реакція), тому енергетична ефективність гліколізу ста-

новить дві молекули АТФ. Оскільки в макроергічному зв'язку АТФ акумулюється в середньому 42 кДж енергії, то всього під час гліколізу нагромаджується 84 кДж енергії

Друга стадія гліколізу (глікогенолізу) забезпечує перетворення фосфотріоз на кінцевий продукт – молочну кислоту. В зв'язку зі специфічністю частини реакцій, які відбуваються на цій стадії, вони дістали назву **гліколітичної оксиредукції**. В процесі утворення молочної кислоти синтезується також макроергічна сполука АТФ, тобто друга стадія гліколізу проходить з виділенням енергії і є **екзергонічним** процесом. Експериментально встановлено, що внаслідок перетворення глюкози у дві молекули молочної кислоти зміна вільної енергії дорівнює 210 кДж/моль. На основі цього неважко обчислити, що під час гліколізу близько 40 % вивільненої енергії акумулюється в макроергічних зв'язках АТФ, а решта розсіюється у вигляді теплоти. Отже, коефіцієнт корисної дії гліколізу становить 0,35 – 0,40. Загальну схему можна записати так:



Під час глікогенолізу також утворюється чотири молекули АТФ, однак на першій стадії цього процесу використовується лише одна молекула АТФ (у фосфофруктокіназній реакції), тому енергетичний ефект глікогенолізу становить 3 молекули АТФ, або 126 кДж/моль.

Для організму і гліколіз, і глікогеноліз не вигідні, оскільки для компенсування енергетичних витрат необхідна велика кількість вуглеводів. Однак як фізіологічні процеси вони досить важливі, оскільки дають змогу забезпечити організм енергією за умов недостатнього постачання тканин киснем.

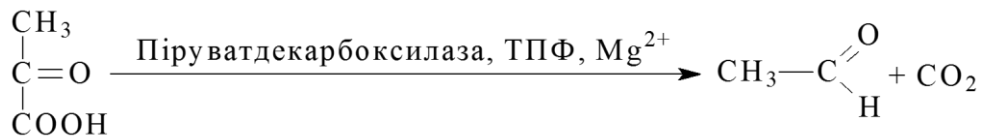
Під час вивчення енергетичних ефектів окремих реакцій анаеробного перетворення вуглеводів було встановлено, що більшість реакцій цього процесу близькі до рівноваги і можуть проходити як у прямому, так і в зворотному напрямках.

13.5 Спиртове бродіння

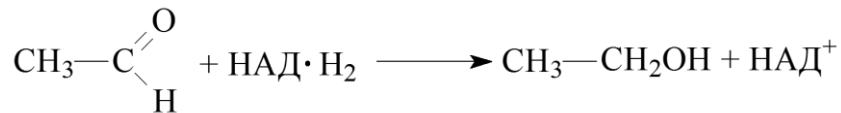
У нижчих організмів – дріжджових і цвілевих грибів, деяких мікроорганізмів – процес анаеробного перетворення вуглеводів завершується утворенням етилового спирту, тому він дістав назву спиртового бродіння:



Хімізм цього процесу досить близький до гліколізу, який протікає в тканинах вищих організмів. Усі стадії перетворення глюкози до утворення піровиноградної кислоти включно в обох випадках проходять однаково і каталізуються одними і тими самими ферментними системами. Відмінність між цими процесами виявляється, починаючи з етапу перетворення піровиноградної кислоти. Так, під час гліколізу і глікогенолізу піровиноградна кислота відновлюється до молочної, а під час спиртового бродіння вона піддається декарбоксилуванню і перетворюється на оцтовий альдегід:



Фермент піруватдекарбоксілаза, що каталізує цю реакцію, містить у вигляді простетичної групи тіамінпірофосфат. Утворений за цією реакцією оцтовий альдегід далі за участю НАД·Н₂ відновлюється до кінцевого продукту спиртового бродіння – етилового спирту Реакцію каталізує алкогольдегідрогеназа:



Слід зазначити, що деяким мікроорганізмам властиві специфічні шляхи утилізації тривуглецевих сполук, які утворюються під час розкладання глюкози. Тому крім спиртового бродіння існують також інші його види: молочнокисле, пропіоновокисле, ацетоетилове, маслянокисле тощо.

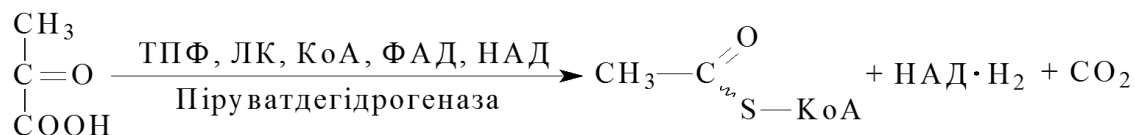
Під час молочнокислого бродіння у бактеріях піровиноградна кислота відновлюється до молочної, подібно як під час гліколізу в тканинах вищих організмів. Відома також інша група молочнокислих бактерій, які здатні перетворювати кожен молекулу глюкози в молекулу молочної кислоти, молекулу етанолу і СО₂. Це так зване гетероферментативне (змішане) молочнокисле бродіння.

13.6 Аеробне перетворення вуглеводів

Аеробне й анаеробне перетворення вуглеводів тісно зв'язані між собою. Це насамперед виявляється в тому, що обидва процеси проходять однаково включно до стадії утворення піровиноградної кислоти. В них беруть участь одні й ті самі ферменти та утворюються однакові проміжні продукти. Відмінність між анаеробним і аеробним розкладанням вуглеводів починається з перетворення піровиноградної кислоти.

Якщо вуглеводи перетворюються в анаеробних умовах, то піровиноградна кислота, як уже зазначалося, відновлюється до молочної кислоти. При перетворенні вуглеводів в аеробних умовах піровиноградна кислота піддається декарбоксілюванню з утворенням ацетил-КоА, який далі окислюється до кінцевих продуктів – СО₂ і Н₂О з виділенням значної кількості енергії, що акумулюється в молекулах АТФ.

Процес перетворення піровиноградної кислоти до ацетил-КоА дістав назву **окислювального декарбоксілювання**. Каталізується він складним поліферментним комплексом – піруватдегідрогеназою, який пов'язаний з дією п'яти коферментів: тіамінпірофосфату, ліпоєвої кислоти, коензиму А, НАД і ФАД. Дослідженнями доведено, що окислювальне декарбоксілювання піровиноградної кислоти в тканинах організмів людини і тварин проходить лише в аеробних умовах. Загальну схему можна подати так:

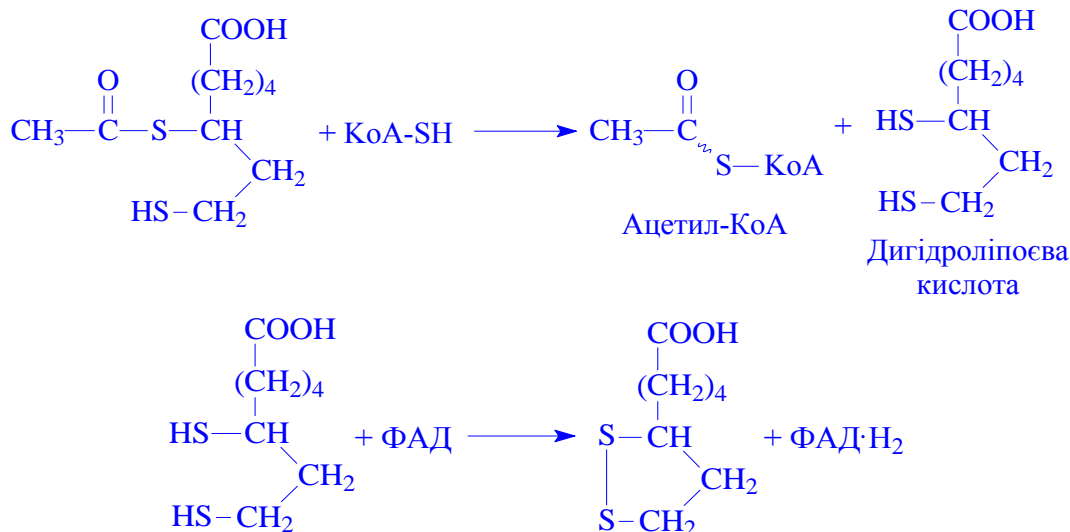


У зв'язку зі значним зменшенням вільної енергії ця реакція є необоротною. Вона проходить у декілька стадій.

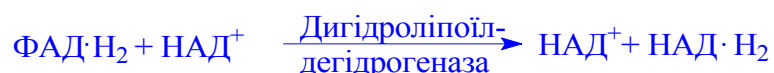
На першій стадії пірвіноградна кислота взаємодіє з тіамінпірофосфатом з утворенням проміжної сполуки, де вона перебуває в активному стані. Далі під каталітичною дією піруватдекарбоксілази пірвіноградна кислота, що входить до складу тіамінпірофосфату, декарбоксілується.

В результаті цієї реакції утворюється оксіетилтіамінпірофосфат, який під впливом ферменту ліпоїлредуктази ацетил-трансферази, коферментом якого є ліпоєва кислота, розкладається на вільний тіамінпірофосфат і ацетилліпоєву кислоту. Ацетилліпоєва кислота утворюється внаслідок переходу залишку оцтової кислоти від оксіетилтіамінпірофосфату до ліпоєвої кислоти:

З ацетилліпоєвої кислоти залишок ацетилу далі переноситься на КоА-SH. Продуктами реакції є ацетил-КоА і дигідроліпоєва кислота. Слід підкреслити, що дигідроліпоєва кислота під впливом ФАД здатна переходити у ліпоєву кислоту:



За цих умов відновлений ФАД передає атоми водню на окислений НАД:



Відновлений НАД, що утворився, за допомогою цитохромної системи окислюється киснем повітря:



У результаті окислення, спряженого з процесами фосфорилювання, синтезується три молекули АТФ, тобто акумулюється 126 кДж енергії.

Частина ацетил-КоА, що утворився під час декарбосиловання піровиноградної кислоти, використовується для синтезу жирів, вуглеводів та інших сполук, а інша вступає в цикл трикарбонних кислот, де окислюється до CO_2 і H_2O . При цьому вивільнюється певна кількість енергії.

13.7 Цикл трикарбонних кислот Кребса (ЦТК)



Кребс Ганс

Кребс Ганс (Krebs Hans Adolf, рід. В 1900 р) - англійський біохімік, член Лондонського королівського товариства (1947) і Національної академії наук США (1964), лауреат Нобелівської премії (1953).

У 1937 р, вивчаючи проміжні стадії обміну вуглеводів, *Кребс* зробив друге важливе відкриття у біохімії. Він описав *цикл лимонної кислоти*, або *цикл трикарбонних кислот*, який в даний час називається циклом Кребса. Цей цикл являє собою загальний кінцевий шлях розпаду вуглеводів, білків і жирів до вуглекислого газу та води і є головним джерелом енергії для більшості живих організмів.

У більш ранніх роботах *Альберта Сент-Дьюорды*, *Франца Кнооп*, *Карла Мартіусом* та інших дослідників було показано, що у присутності кисню лимонна кислота (шестиатомна трикарбонна кислота) у результаті послідовних реакцій перетворюється у щавлевооцтову кислоту і вуглекислий газ.

Відкриття *циклу Кребса* дозволяє зрозуміти, яким чином з поживних речовин в організмі виробляється енергія. Кребс експериментальним шляхом довів, що при окисненні піровиноградної кислоти утворюється проміжне з'єднання - ацетил-Коензим А. (Коензим, або кофермент - складова частина ферменту, необхідна для його каталітичної активності.) Крім того, він відкрив, що при цьому окисненні виділяється вуглекислий газ і утворюються інші кислоти; весь цей процес триває до залучення наступної молекули коензиму А. Відкриття циклічного принципу проміжних обмінних реакцій стало віхою у розвитку біохімії та у розумінні різних шляхів метаболізму.

У 1953 р Кребсу була присуджена *Нобелівська премія з фізіології і медицини* «за відкриття циклу лимонної кислоти». Він розділив цю премію з Фріцем Ліпманом. *У Нобелівській промові вчений підвів підсумки своїх відкриттів у області циклу лимонної кислоти. «Наявність одного і того ж механізму утворення енергії у всіх живих істот дозволяє зробити ще два висновки, - відмітив у своїй промові Кребс:*

- «По-перше, цей механізм виник на дуже ранніх етапах еволюції, і, по-друге, життя в його теперішньому вигляді зародилася лише одного разу».

ЦИКЛ ТРИКАРБОННИХ КИСЛОТ (цикл Кребса, цитратний цикл, ЦТК) – цикл перетворення ди- і трикарбонних кислот — кінцева стадія окиснювального катаболізму, в якому відбувається повне «згорання» до

CO₂ та H₂O активної форми оцтової кислоти (ацетил-КоА). Процес супроводжується виділенням енергії, частина якої акумулюється в макроергічних зв'язках АТФ. ЦТК є центральною ланкою обміну, в якому концентруються практично всі шляхи метаболізму.

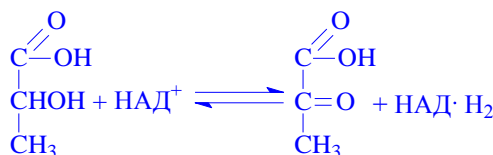
ЦТК відбувається в матриксі мітохондрій. Окиснення ацетил-КоА в циклі Кребса здійснюється протягом кількох стадій, які складаються з восьми послідовних реакцій. Основна маса хімічної енергії вуглеводів звільняється в аеробних умовах за участю кисню.

Між анаеробним і аеробним розщепленням вуглеводів існує тісний зв'язок. Перш за все це виявляється в наявності загальної зв'язуючої ланки – пірвіноградної кислоти, якою завершується анаеробне розщеплення вуглеводів і починається клітинне дихання. Обидві фази каталізують одні і ті ж ферменти (дегідрогенази, кінази, ін.). Хімічна енергія, яка вивільняється при фосфорилуванні, резервується у вигляді макроергів АТФ. У хімічних реакціях беруть участь одні і ті ж коферменти (НАД, НАДФ) і катіони. Відмінності полягають в наступному. Якщо ферменти анаеробного розщеплення вуглеводів локалізуються в гіалоплазмі, то реакції клітинного дихання протікають переважно в мітохондріях – енергетичних підстанціях клітини. За певних умов виявляється антагонізм між обома фазами. Так, у присутності кисню швидкість реакцій гліколізу різко зменшується (**ефект Пастера**). Продукти гліколізу можуть гальмувати аеробний обмін вуглеводів (**ефект Кребтрі**).

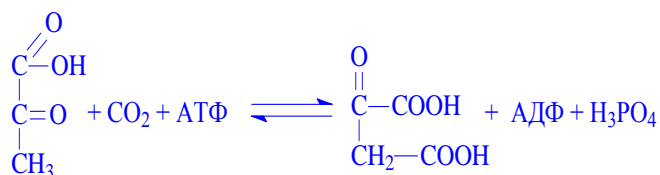
У ході клітинного дихання утворюється „носій” – щавелевооцтова кислота (ЩОК). Далі відбувається конденсація з „носієм” активованого залишку оцтової кислоти. Утворюється трикарбонова кислота – лимонна. В ході хімічних реакцій відбувається кругообіг залишку оцтової кислоти в циклі. Під час функціонування циклу мають місце процеси дегідрування і декарбоксилування. З кожної молекули пірвіноградної кислоти утворюється 18 молекул АТФ. В кінці циклу звільняється „носій”, який вступає в реакцію з новими молекулами активованого залишку оцтової кислоти.

Розглянемо послідовність реакцій ЦТК:

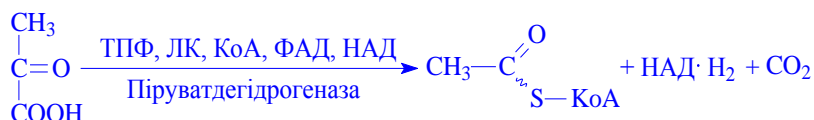
1. Якщо кінцевим продуктом анаеробного розщеплення вуглеводів є молочна кислота, то під впливом лактатдегідрогенази вона окислюється в пірвіноградну кислоту:



2. Частина молекул пірвіноградної кислоти йде на синтез „носія” ЩОК під впливом ферменту пірваткарбоксілази і присутності іонів Mg²⁺:

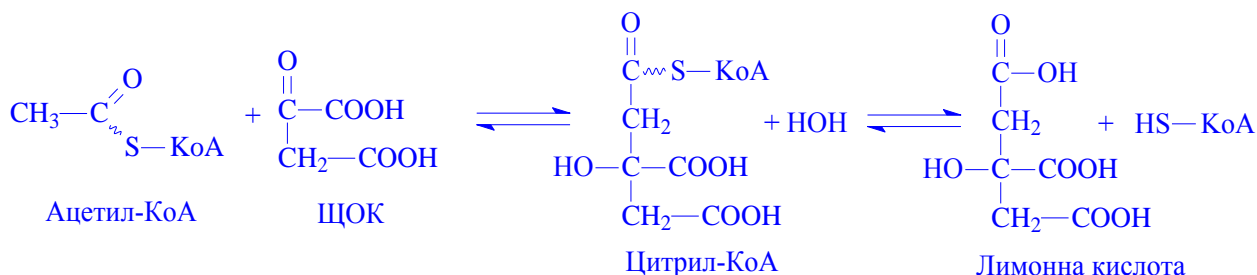


3. Інша частина молекул піровиноградної кислоти служить джерелом утворення „активного ацетату” (окислювальне декарбоксілювання) – ацетилкоензиму А (ацетил-КоА). Реакція протікає під впливом піруватдегідрогенази:

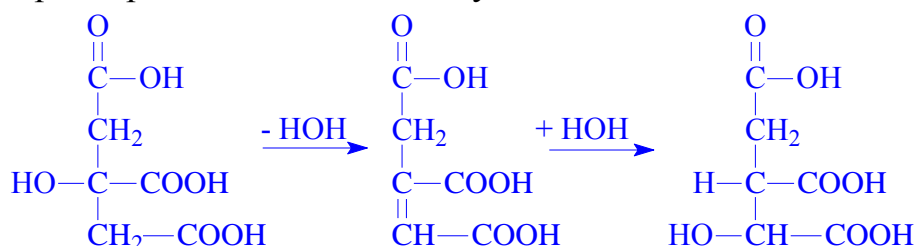


Ацетил-КоА має в своїй молекулі макроергічний зв'язок, в якому акумулюється близько 5–7% енергії. Основна маса хімічної енергії утворюється в результаті окислення „активного ацетату”.

4. Під впливом цитратсинтази починає функціонувати власне цикл трикарбонових кислот, що призводить до утворення лимонної кислоти:

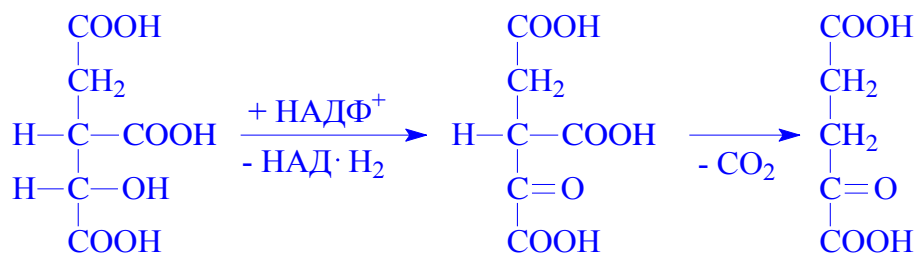


5. Лимонна кислота під впливом ферменту аконітатгідратази дегідується і перетворюється на *цис*-аконітову кислоту, яка після приєднання молекули води перетворюється в ізолимонну:

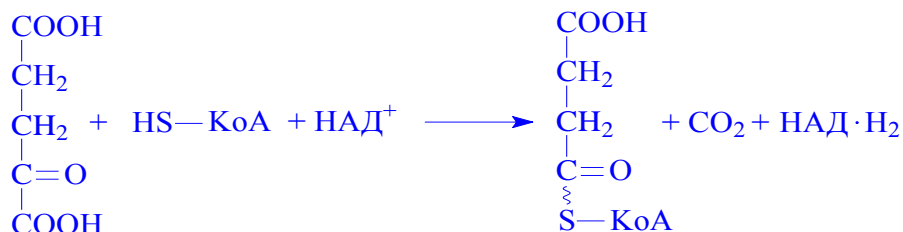


Між трьома трикарбоновими кислотами встановлюється динамічна рівновага. Наступні реакції протікають за рахунок ізолимонної кислоти, на яку перетворюються дві інші.

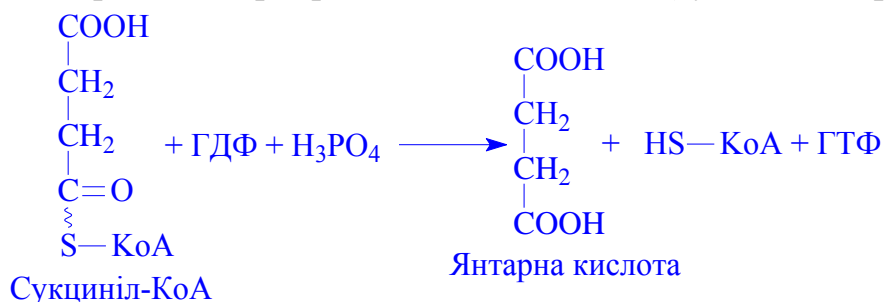
6. Ізолимонна кислота окислюється в щавелевоянтарну кислоту, яка декарбоксілюється і перетворюється в α -кетоглутарову кислоту. Реакцію каталізує фермент ізоцитратдегідрогеназа:



7. α -Кетоглутарова кислота під впливом ферменту 2-оксо-(α -кето)-глутаратдегідрогенази декарбоксилюється, внаслідок чого утворюється сукциніл-КоА, що містить макроергічний зв'язок:



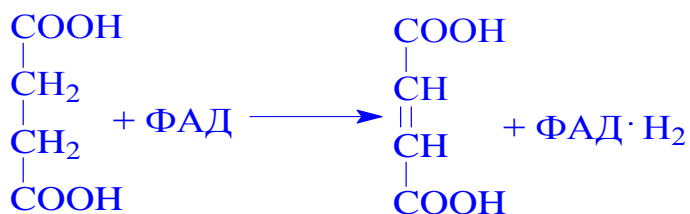
8. На наступній стадії сукциніл-КоА під впливом ферменту сукциніл-КоА – синтетази передає макроергічний зв'язок ГДФ (гуанозиндифосфату):



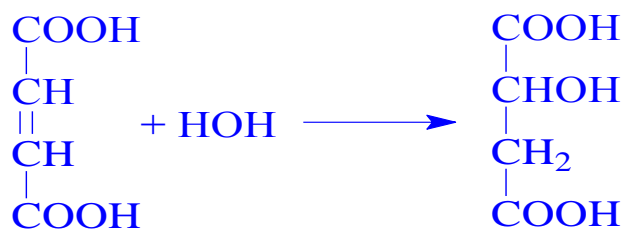
ГТФ під впливом ферменту ГТФ-аденілаткінази віддає макроергічний зв'язок АМФ:



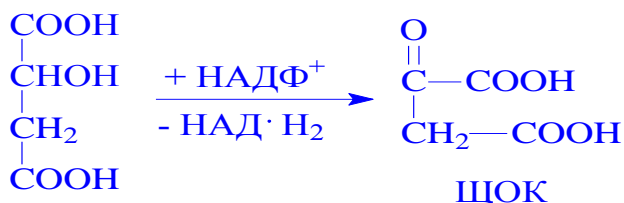
9. Янтарна кислота під впливом ферменту сукцинатдегідрогенази (СДГ) окислюється до фумарової. Коферментом СДГ є ФАД:



10. Фумарова кислота під впливом ферменту фумаратгідратази перетворюється на яблучну:



11. Яблучна кислота під впливом ферменту малатдегідрогенази (МДГ) окислюється, утворюючи ЩОК:



За наявності в реагуючій системі ацетил-КоА ЩОК знову включається в цикл трикарбонових кислот (див. 4-у стадію).

Таким чином, відносно невелика кількість щавелевооцтової кислоти, вступаючи кілька разів у реакцію конденсації з ацетил-КоА, забезпечує окислення значної кількості оцтової кислоти, яка утворюється в процесі обміну не тільки вуглеводів, а й ліпідів і білків. Внаслідок усіх перетворень циклу Кребса оцтова кислота у вигляді ацетил-КоА розкладається на CO_2 і H_2O :



Як видно з рівнянь реакцій, у циклі Кребса утворюється чотири молекули відновлених форм коферментів: одна молекула $\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$, дві молекули $\text{НАД} \cdot \text{H}_2$ і одна молекула $\text{ФАД} \cdot \text{H}_2$. При цьому доведено, що під час окислення однієї молекули $\text{НАД} \cdot \text{H}_2$ або $\text{НАДФ} \cdot \text{H}_2$ шляхом відщеплення атома водню в ланцюгу дихальних ферментів синтезується три молекули АТФ. Внаслідок окислення $\text{ФАД} \cdot \text{H}_2$ утворюється дві молекули АТФ. Отже, всього під час окислення відновлених форм коферментів утворюється $3 \times 3 + 2 = 11$ молекул АТФ. Крім того, одна молекула АТФ утворюється на рівні субстрату під час перетворення сукциніл-КоА в янтарну кислоту.

