

**О. Ф. Чечуй
О. Г. Міленко
В. Ю. Крикунова**

**БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ФОРМУВАННЯ
ПРОДУКТИВНОСТІ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ**

Навчальний посібник



**Полтава
2024**

**Міністерство освіти і науки України
ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**О. Ф. Чечуй
О. Г. Міленко
В. Ю. Крикунова**

**БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ФОРМУВАННЯ
ПРОДУКТИВНОСТІ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ**

Рекомендовано до друку Вченою радою
Полтавського державного аграрного університету
Протокол № 1 від 24 вересня 2024 р.

Полтава
Полтавський державний аграрний університет
2024

УДК 577.1:633. 075.8

Ч57

Рецензенти:

доктор біол. наук, професор Гапон С. В. (Полтавський державний аграрний університет);

доктор. пед. наук, професор Шиян Н. І. (Полтавський національний педагогічний університет імені В. Г. Короленка);

доктор с.-г. наук, професор Мельник А. В. (Сумський національний аграрний університет).

Біохімічні основи формування продуктивності рослинної сировини: навчальний посібник / О. Ф. Чечуй, О. Г. Міленко, В. Ю. Крикунова. Полт. держ. аграр. ун-т. Полтава, 2024. 205 с.

У виданні висвітлено теоретичні аспекти хімізму критеріїв рослин, що формують якість рослинної продукції, на клітинному та позаклітинному рівнях, а також поетапність проведення біохімічного аналізу рослинного матеріалу як окремих практичних занять. Для покращення розуміння викладеного матеріалу виділяються окремі терміни або визначення. Викладено біохімічні процеси синтезу речовин в рослинах. Висвітлено проходження продукційних процесів у рослинницькій сировині під час формування врожайності сільськогосподарських культур.

Для здобувачів вищої освіти спеціальностей 201 Агрономія та 162 Біотехнології та біоінженерія. Може бути використано, як основна література під час вивчення навчальних дисциплін: Основи біохімії в селекції рослин, Біохімія рослин, Біохімія, Біохімічні основи мікробного синтезу, Ензимологія, Хімія навколишнього середовища та як допоміжна література під час вивчення обов'язкових навчальних дисциплін: Рослинництво, Стандартизація продукції рослинництва та Світові агротехнології.

УДК 577.1:633. 075.8

© Чечуй О. Ф., Міленко О. Г., Крикунова В. Ю., 2024
©ПДАУ, 2024

ЗМІСТ

Вступ	6
Розділ I. Біохімічні основи забезпечення формування пулу хімічних критеріїв якості рослинної сировини та технічні етапи його кількісної біохімічної оцінки	7
<i>Теоретичний базис</i>	7
1.1. Молекулярні критерії та рівні життєдіяльності рослин	7
1.2. Фактори впливу на життєдіяльність хімізм рослин при формуванні якості рослинної сировини	12
<i>Практичний базис</i>	14
Практична робота № 1. Технологічні етапи проведення кількісної біохімічної оцінки продуктивності рослинної сировини	14
Завдання 1. Компоненти наукової лабораторії та технологічні етапи кількісної біохімічної оцінки продуктивності рослинної сировини	14
Завдання 2. Техніка підготовки рослинної сировини для проведення кількісної біохімічної оцінки її продуктивності	16
Завдання 3. Техніка отримання рослинного препарату для проведення кількісної біохімічної оцінки продуктивності рослинної сировини	19
3.1. Техніка проведення процесу мокрого озолення рослинного матеріалу для визначення в ньому концентрації мінеральних елементів	19
3.2. Техніка проведення екстракції рослинного матеріалу та принципи розділення в ньому клітинних фракцій або біомолекул для визначення концентрації	20
Завдання 4. Техніка визначення концентрації хімічних сполук в рослинних препаратах та принципи розрахунку їх вмісту у рослинній сировині	24
Розділ II. Хімічні сполуки як критерії забезпечення формування продуктивності рослинної сировини та методики їх кількісної біохімічної оцінки	28
<i>Теоретичний базис</i>	28
2.1. Мінеральні сполуки як критерії формування продуктивності рослин	28
2.2. Біомолекули первинного генезу як критерії формування продуктивності рослинної сировини	31
2.3. Біомолекули вторинного генезу як критерії формування продуктивності рослинної сировини	75
2.4. Фітогормони як критерії формування продуктивності	89

рослинної сировини	
2.5. Поняття стресу у рослинах	97
<i>Практичний базис</i>	99
Практична робота № 2. Методики кількісної біохімічної оцінки забезпеченості рослинної сировини мінеральними та органічними сполуками	99
Завдання 5. Техніка визначення вмісту макроелементу Калію у рослинній сировині	99
Завдання 6. Техніка визначення вмісту глюкози у рослинній сировині	101
Завдання 7. Техніка визначення вмісту протеїнів у рослинній сировині	103
Завдання 8. Техніка визначення вмісту ліпідів у рослинній сировині	105
Розділ III. Хімічні процеси як критерії формування продуктивності рослинної сировини та методи оцінки інтенсивності їх перебігу	108
<i>Теоретичний базис</i>	108
3.1. Основи метаболізму рослин та принципи його регуляції при формуванні продуктивності рослинної сировини	108
3.2. Ензими рослин як критерії формування продуктивності рослинної сировини	116
3.3. Фотосинтез та дихання рослин як критерії формування продуктивності рослинної сировини	133
3.4. Взаємоперетворення біомолекул рослин при формуванні продуктивності рослинної сировини	144
<i>Практичний базис</i>	174
Практична робота № 3. Методики кількісної біохімічної оцінки інтенсивності перебігу метаболічних процесів у рослинній сировині	174
Завдання 9. Техніка оцінки швидкості перебігу азотного метаболізму за активністю ензиму аланінамінотрансферази у рослинній сировині	174
Завдання 10. Техніка оцінки швидкості перебігу фотосинтезу за вмістом фотосинтетичних пігментів у рослинній сировині	176
<i>Самостійне опрацювання матеріалу видання</i>	178
Контрольні питання	178
Приклади контрольних завдань	190
Додатки	194
Бібліографічний опис	204