У процесі перетворення однієї молекули ацетил-КоА в циклі трикарбонових кислот синтезується $11 + 1 = 12$ молекул АТФ. Разом з тим три молекули АТФ синтезуються внаслідок окислення однієї молекули $\text{НАД} \cdot \text{H}_2$, яка утворюється в процесі перетворення піровиноградної кислоти до ацетил-КоА. Всього в процесі перетворення однієї молекули піровиноградної кислоти до ацетил-КоА і останнього до CO_2 і H_2O синтезується $12 + 3 = 15$ молекул АТФ. Оскільки з однієї молекули глюкози утворюється дві молекули піровиноградної кислоти, то всього утворюється $15 \times 2 = 30$ молекул АТФ. Крім того, 6 молекул АТФ утворюється внаслідок окислення двох молекул $\text{НАД} \cdot \text{H}_2$, які вивільнюються під час гліколітичної оксиредукції, і дві молекули синтезується в процесі гліколізу. Тому загальний енергетичний ефект аеробного розкладання однієї молекули глюкози до кінцевих

продуктів – CO_2 і H_2O – становить $30 + 6 + 2 = 38$ молекул АТФ. Оскільки в одній молекулі АТФ зосереджено 42 кДж енергії, то всього під час аеробного перетворення однієї молекули глюкози акумулюється 1596 кДж енергії. Перетворення однієї молекули глюкози за анаеробних умов, як зазнавалось раніше, дає лише дві молекули АТФ, тобто в макроергічних зв'язках її акумульовано $2 \times 42 = 84$ кДж енергії.

Енергія, що вивільнюється під час окислення оцтової кислоти, акумулюється в макроергічних зв'язках АТФ (схема 13.7.1).

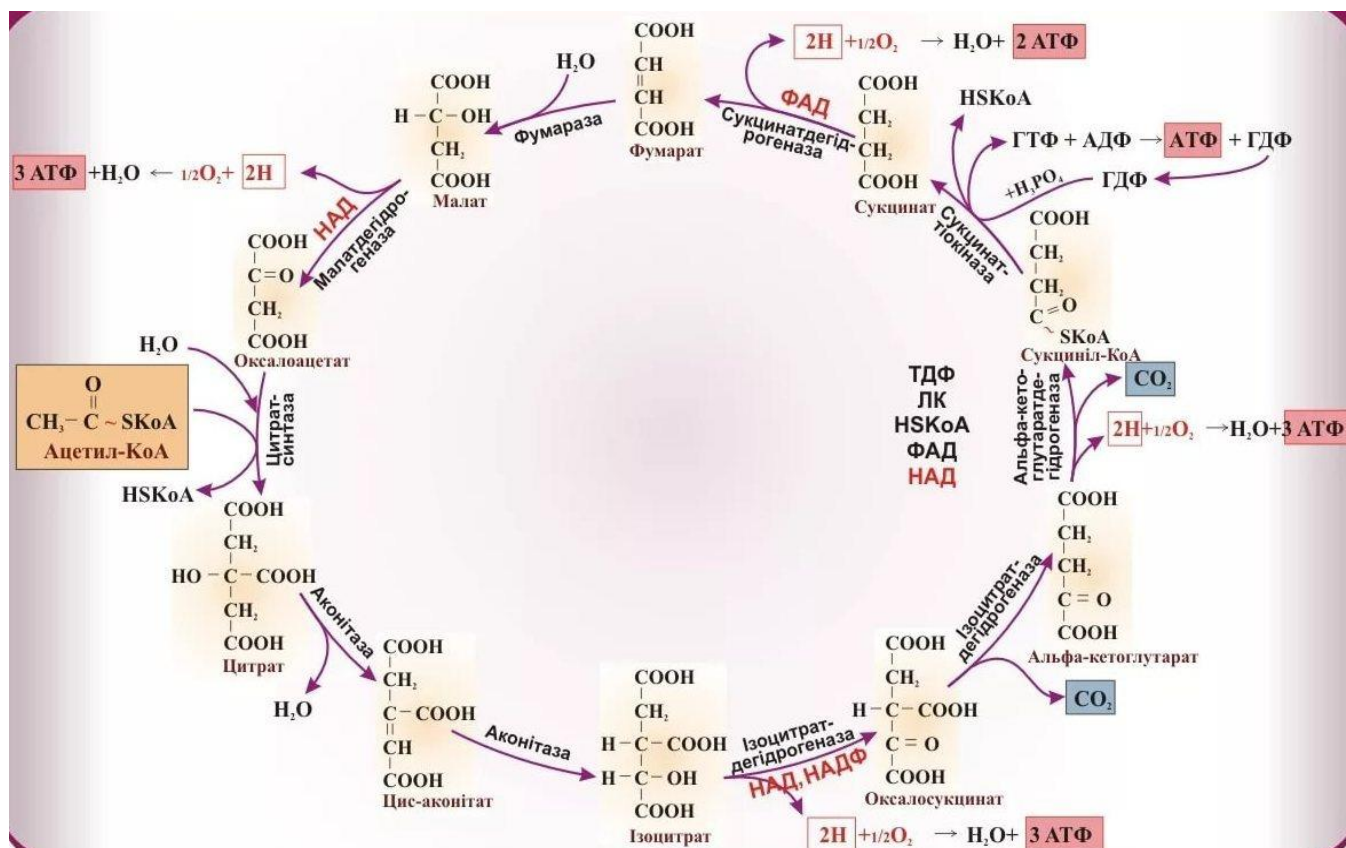


Схема 13.7.1 Цикл трикарбонових кислот Кребса (⊖ – місця гальмування циклу фторацетатом, малонатом, арсенатом)

Отже, основним джерелом енергії для організму є аеробне окислення органічних сполук. Коефіцієнт корисної дії ЦТК рівний 0,5. Решта енергії розсіюється у вигляді теплоти. У ЦТК в середньому окислюється 16 – 33% молочної кислоти, інша частина використовується для ресинтезу глікогену.

13.8 Пентозофосфатний цикл

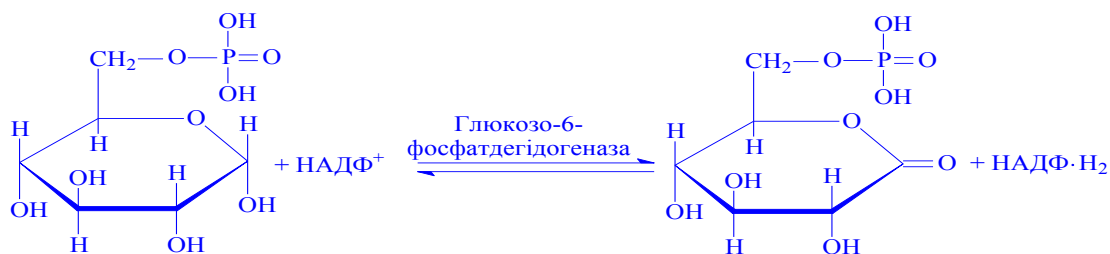
Пентозний цикл – це ланцюг послідовних хімічних перетворень вуглеводів, у результаті якого в тканинах і клітинах звільняється хімічна енергія і утворюються

пентози, необхідні для синтезу нуклеїнових кислот, нуклеотидів і коферментів. Його часто називають **апотомічним циклом**, оскільки при окисленні глюкози відщеплюється один атом вуглецю. Іноді його називають прямим, або гексозомонофосфатним шляхом окислення вуглеводів, оскільки тут глюкозо-6-фосфат піддається прямому окисненню (з відщепленням CO_2) без утворення фруктозо-1,6-дифосфата і двох фосфотріоз.

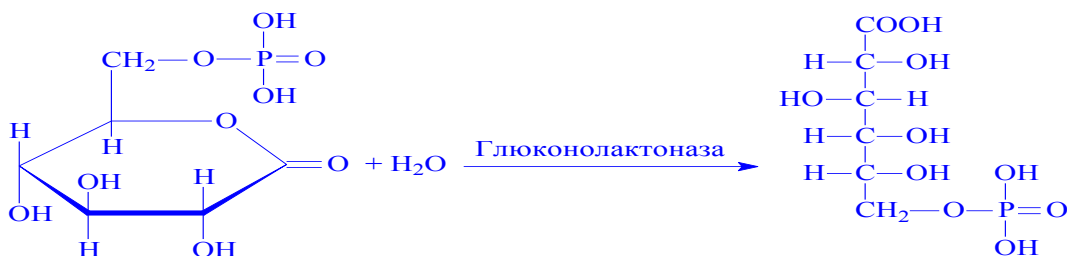
Пентозний цикл дає організму відновлений НАДФ – донор водню для біосинтезу жирних кислот, холестерину, пуринових і піримідинових основ, кетостероїдів, глюкози, ін.

Пентозний цикл складається з таких стадій:

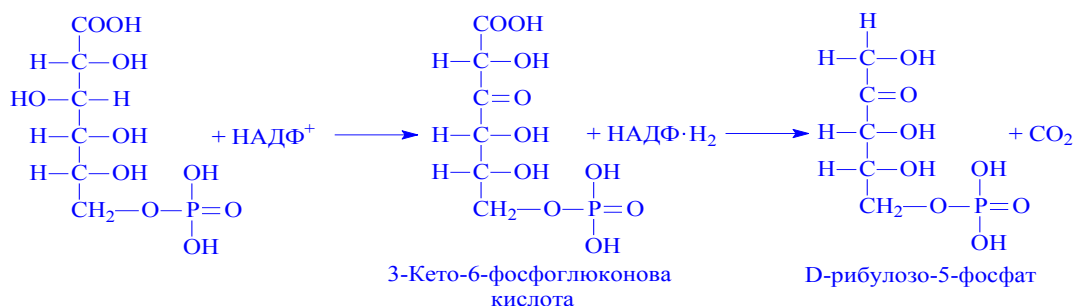
1. Глюкозо-6-фосфат, що утворюється в результаті фосфороліза глікогену або фосфорилювання глюкози, під впливом глюкозо-6-фосфатдегідрогенази окислюється і перетворюється в 6-монофосфоглюкон:



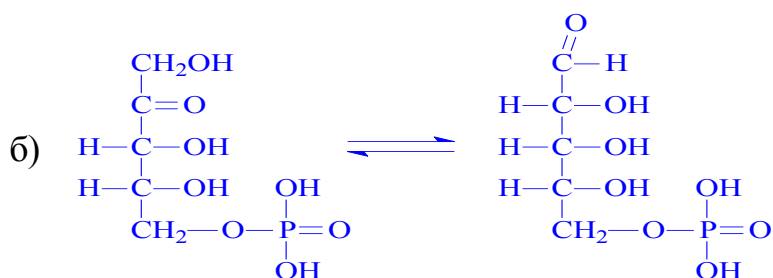
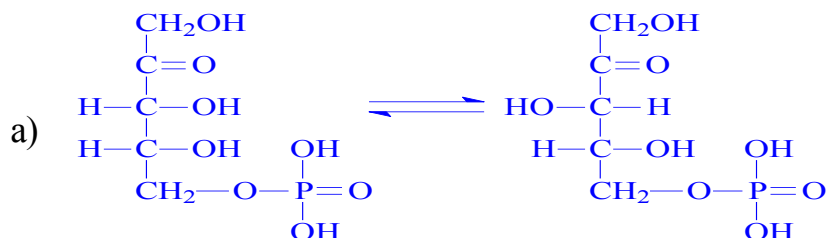
2. 6-Монофосфоглюкон під впливом ферменту глюконолактонази приєднує молекулу води, перетворюючись на 6-фосфоглюконову кислоту:



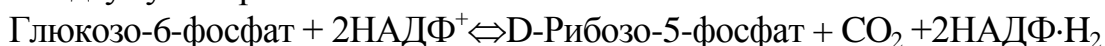
3. 6-Фосфоглюконова кислота за участю фосфоглюконатдегідрогенази піддається окислювальному декарбоксилюванню, що призводить до утворення кетопентози – D-рибулозо-5-фосфата і другої молекули НАДФ·H₂:



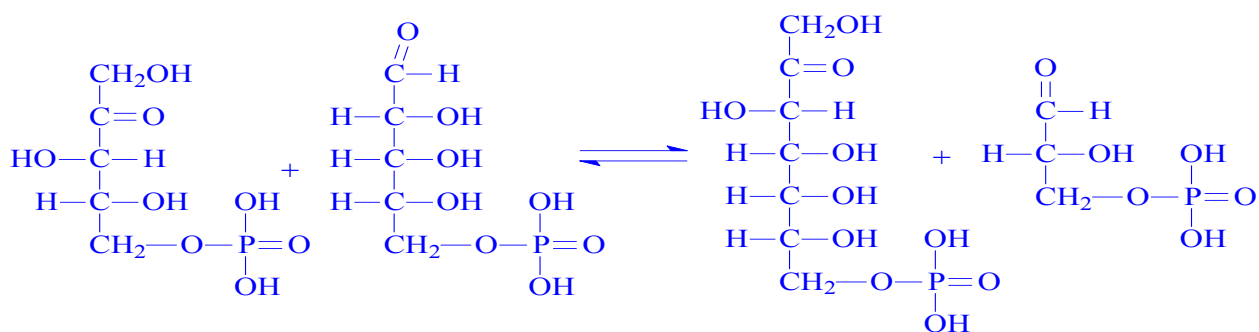
4. D-Рибулозо-5-фосфат під впливом ферменту рибулозофосфат-3-епімерази обернено перетворюється на свій епімер – D-ксилулозо-5-фосфат (а). У деяких випадках D-рибулозо-5-фосфат може обернено перетворюватися на свій альдоізомер – D-рибозо-5-фосфат (б):



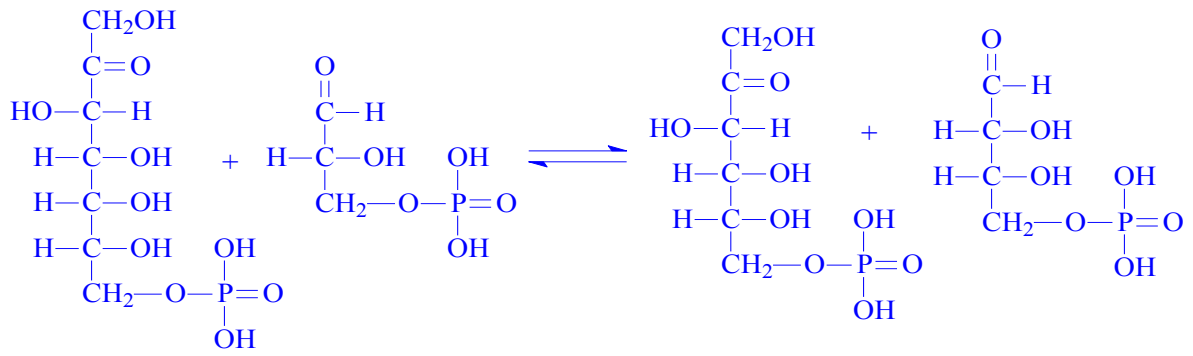
D-Рибозо-5-фосфат використовується клітинами для синтезу РНК і нуклеотидів (АМФ, АДФ, АТФ). Часто пентозний цикл на даній стадії завершується. Його можна підсумувати рівнянням:



5. З D-ксилулозо-5-фосфата і D-рибулозо-5-фосфата під впливом транскетолази може утворюватися D-седогептулозо-7-фосфат і 3-фосфогліцеринний альдегід:

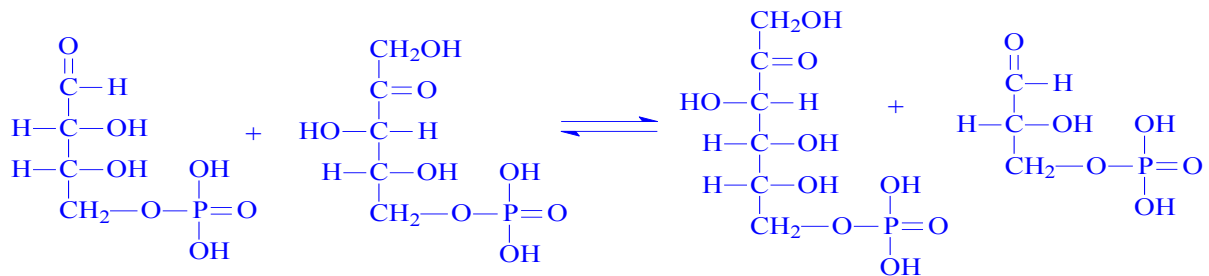


6. 3-Фосфогліцеринний альдегід може включатися в 4-у стадію анаеробного розщеплення вуглеводів або під впливом ферменту трансальдолази взаємодіяти з D-седогептулозо-7-фосфатом, утворюючи фруктозо-6-фосфат і еритрозо-4-фосфат:



Фруктозо-6-фосфат може ізомеризуватися в глюкозо-6-фосфат і вступати в 1-у стадію пентозного циклу або включатися в 2-у стадію анаеробного розщеплення вуглеводів.

7. Еритрозо-4-фосфат під впливом ферменту транскетолази взаємодіє з ксилулозо-5-фосфатом, що призводить до утворення фруктозо-6-фосфата і 3-фосфогліцеринового альдегіду:



Реакції пентозного циклу можна підсумувати рівнянням:



Отже, виходячи із сумарного рівняння, бачимо, що при повному окисленні 1 молекули глюкози утворюється 12 молекул відновленого НАДФ, які в процесі окислення у мітохондріях можуть дати $12 \times 3 = 36$ молекул АТФ. У макроергічних зв'язках 36 молекул АТФ зосереджено $36 \times 42 = 1512$ кДж енергії. Пентозному циклу належить важлива роль в синтезі жирів. Так, у жировій тканині його питома вага складає 50% по відношенню до гліколізу, у печінці – 2,5 – 3 і в м'язовій тканині – 0,3%. Припускають, що останні стадії пентозного циклу забезпечують жирові клітини гліцерином, який утворюється з 3-фосфогліцеринового альдегіду.

Співвідношення між аеробним і анаеробним процесами перетворення вуглеводів в організмі

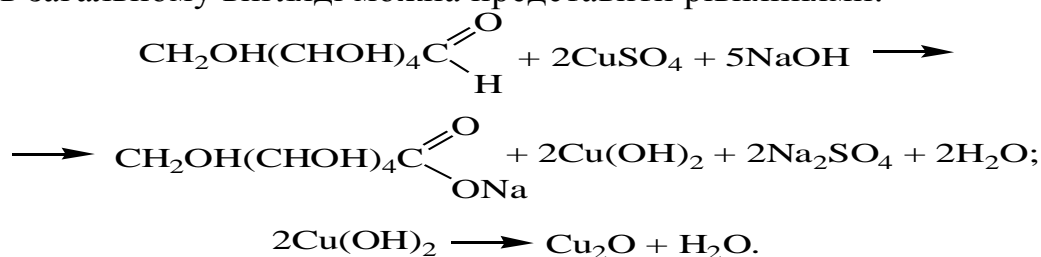
Основним шляхом перетворення вуглеводів у тканинах організму є поєднання анаеробного перетворення (гліколіз і глікогеноліз) і аеробного окислення за циклом трикарбонних кислот. Ці фази перетворення вуглеводів мають багато спільного. Обидва процеси розпочинаються з утворення фос-

форних ефірів глюкози. Крім того, в обох випадках утворюються однакові проміжні продукти (3-фосфогліцеринний альдегід, фосфогліцеринова і фосфоенолпіровиноградна кислота, тощо). Центральною спільною ланкою, яка об'єднує ці процеси, є піровиноградна кислота, наступне перетворення якої залежно від умов може проходити як аеробним, так і анаеробним шляхом. Спряження процесів гліколізу і тканинного дихання зумовлено також тим, що багато реакцій гліколізу та аеробного перетворення вуглеводів каталізуються одними і тими самими ферментами і коферментами – зокрема НАД⁺, НАДФ⁺, ФМН, ФАД та деякими іншими.

13.9 Якісні реакції на вуглеводи

Реакція Троммера

Принцип реакції. Розчини гексоз (наприклад, глюкози або фруктози) в лужному середовищі відновлюють під час нагрівання оксид міді (II) у геміоксид міді, а самі окислюються до альдонових кислот. Цю реакцію за участю глюкози в загальному вигляді можна представити рівняннями:

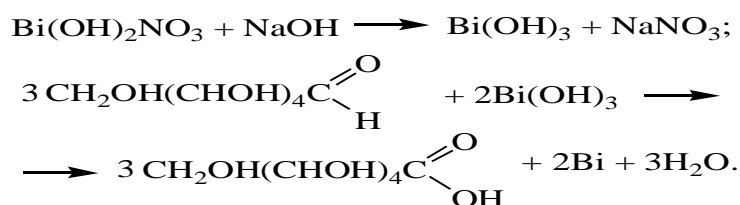


Реакція Фелінга

Принцип реакції. В реактиві Фелінга іони міді (II) перебувають у вигляді комплексної сполуки з тартратами. Механізм реакції гексоз із реактивом Фелінга такий, як і в реакції Троммера. Перевагою реактиву Фелінга є те, що мідь у разі надлишку реактиву не випадає у вигляді окису міді (II).

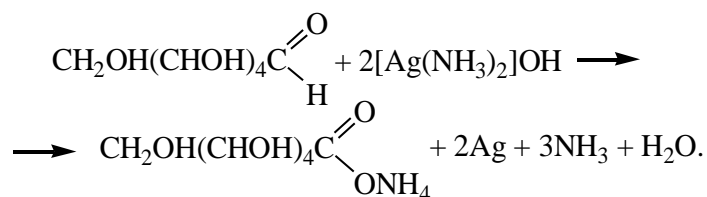
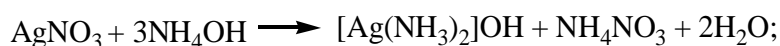
Реакція з солями вісмуту (реакція Ніландера)

Принцип реакції. В лужному середовищі нітрат гідроксиду вісмуту за наявності гексоз відновлюється до металевого вісмуту. Цю реакцію для глюкози можна представити у вигляді таких рівнянь:



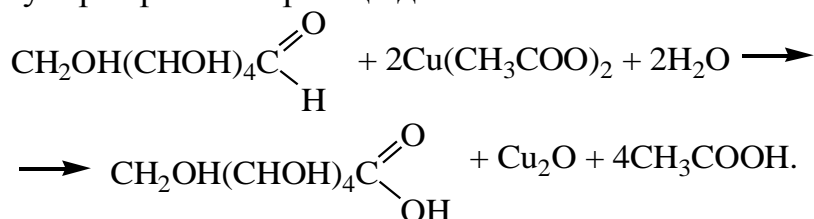
Відновлення аміачного розчину гідроксиду срібла глюкозою

Принцип реакції. Глюкоза відновлює аміачний розчин гідроксиду срібла, який утворюється під час взаємодії нітрату срібла з гідроксидом натрію та водним розчином аміаку до металічного срібла:



Реакція з оцтовокислою міддю (реакція Барфедта)

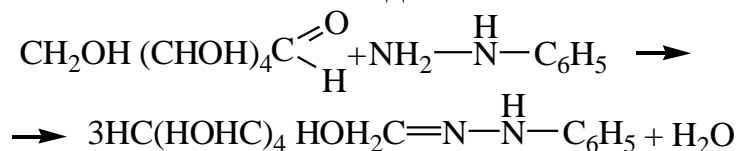
Принцип реакції. Гексози в реакції з ацетатом міді спричиняють утворення геміоксиду міді. Сумарне рівняння реакції для глюкози має такий вигляд:



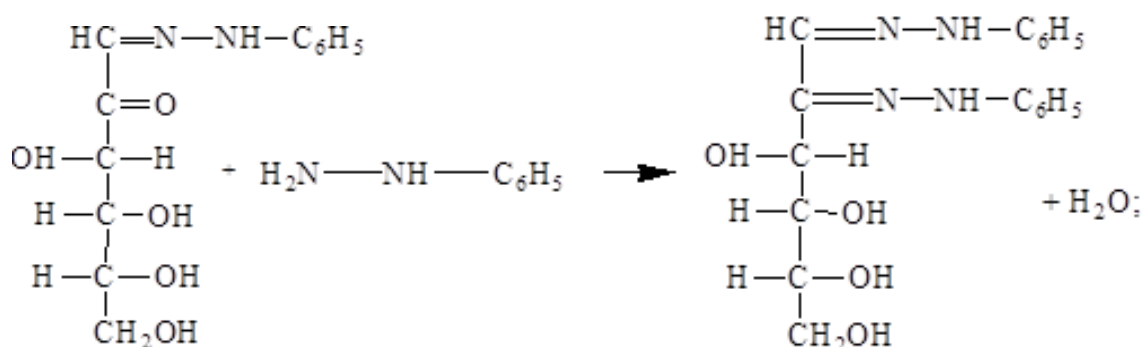
Ця реакція відбувається в середовищі зі значенням рН, близьким до нейтрального (7,0). За цих умов редуруючі дисахариди не окислюються, що дозволяє відрізнити їх від моносахаридів.

Реакція з фенілгідразином

Принцип реакції. Гексози, взаємодіючи з фенілгідразином, спричиняють утворення гідразонів, якщо реакція відбувається в спиртових розчинах без кислоти. Рівняння реакції з глюкозою має такий вигляд:

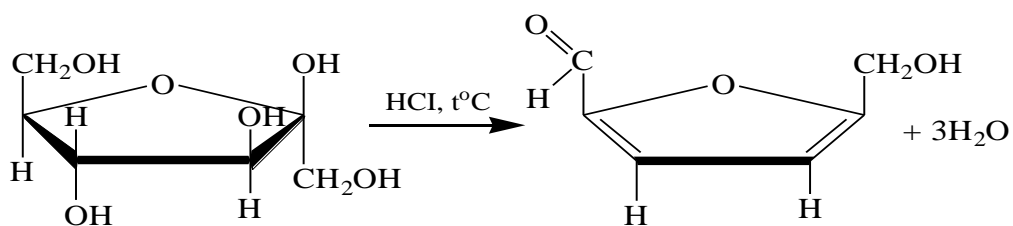


Залежно від моносахаридів, що беруть участь у реакції з фенілгідразином, виникають різні озони, структура та форма кристалів яких вказує, з яких моносахаридів вони утворилися.



Відкриття фруктози. Реакція Селіванова на кетози

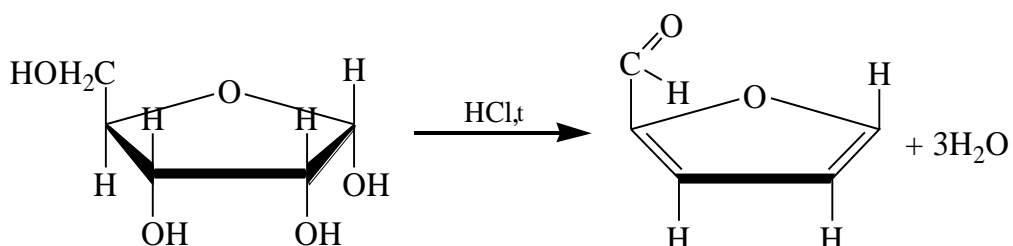
Принцип реакції. Під час нагрівання фруктози чи інших кетоз із соляною кислотою утворюється оксиметилфурфурол. Рівняння реакції за участю фруктози має такий вигляд:



Оксиметилфурфурол із резорцином утворюють сполуку (продукт конденсації), забарвлену у вишнево-червоний колір.

Пентози. Реакція з орцином (реакція Біаля) та флорглюцином

Принцип реакції. Пентози під дією концентрованої соляної кислоти під час нагрівання перетворюються на фурфурол. Реакція за участю рибози має такий вигляд:



Фурфурол із орцином за наявності слідів хлориду заліза (III) утворює сполуку (продукт конденсації), забарвлену в зелений колір, а з флорглюцином – сполуку вишнево-червоного кольору.

Дисахариди. Відновна здатність лактози та мальтози

Принцип реакції. Завдяки наявності вільної альдегідної групи в молекулі лактози (в залишку глюкози) та мальтози (у другого залишку глюкози) ці дисахариди мають редуруючі властивості й можуть брати участь у реакціях відновлення, зокрема, мальтоза та лактоза дають позитивну реакцію Троммера.

Визначення відновлюючої здатності сахарози та гідроліз сахарози

Принцип реакції. У молекулі сахарози зв'язок між залишками глюкози та фруктози утворюється за рахунок двох глікозидних гідроксидів. Сахароза не має відновлюючих властивостей і дає негативну реакцію Троммера.

Після гідролізу сахарози (кип'ятіння за наявності концентрованої соляної кислоти) утворюються моносахариди, які можна виявити за допомогою реакції Троммера, а фруктозу – також за реакцією Селіванова.

Реакція крохмалю та глікогену з йодом

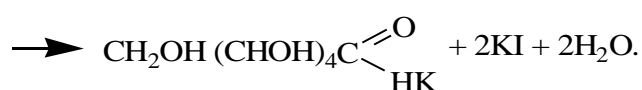
Принцип реакції. Внаслідок взаємодії крохмалю та глікогену з йодом утворюються комплексні адсорбційні сполуки, які в реакції з крохмалем мають синій колір, а з глікогеном – червоно-бурий. Різне забарвлення комплексів зумовлене хімічною структурою крохмалю та глікогену.

Під час нагрівання забарвлення зникає, а після охолодження з'являється знову, що свідчить про утворення нестійких комплексів крохмалю та глікогену з йодом. Знебарвлення відбувається також в результаті внесення гідроксиду натрію чи калію. Зникнення забарвлення внаслідок нагрівання та додавання луку зумовлене тим, що в утворенні комплексів беруть участь молекулярний йод, а не йодид-йони.

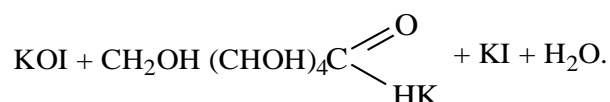
13.10 Кількісне визначення глюкози та пірувату

Кількісне визначення глюкози за наявності фруктози

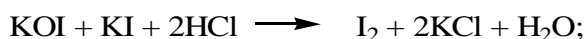
Принцип реакції. Реакція ґрунтується на здатності молекулярного йоду (I_2) у лужному середовищі окислювати лише альдегідо-спирти, не впливаючи на кетоспирти. Рівняння реакції за участю глюкози має такий вигляд:



Це рівняння є результатом двох реакцій:



Якщо є надлишок йоду, його можна визначити в кислому середовищі титруванням тіосульфатом натрію (індикатор – розчин крохмалю). Ця реакція відбувається в дві стадії:



Методика визначення:

1. У дві колби внести по 50 мл розчину йоду.
2. В одну з них (проба) додати 10 мл досліджуваного розчину (гідролізат сахарози чи інвертний цукор), а в іншу (контроль) – 10 мл дистильованої води.
3. По краплях, змішуючи, додати по 10 мл розчину гідроксиду калію та залишити за кімнатної температури на 15 хв.
4. В обидві колби додати по 10 мл розчину соляної кислоти і дві-три краплі розчину крохмалю.
5. Вміст колб титрують розчином тіосульфату натрію до зникнення синього забарвлення, яке з'явилося після додавання крохмалю.

Масову концентрацію глюкози в досліджуваній суміші, мг/мл, розраховують за формулою

$$C = (B-A) f Q V_0 / V_B,$$

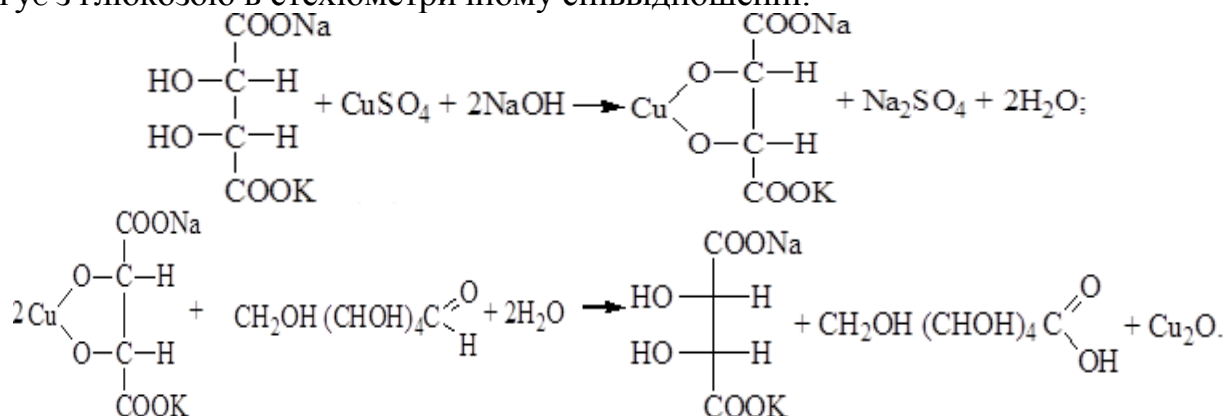
де A та B – об'єм розчину тіосульфату натрію, який потрібен для титрування проби та контролю; f – коефіцієнт поправки на титр 0,05 моль/л розчину тіо-

сульфату (0,97), Q – маса глюкози (9 мг), еквівалентна 1 мл 0,05 моль/л розчину тіосульфату натрію; V_0 – загальний об'єм проби (приблизно 80 мл), V_1 – об'єм досліджуваної суміші, яку взяли для аналізу (10 мл).

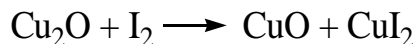
Визначення глюкози за допомогою реакції відновлення оксиду міді в геміоксид

Принцип реакції. Метод ґрунтується на здатності солей міді (II) за певних умов кількісно окислювати глюкозу – реакція Троммера.

В реакції Троммера утворюються альдонові кислоти та гідроксид міді (II), тому немає кількісного зв'язку між глюкозою та геміоксидом міді. Але якщо до реакційної суміші додають сегнетову сіль, утворюється комплекс, у якому мідь реагує з глюкозою в стехіометричному співвідношенні:

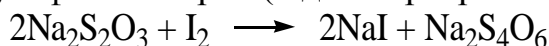


Кількість оксиду міді (Cu_2O), еквівалентну окисленій глюкозі, визначають йодометричним методом:



Ця реакція за наявності солей щавлевої чи винної кислот протікає практично до кінця.

Кількість йоду в надлишку, що не прореагувала з геміоксидом міді, можна визначити титруванням тіосульфатом натрію (індикатор – розчин крохмалю):



Методика визначення:

1. У дві колби налити по 5 мл реактиву Фелінга I і II.
2. В одну (проба) додати 10 мл досліджуваного розчину глюкози, а в іншу (контроль) – 10 мл дистильованої води.
3. Вміст колб нагріти до кипіння, кип'ятити 50 хв., а потім охолодити.
4. В обидві колби налити по 10 мл насиченого розчину щавлевої кислоти, по 10 мл розчину йоду, перемішати і відстоюювати протягом 5 хв.
5. В колби внести по п'ять крапель крохмалю й титрувати розчином тіосульфату натрію до зникнення забарвлення, яке утворилося після додавання крохмалю.

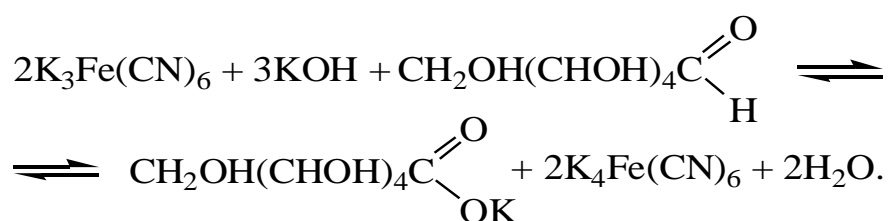
Масову концентрацію глюкози в досліджуваному розчині, мг/мл, розраховують за формулою:

$$C = (B-A)fQV_0/V_1,$$

де A і B – об'єми розчину тіосульфату натрію, витраченого на титрування проби та контролю; f – коефіцієнт поправки на титр $0,05$ моль/л розчину тіосульфату натрію ($0,97$), Q – маса глюкози ($3,52$ мг), еквівалентна 1 мл $0,05$ моль/л розчину тіосульфату натрію; V_0 – загальний об'єм проби, V_1 – об'єм досліджуваного розчину, взятого для аналізу.

Визначення вмісту глюкози в крові методом Хагендорна-Іенсена

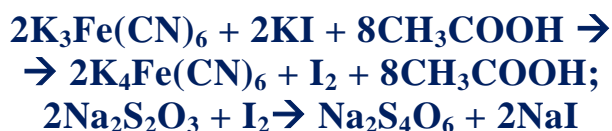
Принцип реакції. Реакція ґрунтується на здатності глюкози в безбілковому фільтраті крові в лужному середовищі під час нагрівання відновлювати червону кров'яну сіль (гексаціано-(III)-ферат калію – $K_3[Fe(CN)_6]$) в жовту кров'яну сіль (гексаціано-(II)-ферат калію – $K_4[Fe(CN)_6]$). Рівняння реакції має такий вигляд:



Внаслідок зворотності цієї реакції гексаціано-(I I)-ферат калію під дією сульфату цинку переводять -у нерозчинну сіль – цинк-гекса-ціано-(II)-ферат калію:



Гексаціано-(III)-ферат калію беруть із надлишком і його невитрачений у реакції залишок визначають йодометрично в кислому середовищі (наприклад, за наявності оцтової кислоти), титруючи йод, що утворився, тіосульфатом натрію:



Як індикатор молекулярного йоду використовують крохмаль. Вміст глюкози розраховують за *табл. 13.10.1*. У таблиці певному об'єму тіосульфату натрію, витраченому на титрування йоду, а отже, й надлишку гексаціано-(III)-ферату калію відповідає число міліграмів глюкози, яке прореагувало в реакції.

Методика визначення

1. У дві пробірки налити по 1 мл розчину гідроксиду калію.
2. В одну з них (проба) додати ще $0,1$ мл крові, а в іншу (контроль) – $0,1$ мл дистильованої води.
3. Внести по 5 мл $0,45\%$ -го розчину сульфату цинку, змішати і поставити на $2-3$ хв. на киплячу водяну баню.

4. Суміш фільтрують у конічні колби через ватний тампон, вкладений у воронку. Воронку та ватний тампон промити гарячою дистильованою водою три рази по 2 мл, не наливаючи нової порції до повного відтоку попередньої.

5. До фільтрату в кожній колбі додати 2 мл лужного розчину гексаціано-(III)-ферату калію та кип'ятити на водяній бані протягом 15 хв.

6. У кожну колбу додати по 2,6 мл розчину сульфату цинку в розчині хлориду натрію, по 0,4 мл розчину йодиту калію і після перемішування – по 2 мл розчину оцтової кислоти та по три краплі розчину крохмалю.

7. Суміш титрують 2,5 ммоль/л розчином тіосульфату натрію до зникнення забарвлення, яке утворилося під час додавання крохмалю. За витраченими на титрування пробита контролю об'ємами тіосульфату натрію за табл. 1 визначають масу глюкози й розраховують різницю між масою глюкози в контролі та пробі.

Таблиця 13.10.1

Маса глюкози, мг

	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0,0	0,385	0,382	0,379	0,376	0,373	0,370	0,367	0,364	0,361	0,358
0,1	0,355	0,352	0,350	0,348	0,345	0,343	0,341	0,338	0,336	0,333
0,2	0,331	0,329	0,327	0,325	0,323	0,321	0,318	0,316	0,314	0,312
0,3	0,310	0,308	0,306	0,304	0,302	0,300	0,298	0,296	0,294	0,292
0,4	0,290	0,288	0,286	0,284	0,282	0,280	0,278	0,276	0,274	0,272
0,5	0,270	0,268	0,266	0,264	0,262	0,260	0,259	0,257	0,255	0,253
0,6	0,251	0,249	0,247	0,245	0,243	0,241	0,240	0,238	0,236	0,234
0,7	0,232	0,230	0,228	0,226	0,224	0,222	0,221	0,219	0,217	0,215
0,8	0,213	0,211	0,209	0,208	0,206	0,204	0,202	0,200	0,199	0,197
0,9	0,19	0,193	0,191	0,190	0,188	0,186	0,184	0,182	0,181	0,179
1,0	0,177	0,175	0,173	0,172	0,170	0,168	0,166	0,164	0,163	0,161
1,1	0,159	0,157	0,155	0,154	0,152	0,150	0,148	0,146	0,145	0,143
1,2	0,131	0,139	0,138	0,136	0,134	0,132	0,131	0,129	0,127	0,125
1,3	0,124	0,122	0,120	0,119	0,117	0,115	0,113	0,111	0,110	0,108
1,4	0,106	0,104	0,102	0,101	0,099	0,098	0,097	0,095	0,093	0,092
1,5	0,088	0,086	0,084	0,083	0,081	0,079	0,077	0,075	0,074	0,072
1,6	0,070	0,068	0,066	0,065	0,063	0,061	0,059	0,057	0,056	0,054
1,7	0,052	0,050	0,048	0,047	0,045	0,043	0,041	0,039	0,038	0,036
1,8	0,034	0,032	0,031	0,029	0,027	0,025	0,024	0,022	0,021	0,019
1,9	0,017	0,015	0,014	0,012	0,010	0,008	0,006	0,005	0,003	0,002

Примітка: – об'єм тіосульфату натрію за вертикаллю – цілі та десяті частки мілілітра, за горизонталлю – соті частки.

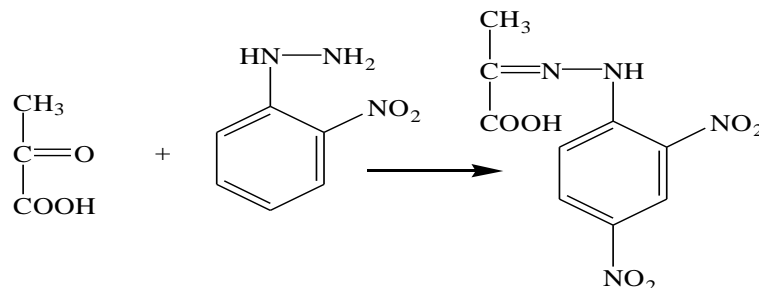
Масову концентрацію глюкози, мг/мл, розраховують за формулою

$$C=(A-B)/V,$$

де A і B – маса глюкози, визначена з табл. , в пробі та контролі; V – об'єм крові, мл, взятий для аналізу.

Визначення масової концентрації піровиноградної кислоти методом Умб-райта

Принцип реакції. Під час взаємодії піровиноградної кислоти в кислому середовищі з 2,4-динітрофенілгідразином утворюється 2,4-динітрофенілгідразон піровиноградної кислоти:



Ця сполука екстрагується з біологічних рідин (наприклад, сечі) толуолом. Після додавання до толуольного екстракту спиртового розчину лугу з'являється червоно-оранжеве забарвлення, характерне для 2,4-динітрофенілгідразину піровиноградної кислоти. Інтенсивність забарвлення, яка визначається колориметрично, пропорційна масовій концентрації піровиноградної кислоти в біологічних рідинах.

Для визначення масової концентрації піровиноградної кислоти в досліджуваній біологічній рідині заздалегідь будують калібрувальний графік за даними колориметричного визначення екстинкції стандартних розчинів піровиноградної кислоти, які містять 5 – 50 мкг/мл цієї кислоти.

Методика визначення

1. У колбу внести 1 мл досліджуваної біологічної рідини (наприклад, сечі) та додати 0,5 мл розчину 2,4-динітрофенілгідразину.
2. Вміст колби перемішати, через 5 хв. додати 25 мл насиченого водою толуолу й інтенсивно перемішати протягом 1 хв.
3. Після розшарування рідин із верхнього шару, який містить толуол, відібрати 1 мл розчину й перенести у пробірку, куди додати 2 мл спиртового розчину гідроксиду калію й знову перемішати. Спостерігати появу червоно-оранжевого забарвлення.
4. Через 10 хв. вміст пробірки колориметрують, використовуючи синій світло-фільтр.
5. Заздалегідь провести аналогічні реакції з такими ж об'ємами реактивів із стандартними розчинами піровиноградної кислоти. За результатами колориметрування побудувати калібрувальну криву, відкладаючи на одній осі значення екстинкції стандартних розчинів, а на іншій – масу піровиноградної кислоти в цих розчинах. За калібрувальною кривою після визначення екстинкції досліджуваної проби, яка містить біологічну рідину, знайти масу піровиноградної кислоти в 1 мл досліджуваної біологічної рідини.

13.11 Особливості патології вуглеводного обміну

Причинами патології вуглеводного обміну можуть бути багато інфекційних,

інвазивних і незаразних хвороб. Патологія вуглеводного обміну найчастіше виявляється у вигляді гіперглікемії і глюкозурії, ацетонемії і ацетонурії, порушень азотного, водного і мінерального обмінів, ін.

Гіперглікемія – збільшення вмісту цукру в крові вище за норму. Гіперглікемія призводить до глюкозурії – появи глюкози в сечі. Причиною цих явищ може бути цукровий діабет – захворювання, яке характеризується зниженим вмістом інсуліну, що необхідний для перетворення глюкози в глікоген. У ряді випадків спостерігається *гіпоглікемія* – зменшення вмісту глюкози в крові нижче за норму. Причини можуть бути різні: підвищення вмісту інсуліну, зменшення інтенсивності синтезу антагоністів інсуліну, голодування, захворювання харчового каналу та ін.

З порушеннями обміну вуглеводів пов'язані порушення обміну інших речовин і, перш за все, ліпідів (ще в минулому столітті з'явився крилатий вираз: жири згорають у полум'ї вуглеводів). Ці порушення характеризуються ацетонемією – збільшенням у крові вмісту ацетонових тіл (ацетону, β -оксимасляної і ацетооцтової кислот) до 0,5 г/л (норма – 0,06 – 0,07 г/л) і *ацетонурією* – насиченням сечі ацетоновими тілами до 2,5 – 3 г/л (норма 0,09 – 0,01 г/л). Такий стан називають *кетозом*. Він виникає при неправильно складеному вуглеводному раціоні. Це призводить до *ацидозу* – надмірному вмісту кислот в організмі і до *діабетичної коми* – загрожуючому життю стану, який характеризується втратою свідомості, різким порушенням серцево-судинної діяльності, дихання, температурної регуляції.

Порушення процесів гліконеогенеза викликає надмірне руйнування білків і збільшення вмісту в крові і сечі продуктів азотного обміну. Необхідність видалення з організму отруйних продуктів спричиняє за собою порушення водного і мінерального обміну. У ряді випадків (при цукровому діабеті) виникає **поліурія** – надмірне виділення сечі і збіднення організму водою. З сечею „вимивається” багато мінеральних речовин, необхідних організму. Зустрічаються і інші порушення вуглеводного обміну: ідіопатична пентозоурія (з сечею виділяється велика кількість пентоз), генетичного походження галактоземія і галактозоурія, непереносимість організмом лактози і сахарози, глікогенози.

В організмі тварин, при запальних процесах слизових оболонок, відбувається секреція слизу та утворення ексудату що складається зі значної кількості десквамованих клітин та кислих глікозаміногліканів (**Рис.13.11.1**).

Зростання вмісту глікозаміногліканів в епітелії та на поверхні слизової оболонки бронхів є одною з ознак катарального бронхіту.

Катаральне запалення або катар (catarrheo – стікаю) розвивається лише на слизових оболонках і характеризується утворенням катарального ексудату. Катаральний ексудат складається з серозної рідини, яка утворюється внаслідок підвищення проникності судин слизової оболонки, великої кількості слизу, а також клітин злуценого епітелію слизових оболонок та лейкоцитів. Слиз при катаральному запаленні у великій кількості виробляється клітинами покривного і залозистого епітелію внаслідок розвитку в ньому у різній мірі слизової дистрофії.

Умовами, сприяючими виникненню катарального запалення є:

- **зниження природної резистентності організму;**
- **зниження місцевої резистентності слизових оболонок;**

- **підвищення алергічної чутливості організму.**

До таких змін в організмі тварин призводить порушення їх годівлі і утримання, переохолодження, перегрів, дія алергенів. При цьому активується умовно патогенна мікрофлора, яка починає проявляти свої патогенні властивості і викликати запалення слизових оболонок. Катаральне запалення може локалізуватися на слизових оболонках будь-яких органів: шлунково-кишкового тракту, верхніх дихальних шляхів, в бронхах, сечостатеви́х органах, у вивідних протоках залоз і т.д. Прикладами запалення можуть бути катаральний гастрит, ентерит, коліт, бронхіт, бронхопневмонія.

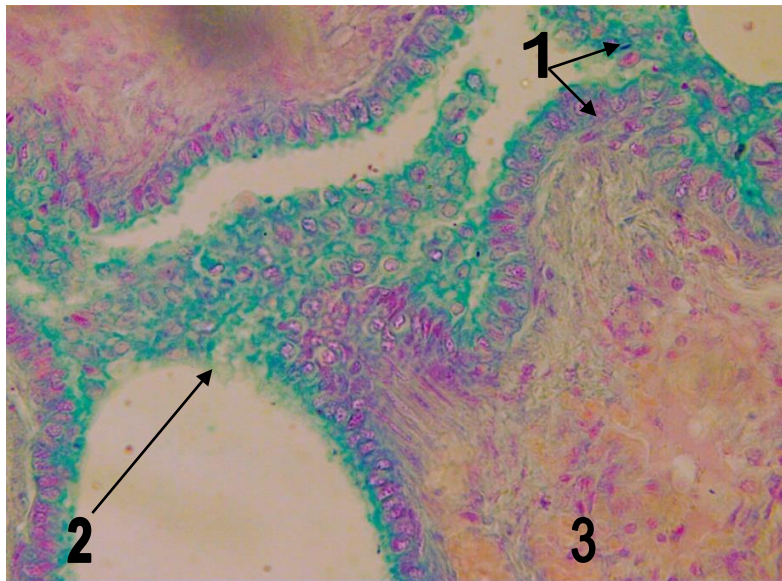


Рис.13.11.1 Гістопрепарат легень поросяти віком 4 місяці : 1 – зростання вмісту глікозаміногліканів в епітелії слизової оболонки бронха; 2 – клітинний детрит та глікозаміноглікани в просвіті альвеол; 3 – збільшення вмісту PAS-позитивної речовини в епітелії бронхів. Забарвлення альціановим синім за Стідменом, ШІК-реакція; x200.

За дистрофічних змін та запальних процесів в нирках відбувається збільшення вмісту глікозаміногліканів у базальній мембрані частини судинних клубочків і капсули Шумлянського-Боумена, стінок окремих кровоносних судин (артеріол і венул), в цитоплазмі нефроцитів звивистих каналців, розташованих навколо ниркових тілець, що містять зазначені вище зміни (**Рис.13.11. - А**). Крім того, спостерігається зростання вмісту кислих глікополісахаридів у колагенових волокнах сполучної тканини капсули та підкапсулярної зони нирок (**Рис.13.2- Б**).

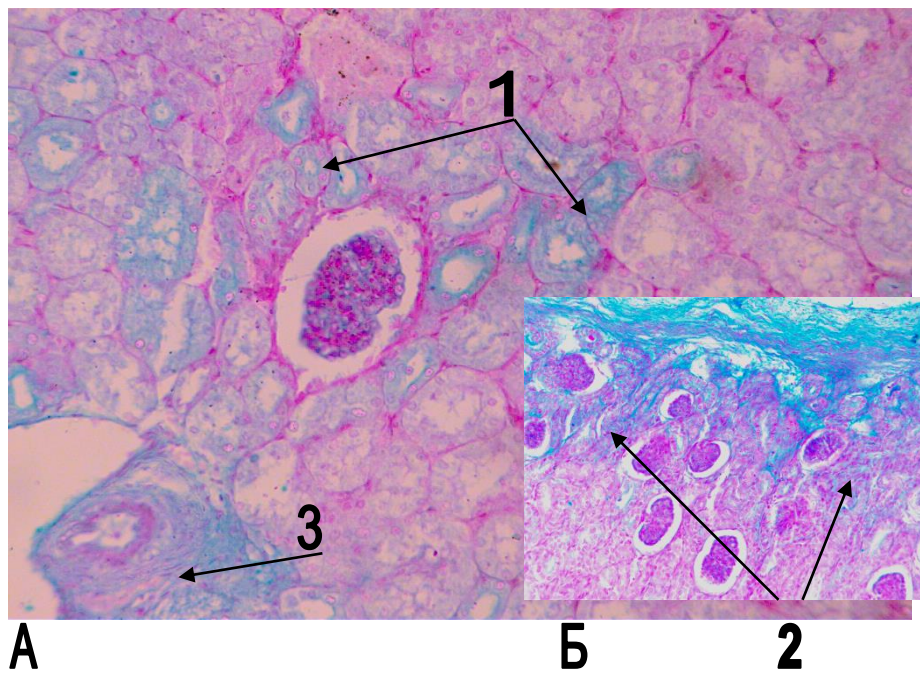


Рис. 13.11. 2Гістопрепарат нирки поросяти віком 6 місяців: 1 – накопичення глікозаміногліканів у епітелії звивистих каналців; 2 – зростання вмісту глікозаміногліканів у сполучній тканині підкапсулярної зони; 3 – зростання вмісту глікозаміногліканів у периваскулярній сполучній тканині. Забарвлення альціановим синім за Стідменом, ШЙК; x 200 (А), 100 (Б).

За набряку та дистрофічних змін в скелетних м'язах і міокарді відбувається зменшення глікогену (рожеве забарвлення) в цитоплазмі паренхіматозних елементів і відповідно нерівномірне забарвлення тканини на гістологічному препараті (**Рис. 13.11.3**).

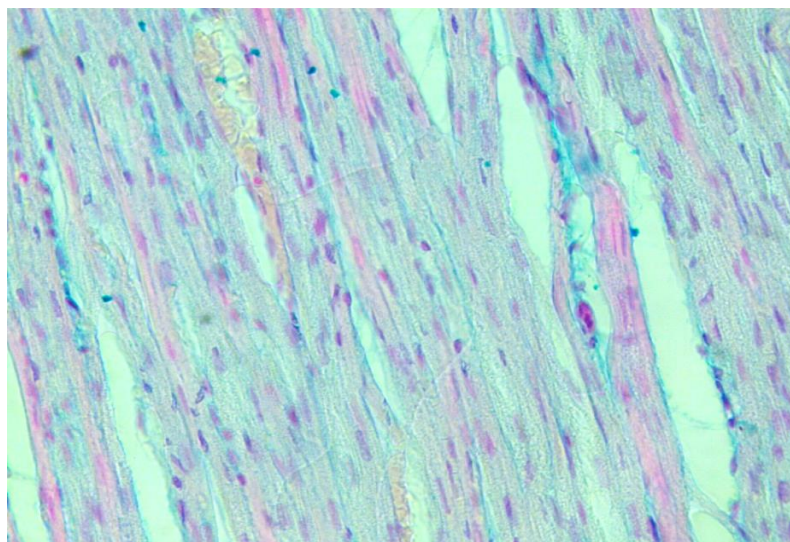


Рис. 13.11.3. Гістопрепарат серця поросяти віком 1,5 місяці: 1 – нерівномірний розподіл глікогену в цитоплазмі кардіоміоцитів; 2 – набряк міжм'язової сполучної тканини. Забарвлення альціановим синім за Стідменом, ШЙК-реакція; x200.

ТЕМА 14. ЛІПІДИ

14.1 Загальна характеристика ліпідів. Основні функції та класифікація

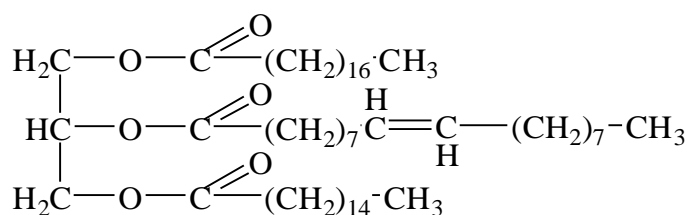
Ліпіди – різні за своєю хімічною будовою речовини, що характеризуються різною розчинністю в органічних розчинниках і, як правило, нерозчинні у воді. Вони відіграють важливу роль у процесах життєдіяльності. Будучи одним із основних компонентів біологічних мембран, ліпіди впливають на їхню проникливість, беруть участь у передачі нервового імпульсу, створенні міжклітинних контактів.

Інші функції ліпідів – утворення енергетичного резерву, створення захисних водовідштовхувальних і термоізоляційних покривів у тварин і рослин, захист органів і тканин від механічних впливів.

При обробці тваринних чи рослинних тканин одним чи декількома (частіше послідовно) органічними розчинниками, наприклад хлороформом, чи бензолом петролейним ефіром, деяка частина матеріалу переходить у розчин. Компоненти такої водонерозчинної фракції (витяжки) називаються ліпідами.

В залежності від хімічного складу ліпіди поділяються на:

1. Прості ліпіди – складні ефіри жирних кислот і різноманітних спиртів – триацилгліцериди, диацилгліцериди, моноацилгліцериди. Наприклад:

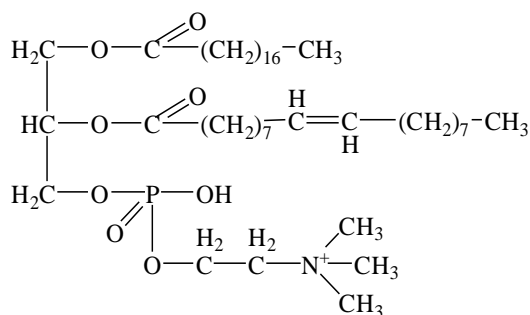


триацилгліцерин (нейтральний жир)
(стеароолеопальмітин)

2. Складні ліпіди – це складні ефіри жирних кислот і спиртів, що додатково містять й інші компоненти. Складні ліпіди діляться на класи:

1) фосфоліпіди; 2) гліколіпіди; 3) сульфоліпіди; 4) ліпопротеїни.

Наприклад:



фосфатилдихолін (фосфоліпід)

3. Попередники та похідні ліпідів: жирні кислоти, гліцерин, стероїди, жиророзчинні вітаміни, холестерин, простацикліни, простагландини, тромбосани.

Внаслідок гетерогенності вхідних у ліпідну фракцію компонентів термін «ліпідна фракція» не можна розглядати як структурну характеристику: він є лише робочою лабораторною назвою фракції, одержуваної при екстракції біологічного матеріалу неполярними розчинниками. Там більшість ліпідів мають деякі загальні структурні особливості, що обумовлюють їхні важливі біологічні властивості і подібну розчинність. Найбільш поширені ліпіди – це нейтральні жири, структурним компонентом яких є жирні кислоти.

Жирні кислоти – аліфатичні карбонові кислоти – в організмі можуть знаходитися у вільному стані (слідові кількості в клітках і тканинах) або виконувати роль будівельних блоків для більшості класів ліпідів.

Природні жирні кислоти, дещо умовно, можна розділити на три групи: насичені, мононенасичені і поліненасичені жирні кислоти. Жирні кислоти, що зустрічаються в природних ліпідах, містять, як правило, парне число вуглецевих атомів і мають переважно нерозгалужений ланцюг.

Жирні кислоти, що входять до складу ліпідів тваринних і вищих рослин, мають багато загальних властивостей. Як уже було зазначено, майже всі природні жирні кислоти містять парне число вуглецевих атомів, найчастіше 16 чи 18. Ненасичені жирні кислоти тварин і людини, що беруть участь у побудові ліпідів, звичайно містять подвійний зв'язок між 9-м і 10-м атомами вуглецю; додаткові подвійні зв'язки.

Своєрідність подвійних зв'язків природних ненасичених жирних кислот полягає в тому, що вони є відділені двома простими зв'язками, тобто між ними завжди мається хоча б одна метиленова група. Подібні подвійні зв'язки позначають як «ізолювані». Природні ненасичені жирні кислоти мають цис-конфігурацію і вкрай рідко зустрічаються транс-конфігурації. Вважають, що в ненасичених жирних кислотах з декількома подвійними зв'язками цис-конфігурація надає вуглеводневому ланцюгу вигнутого і укороченого вигляду, що має біологічне значення, враховуючи, що багато ліпідів входять до складу мембран.

Жирні кислоти з довгим вуглеводневим ланцюгом практично нерозчинні у воді. Їх натрієві і калієві солі (мила) утворюють у воді міцели. В останніх негативно заряджені карбоксильні групи жирних кислот направлені назовні до водної фази, а неполярні вуглеводневі ланцюги заховані всередині міцелярної структури. Такі міцели мають сумарний негативний заряд і в розчині залишаються суспендованими завдяки взаємному відштовхуванню.

Нейтральні жири – це ефіри гліцерину і жирних кислот. Якщо жирними кислотами етерифіковані всі три гідроксильні групи гліцерину (ацильні радикали R_1 , R_2 і R_3 можуть бути однакові чи різні), то такі сполуки називають тригліцеридом (триацилгліцеролом), якщо два – дигліцеридом (диацилгліцеролом) якщо етерифікована одна група – моногліцеридом (моноацилгліцеролом).

Основними джерелами жирних кислот в організмі служать:

1. Ліпіди їжі, що надходять до крові у складі хіломікронів.

2. Жирове депо, в якому відбувається внутріклітинний розпад ліпідів під дією внутріклітинних ТАГ – ліпаз і фосфоліпаз А₁, А₂, С і Д.

3. Внутріклітинний синтез ВЖК, який найбільш активно протікає в печінці і жировій тканині.

У крові вільні жирні кислоти (ВЖК) циркулюють в сполученні з альбумінами плазми. Вміст ВЖК у крові невеликий і становить 0,5 – 0,7 мг-екв/л.

Якщо концентрація ліпідів у крові зменшується, то урівноваження їх концентрації відбувається за рахунок ліполізу ТАГ в жировій тканині. ВЖК дипонуються в основному, в печінці, жировій тканині, серцевому та скелетному м'язях.

Проміжний обмін ВЖК в організмі складається з двох процесів: катаболізму (розпаду) ВЖК і анаболізму (біосинтеза ВЖК). Катаболізм ВЖК у живому організмі протікає в *три етапи*:

I. 1) β – окислення – специфічний шлях окислення вільних жирних кислот, який закінчується утворенням $\text{CH}_3\text{-C} \sim \text{SkoA}$.

2) Перекисне окислення (ПОЛ) – специфічний шлях окислення як вільних ненасичених жирних кислот, так і тих, які входять до складу фосфоліпідів мембран клітин.

II. Цитратний цикл (ЦТК).

III. Окислювальне фосфорилування в дихальному ланцюгу з утворенням енергії (АТФ) за рахунок енергії НАДН + Н⁺ і ФАД · Н₂.

Процес β – окислення – це процес, в якому за декількома послідовними циклами жирна кислота розпадається на декілька двовуглецеві фрагменти (ацетил – КоА). Локалізація – мітохондрії клітин печінки, серцевих та скелетних м'язів, жирової тканини, нирки, сім'яники, крім клітин мозку.

14.2 Ліполіз (β-окислення жирних кислот)

Георг Франц Кнооп (20 вересня 1875 р., Шанхай - 2 серпня 1946 р., Тюбінген) був німецьким біохіміком, найвідомішим за його відкриття β-окислення жирних кислот у 1905 р.

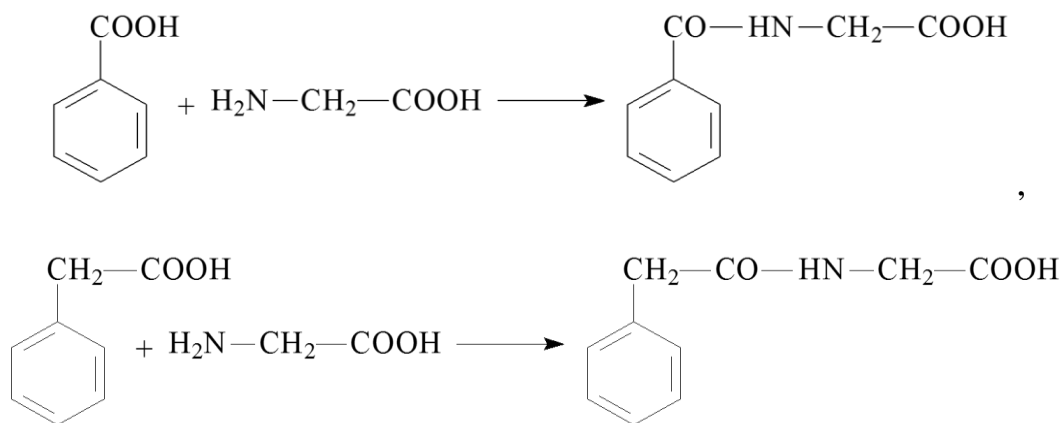


Георг Франц Кнооп

Механізм розпаду вищих жирних кислот в організмі пояснює теорія β-окислення жирних кислот, запропонована в 1904 р. німецьким біохіміком Ф. Кноопом. Згідно цієї теорії розпад жирних кислот протікає ступінчасто: від молекули жирної кислоти поступово відщеплюються двохвуглецеві фрагменти, розміщені в β-положенні.

Підставою для створення теорії *β-окислення* послужили такі факти. В кінці XIX ст. було встановлено, що ароматичні кислоти з організму виводяться з сечею у знешкодзованому стані - як парні сполуки з глікоколом: бензойна – у вигляді гіпурової, фенілоцтова – у вигляді фенацетурової

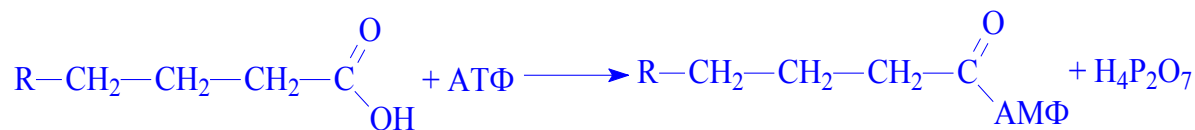
кислот:



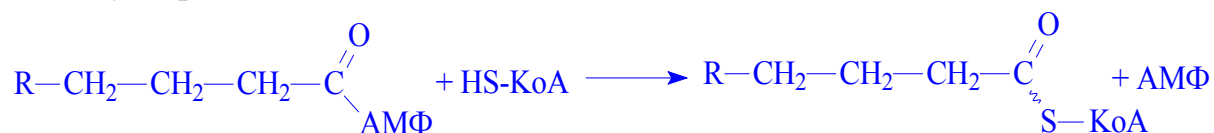
Ф. Кнооп почав „мітити” жирні кислоти раціону ароматичними радикалами. Якщо мітилась жирна кислота з парним числом атомом вуглецю (масляна, капронова, каприлова і т.д.), то в сечі виявлялася фенацетурова кислота. Якщо в раціоні були присутні кислоти з непарним числом атомів вуглецю (пропіонова, валеріанова), в сечі виявлялася гіпурова кислота. Так була створена схема β-окислення вищих жирних кислот.

Створюється наступна сучасна схема β-окислення жирних кислот:

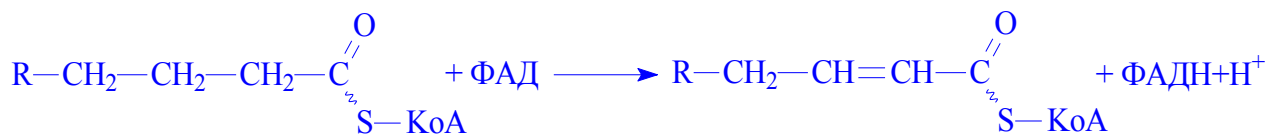
1. Під впливом аденілаткінази жирна кислота активується з утворенням ациладенілата:



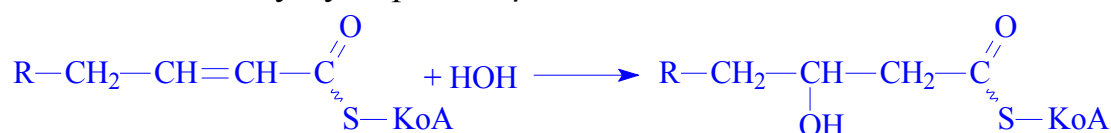
2. Ациладенілат взаємодіє з HS-KoA під впливом ферменту ацил-KoA-синтетази з утворенням ацил-KoA:



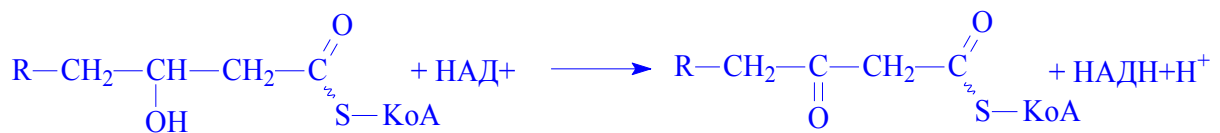
3. Під впливом флавін-залежної дегідрогенази відбувається дегідування активованого залишку жирної кислоти:



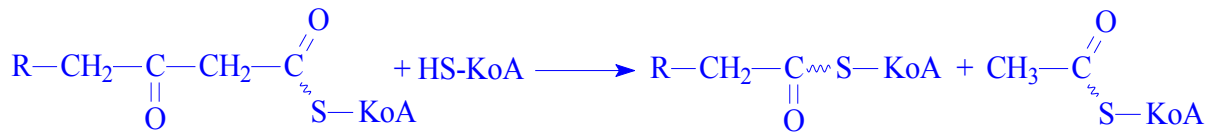
4. Залишок жирної кислоти під дією еноіл-KoA-гідратази гідрується в ділянці розриву подвійного зв'язку з утворенням β-оксиацил-KoA:



5. β-Оксиацил-KoA під впливом β-оксиацил-KoA-дегідрогенази у присутності НАД⁺ дегідується, перетворюючись в кетоформу ацил-KoA:



6. Молекула кетоформи ацил-КоА під впливом ферменту ацетоацетил-КоА-тіолази і за наявності однієї молекули КоА розривається на дві частини: ацетил-КоА і ацил-КоА (останній має на два вуглеці менше початкової кислоти):



Ацил-КоА знову піддається β -окисленню до тих пір, поки вся молекула жирної кислоти не розпадеться на двохвуглецеві фрагменти – ацетил-КоА. Ацетил-КоА вступає в цикл трикарбонових кислот і інші реакції.

Багаторазове повторення цього процесу призводить до повного розпаду жирної кислоти до декількох молекул ацетил-КоА, які далі окислюються у цитратному циклі (II етап).

Утворені в результаті реакцій процесу β – окислення відновлені еквіваленти **НАДН + H⁺** і **ФАДН₂** передають водень прямо у дихальний ланцюг, в якій синтезуються молекули АТФ (III етап).

Наприклад, молекула пальмітинової кислоти перетворюється у 8 молекул ацетил-КоА за 7 циклів β – окислення. Кожний цикл дає 5 молекул АТФ (за рахунок відновлених еквівалентів **НАДН+H⁺** і **ФАДН₂**, які утворюються в результаті реакцій дегідрування і β – окислення).

При подальшому окисленні в ЦТК і дихального ланцюга восьми молекул ацетил-КоА, які утворилися в результаті β – окислення пальмітинової кислоти, додатково синтезується ще 96 молекул АТФ. Повний вихід АТФ при окисленні однієї молекули пальмітинової кислоти становить 131 молекулу.

В організмі тварини одночасно з β – окисленням ВЖК протікає і їх біосинтез, так як для синтезу власних (специфічних) ліпідів потребуються і замінні жирні кислоти, які не надходять з їжею.

При цьому за 1 цикл відбувається подовження вуглерод – вуглеродного ланцюга на два атоми вуглерода.

Основним місцем синтезу є клітини печінки, жирової тканини, слизової кишківника і лактуючої молочної залози.

Біосинтез жирних кислот протікає за участю відновлених еквівалентів **НАДФН + H⁺**, **АТФ**, **Mg²⁺**, **HCO₃⁻** – (джерела CO₂) і біотіна; кінцевим продуктом – пальмітинова кислота (у цитозолі клітини).

Майже увесь ацетил-КоА утворюється в мітохондріях у результаті окислення пірувата і жирних кислот, а також при розпаду вуглецевих скелетів амінокислот. Так як мітохондріальна мембрана непрониклива для ацетил-КоА, то його доставка проходить човниковим механізмом за участі цитрата.

Шлях синтезу жирних кислот інший, ніж у β – окислення, так як біосинтез ВЖК іде у цитозолі, а β – окислення – в мітохондріях; для синтезу жирних кислот потрібні ферменти і коферменти інші, ніж для β – окислення.

Вищі жирні кислоти є найважливішим джерелом хімічної енергії в організмі. При повному окисненні одного двохвуглецевого фрагмента жирної кислоти – ацетил-КоА – в мітохондріях утворюється п'ять молекул АТФ (дві – за рахунок ФАД·Н₂ і три – за рахунок НАД·Н₂). При повному розпаді стеаринової кислоти утворюється дев'ять молекул ацетил-КоА, які дають 45 молекул АТФ (5 × 9 = 45). Якщо молекула ацетил-КоА включається в цикл трикарбонових кислот, то при її окисненні утворюється 12 молекул АТФ. Таким чином, дев'ять молекул ацетил-КоА, які утворилися при розпаді стеаринової кислоти, після окислення в циклі трикарбонових кислот є джерелом 108 молекул АТФ (12 × 9 = 108). Повне окислення однієї молекули стеаринової кислоти дає організму 153 молекули АТФ (45 + 108 = 153).

Важливу роль при синтезі жирних кислот відіграє складний поліфункціональний мультиензимний комплекс – ацетил-КоА-синтетаза (синтаза). **Це димер, який складається з двох субодиниць (сім протомерів), ферментів:**

1. Ацетилтрансацилаза
2. Малонилтрансацилаза
3. β – кетоацил-АПБ синтетаза
4. β – кетоацил-АПБ-редуктаза
5. β – оксиацил-АПБ-дегідратаза
6. Єноїл-АПБ-редуктаза
7. Ацилпереносячий білок (АПБ)

Важливе місце серед них займає АПБ, з яким ковалентно зв'язуються проміжні продукти синтезу жирних кислот.

Синтетаза – ВЖК каталізує серію реакцій, сумарний результат яких (для С₁₆):

Ацетил-КоА + 7 малоніл-КоА + 14 НАДФН+Н⁺ → пальмітинова кислота + 7СО₂ + Н₂О + 8НСКоА + 14НАДФ⁺. Подовження ланцюга ВЖК частіше проходить в мітохондріях.

14.3 Біосинтез ТАГ в ентероцитах, печінці і жировій тканині

Біосинтез триацилгліцеринів (ТАГ) має важливе біологічне значення, оскільки сприяє створенню жирового депо організму – енергетичного матеріалу на тривалий термін.

Локалізація: біосинтез ТАГ (ліпогенез) протікає в цитолозі клітин різних тканин, крім клітин мозку.

Найбільш інтенсивно синтез жирів йде в:

1. Ентероцитах слизової оболонки кишечника (I ресинтез ТАГ),
2. Гепатоцитах печінки, в адипоцитах жирової тканини, нирках, скелетних м'язах і лактуючій молочній залозі (II ресинтез ТАГ).

Та головну роль в обміні ліпідів відіграють печінка та жирова тканина.

Можливі 2 шляхи біосинтезу ТАГ:

1. Моногліцеридний,
2. α – гліцерофосфатний.

В ентероцитах кишківника біосинтез частково специфічних триацилгліцеринів ферментативно протікає двома шляхами:

1. Моногліцеридним (вихідними субстратами є β -МАГ і α , β -ДАГ і активні ВЖК (ацил-КоА).

2. α – гліцерофосфатним (тобто вихідними субстратами є гліцеро-3-фосфат і активовані ВЖК)

У печінці 90% триацилгліцерини витрачаються на утворення ліпопротеїнів дуже низької густини (ЛОНП), які транспортують ендogenous ліпіди з печінки у кров. 10% ТАГ печінки витрачається на утворення попередників ліпопротеїнів високої щільності (ЛВП).

У жирову тканину в основному надходять ліпіди з печінки у вигляді ЛОНП, а екзогенні ліпіди – у вигляді хіломікронів (ХМ).

На рівні ендотелія капілярів жири ліпопротеїнів розкладаються ліпопротеїніпазою, і продукти гідролізу надходять у клітини жирової тканини, де знову включаються в склад триацилгліцеринів і частково депонуються. Мобілізація депонованих жирів відбувається шляхом їх гідролізу до жирних кислот і гліцерину тканевими ліпазами адипоцитів. Потім жирні кислоти надходять у кров, де в сполучі з альбумінами транспортуються кров'яним руслom.

Дві форми депонованого енергетичного матеріалу – глікоген та жири – розрізняються черговою мобілізацією:

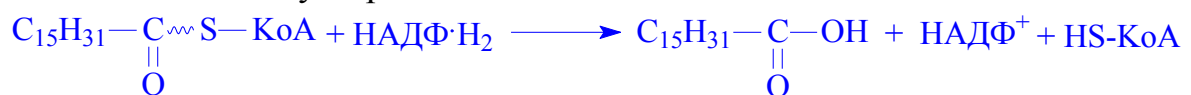
а) при голодуванні, фізичному навантаженні в першу чергу використовуються переважно запаси глікогену, а потім жири;

б) тимчасові фізичні навантаження практично повністю забезпечуються енергією за рахунок глікогену, а при довгих фізичних навантаженнях використовуються і жири.

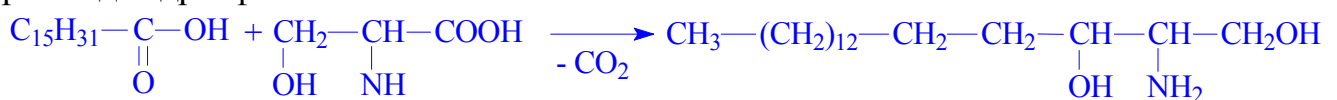
14.4 Біосинтез гліколіпідів

Із всіх гліколіпідів найбільш детально вивчений біосинтез цереброзидів. У цьому процесі беруть участь багато ферментів, коферменти, іони Mn^{2+} та інші речовини. Реакції протікають в такій послідовності.

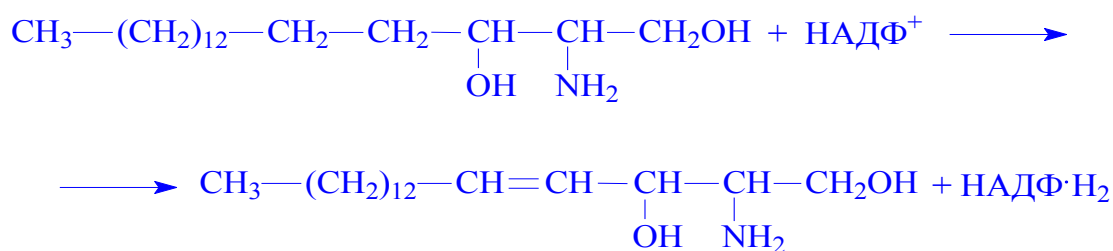
1. З пальмітил-КоА утворюється пальмітиновий альдегід:



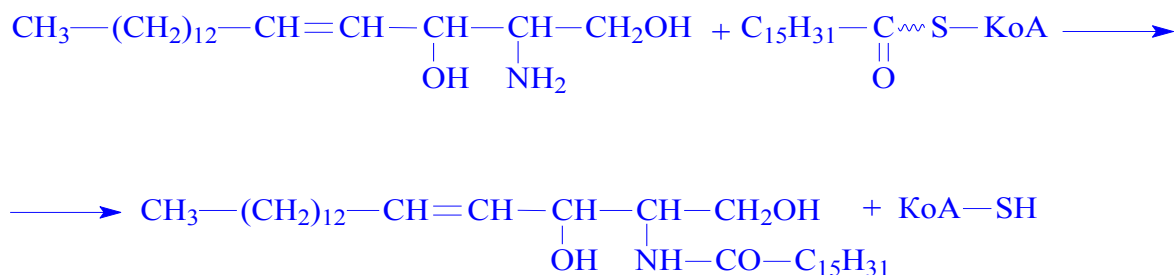
2. Пальмітиновий альдегід конденсується з серином, що призводить до утворення дигідросфінгозина:



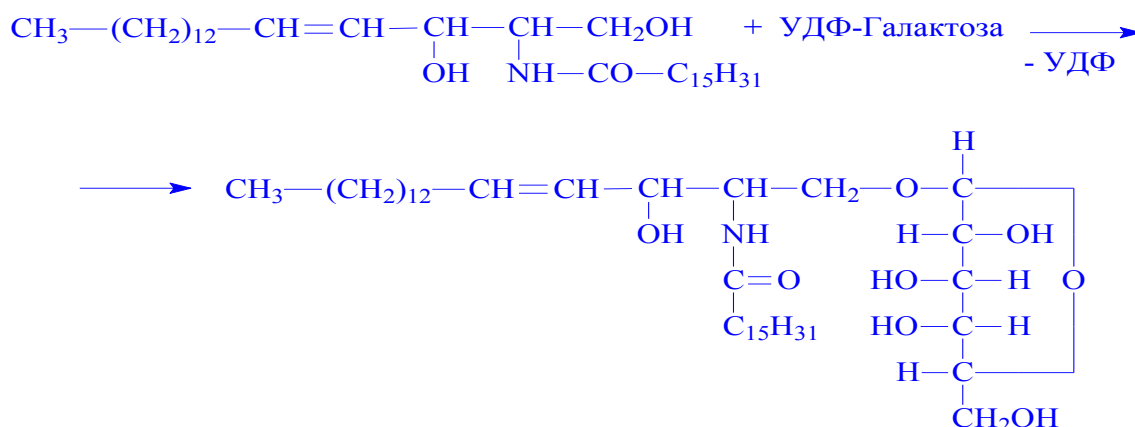
3. Дигідросфінгозин дегідрується, утворюючи сфінгозин:



4. Відбувається ацилювання сфінгозина з утворенням цераміда:



5. Церамід вступає в реакцію з УДФ-галактозою, що призводить до утворення цереброзида:



14.5 Якісні реакції на ліпіди та їх кількісне визначення

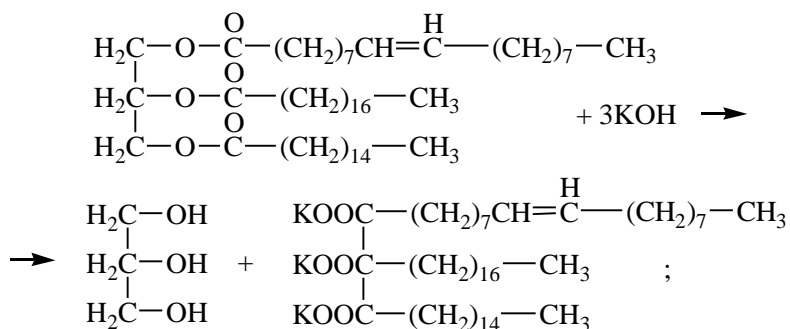
Розчинність ліпідів і утворення емульсії

Принцип методу. Характерними властивостями жирів є їх добра розчинність у багатьох органічних розчинниках (ацетон, хлороформ, діетиловий ефір тощо) і нерозчинність у воді. Під час змішування жирів із водою утворюються емульсії, стійкість яких залежить від середовища, в якому вони утворюються.

Наявність у воді речовин – емульгаторів (мила, жовчні кислоти, карбонати тощо) збільшує стійкість емульсій. Утворення емульсій зумовлене тим, що в поверхневий водяний шар, який оточує жирові крапельки, спрямовуються поверхнево-активні частинки жовчних кислот, мила, карбонату, котрі обволікають крапельки жиру й перешкоджають їх злиттю.

Омилення жиру

Принцип методу. Жири під дією лугу гідролізуються, утворюючи мила та гліцерол:

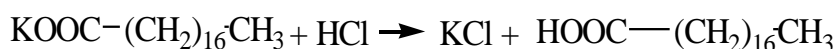


Виявлення ненасиченості ліпідів

Принцип методу. Жири рослинного походження містять більшу кількість залишків ненасичених жирних кислот, ніж жири тваринного походження. Різний ступінь ненасиченості ліпідів можна виявити на прикладі насичення бромом вершкового масла або олії.

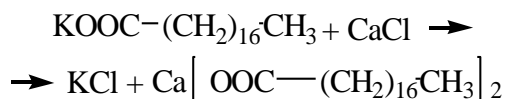
Утворення вільних жирних кислот

Принцип методу. Внаслідок додавання до мила концентрованої соляної кислоти утворюються вільні жирні кислоти:



Утворення нерозчинних кальцієвих мил

Принцип методу. Під час внесення до розчину калієвого мила розчину солей кальцію утворюються нерозчинні кальцієві солі жирних кислот:



Визначення хімічних параметрів жирів

Визначення числа омилення

Принцип методу. Числом омилення називають кількість гідроксиду калію, мг, яка потрібна для нейтралізації всіх жирних кислот (вільних і тих, що входять до складу триацилгліцеролів), що містяться в 1 г жиру.

Методика визначення

1. В одну колбу (досліджувану пробу) помістити 0,5 г жиру, в другу (контрольну пробу) – 0,5 мл води.
2. В обидві колби долити по 15 мл спиртового розчину KOH і кип'ятити зі зворотним холодильником на водяній бані протягом 50 хв. до повного омилення гліцеридів і нейтралізації вільних жирних кислот.

3. В обидві колби додати по десять крапель розчину фенолфталеїну й титрують теплим розчином НСІ до зникнення рожевого забарвлення (до нейтральної реакції).

Кількість КОН, мг (число омилення – 40), витрачена на нейтралізацію всіх жирних кислот, що містяться в 1 г жиру, визначають за формулою:

$$\mathbf{Ч0 = (B-A)fQ/a,}$$

де (B-A) – різниця результатів титрування контрольного та досліджуваного зразків розчином соляної кислоти (0,5 моль/л), мл; a – наважка досліджуваного жиру, г; f – коефіцієнт поправки на титр розчину НСІ (0,5 моль/л); Q – кількість КОН (28,05 мг), яка еквівалентна 1 мл розчину КОН (0,5 моль/л).

Визначення кислотного числа жиру

Принцип методу. Кислотністю жиру або кислотним числом (КЧ) називають кількість КОН, мг, яка потрібна для нейтралізації вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру.

Методика визначення

До 1 г жиру додати 5 мл спирту, нейтралізованого за фенолфталеїном, добре змішати для максимального розчинення вільних жирних кислот і титрують розчином КОН до появи рожевого забарвлення яке не повинно зникати протягом 0,5-1 хв.

Кількість КОН, мг, витрачену на титрування вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру, визначають за формулою:

$$\mathbf{КЧ = AfQ/a,}$$

де A – об'єм розчину КОН (0,1 моль/л), витрачений на титрування досліджуваної проби, мл; a – наважка жиру, г; / – коефіцієнт поправки на титр розчину КОН (0,1 моль/л); Q – кількість КОН (5,61 мг), еквівалентна 1 мл розчину КОН (0,1 моль/л).

Визначення ефірного числа жиру

Принцип методу. Ефірним числом (ЕЧ) називають кількість КОН, мг, яка потрібна для нейтралізації всіх утворених під час омилення триацилгліцеролів жирних кислот, що містяться в 1 г жиру. Це число визначають за різницею між 40 жиру та його КЧ.

Якщо відоме значення ЕЧ жиру, можна, використовуючи розрахунковий метод, обчислити вміст гліцеролу. Необхідно взяти до уваги, що для вивільнення однієї молекули гліцеролу необхідно витратити три молекули КОН.

Кількість гліцеролу в жирі, %, розраховують за формулою:

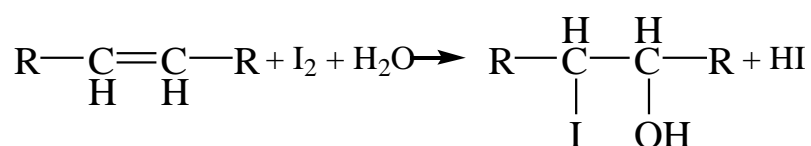
$$C = 96,02 \cdot EЧ \cdot 100/56,11 \cdot 3 \cdot 1000,$$

де 96,02 – молекулярна маса гліцеролу; $EЧ$ – ефірне число жиру; 56,11 – молекулярна маса KOH .

Визначення йодного числа жиру

Принцип методу. Йодним числом (ЙЧ) називають кількість йоду, г, яка може прореагувати з 100 г жиру. Це число відповідає кількості ненасичених жирних кислот у жири.

Визначення ЙЧ ґрунтується на реакції приєднання йоду за місцем подвійного зв'язку, яка відбувається за рівнянням:



Методика визначення

1. В одну колбу (досліджувана проба) внести наважку жиру 0,1-0,2 г, у другу (контрольна проба) -0,1-0,2 мл води додати по 10 мл спиртового розчину йоду, змішати і залишити на 15 хв.

2. Через 15 хв вміст колб титрують розчином $Na_2S_2O_3$ до появи жовтуватого забарвлення.

3. Потім додати 1 мл розчину крохмалю, суміш титрують до зникнення синього забарвлення.

Йодне число визначають за формулою:

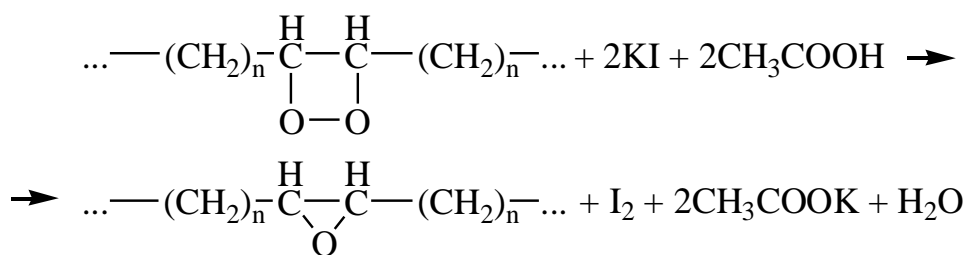
$$ЙЧ = (B - A) \cdot f \cdot Q \cdot 100 / a \cdot 1000,$$

де $(B - A)$ – різниця результатів титрування контрольного та досліджуваного зразків у розчині гіпосульфїту (0,05 моль/л), мл; a – наважка досліджуваного жиру, г; f – коефіцієнт поправки на титр розчину $Na_2S_2O_3$ (0,05 моль/л); Q – кількість I_2 (12,69 мг), еквівалентна 1 мл розчину $Na_2S_2O_3$ (0,05 моль/л).

Визначення пероксидного числа в згірклому жири

Принцип методу. Пероксидним числом називають кількість, мл, розчину $Na_2S_2O_3$, витрачену на титрування вільного йоду, що виділився під час окислення KI пероксидним комплексом одного граму жиру.

Метод ґрунтується на здатності пероксидного угруповання жиру реагувати з KI в кислому середовищі:



Методика визначення

1. В одну колбу (досліджувана проба) внести наважку жиру (1 г), у другу (контрольна проба) – 1 мл води, додати по 5 мл льодяної оцтової кислоти, по 6 мл хлороформу та по 1 мл свіжовиготовленого насиченого розчину KI.

2. Суміш струшують протягом 5 хв. і титрують розчином $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ за наявності десяти крапель розчину крохмалю як індикатора.

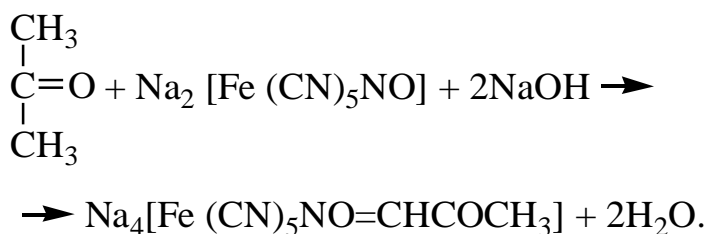
Пероксидне число, тобто кількість 0,005 моль/л розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, мл, витрачена на титрування 1 г жиру, дорівнює:

$$C = (A - B)f,$$

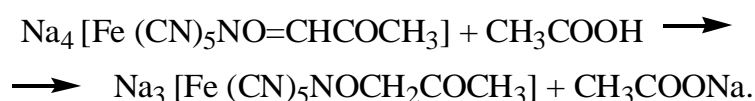
де (A-B) – різниця результатів титрування досліджуваного та контрольного зразків розчином $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,005 моль/л); f – коефіцієнт поправки на титр розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (0,005 моль/л).

Реакція на ацетон і ацетооцтову кислоту

Принцип реакції. Під час взаємодії ацетону та ацетооцтової кислоти з нітропрусидом натрію в лужному середовищі утворюються комплексні сполуки, забарвлені в червоний колір:



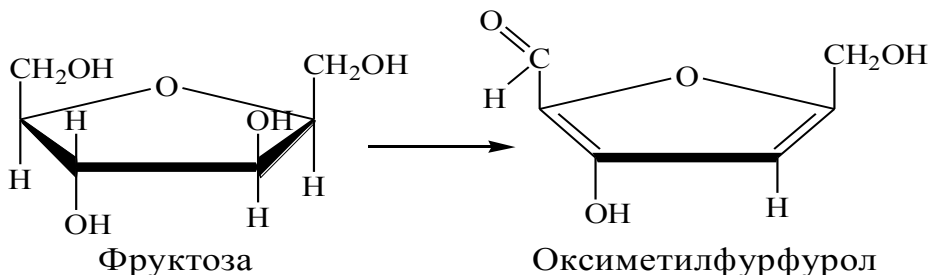
Унаслідок додавання до реакційної суміші концентрованої оцтової кислоти утворюється сполука, забарвлена в темно-червоний колір:



Реакція не є специфічною для ацетону та ацетооцтової кислоти, оскільки креатинін сечі також реагує з нітропрусидом, що супроводжується утворенням подібного забарвлення, але в цьому разі унаслідок додавання концентрованої оцтової кислоти рідина не забарвлюється в темно-червоний колір.

Якісна реакція на жовчні кислоти (реакція Петенкофера)

Принцип реакції. Під час взаємодії жовчних кислот із оксиметилфурфуролом розчин набуває червоно-фіолетового кольору. Реакція зумовлена утворенням забарвлених продуктів конденсації жовчних кислот із оксиметилфурфуролом. Фурфурол утворюється із фруктози (сахарози) внаслідок взаємодії концентрованої сірчаної кислоти:



Якісна реакція на гліцерол (акролейнова реакція)

Принцип реакції. Унаслідок нагрівання гліцеролу з гідросульфатом калію відбувається дегідратація, у результаті чого гліцерол перетворюється на акролейн – ненасичений альдегід етилового ряду зі специфічним запахом:



Якісна реакція на лецитин

Принцип реакції. Лецитин є одним із представників фосфатидів, які входять до складу біологічних мембран. Лецитин не розчиняється в ацетоні й утворює стійку емульсію з водою.

Виділення холестерину з мозку

Принцип методу. Холестерин легко можна одержати із тканин, де він міститься в значній кількості. Препарат холестерину із тканин одержують шляхом екстрагування хлороформом.

Методика виділення

1. У фарфоровій ступці старанно розітерти 3-5 г тканини з 6-10 г гіпсу до одержання гомогенної маси, яку розподілити тонким шаром скляною паличкою або скальпелем уздовж скляної пластинки й висушити у сушильній шафі (60 °C).

2. Висушену з гіпсом тканину зішкребти скальпелем із скельця й дрібно розкришити у ступці.

3. До сухого порошку в пробірці додати 5-6 мл хлороформу й екстрагувати протягом 5-10 хв. Для кращої екстракції вміст пробірки час від часу струшувати.

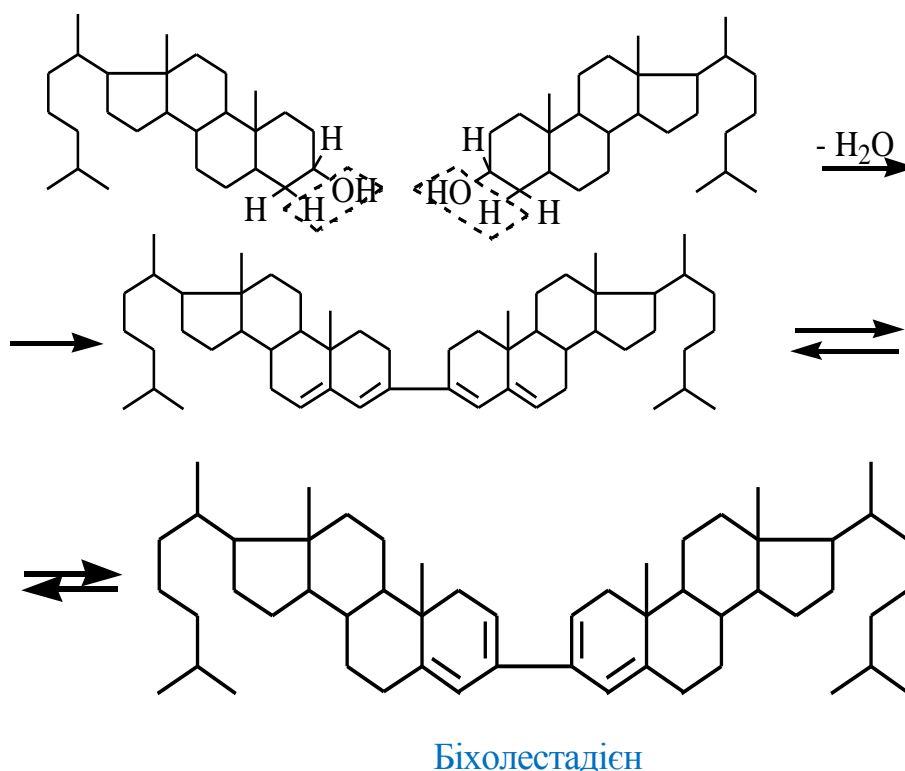
4. Одержаний екстракт у хлороформі відфільтрувати у суху пробірку та використати для проведення якісних реакцій на холестерин.

Якісні реакції на холестерин

Принцип реакцій. Реакції якісного виявлення холестеролу ґрунтуються на його здатності перетворюватися із вторинного спирту в ненасичений вуглеводень.

Розчин холестеролу в хлороформі з оцтовим ангідридом та концентрованою сірчаною кислотою дає спочатку червоне забарвлення, яке переходить потім у синє і, нарешті, зелене. Таким чином, за наявності сірчаної кислоти відбувається дегідратація та окислення холестеролу.

Внаслідок цього дві молекули холестеролу, що втрачають дві молекули води, сполучаються між собою за третім атомом вуглецю. Утворені ненасичені вуглеводні зі спряженими подвійними зв'язками формують різні похідні з сірчаною кислотою та оцтовим ангідридом:



14.6 Особливості патології обміну ліпідів

У ветеринарній практиці досить широкого розповсюдження набуло так зване ожиріння домашніх тварин, а особливо тих, що були стерилізовані. В клітинах органів відбувається відкладення жиру, який приноситься з потоком крові та лімфи з травного тракту, відбувається мобілізація жирних кислот із жирових депо, а також підвищення його синтезу, або трансформації, з вуглеводів і білків, особливо при надлишковому надходженні їх (просте ожиріння).

Дистрофія печінки характеризується дистрофією та некрозом гепатоцитів і порушенням усіх функцій печінки. За перебігом розрізняють гостру й хронічну гепатодистрофію, а за переважаючими порушеннями обміну речовин – білкову зернисту, жирову, амілоїдну, вуглеводну і змішану дистрофію.

Найчастіше зустрічається жирова дистрофія, особливо у високопродуктивних корів, у поросят - токсична гепатодистрофія. Патолого-анатомічні зміни залежать від виду гепатозу і ступеня його вираженості.

Макроскопічно печінка збільшена, сіро-коричневого, а при жировій дистрофії сіро-жовтуватого чи жовто-оранжевого кольору, в'яла (при амілоїдній дистрофії щільніша, сіро-коричневого кольору), зі згладженим або недостатньо вираженим рисунком.

Для хронічного жирового *гепатозу* характерне збільшення печінки, краї її заокруглені, печінка має строкатий мозаїчний рисунок: коричнево-червоні ділянки чергуються з сіро-жовтими чи жовтими. При токсичній гепатодистрофії печінка дещо збільшується в розмірах, в'яла, мозаїчна (червоно-коричневі, темно-червоні ділянки чітко відрізняються від неправильної форми сіро-жовтих). Хронічний перебіг зустрічається рідко і завершується токсичним цирозом.

Діагноз ставлять з урахуванням якості згодовуваних кормів, структури й повноцінності раціону, особливо за цукром, крохмалем, біологічно активними речовинами, клінічних симптомів, результатів лабораторного дослідження крові та патолого-анатомічного розтину трупів. Якщо перебіг жирового гепатозу хронічний, враховують результати колоїдно-осадових проб. Слід відрізнити інші хвороби печінки.

Для хронічного гепатозу у молодняку великої рогатої худоби характерне збільшення печінки, хоч і не таке, як при абсцесах, проте ділянка враження - безболісна, а при морфологічному дослідженні крові не виявляють лейкоцитозу і нейрофілії.

У корів жирова гепатодистрофія буває частіше, ніж гепатит або цироз. Перебігає хронічно зі значно вираженою гепатомегалією. Ця патологія уражає печінку, нирки, серцеві м'язи, і характеризується збільшенням кількості жиру в клітинах, де виявляється в нормі у незначній кількості.

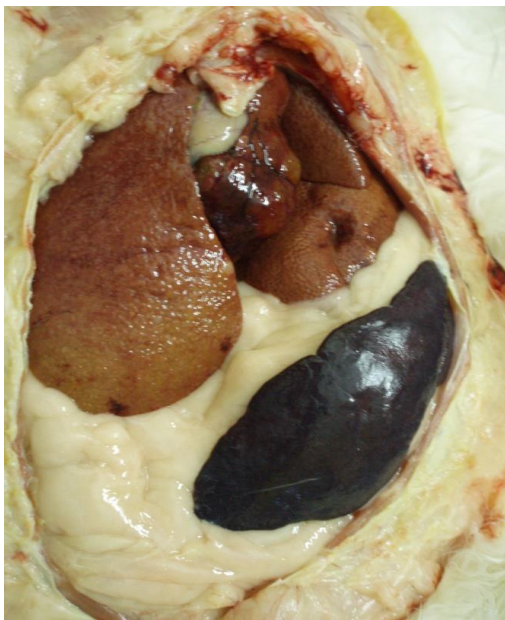
За даної патології орган збільшений в об'ємі, м'якої консистенції, світло-жовтого кольору, поверхня розрізу органа жиру липка (*Рис. 14.6.1*).

Жирова дистрофія печінки корови нічим не відрізняється від жирової дистрофії печінки людини: коли нормальна фізіологія печінки під загрозою, порушується її цілісність і функціональність. Печінка може переповнитися жиром при збільшенні поглинання жирних кислот із крові, що безпосередньо пов'язане з кількістю крові, яка протікає в печінці, а також концентрацією цих кислот у крові. Обидва показники збільшуються перед отеленням, і концентрація їх у крові може залишатися високою, доки корова не досягне позитивного енергетичного балансу.

Найбільше зростання концентрації жирних кислот у крові відбувається

під час отелення і лактації, коли корова зазнає величезних гормональних змін, що й спричиняє у тварини негативний енергетичний баланс.

У період високої концентрації жирних кислот у крові печінка не може впоратись зі «звичайним» обміном цих кислот, що й спричиняє розвиток жирової дистрофії печінки і як наслідок – може розвинутиись субклінічний або клінічний кетоз.



А



Б

Рис. 14.6.1. Ожиріння, жирова дистрофія печінки собаки (А), жирова дистрофія нирки кота (Б).

При мікроскопічному дослідженні печінки (забарвлення гістозрізів гематоксиліном та еозином) видно, що жирова дистрофія розвивається в центральній і середній зонах частки. Непошкоджена паренхіма печінки збереглась по периферії часток.

Гепатоцити, які перебували в стані жирової дистрофії, збільшені, круглої форми, в них виявлено пустоти – вакуолі, які утворились на місці розчинення крапель жиру (в спиртах під час виготовлення гістологічного препарату) (**Рис.14.6.2 – А**). При забарвленні гістозрізів Суданом III цитоплазма клітин, що містять жир, набуває жовтогарячого кольору (**Рис.14.6.2 – Б**).

Білірубін – похідний гемоглобіну, його глобінової частини. Пігмент, у якого відсутнє залізо, утворюється в гепатоцитах і макрофагах кісткового мозку, лімфовузлах. При надлишку білірубіну в крові виникає жовтяниця.

Розрізняють три види жовтяниць: механічну, паренхіматозну, гемолітичну. **Механічна жовтяниця** виникає в результаті уповільненого відтоку жовчі при закупорці, або здавленні жовчних протоків печінки жовчаними камінцями, аскаридами, пухлинами, рубцями, запальним набряком тканини, ексудатом та інше), відбувається переповнення жовчю жовчного міхура. (**Рис.13.6.3.**)

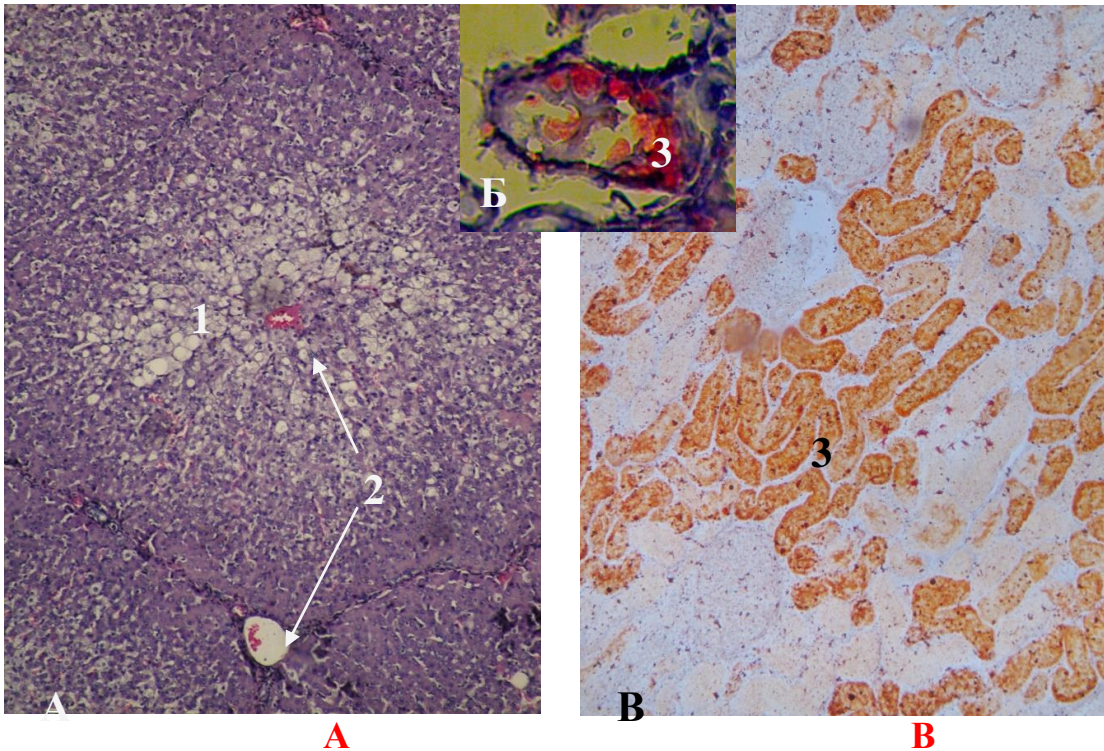


Рис.14.6.2. Гістопрепарат печінки свині (А), нирки (Б, В): 1 –жирова дистрофія гепатоцитів; 2 – кровословнення центральної вени та вен триади; 3 –відкладення ліпідів в епітелії звивистих каналців. Забарвлення гематоксиліном та еозином (А); Суданом III (Б, В). Збільшення x 200 (А); x 100 (Б); x 400 (В - за Локесом).

При механічній жовтяниці гістологічним дослідженням на периферії часточок печінки відмічають між її клітинами розширені внутрішньочасточкові жовчні ходи, заповнені жовчю. Вони забарвлені в коричневий колір і мають вигляд коротких, злегка звивистих, або розгалужених тяжів різної товщини, добре видно розширені холангіоли та жовчні протоки заповнені жовчю (Рис.14.6.3.).



Рис. 14.6.3. Механічна (застійна, підпечінкова) жовтяниця собаки

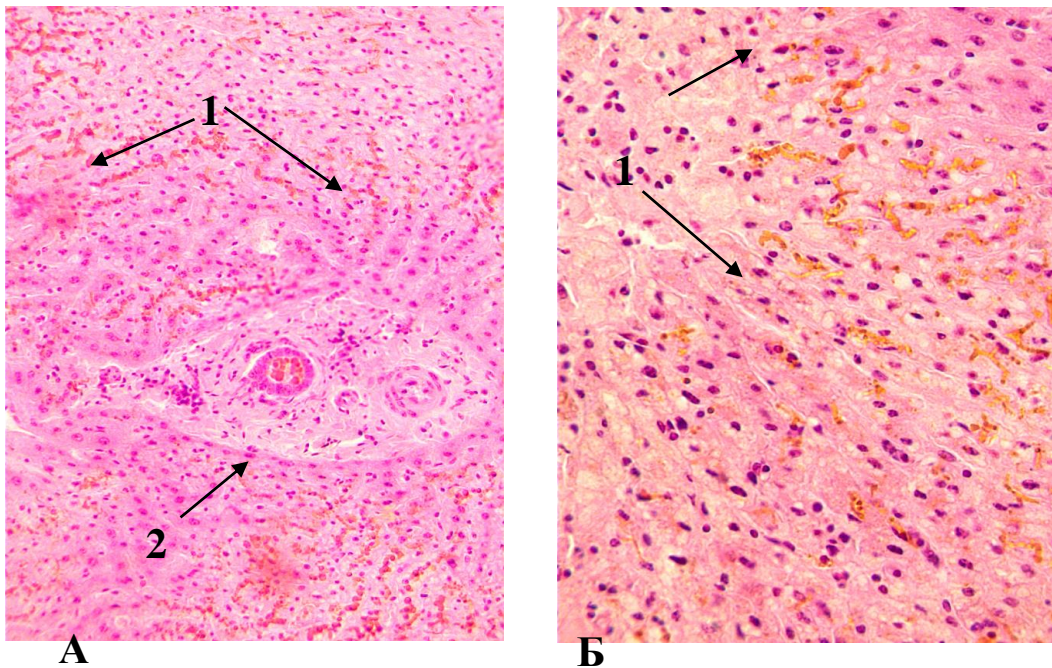


Рис 14.6.4. Гістопрепарат печінки за механічної жовтяниці: 1 – скупчення білірубіну в жовчних капілярах; 2 – скупчення білірубіну в міжчасточковій жовчній протоці. Забарвлення гематоксиліном та еозином (А). Збільшення 200 (А), 400 (Б).

Паренхіматозна жовтяниця спостерігається при дистрофічних процесах у печінці, яка викликається різними хворобами (сепсис, лептоспіроз, інфекційний енцефаломієліт коней, токсична дистрофія печінки, отруєння та ін.). У результаті пошкодження гепатоцитів призводить до припинення процесів кон'югації білірубіну з глюкуроною кислотою і не виводять пігмент у жовчні капіляри. Жовчні пігменти після розпаду гепатоцитів потрапляють безпосередньо в кровоносні та лімфатичні судини, виникає гіпербілірубунемія, яка зумовлена накопиченням у крові білірубіну, як зв'язаного з білками плазми, так і його кон'югатів з глюкуроною кислотою. Відбувається забарвлення органів і тканин у жовтий колір (**Рис. 13.6.6.**).

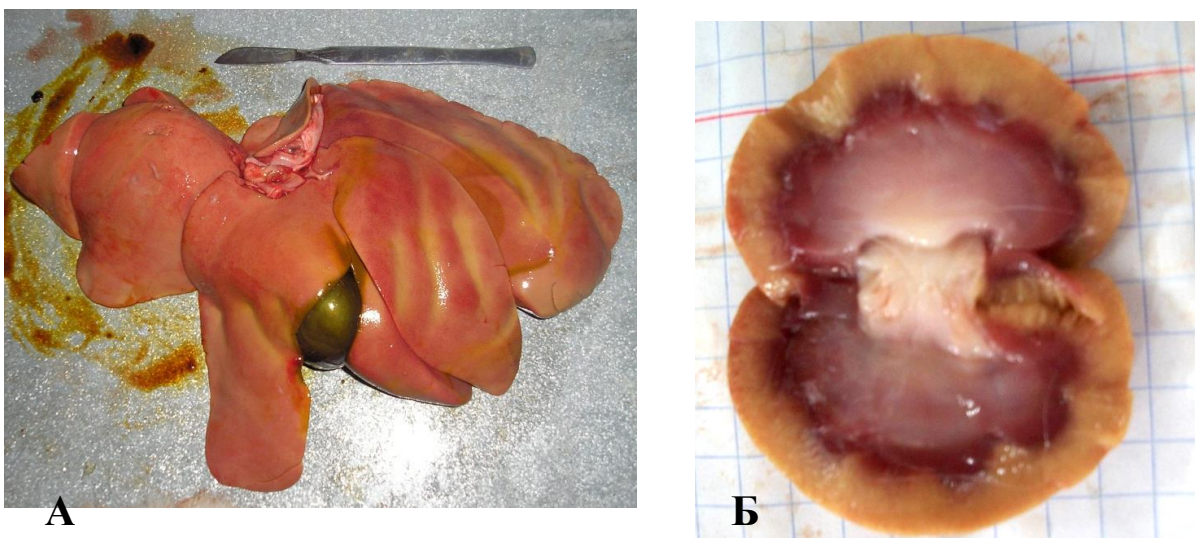


Рис. 13.6.5 Печінка (А) та нирка (Б) собаки за паренхіматозної жовтяниці.

При мікроскопії спостерігається дистрофія гепатоцитів з наявністю в цитоплазмі гепатоцитів та макрофагів зерен білірубину (*рис. 13.6.5*).

Гемолітична жовтяниця виникає внаслідок підвищеного гемолізу еритроцитів і переводу гемоглобіну макрофагами в білірубін.

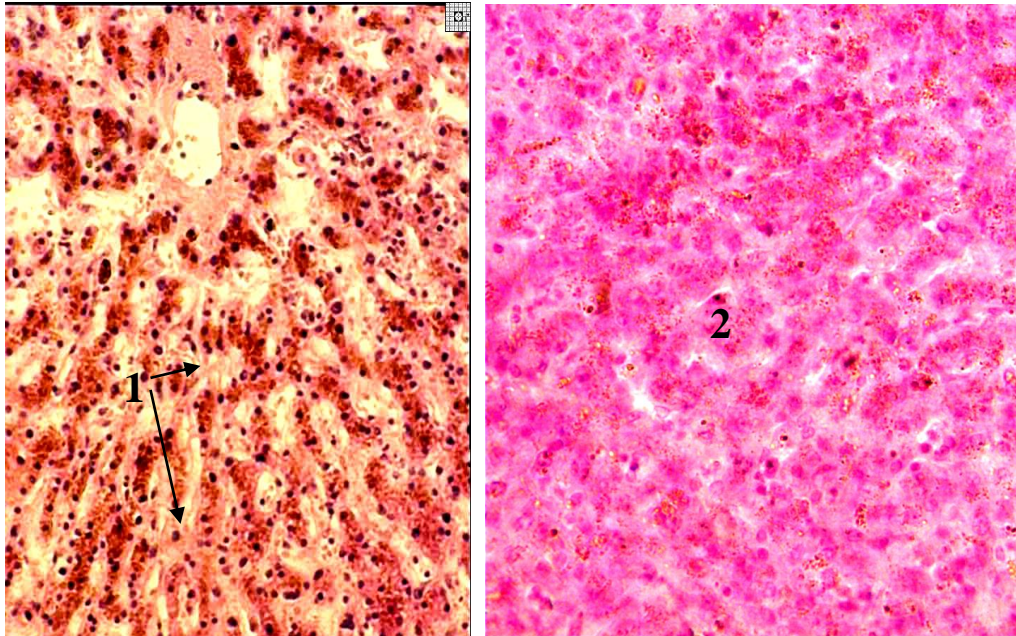


Рис. 13.6.6. Гістопрепарат печінки: 1 – відкладення білірубину в цитоплазмі гепатоцитів; 2 – зерниста дистрофія гепатоцитів. Забарвлення гематоксиліном та еозином. Збільшення x 200

Гемолітична жовтяниця має розвиток при багатьох хворобах тварин: піроплазмідози, гемобластози, отруєння та ін. і супроводжується відкладенням білірубину в склері ока, шкірі, слизових і серозних оболонках, внутрішніх органах із забарвленням органів та тканин у жовто-зелений відтінок.

Гемолітична (надпечінкова) жовтяниця у людини може виникнути внаслідок збільшення розпаду еритроцитів і підвищеним утворенням білірубину, повністю вивести з організм який печінка не в змозі. Надпечінкова жовтяниця може бути вродженою чи набутою і розвивається при таких захворюваннях, як мікросфероцитарна спадкова анемія, гемоглобінопатія, еритробластоз новонароджених, гостра посттрансфузійна анемія, хвороба Аддісона-Бірмера, малярія, інфаркт легенів, токсичні впливи (миш'як, фосфор, сульфаніламід, тринітротолуол), хронічний лімфолейкоз, лімфосаркома і ін. Спостерігається характерна помірна жовтяничність і блідість шкірних покривів і склер. Збільшення печінки незначне. Селезінка, як правило, збільшена. Визначається гіпербілірубінемія з переважанням непрямой фракції. Жовчні пігменти у сечі не виявляються, але при гемолітичних кризах з'являється уробіліноген. Наявні характерні зміни еритроцитів: мікросфероцитоз, макроцитоз, збільшення числа ретикулоцитів, зниження резистентності еритроцитів.

Тестові завдання

до теми: «Загальна характеристика та організація рослинної клітини». «Мікроскопія»

1. Розглянуті клітини з великою центральною вакуоллю, яка заповнена клітинним соком або містить кристалічні включення. Це характерно для клітин...

- A. Ціанобактерій
- B. Тварин
- C. Рослин
- D. Грибів
- E. Водорослей

2. Під час вивчення рослинної клітини за допомогою електронного мікроскопу виявлено, що цитоплазму від клітинної оболонки відокремлює ...

- A. Ядерна оболонка
- B. Топопласт
- C. Гіалоплазма
- D. Ендоплазматична сітка
- E. Плазмалемма

3. При електронній мікроскопії клітинної оболонки виявляється її сітчасто-шарувата структура, обумовлена наявністю та розташуванням міцел, утворених макромолекулами...

- A. Пектину
- B. Геміцелюлози
- C. Целюлози
- D. Лігніну
- E. Ліпопротеїду

4. На поверхні епідерми виявлено товстий захисний шар жироподібної речовини...

- A. Суберіна
- B. Кутіна
- C. Кремнезему
- D. Лігніну
- E. Хітину

5. Флороглюцин з конц. сірчаною кислотою пофарбував у малиново-червоний колір клітинні оболонки, що вказує на їхню ...

- A. Одерев'яніння
- B. Опробковування
- C. Ослизнення
- D. Кутинізацію
- E. Мінералізацію

6. Вплив на мікропрепарат розчину сірчаноокислого аніліну спричинив лимонно-жовте забарвлення клітинних оболонок механічних тканин, що свідчить про наявність у них ...

- A. Лігніна

- В. Суберіна
- С. Слизі
- Д. Кутіна
- Е. Мінеральних речовин

7. Насіння льону використовують у медицині як обволікаючий засіб завдяки здатності вторинних клітинних оболонок покривної тканини до ...

- А. Гумозу
- В. Опробкуванню
- С. Ослизненню
- Д. Одереv'янінню
- Е. Мінералізації

8. Опробкування клітинних оболонок пов'язане з накопиченням в них ...

- О. Суберіна
- В. Целюлози
- С. Кутіну
- Д. Лігніну
- Є. Мінеральних солей

9. Клітинні оболонки забарвилися Суданом III у рожевий колір, що свідчить про наявність у них ...

- А. Геміцелюлоє
- В. Целюлози
- С. Лігніну
- Д. Пектіну
- Е. Суберіну

10. Крахмаль накопичується в таких структурах рослинної клітини, як...

- А. Вакуолі
- В. Хлоропласти
- С. Мітохондрії
- Д. Лейкопласти
- Е. Хромопласти

11. У рослин синтез та накопичення вторинного запасного крохмалю відбувається в...

- А. Хлоропластах
- В. Амілопластах
- С. Хромопластах
- Д. Олеопластів
- Е. Протеопластах

12. Внутрішня мембрана хлоропласту утворює вирости в...

- А. Матрікс
- В. Ламели
- С. Рібосоми
- Д. Кристи
- Є. Пухирці

13. Зелені пігменти рослин, що забезпечують фотосинтез, містяться.

- A. Хлоропластах
- B. Амілопластах
- C. Хромопластах
- D. Протеопластах
- E. Мітохондріях

14. У порошку кореневища переважають клітини з дрібними структурами зернистими, що мають концентричну шаруватість і тріщинку по центру. Розчин Люголя забарвлює їх у фіолетовий колір. Ці зерна -...

- A. Напівскладні крохмальні
- B. Складні крохмальні
- C. Прості крохмальні
- D. Прості алейронові
- E. Складні алейронові

15. У цитоплазмі виявлено запасні продукти. Це зернисті структури з темними і світлими шарами, що чергуються навколо них. Отже, зерна ...

- A. Складні алейронові
- B. Складні крохмальні
- D. Прості алейронові
- E. Напівскладні крохмальні

16. Крахмаль, що утворюється в хлоропластах, швидко гідролізується до глюкози і є...

- A. Первинним асиміляційним
- B. Первинним запасним
- C. Вторинним запасним
- E. Транзиторним,

17. У зрізах кореня оману високого (*Inula Helenium*), витриманих у 96% етанолі, в паренхімі з'являються великі, блискучі сферокристали ...

- O. Інуліна
- B. Крохмала
- C. Білка
- D. Слизу
- E. Оксалату кальцію

18. При дії на зріз насіння соняшника реактиву СуданIII, з'явилося рожево-оранжеве забарвлення, що вказує на вміст у насінні.

- O. Інуліна
- B. Білка
- C. Крохмала
- D. Жирної олії
- E. Целюлози

19. Результатом проведеної якісної реакції з розчином Судану III на вміст жирної олії, стало ...

- A. Фарбування у синьо-фіолетовий колір
- B. Забарвлення у рожево-оранжевий колір
- C. Кристалізація
- D. Випадання малиново-червоного осаду

Е. Випаровування олії

20. Зернівки культурних злаків запасують ...

А. Інулін

В. Крахмал, білки

С. Жирні олії

Д. Ефірні олії

Е. Органічні кислоти

21. Серед продуктів життєдіяльності протопласту виявлено гроздевидні зростки кристалів карбонату кальцію.

О. Друзи

В. Схрещені кристали

С. Рафіди

Д. Стілоїди

Е. Цистоліти

22. При мікроскопії листка фікуса в деяких клітинах епідерми виявлено внутрішній виріст клітинної оболонки зі зкупченням кристалів, які при дії хлористих кислот розчиняються з виділенням вуглекислого газу. Ця структура - ...

А. Стілоїд

В. Рафіда

С. Друза

Д. Одиночний кристал

Е. Цистоліт

23. Виявлені при мікроскопії насіння алейронові зерна є складними, тому що у їх складі є...

А. Ядро, аморфний білок, глобоїд

В. Кристалоїд, аморфний білок, глобоїд

С. Ядро, вакуолі, глобоїд

Д. Глобоїд, вакуолі, кристалоїди

Е. Вакуоль, ядра, аморфний білок

24. На поверхневих препаратах листка конвалії травневої в ідіобластах мезофілу помітні пучки голкоподібних кристалів.

А. Рафіди

В. Цистоліти

С. Друзи

Д. Одиночні кристали

Е. Стілоїди

25. Оболонки клітин внутрішньої епідерми навколоплідника солодкого перцю пронизані порами. У суміжних клітинах циліндричні порові канали збігаються за напрямом та діаметром. Отже, ці пори ...

А. Гілкуваті

В. Косі

С. Щілевидні

Д. Прямі

О. Окаймлені

26. При мікроскопічному та гістохімічному аналізі епідерми пелюсток у клітинному соку встановлено наявність фіолетового пігменту.

А.Хлорофіла

В.Каротіна

С.Антоціана D. Ксантофіла Е. Антохлора.

27. Встановлено, що пігменти ксантофіли, що забарвлюють пелюстки та плоди у жовто-оранжевий колір, містяться в ...

А. Олеопластах

В. Амілопластах

С. Протеопластах

Д. Пропластиди

Е. Хромопластах

28.Серед пігментів пластид є такі, які виконують функцію антиоксидантів і є провітамінами

А. Каротиноїди

В.Хлорофіл "а"

С.Хлорофіл "в"

Д.Антохлори

Е.Антоціани

29. Клітини грибів містять пігменти ...

А.Хромопластах

В.Хлоропластах

С.Цитоплазмі та оболонці

Д.Ядрі

Е.Хроматофорах

30.У перезрілих соковитих плодах руйнується міжклітинна речовина і клітини роз'єднуються, тобто відбувається...

О.Мацерація

В. Лігніфікація

С. Мінералізація

Д. Ослизнення Е. Гумоз

31. До освітлювальної системи світлового мікроскопа належать:

а) об'єктиви

б) окуляр

в) дзеркало

г) штатив **Еталон відповіді: 1 - в**

32. За допомогою електронного мікроскопа можна вивчати:

а) ультрамікроскопічну будову клітини

б) будову вірусів

в) біохімічні процеси в клітині

г) біосинтетичні процеси в клітині

д) біокаталітичні процеси в клітині. **Еталон відповіді: 2 - а**

33. Виберіть неправильний варіант відповіді:

а) організм - відкрита біологічна система;

- б) багатоклітинний організм є сума клітин, «клітинна держава»;
- в) організм - це саморегулююча система;
- г) організм - це несаморегулююча система;
- д) організм - це відкрита, самовідтворювальна, самовідновлювальна система

Еталон відповіді: 3 - г

34. Назвати рівні організації живої матерії:

- а) молекулярний
- б) атомний
- в) клітинний
- г) організмовий
- д) популяційно-видовий

34. Що входить до складу тіла неклітинних організмів:

- а) ядро
- б) цитоплазма
- в) молекула ДНК або РНК
- г) білкова оболонка

35. Перерахуйте основні властивості життя:

- а) обмін речовин і енергії
- б) подразливість
- в) спадковість і мінливість
- г) дискретність і цілісність
- д) онтогенез і філогенез

36. Що означає термін „велике збільшення”?

- а) окуляр х10, об'єктив х40
- б) окуляр х7, об'єктив х8
- в) окуляр х10, об'єктив х8
- г) окуляр х10, об'єктив х90

37. Найменшою структурою людського організму є:

- а) тканина
- б) клітина
- в) орган
- г) система органів

38. Наука, яка вивчає проблеми спадковості і мінливості організмів:

- а) екологія
- б) фізіологія
- в) генетика
- г) біогеографія

39. Які науки вивчають організми на молекулярному рівні:

- а) біохімія
- б) анатомія
- в) молекулярна біологія
- г) екологія

40. Життя існує на рівні:

- а) молекули
- б) клітини
- в) тканини
- г) організму

41. Загальне збільшення мікроскопу дорівнює:

- а) збільшенню окуляра
- б) збільшенню об'єктива
- в) збільшенню окуляра x збільшенню об'єктива

Тестові завдання

до теми: «Амінокислоти, пептиди і білки»

1. Нейтральною амінокислотою є:

- аргінін;
- лізин;
- *аланін;
- аспаргінова кислота;
- гістидин.

2. Сірковмісною амінокислотою є:

- треонін;
- *гомоцистеїн;
- триптофан;
- глутатіон;
- тирозин.

3. В складі білків постійно зустрічається:

- оксипролін;
- валін;
- У-аміномасляна кислота;
- *β-аланін;
- норлейцин.

4. Дисульфідний зв'язок містить амінокислота:

- лізин;
- метіонін;
- гомоцистеїн;
- *цистин;
- цистеїн.

5. Амінокислотою не є:

- лейцин;
- валін;
- *холін;
- лізин;
- аланін.

6. Пептидом, що містить залишки β-аміномасляної кислоти, є:

- глутатіон;

карнозин;
офтальмова кислота;
фаллоїдин;
*вазопресин.

7.Пептидний зв'язок містять:



8.Кератин є:

глобуліном;
пептидом;
гістоном;
протаміном;
*протеїноїдом.

9.Білки характеризуються:

*амфотерними властивостями;
відсутністю специфічної молекулярної конфігурації;
збереженням структури молекули при нагріванні;
нездатністю до кристалізації;
відсутністю здатності крутити площину поляризації світла.

10.Швидкість гел'фільтрації білків залежить:

від величини заряду білкової молекули;
від форми білкової молекули;
від величини оптичного обертання;
*від величини молекулярної маси;
від розчинності білка.

11.Найбільшою ступінню α - спіралізації має поліпептидний ланцюг в молекулі:

*міоглобіна;
рибонуклеази;
лізоцима;

хімотрипсиногена;
пепсина.

12. Для визначення молекулярної маси білка практично неможливо використати метод:

*осмометричний;
кріоскопічний;
*гельфільтрації;
ультрацентрифугування;
*електрофореза в градієнті концентрації поліакріламідного геля.

13. Простатична група молекули гемоглобіна зв'язана з білковою частиною без залишка:

гістидина;
*валіна;
*гліцина;
*аспаргінової кислоти;
*аргініна.

14. В процесі гідролізу білка:

зменшується кількість вільних COOH — груп;
збільшується кількість вільних аміногруп;
*різко падає рН розчину;
утворюються пептидні зв'язки;
виділяється газоподібний азот.

15. Оптичної активності не має:

лейцин;
аланін;
*гліцин;
цистеїн;
аргінін.

16. При проведенні електрофорезу в умовах, де рН буферного розчину вище, ніж ізоелектрична точка білка, останній:

*мігрує до катоду;
*мігрує до аноду;
залишається на лінії старту;
утворює біполярний іон;
піддається гідролізу.

17. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь в формі, якщо «А» - це вміст вуглецю (%) в білках, а «Б» - це вміст азоту (%) в білках:

* $A > B$; $B > A$; $A = B$.

18. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь в формі :

$A > B$; * $B > A$ $A = B$. А. Розчинна дія по відношенню до білків водного розчину пірофосфата літія. Б. Розчинна дія водного розчину хлориду натрію.

19. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь у формі:

$A > B$; * $B > A$; $A = B$. А. Число білкових фракцій сиворотки крові людини, що спостерігаються при їх розділенні методом електрофорезу на папері.

Б. Число білкових фракцій виворотки крові людини, що спостерігаються при їх розділенні за допомогою електрофорезу в поліакриламідному гелі.

20. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь у формі:

* $A > B$; $B > A$; $A = B$. А. Відносна молекулярна маса гемоглобіну.

Б. Відносна молекулярна маса пепсину.

21. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь у формі:

$A > B$; * $B > A$; $A = B$. А. Число амінокислотних залишків в молекулі міоглібіну людини. Б. Число амінокислотних залишків в молекулі пепсину.

22. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь у формі:

* $A > B$; $B > A$; $A = B$. А. Вміст аспаргінової і глютамінової кислот в білках.

Б. Вміст триптофану і гістидину в білках.

23. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь у формі:

* $A > B$; $B > A$; $A = B$. А. Число амінокислотних залишків в молекулі глутатіону. Б. Число амінокислотних залишків в молекулі карнозину.

24. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь у формі:

$A > B$; $B > A$; * $A = B$.

А. Число амінокислотних залишків в молекулі окситоцину.

Б. Число амінокислотних залишків в молекулі вазопресину.

25. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь у формі:

$A > B$; * $B > A$; $A = B$. А. Розчинність альбумінів в воді. Б. Розчинність глобулінів в воді.

26. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь у формі:

$A > B$; $B > A$; $A = B$.

* А. Основність гістонів.

Б. Основність Протамінів.

27. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь у формі:

* $A > B$; $B > A$; $A = B$.

А. Розчинність альбумінів в міцних сольових розчинах.

Б. Розчинність глобулінів в міцних сольових розчинах.

28. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь у формі:

$A > B$; $B > A$; * $A = B$.

А. Відстань між атомами вуглецю та азоту в пептидному зв'язку.

Б. Відстань між α -вуглецевим атомом та атомом азоту в поліпептиному ланцюзі.

29. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь в формі $A > B$; $B > A$; $A = B$.

Ступінь спіралізації поліпептидного ланцюга в молекулі рибонуклеази.

Ступінь спіралізації поліпептидного ланцюга в молекулі альбуміну курячого яйця.

* $A > B$; $B > A$; $A = B$.

30. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в кожному пункті розділу, і дайте відповідь в формі $A > B$; $B > A$; $A = B$.

А. Кількість субодиниць в молекулі гемоглобіна.

Б. Кількість субодиниць в молекулі вірусу тютюнової мозаїки.

$A > B$; * $B > A$; $A = B$.

Тестові завдання

до теми:» Гормони»

1. Які гормони належать до стероїдних?

інсулін, глюкагон, секретин, соматостатин.

*кортикостероїди, статеві гормони.

тироксин, трийодтиронін, паратгормон.

гормони гіпофіза, гіпоталамуса, а також деякі тканинні гормони.

2. Яка сполука є попередником стероїдних гормонів?

2-метил-1, 4-нафтохінон.

2) бета-іононова сполука.

3) ізоалоксазин.

*4) циклопентапергідрофенантрен.

3. Із яких сполук утворюються стероїди ?

1) із холестерину.

2) із ацетил-КоА.

3) із андростану.

4) із естрану.

4. Які стероїди належать до ендрогенів?

1) естріол, прогестерон, естрон, естрадіол.

2) кортизон, тестостерон, андростерон.

3) тестостерон, метилтестостерон, андростерон, дегідроандростерон.

4) андростерон, тестостерон, естрадіол.

5. Із яких попередників синтезуються статеві гормони?

1) із ацетил-КоА.

2) із андростану.

3) із циклопентапергідрофенантрону.

4) із холестерину.

6. Який гормон виробляє жовте тіло?

1) фолікулін.

- 2) естрадіол.
- 3) прогестрон і релаксин.
- 4) прогестрон і естрон.

7. Де відбувається розпад та інактивація статевих гормонів?

- 1) у нирках.
- 2) у печінці.
- 3) у статевих залозах.
- 4) у крові.

8. Яка маса щитовидної залози у людини?

- 1) 50-60 г.
- 2) 2-4 г.
- 3) 100-200 г.
- 4) 20-30 г.

9. Які гормони синтезуються у щитовидній залозі?

- 1) кальцитонін=тироксин, трийодтиронін.
- 2) тиреотропін, тиреоглобулін, дийодтиронін.
- 3) дийодтирозин, моноіодтирозин, тироксин.
- 4) паратиреокрин, тиреотропін, тироксин.

10. Яке захворювання виникає внаслідок гіперфункції щитовидної залози?

- 1) базедова хвороба.
- 2) ендемічний зоб.
- 3) мікседема.
- 4) кретинізм.

11. Яка патологія виявляється у дорослих людей внаслідок гіпофункції щитовидної залози?

- 1) базедова хвороба.
- 2) ендемічний зоб.
- 3) мікседема.
- 4) кретинізм.

12. Що є головною причиною ендемічного зобу?

- 1) недостатність мікроелементів у їжі.
- 2) нестача йоду в оточуючому середовищі.
- 3) порушення всмоктування йоду у травному тракті.
- 4) порушення засвоєння йоду із крові щитовидною залозою.

13. До якої патології призводить гіпофункція щитовидної залози у ранньому дитинстві?

- 1) до базедової хвороби.
- 2) до тиреотоксикозу.
- 3) до мікседеми.
- 4) до кретинізму.

14. Яка добова потреба дорослої людини у йоді?

- 1) 10-20 мг.
- 2) 50-100 мкг.
- 3) 100-200 мкг.

4) 100-700 мг.

15. У чому полягає основна біологічна дія кальцитоніну?

- 1) гальмує перехід кальцію із крові у тканини.
- 2) гальмує екскрецію фосфору і кальцію з сечею.
- 3) підсилює звільнення кальцію із кісток і відкладення у кістках фосфору.
- 4) підсилює відкладення кальцію у кістках і стимулює виділення фосфатів з сечею.

16. Де синтезується інсулін?

- 1) у альфа-клітинах ostrivciv Лангерганса підшлункової залози.
- 2) у мозковій речовині наднирників.
- 3) у корі наднирників.
- 4) у бета-клітинах ostrivciv Лангерганса підшлункової залози.

17. Скільки пептидних ланцюгів і АК-залишків у зрілому інсуліні?

- 1) один поліпептидний ланцюг із 51 АК-залишкаі
- 2) два поліпептидних ланцюги (А і В), побудовані відповідно із 21 і 30 залишків АК?
- 3) чотири поліпептидних ланцюги (два А і два В).
- 4) інсулін є циклопептидом.

18. Як впливає інсулін на концентрацію цукру в крові?

- 1) підвищує рівень цукру в крові.
- 2) не впливає на вміст цукру в крові.
- 3) знижує концентрацію цукру в крові.
- 4) знижує рівень цукру в крові і глікогену в печінці.

19. Яке захворювання розвивається у разі недостатньої секреції (або синтезу) інсуліну?

- 1) адісонова хвороба.
- 2) базедова хвороба.
- 3) цукровий діабет.
- 4) не цукровий діабет.

20. Як перетворюється проінсулін на активний інсулін?

- 1) відщепленням С-пептиду (33 залишки АК) від молекули проінсуліну.
- 2) активацією проінсуліну специфічними активаторами.
- 3) відщепленням від проінсуліну нонапептиду — інгібітору.
- 4) приєднанням до молекули проінсуліну активуючого кофактора.

21. Що таке глюкагон?

- 1) простий білок.
- 2) глікопротеїн.
- 3) пептид, що складається із 29 залишків АК.
- 4) пептид, що складається із 51 залишка АК.

22. Яка основна біологічна дія глюкагону?

- 1) зниження концентрації цукру в крові.
- 2) підвищення рівня цукру в крові головним чином за рахунок розпаду глікогену в печінці.
- 3) стимуляція синтезу глікогену в печінці за рахунок АК.
- 4) регуляція вуглеводно-жирового обміну.

23. Які речовини є тканинними гормонами?

- 1) простагландини, гастрин, секретин, ентерогастрин.
- 2) валіноміцин, опіюїдні пептиди (ендорфіни, енкефаліни), простагландини.
- 3) калікреїн, ангіотензин

24. У якому стані в організмі людини і вищих тварин знаходяться глікозаміноглікани (мукополісахариди)?

- 1) зв'язані з білками.
- 2) розчинені в сироватці, цитоплазмі, фізіологічних рідинах.
- 3) у вигляді вільних вуглеводів.
- 4) зв'язані з ліпідами.

25. Що таке крохмаль?

- 1) високомолекулярний глікозаміноглікан, побудований із похідних глюкози.
- 2) дисахарид, побудований з глюкози.
- 3) високомолекулярний гомополісахарид, побудований із глюкози.
- 4) олігосахарид, що містить галактозу.

27. Які полісахариди мають тваринне походження?

- 1) крохмаль, целюлоза, агар.
- 2) хітин, глікоген, целюлоза.
- 3) декстрин, гепарин, гепаринсульфат, клітковина, пектинові речовини.
- 4) глікоген, хітин, гіалуронові кислоти, декстрини, гепарин.

28. Які полісахариди є основними компонентами слизу в організмі (слина, сльози, кишковий сік, слиз суглобів)?

- 1) крохмаль, глікоген, хітин, клітковина.
- 2) целюлоза, крохмаль, глікоген, хітин.
- 3) гіалуронова кислота, хондроїтинсірчана кислота, гепарин, дерматансульфат, кератансульфат, хітин.
- 4) хітин, клітковина, гепарин.

29. В яких органах і тканинах міститься найбільше глікогену?

- 1) кістках, крові.
- 2) головному мозку, селезінці.
- 3) печінці, скелетних м'язах.
- 4) шкірі, сухожиллях.

30. Яку фізіологічну функцію виконує глікоген?

- 1) енергетичну і запасну для вуглеводів.
- 2) структурну.
- 3) каталітичну.
- 4) імунно-захисну.

31. Які фізіологічні функції виконують гетерополісахариди?

- 1) енергетичну і запасну для вуглеводів.
- 2) імунно-захисну, структурну.
- 3) імунно-захисну, енергетичну.
- 4) буферну, механічно-захисну.

Тестові завдання

до теми: « Ферменти, коферменти, вітаміни»

1. Абсолютна специфічність до субстрату проявляє фермент:

лізоцим;
карбоксипептидаза;
*уреаза;
хімотрипсин;
папаїн.

2. Ацетил - КоА - карбоксилаза являється:

а) ліазою;
б) гідролазою;
в) трансферазою;
г) лігазою;
д) ізомеразою.

3. Серин і гістидин утворюють каталітичний центр:

а) лізоцима;
б) алкогольдегідрогенази;
в) хімотрипсина;
г) аспартат-аміотрасферази;
д) цитохромоксидази.

4. Майже всі реакції перетворення амінокислот пов'язані з участю кофермента:

а) тіамінпірофосфата;
б) піридоксальфосфата;
в) нікотин-амідаденіндинуклеотидфосфата;
г) флавінаденіндинуклеотида;
д) біотина.

5. Пантотенова кислота являється складовою частиною:

а) ліпоєвої кислоти;
б) глутатіона;
в) тіамінпірофосфата;
г) коензима А;
д) тетрагідрофолієвої кислоти.

6. Вітамін В2 є основною частиною кофермента:

а) піридоксальфосфата;
б) біотина;
в) нікотинамідаденіндинуклеотида;
г) флавінаденіндинуклеотида;
д) тіамінпірофосфата.

7. Вітаміни є сполуки, що:

а) в дуже малих концентраціях забезпечують каталітичні функції ряду ферментів;
б) проявляють однакові фізичні властивості;
в) мають подібну хімічну будову; г) безперешкодно синтезуються в будь-якому організмі.

8. Пепсин проявляє оптимальну активність при рН:

- а) 1,5-2,5 ;
- б) 4-5 ;
- в) 6-7 ;
- г) 8-9 ;
- д) 10-11

9. Фермент уреаза по міжнародній номенклатурі має систематичну назву:

- а) ациламід - амідогідролаза;
- б) біотінамід - амідогідролаза;
- в) карбамід -амідогідролаза;
- г) гуандинацетат - уреогідролаза;
- д) нікотинамід - амідогідролаза.

10. Ділянка молекули фермента, відповідальний одночасно і за приєднання речовин, що піддається ферментативній дії, і за здійснення ферментативного каталізу, називається:

- а) каталітичним центром;
- б) активним центром;
- в) субстратним центром;
- г) алостеричним центром;
- д) гідрофобним центром

11. Серин, гістидин, глютамінова кислота і тирозин утворюють активний центр фермента:

- а) лізоцима;
- б) ацетилхолінестерази;
- в) альдози;
- г) аспартат-аміотрансферази;
- д) цитохромоксидази.

12. Реакція, що протікає у відповідності з рівнянням:



- а) гідролізу;
- б) протеолізу;
- в) пероксидази;
- г) оксидази;
- д) ізомеризації.

13. Перетворення: $2H_2O_2 \leftrightarrow 2H_2O + O_2$ здійснюється при участі:

- а) оксигенази;
- б) каталвзи;
- в) пероксидази;
- г) оксидази;
- д) НАД - залежної дегідрогенази.

14. Окисне декарбоксилювання піривиноградної кислоти здійснюється при участі вітаміна

- а) А;
- б) В₁;

в) V_6 ;

г) V_{12} ;

д) Д.

15. Співставте два твердження або показника (позначених буквами А і Б) і дайте відповідь у формі: $A > B$; $B > A$; $A = B$.

А. Добова потреба людини в вітаміні V_1 .

Б. Добова потреба людини в вітаміні С.

16. Співставте два твердження або показника (позначених буквами А і Б) і дайте відповідь у формі: $A > B$; $B > A$; $A = B$.

А. Каталітична активність каталази в реакції розкладу пероксиду водню. Б. Каталітична активність заліза в реакції розкладу пероксиду водню.

17. Співставте два твердження або показника (позначених буквами А і Б) і дайте відповідь у формі: $A > B$; $B > A$; $A = B$.

А. Швидкість реакції при повному насиченні фермента субстратом (в умовах оптимального рН і температури).

Б. Швидкість реакції при відсутності повного насичення фермента субстратом (в умовах оптимального рН і температури).

18. Співставте два твердження або показника (позначених буквами А і Б) і дайте відповідь у формі: $A > B$; $B > A$; $A = B$.

А. Кількість субодиниць в молекулі каталази.

Б. Кількість протомерів в фрагменті молекули глутаматдегідрогенази.

19. Співставте два твердження або показника (позначених буквами А і Б) і дайте відповідь у формі: $A > B$; $B > A$; $A = B$.

А. Відносна молекулярна маса химотрипсина.

Б. Відносна молекулярна мас каталази.

20. Співставте два твердження або показника (позначених буквами А і Б) і дайте відповідь у формі: $A > B$; $B > A$; $A = B$.

А. Температурний оптимум каталітичної активності ферментів тваринного походження.

Б. Температурний оптимум каталітичної активності ферментів рослинного походження.

21. Співставте два твердження або показника (позначених буквами А і Б) і дайте відповідь у формі: $A > B$; $B > A$; $A = B$.

А. Оптимальне значення рН середовища для пепсину.

Б. Оптимальне значення рН середовища для трипсину.

22. Співставте два твердження або показника (позначених буквами А і Б) і дайте відповідь у формі: $A > B$; $B > A$; $A = B$.

А. Число індивідуальних ферментів в мультимізімному комплексі привуватдегідрогенази декарбоксілюючої.

Б. Число індивідуальних ферментів в мультимізімному комплексі синтези вищих жирних кислот.

23. Співставте два твердження або показника (позначених буквами А і Б) і дайте відповідь у формі: $A > B$; $B > A$; $A = B$.

А. Гмолекулярна активність каталази.

Б. Активність каталітичного центра каталази.

24. Співставте два твердження або показника (позначених буквами А і Б) і дайте відповідь у формі: $A > B$; $B > A$; $A = B$.

А. Каталітична активність апофермента.

Б. Специфічність кофермента.

25. Виберіть з наступних тверджень вірні.

а) Більшість ферментів проявляє максимальну активність при рН, близькому до нейтрального; б) всі ферменти проявляють максимальну активність рН 7;

в) всі пептид-пептидогідролізи проявляють максимальну активність при рН 1,5-2,5;

г) всі ліпази проявляють максимальну активність при рН 8-9.

26. Виберіть з наступних тверджень вірні.

а) Систематична назва гексокінази (глюкокінази) - АТФ: D- глюкоза-6-фосфотрансфераза;

б) систематична назва пируваткінази - АТФ: пируват-фосфотрансфераза;

в) глюкозо-6-фосфат-изомераза - тривіальна назва D-глюкозо-6-фосфат-фосфогідролаза;

г) фруктозодифосфатальдолаза - тривіальна назва D- фруктозо-1,6-дифосфат-триозофосфат-ліаза.

27. Виберіть з наступних тверджень вірні.

а) Ферменти здатні проявляти каталітичну активність поза клітиною;

б) в хлібопекарській промисловості застосовують ферментні препарати, що виділяються із грибів-аспергилів;

в) в пивоварінні застосовують ферменти, що прискорюють реакцію зацукрювання крохмала - протеїназу;

г) пектинолітичні ферменти підвищують вихід соків із плодів та ягід на 30%.

28. Виберіть з наступних тверджень вірні.

а) Ведучу роль в механізмі ферментативного каталіза грає утворення фермент-субстратного комплексу;

б) величина субстратної константи не залежить від природи субстрата та фермента; в) значення субстратної константи відображає ступінь спорідненості субстрата та фермента; г) чим вище значення сустратної константи, тим більше спорідненості фермента до субстрату.

г) чим вище значення сустратної константи, тим більше спорідненості фермента до субстрату.

29. Виберіть з наступних тверджень вірні.

а) Першою фазою біокаталітичного процесу є утворення фермент-субстратного комплексу;

б) константа Міхаеліса (K_m) завжди трохи вище по числовому значенню, ніж субстратна константа (K_s);

в) викликаючи денатурацію фермента, конкурентний інгібітор різко зменшує швидкість ферментативної реакції;

г) швидкість ферментативної реакції не залежить від концентрації фермент-субстратного компалекса.

30. Виберіть з наступних тверджень вірні.

- а) Протеази рослинного походження є компонентами пральних порошків та миючих засобів;
- б) уратоксидаза і амілаза захищають зуби від карієсу;
- в) лізоцим використовують для лікування кон'юнктивитів;
- г) протеолітичний фермент плазми застосовують для видалення тромбозів кровоносних судин.

31. Виберіть вірні парні сполучення ключових слів або фрагментів фраз (позначені буквами А, Б, В, Г, Д) та смислові закінчення речень (позначені буквами а, б, в, г, д).

А. Оксидаза. Б. Дегідрогеназа. В. Каталаза. Г. Пероксидаза. Д. Гідратаза.

- а) Прискорює реакцію: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{AH}_2 \leftrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{A}$;
- б) каталізують перетворення: $\text{R}-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-\text{R}' \leftrightarrow \text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{R}'' + \text{H}_2\text{O}$;
- в) прискорює процес: $\text{AH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{A} + \text{H}_2\text{O}_2$;
- г) забезпечує каталітичне прискорення реакції: $\text{AH}_2 + \text{B} \leftrightarrow \text{A} + \text{BH}_2$;
- д) каталітично підвищує швидкість реакції: $2\text{H}_2\text{O}_2 \leftrightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

32. Виберіть вірні парні сполучення ключових слів або фрагментів фраз (позначені буквами А, Б, В, Г, Д) та смислові закінчення речень (позначені буквами а, б, в, г, д).

А. Фумаратгідратаза. Б. Альдолаза. В. Пантотенатсинтетаза. Г. Цитохром. Д. Оксидаза.

- а) Переносить атоми водню або електрони безпосередньо на атоми кисню;
- б) вуглець - кисень-ліаза;
- в) прискорює синтез фрагмента коензима А;
- г) вуглець -вуглець-ліаза;
- д) оксидоредуктаза, що містить залізопорфірин в якості простатичної групи

Тестові завдання

до теми: «Біосинтез білків і нуклеїнових кислот»

1. Білки якого АК-змісту синтезуються у здоровому організмі?

- 1) невизначеного АК-складу з різною первинною структурою.
- 2) постійного АК-складу з визначеною первинною структурою.
- 3) певного АК-складу, але з можливими його замінами.
- 4) певного АК складу, але з можливими випадіннями, перестановками і вставками АК.

2. Як закріплена сталість первинної структури конкретного білка в організмі?

спадковою інформацією ДНК (генотип)

* послідовністю нуклеотидів іРНК.

наявністю загравного білка,

транспорними РНК.

3. Чим визначається місце АК у пептидному ланцюзі білка, який синтезується?

певним мононуклеотидом.

двома нуклеотидами.

трьома нуклеотидами.

*рядом нуклеотидів.

4. Який перший етап біосинтезу білка?

1. транскрипція - утворення іРНК на ДНК.
2. активування АК
3. повторення генів шляхом ДНК-реплікації.
4. перенесення АК тРНК.

5. Під час якого процесу утворюється іРНК?

трансляції.

реплікації.

*транскрипції.

активації АК.

6. Що таке матриця біосинтезу білка?

1. комплекс іРНК-мітохондрія.
2. комплекс іРНК -плазматична мембрана.
3. *комплекс іРНК-рибосоми.
4. комплекс іРНК-ендоплазматичний реткулум.

7. Що таке трансляція?

1. повторення послідовностей АК
2. збереження послідовностей азотистих основ ДНК під час їх дуплікації.
3. перетворення послідовностей нуклеотидів іРНК на послідовності АК білків.
4. *повторення послідовностей нуклеотидів іРНК і переведення їх у послідовності АК в білках.

8. Скільки рибосом одночасно бере участь у синтезі білка?

*одна, дві, три, багато (полісома).

9. Які процеси відбуваються на матриці під час біосинтезу білка?

1. замикання пептидних зв'язків АК у будь-якій послідовності.
2. *замикання пептидних зв'язків АК у певній для даного білка послідовності.
3. замикання пептидних зв'язків АК з перестановками, замінами, випадіннями і вставками АК.
4. синтез пептидного ланцюга з постійним складом АК, але зв'язаних у будь-якій послідовності.

10. Скільки триплетів може нести інформацію про АК та N положення у пептидному ланцюгу?

один, два, три. *один-шість.

11. Яким чином відбувається активація АК?

фосфорилуванням за рахунок АТФ з утворенням амінокарбоксилфосфату.

*утворенням аміноациладенілату АК у ферментативній реакції з АТФ.

утворенням аміноациладеніладенозиндифосфату.

утворенням аміноациладенозинтрифосфату.

12. Скільки макроергів АТФ використовується під час активації АК?

1) один х макроергічний зв'язок

- 2) один або два.
- 3) два
- 4) енергія АТФ не використовується.

13. Якими ферментами забезпечується утворення активних форм АК?

- 1) аміносинтетазами.
- 2) фосфокіназами.
- 3) аміноацил-тРНК-синтетазами.
- 4) трансаміназами.

14. Якою специфічністю характеризуються аміноацил-тРНК-синтетази? 1)
специфічністю до АК.

- 2) специфічністю до АТФ.
- 3) специфічністю до тРНК.
- 4) подвійною специфічністю до АК і тРНК.

15. Як тРНК розпізнають аміноацилденілати?

- 1) за наявністю кодону тРНК.
- 2) тРНК неспецифічні до кодону іРНК.
- 3) за наявністю антикодону тРНК.
- 4) переносять різні АК, оскільки тРНК неспецифічні до АК

16. Які функції виконують тРНК?

- 1) перенесення АК на матрицю.
- 2) перенесення аміноацилденілатів АК на матрицю.
- 3) перенесення комплексів аміноацилденілат-тРНК-фермент синтетази.
- 4) перенесення комплексів аміноацилденілат АК-тРНК-фермент і адапторів на матрицю.

17. Що таке адаптери?

- 1) структура, що блокує NH₂-групу першої АК пептидного ланцюга
- 2) структури, що включають у пептидний ланцюг першу АК.
- 3) триплет інформації закінчення синтезу пептидного ланцюга.
- 4) структури, що включають АК у пептидний ланцюг, що росте.

18. Що таке ініціація?

- 1) активування АК.
- 2) синтез іРНК.
- 3) стадія зборки апарату біосинтезу білків.
- 4) стадія утворення матриці біосинтезу білків.

19. Як відбувається замикання пептидного зв'язку під час елонгації пептидного ланцюга?

- 1) за рахунок аміногрупи формілметіоніну і карбоксилу перенесеної АК.
- 2) за рахунок аміногрупи перенесеної АК і карбоксилу попередньої АК.
- 3) за рахунок аміногрупи перенесеної АК і ацилденілату попередньої АК.
- 4) за рахунок аміногрупи АК пептидного ланцюга і ацилденілату принесеної АК.

20. Що таке транслокація?

- 1) переміщення іРНК в рибосомі на один кодон.
- 2) переміщення пептидного ланцюга на матриці на один кодон.
- 3) переміщення іРНК і пептидного ланцюга в рибосомі на один кодон.

4) переміщення тРНК на РНК на один кодон.

21. Як називаються триплети — УАА, УАГ, УГА.

- 1) ті, що несуть інформацію.
- 2) інформаційні.
- 3) пролонгуючі.
- 4) термінуючі.

22. Яку інформацію несуть термінуючі кодони?

- 1) початок синтезу білків.
- 2) початок і кінець синтезу білків.
- 3) кінець пролонгації пептидного ланцюга.
- 4) не несуть інформації синтезу білків.

23. Яку довжину має ДНК, що несе інформацію синтезу пептиду, який містить 123 АК?

- 1) 369 нуклеотидів.
- 2) понад 369 нуклеотидів.
- 3) 123 нуклеотиди.
- 4) 246 нуклеотидів.

24. Яка найменша кількість генів ДНК бере участь у синтезі глобіну гемоглобіну?

- 1) вісім.
- 2) чотири.
- 3) два.
- 4) один.

25. За яким принципом можна визначити кількість генів ДНК, що несуть інформацію синтезу глобіну гемоглобіну?

- 1) один ген → один білок.
- 2) один ген → один пептид.
- 3) один пептид → один ген, чотири пептиди (2α , 2β) - чотири гени.
- 4) один пептид → один ген, два різних пептиди (ланцюги α і β) - два гени.

26. Скільки генів ДНК необхідно для синтезу молекули колагену?

- 1) два.
- 2) один.
- 3) три.
- 4) чотири.

27. Скільки генів ДНК необхідно для синтезу інсуліну?

- 1) один.
- 2) два
- 3) три.
- 4) чотири.

28. Скільки АТФ і ГТФ необхідно для синтезу білка?

- 1) на кожну АК пептидного ланцюга — 1 АТФ.
- 2) на кожну АК пептидного ланцюга — 1 АТФ + 2ГТФ.
- 3) більше трьох еквівалентів АТФ на кожну АК.
- 4) чотири еквіваленти АТФ на кожну АК.

29. Які особливості є підтвердженням регуляції біосинтезу білків?

- 1) різна швидкість синтезу окремих білків (інсуліну, колагену та ін.).
- 2) тканинні особливості синтезу білків (шкіра - колаген, панкреас - інсулін).
- 3) різна швидкість синтезу білків в онтогенезі.
- 4) усіма наведеними факторами.

30. Які факторії впливають на швидкість синтезу білків?

- 1) зовнішні.
- 2) внутрішні.
- 3) спадкові та ін.
- 4) усі зазначені фактори.

Тестові завдання

до теми: «Ліпіди та їх обмін»

1. Ліпіди - природні органічні сполуки:

- а) добре розчинні у воді;
- б) нерозчинні у бензолі;
- в) нерозчинні у сірчаному ефірі;
- г) розчинні у неполярних розчинниках;
- д) розчинні у кислотах.

2. Скидані ліпіди наряду з залишками багатоатомних спиртів та вищих жирних кислот включаючи також до свого складу залишки:

- а) поліамінополікарбонівих кислот;
- б) полізопреноїдів;
- в) поліциклічних спиртів;
- г) азотистих основ або вуглеводів та фосфорної кислоти;
- д) пептидів.

3. Ліпіди у вигляді комплексів з білками входять до складу:

- а) снтетази вищих жирних кислот;
- б) вірусу тютюнової мозаїки;
- в) рибосом;
- г) мультиензимних комплексів;
- д) мембранного апарату клітини.

4. Біологічна функція ліпідів складається:

- а) у контролі реакцій біосинтеза нуклеїнових кислот;
- б) у регуляції активності ферментів та забезпеченні організма енергією;
- в) у впливі їх на процеси транспорту амінокислот до рибосом;
- г) у нормалізації мінерального обміну.

5. Захищає волосся та шкіру тварин від дії води віск:

- а) спермацт;
- б) бджолиним;
- в) карнаубський;
- г) ланолін;

д)монтанній.

6. Гліцерин, що виник при розпаді тригліцеридів. Незалежно від шляху його подальшого перетворення у організмі перш ніж всього:

- а) окисляється;
- б) фосфорилується;
- в) відновлюється;
- г) метилюється;
- д) ацилюється.

7. Фосфатидна кислота синтезується у результаті:

- а) фосфорилування гліцерину;
- б) відновлення фосфодіоксиацетону;
- в) гідролізу жирних кислот;
- г) розщеплення фосфоангідридів вищих жирних кислот;
- д) транцилювання гліцерофосфату.

8. Лізолецитин утворюється із лецитини за участю:

- а) фосфоліпази С;
- б) фосфоліпази А;
- в) фосфоліпази В;
- г) фосфоліпази D.

9. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в коленому пункті розділу, і дайте відповідь в формі А>Б; Б>А; А=Б.

А. Вміст ліпідів у ядрах клітин.

Б. Вміст ліпідів у мітохондріях.

10. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в коленому пункті розділу, і дайте відповідь в формі А>Б; Б>А; А=Б

А. Точка плавлення тригліцеридів, що містять залишки ненасичених кислот та кислот з коротким вуглецевим ланцюгом.

Б. Температура плавлення тригліцеридів, що містять залишки вищих насичених карбонових кислот.

11.Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в коленому пункті розділу, і дайте відповідь в формі А>Б; Б>А; А=Б.

А. Температура плавлення баранячого жиру.

Б. Температура плавлення свинного жиру.

12. Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в коленому пункті розділу, і дайте відповідь в формі А>Б; Б>А; А=Б.

А. Вміст холестерину у сірій речовині мозку.

Б. Вміст холестерину у білій речовині мозку.

13.Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в коленому пункті розділу, і дайте відповідь в формі А>Б; Б>А; А=Б.

А. Число молекул ацетил-КоА, що утворилися при β -окисленні стеаринової кислоти. Б. Кількість молекул ацетил-КоА, що утворилися при β -окисленні олеїнової кислоти.

14.Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в коленому пункті розділу, і дайте відповідь в формі А>Б; Б>А; А=Б.

А. Число молекул малоніл-КоА, необхідних для синтезу пальматинової кислоти. Б. Число молекул мланіл-КоА, необхідних для синтезу пальмітоолеїнової кислоти.

15.Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в коленому пункті розділу, і дайте відповідь в формі А>Б; Б>А; А=Б.

А. Число залишків фосфорної кислоти у молекулі фосфатидилхоліна.

Б. Число залишків фосфорної кислоти у молекулі фосфатилсерина.

16.Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в коленому пункті розділу, і дайте відповідь в формі А>Б; Б>А; А=Б.

А. Швидкість обміну диольних ліпідів.

Б. Швидкість обміну тригліцеридів.

17.Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в коленому пункті розділу, і дайте відповідь в формі А>Б; Б>А; А=Б.

А. Температура плавлення спермацету.

Б. Температура плавлення бджолиного воску.

18.Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в коленому пункті розділу, і дайте відповідь в формі А>Б; Б>А; А=Б.

А. Вміст фосфатидилхолінів у природних об'єктах.

Б. Вмість фосфатидилсеринів у природних об'єктах.

19.Співставте для ствердження або показника позначені буквами А та Б, наведені в коленому пункті розділу, і дайте відповідь в формі А>Б; Б>А; А=Б.

А. Стійкість воску до дії світла та окислювачів.

Б. Стійкість жирів до дії світла та окислювачів.

20. Виберіть із наступних тверджень вірні.

а) прості ліпіди представлені двокомпонентними речовинами складними ефірами вищих жирних кислот та спиртів;

б) ліпіди - органічні сполуки, нерозчинні у воді, але розчинні у жиророзчинниках;

в) ліпіди можна розглядати як клас органічних сполук, більшість їх яких належить до складних багатоатомних або специфічно побудованих спиртів з вищими жирними кислотами;

г) складні ліпіди - багатокомпонентні сполуки, структурні елементи яких сполучені хімічними зв'язками.

21. Виберіть із наступних тверджень вірні.

а) у природних жирах містяться переважно прості тригліцериди;

б) тваринні жири різноманітні по набору вищих жирних кислот, що входять до їх складу, ніж рослинні жири;

в) у складі рослинних жирів дуже висока масова частка ненасичених вищих жирних кислот;

г) у складі свинного жиру містяться лише змішані тригліцериди.

22. Виберіть із наступних тверджень вірні.

а) фомфоліпіди знайдені лише у нервовій тканині людини;

б) фосфатидилгліцерин - обов'язкова складова частина хлоропластів;

в) кардіоліпін входить до складу мітохондріальних мембран;

г) фосфоінозитиди забезпечують переніс іонів через біологічні мембрани.

23. Виберіть із наступних тверджень вірні.

а) продуктом окислення гліцерофосфата у організмі є фосфодіоксиацетон;

б) гліцерофосфатдегідрогеназа у якості кофермента містить ФАД;

в) вищі жирні кислоти у організмі руйнуються переважно шляхом β -окислення;

г) ацил-КоА-дегідрогеназа містить у якості кофермента нікотинамідаденіндинуклеотид.

24. Виберіть із наступних тверджень вірні.

а) у реакціях (3-окислення вищих жирних кислот КоА виконує каталітичну функцію;

б) дві молекули ацетил-КоА конденсують з утворенням вільної ацетооцтової кислоти та виділенням однієї молекули вільного КоА;

в) одним із шляхів обміну ацетил-КоА є взаємодія його з кето формою щавелевооцтової кислоти та утворенням цитрил-КоА;

г) ацил-КоА є універсальним донором ацильних груп у реакціях ацилювання у організмі.

25. Виберіть із наступних тверджень вірні.

а) фосфатиди розпадаються при гідролізі на складові їх структурні елементи - вищі жирні кислоти, фосфорну кислоту, азотисті основи та гліцерин;

б) при дії на лецитин фосфоліпази С утворюється лізолецитин;

в) при дії гліцерофосфорилхоліндіестераза на α, L -гліцерилфосфорилхолін утворюються холін та α -фосфогліцерин;

г) у нервовій тканині тварин ацетилхолін виконує роль макроергічної сполуки.

26. Виберіть із наступних тверджень вірні.

а) синтез цитидиндифосфатхоліну у організмі не потребує участі фермента;

б) при біосинтезі фосфатидів до вільної гідроксильної групи дигліце-рида приєднується залишок холіну;

в) бетаїн є хорошим донором метильних груп у реакціях трансметилування;

г) у дріжджів синтез фосфатидилхоліну іде головними чином за рахунок метилування фосфатидилетаноаміну.

27. Виберіть із наступних тверджень вірні.

а) гідроліз р-моногліцеридів іде за участю специфічних ліпаз;

б) першою реакцією у обміні тригліцеридів є їх ферментативний гідроліз;

в) при гідролізі тригліцеридів у присутності аліестерази спочатку розпадаються α -складноєфірні зв'язки;

г) у результаті гідролізу (3-моногліцериду утворюється гліцерин та вища жирна кислота.

28. Виберіть із наступних тверджень вірні.

- а) на біосинтез мевалонової кислоти витрачаються три молекули ацетил-КоА;
- б) мевалонова кислота є [3,8-диокси-]3,р-диметилвалеріановою кислотою;
- в) пірофосфомевалонова кислота ферментативно декарбоксілюється з утворенням ізопентенілпірофосфату;
- г) біосинтез поліізопреноїдів іде із ізопентенілпірофосфату та диметилалілпірофосфату.

29. Виберіть вірні парні сполучення ключових слів або фрагментів фраз позначені буквами А, Б, В, Г, Д та смислові закінчення речень позначені буквами а, б, в, г, д.

А. Ліпіди. Б. Стер йди. В. Фосфоліпіди. Г. Гліколі піди. Д. Тригліцериди.

- а) у хімічному відношенні є збіркою групою органічних сполук;
- б) є складними ефірами вищих жирних кислот та гліцерину;
- в) містять, крім залишків вищих кислот, гліцерину (або інших багатоатомних спиртів), фосфорну кислоту та азотисті основи;
- г) представляють складні ефіри вищих жирних кислот та поліцеклічних спиртів;
- д) містять поряд залишками багатоатомного спирту та вищої жирної кислоти також вуглецевий залишок.

30. Виберіть вірні парні сполучення ключових слів або фрагментів фраз позначені буквами А, Б, В, Г, Д та смислові закінчення речень позначені буквами а, б, в, г, д.

А. Тваринні жири. Б. Рослинні жири. В. Прості гліцериди. Г. Змішані гліцериди. Д. Міколева кислота.

- а) складні ефіри гліцерину та якоїсь однієї вищої жирної кислоти;
- б) представник недавно відкритої групи вищих жирних кислот з розгалуженим вуглеводневим радикалом;
- в) характеризується своєрідним складом вищих жирних кислот, що виражаються у переважанні серед них кислот з числом вуглецевих атомів від 20 до 24;
- г) відрізняються високим вмістом у своєму складі (до90%) ненасичених вищих жирних кислот;
- д) складні ефіри гліцерину з двома або трьома різними вищими жирними кислотами.

ДОДАТКИ

Хімічний склад деяких харчових продуктів (%) та їх калорійність, кДж

Продукти	зміст, %			Кількість кДж в 100 г їстівної частини
	Білки	Жири	Вуглеводи	
М'ясо, м'ясні продукти і яйця				

Баранина	16,4	17,0	-	0,94
Яловичина	18,0	10,5	-	0,71
Шинка	17,0	35,0	-	1,65
Кури	20,3	13,1	-	0,86
Ковбаса варена	12,5	15,1	1,2	0,82
Печінка яловича	17,4	3,1	-	0,51
Свинина	16,5	21,5	-	1,12
Курчата	20,6	10,5	-	0,76
Язик яловичий	13,6	12,1	-	0,74
Яйця	12,5	12,0	0,5	0,69
Риба та рибні продукти				
Ікра чорна	36,0	18,2	-	1,33
Карп	16,0	3,6	-	0,41
Сельдь солена	18,9	19,0	-	1,06
Тріска свіжа	17,6	0,4	-	0,32
Щука свіжа	18,8	0,7	-	0,35
Молоко, та молочні продукти				
Кефір	3,3	3,7	3,0	0,28
Масло вершкове	0,5	83,5	0,5	3,27
Молоко коров'яче	3,3	3,7	4,7	0,28
Молоко варене з цукром	8,1	8,8	56,0	1,44
Сметана	2,5	30,0	2,5	1,26
Сир голандський	23,5	30,9	-	1,64
Творог жирний	13,2	20,0	2,4	1,06
Крупа, хліб				
Крупа гречана	12,5	2,5	67,4	1,47
Крупа манна	11,2	0,8	73,3	1,48
Крупа вівсяна	13,0	6,5	64,9	1,59
Хліб пшеничний	7,9	0,8	52,6	1,07
Хліб житній	5,9	1,1	44,5	0,91
Булка міська з муки вищого сорту	10,3	2,0	54,0	1,18
Фрукти				
Абрикоси	0,9	-	10,5	0,22
Виноград	0,4	-	10,7	1,97
Груші	0,4	-	16,5	0,31
Ізюм	1,8	-	70,9	1,27
Лимон	0,9	-	3,6	0,180
Мандарини	0,8	-	8,6	0,180
Смородина чорна	0,8	-	8,0	0,19
Яблука	0,4	-	11,3	0,21
Овочі, гриби, бахчові				
Гарбузи	0,5	-	9,2	0,17
Боби	6,0	-	8,3	0,25
Гриби білі сушені	36,0	4,0	23,5	1,17
Диня	0,6	-	9,0	0,16
Кабачки	0,6	-	3,7	0,075
Капуста свіжа	1,8	-	5,4	1,25

Картопля свіжа	2,0	-	21,0	3,93
Цибуля ріпчата	3,0	-	9,6	2,18
Морква свіжа	1,5	-	8,0	1,63

Енерговитрати людини при різних видах діяльності

Вид діяльності або відпочинку	Енергія, витрачена на 1 кг ваги тіла за 1 годину, кДж
Сон	$3,9 \cdot 10^{-3}$
Спокійно лежачи без сну	$4,6 \cdot 10^{-3}$
Сидіння в спокої	$6,0 \cdot 10^{-3}$
Читання вголос	$6,3 \cdot 10^{-3}$
Ручне шиття	$6,6 \cdot 10^{-3}$
В'язання	$6,5 \cdot 10^{-3}$
Спів	$7,3 \cdot 10^{-3}$
Швидка робота на друкарській машинці	$8,4 \cdot 10^{-3}$
Прасування	$8,4 \cdot 10^{-3}$
Миття посуду	$8,4 \cdot 10^{-3}$
Ходьба, прогулянка	$12,0 \cdot 10^{-3}$
Плавання	$29,9 \cdot 10^{-3}$
Біг зі швидкістю 8 км/ч	$34,1 \cdot 10^{-3}$
Легка робота на виробництві	$10,2 \cdot 10^{-3}$
Тяжка робота на виробництві	$26,9 \cdot 10^{-3}$

Водневий показник біологічних рідин

Біологічна рідина	pH
Кров артеріальна	7,40
Кров венозна	7,35
Цереброспинальна рідина	7,48
Шлунковий сік	1,49 – 1,8
Жовч	6,2 – 8,5
Сік підшлункової залози	7,8 – 8,4
Кишечний сік	6,0 – 6,8
Секрет товстого кишечника	8,0
Сеча	5,0 – 7,0
Піт	3,8 – 6,5
Слина	6,8 – 7,2
Жіноче молоко	6,8
Тканинна рідина органів	7,1 – 7,2
Сльоза	7,4 – 8,4
Рідина передньої камери ока	7,26
Скловидне тіло	7,4 – 3,4

Ізоелектричні точки деяких білків і ферментів (pH)

Білки	Ізоелектрична точка (pH)
Пепсин шлункового соку	2,0
Казеїн молока	4,6

Яйцевий альбумін	4,71
Альбумін сировотки крові	4,64
α – Глобулін крові	4,8
β – Глобулін крові	5,2
γ – Глобулін крові	6,4
Фібріноген крові	5,4
Міозин м'язів	5,0
Карбоксигемоглобін	6,87
Гістони клітинних ядер	8,5
Хімотрипсин соку підшлункової залози	8,6
Амілаза слини	7,0
Каталаза крові	7,0
Трипсин соку 12-перстної кишки	7,9

Редокс-потенціали найважливіших біологічних систем (в ізольованому стані, водневий розчин, рН = 7)

Окислювально-відновча система (ОФ/ВФ)	Схема рівнянь реакції	Потенціал E° (В)
НАД ⁺ /НАД·Н	НАД ⁺ +2e ⁻ +H ⁺ ↔НАД·Н	-0,320
НАДФ ⁺ /НАДФ·Н	НАДФ ⁺ +2e ⁻ +H ⁺ ↔НАДФ·Н	-0,325
ФАД ⁺ /ФАД·Н	ФАД ⁺ +2e ⁻ +H ⁺ ↔ФАД·Н	-0,06
КоQ/КоQ·Н (убіхінон)	КоQ+2e ⁻ +2H ⁺ ↔КоQ·Н ₂	+0,02
S ⁰ /H ₂ S	S ⁰ +2e ⁻ +2H ⁺ ↔H ₂ S	+0,274
2H ⁺ /H ₂	2H ⁺ +2e ⁻ ↔H ₂	0,000
C ₆ H ₆ O ₆ /C ₆ H ₈ O ₆ (аскорбінова кислота)	C ₆ H ₆ O ₆ +2e ⁻ +2H ⁺ ↔C ₆ H ₈ O ₆	+0,17
цитохроми b	2Fe ⁺³ +2e ⁻ ↔2Fe ⁺²	+0,04
цитохроми c	2Fe ⁺³ +2e ⁻ ↔2Fe ⁺²	+0,26
цитохроми a	2Fe ⁺³ +2e ⁻ ↔2Fe ⁺²	+0,29
цитохроми a ₃	2Fe ⁺³ +2e ⁻ ↔2Fe ⁺²	+0,55
¹ / ₂ O ₂ /H ₂ O	¹ / ₂ O ₂ +2e ⁻ +2H ⁺ ↔H ₂ O	+0,81

R_f окремих амінокислот для ідентифікації їх при хроматографії на папері (в бутилово-оцтово-водній суміші 4:1:5* або 40:15:5*)

Амінокислота	R _f
Цистин	0,05
Цистеїн	0,08
Лізин	0,10
Гістидин	0,11
Аргінін	0,12
Аспарагінова кислота	0,15
Серин	0,16
Гліцин	0,17
Глутамінова кислота	0,18
Треонін	0,19
Аланін	0,25

Пролін	0,27
Тирозин	0,28
Триптофан	0,43
Метіонін	0,44
Валін	0,45
Фенілаланін	0,53
Ізолейцин	0,59
Лейцин	0,61
Норлейцин	0,63

Молекулярна маса деяких білків організму людини

Назва білка	Молекулярна маса (Da)
Міоглобін	17000
Хімотрипсин	23000
Пепсин	35000
Інсулін	48000 (12000x4)
Гемоглобін	68000 (17000x4)
Сивороточний альбумін	685000
γ- Глобулін	160000
Каталаза	250000
Фібріноген	330000
Коллаген	345000
Уреаза	480000

Вміст вітаміну С у рослинній сировині

№	Назва продукту	Вміст, мг /100 г
1	Капуста білокачанна	25-70
2	Капуста квашена	20-40
3	Картопля не свіжозібрана	5-10
4	Картопля свіжозібрана	25
5	Перець зелений	125-150
6	Апельсин	50
7	Банан	10
8	Груша	8
9	Лимон	40-55
10	Мандарин	30
11	Яблука (антонівка)	30

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Біологічна і біоорганічна хімія : у 2 кн.: підручник. Кн. 2. Біологічна хімія / Ю.І. Губський, І.В. Ніженковська, М.М. Корда та ін.; за ред. Ю.І. Губського, І.В. Ніженковської. – 3-є вид. – К.: ВСВ “Медицина”, 2021. - 544 с.
2. Біохімія людини: підручник / Я. І. Гонський, Т. П. Максимчук ; За ред. Я.І. Гонського. - 3-тє вид., випр. і доп. — Тернопіль : Укрмедкнига, 2019. — 732 с.

3. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 книгах; підручник. Кн.2. Біологічна хімія (ВНЗ IV р.а.)/ за ред. Ю.І.Губського, І.В.Ніженковської. Вид.: ВСВ «Медицина», 2014. – 272 с.
4. Марінцова Н.Г. Біологічна хімія: підручник / Н.Г. Марінцова, С.В. Половкович, В.П. Новіков. – Львів: Видавництво Львівської політехніки, 2013. – 336 с.
5. Біохімія: підручник / за загальною редакцією проф. А.Л.Загайка, проф. К.В.Александрової – Х. : Вид-во «Форт», 2014. – 728 с.
6. Біологічна хімія / О.Я. Скляров.- Тернопіль: Укрмедкнига, 2020.- 706 с.
7. Біохімія: підручник / за загальною редакцією проф. А.Л.Загайка, проф. К.В. Александрової – Х.: Вид-во «Форт», 2014. – 728 с.
8. Хімія білка: підруч. Для студ. вищ. навч. закл. / [Н. О. Сибірна, М. В. Гончар, І. В. Бродяк та ін.] ; за ред. Н. О. Сибірної. —Львів : ЛНУ імені Івана Франка, 2010. — 393 с.
9. Кучеренко М.Є. Сучасні методи біохімічних досліджень / М.Є. Кучеренко, Ю.Д. Бабенюк, В.М. Войціцький. – К. : Фітосоціоцентр, 2011. – 344 с.
10. Практикум з біологічної хімії / [Д.П. Бойків, О.Л. Іванків, Л.І. Кобилянська та ін.] / за ред.. О.Я. Склярова. – К. : Здоров'я, 2022. – 298 с.
11. Сербін А. Г. Фармацевтична ботаніка. Підручник / Сербін А. Г., Сіра Л. М., Слободянюк Т. О.; під редакцією Л. М. Сірої. – Вінниця : НОВА КНИГА, 2007. – 488 с.
12. Остапченко Л.І., Андрійчук Т.Р., Бабенюк Ю. Д. та ін. Біохімія. – К.: ВПЦ «Київ. ун-т», 2012, 796 с.
13. Шафраньош М.І., Суховія М.І., Шафраньош І.І., Молекулярні механізми впливу низькоенергетичних факторів довкілля на біологічні структури (монографія). Ужгород: Видавництво УжНУ, «Говерла», 2022. –338 с. ISBN 978-617-7825-74-5.
14. Jeremy M. Berg. Biochemistry / Berg M. Jeremy, Tymoczko L. John, L. Stryer. — Freeman & Company, W. H., 2010. — 1120 p.
15. Koolman J. Color Atlas of Biochemistry / J. Koolman, K.-H. Rom. — Stuttgart, New York : Thieme Verlag, 2005. — 467 p.
16. Lehninger A. Principles of Biochemistry / A. Lehninger. — New York : W. H. Freeman and Company, 2012. — 1100 p.
17. Murray R., Bender D., Botham K.M., Kennelly P.J., Rodwell V., Weil A. “Harper’s Biochemistry” 29th edition. – McGraw Hill Professional. – 2012. – 818 p.
18. Neidle S. Principles of Nucleic Acid Structure / S. Neidle. — Academic Press, 2007. — 336 p. 38. Nelson D.L., Cox M.M. “Lehninger Principles of Biochemistry” fifth edition. – New York. – W.H.Freeman and Company. – 2005. – 1010 p.
19. Rao N. M. Medical Biochemistry / N. M. Rao. — 2 nd ed. — New Age International, 2006. — 837 p.
20. Satyanarayana U. Biochemistry / U. Satyanarayana, U. Chakrapani. — 4d ed. — Kolkata: Books and Allied 1 td, 2014. – 792 p.
21. Biological chemistry/ Yu.I. Gubskiy. - 3-nd. ed. - Vinnitsa : Nova Knyha, 2020. - 488 p.
22. USMLE Step 1: Biochemistry and Medical Genetics: Lecture Notes / Editors S. Turco, R. Lane, R.M. Harden. — New York : Kaplan, 2019. — 409 p.

23. B. F. Minaev, M. I. Shafranyosh, Yu. Yu Svida, M. I. Sukhoviya, I. I. Shafranyosh, G. V. Baryshnikov, and V. A. Minaeva. Fragmentation of the adenine and guanine molecules induced by electron collisions //J. Chem. Phys. 2014.- V. 140, p. 184303-184309.

24. I.I. Shafranyosh, M.I. Sukhoviya. Inelastic collisions of the uracil molecules with electrons //J. Chem. Phys. 2012.- V. 137, p. 184303-18430.

Інформаційні ресурси в мережі Інтернет

1. Національна бібліотека України ім. В.І. Вернадського [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.nbuv.gov.ua>. 2. Український інститут інтелект <http://stud.com.ua>

Підписано до друку 24.10.2023 р.

Формат 60x84/16. Папір офсетний. Гарнітура Times.

Друк різнографічний. Умовн. друк. арк. 14,1.

Наклад 100 шт. Замовлення 2023-180

Видавництво ПП «Астрая»

36014, м. Полтава, вул. Шведська, 20, кв. 4

Тел.: +38 (0532) 509-167, 611-694

E-mail: astraya.pl.ua@gmail.com, веб-сайт: astraya.pl.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 5599 від 19.09.2017 р.