ВСТУП

Прагнення агровиробників отримати рослинну продукцію високої якості в необхідній для споживача кількості потребує ґрунтовної освітньої технології навчання, яка передбачає оволодіння як теоретичними знаннями біологічних принципів росту й розвитку рослин, заснованих на закономірностях перебігу хімічних процесів, так й практичними вміннями оцінювати вміст хімічних критеріїв забезпечення життєдіяльності та якості рослинної сировини за агротехнологій та кліматичних умов. В процесі опанування освітніх компонентів спеціальностей 201 «Агрономія» та 162 «Біотехнології та біоінженерія» приділяється увага, більшою мірою, технологіям агровипробництва, переробки та зберігання рослинної сировини. В той же час, отримання якісної рослинної сировини в необхідній для споживача кількості потребує знань щодо хімізму рослин, оскільки показники продуктивності рослин забезпечуються біохімічними процесами на усіх етапах їх органогенезу, у зв'язку з чим важливо: розуміти принципи перебігу метаболічних процесів, оцінювати рівень забезпеченості рослин хімічними сполуками та інтенсивність перебігу хімічних процесів, а також визначати вміст хімічних сполук та активність ензимів у рослинах на усіх стадіях їх онтогенезу. Проте, за опанування навчального матеріалу, пов'язаного із хімізмом рослин, часто виникають певні укладнення розуміння останнього, що спонукало авторів до розробки даного навчально-методичного посібника-тренажера, матеріал якого розподілено за частинами – теоретичний базис, практичний базис та завдання до самостійного опрацювання для оцінки результативності засвоєння навчального матеріалу, що включають як тренінгові питання та тести, причому, використання інноваційних педагогічних технологій навчання здатне призвести до активації навчального процесу та до вирішення проблеми керування пізнавальною діяльністю слухачів. Матеріал видання викладається нетрадиційно, зокрема, у рамках наводяться важливі терміни та визначення, що необхідні для покращення його засвоєння. Крім того, видання включає завдання у схемах, таблицях, питаннях та тестах, тому творча робота слухачів повинна сприяти формуванню більш чітких понять про метаболічні процеси у рослинах як факторах формування продуктивності рослинної сировини за агротехнологій. Для складання завдань автором використаний матеріал наукових видань, список яких наведено наприкінці видання, а також результати власних педагогічних технологій викладання навчальних курсів, пов'язаних із біологією рослин. Метою авторів видання є досягнення у читачів такого рівня осмислення молекулярних критеріїв забезпечення життєдіяльності та якості рослин, які б сприймалися як єдина метаболічна система із загальними закономірностями та визначеними шляхами регуляції.

ТЕОРЕТИЧНИЙ БАЗИС

Частина I. БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ФОРМУВАННЯ ПУЛУ ХІМІЧНИХ КРИТЕРІЇВ ЯКОСТІ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ ТА ТЕХНІЧНІ ЕТАПИ ЙОГО КІЛЬКІСНОЇ БІОХІМІЧНОЇ ОЦІНКИ

1.1. Молекулярні критерії та рівні життєдіяльності рослин

1.2. Фактори впливу на життєдіяльність хімізм рослин при формуванні якості рослинної сировини

Агровиробництво рослинної сировини – зернових, зернобобових, плодкових та овочевих культур – здійснюється у польових умовах відкритого та закритого ґрунту, а також у вегетаційних у камерах фітотрону, в той час, як продуктивність останньої формується на усіх стадіях життєдіяльності рослин, – від проростання насіннєвого матеріалу у субстраті вирощування до формування нової рослини – та залежить від забезпеченості рослинного організму *хімічними сполуками*.

Одним із важливих завдань галузі аграрних наук та продовольства є виробництво якісної рослинної сировини у кількості, що задовольняє потреби споживача данної продукції. Термін «якість» рослинної визначає характеризує співвідношення вмісту *хімічних сполук* в організмі рослин, які є критеріями продуктивності останніх, та поділяються на два основні типи:

1) мінеральні, або неорганічні сполуки, до яких належать мінеральні елементи та їх хімічні форми;

2) органічні сполуки, або біомолекули, які є високополімерними макромолекулами:

– сполуки первинного генезу рослин – вуглеводи, ліпіди, протеїни, нуклеотиди, нуклеїнові кислоти;

– сполуки вторинного генезу рослин – фенольні сполуки, глікозиди, алкалоїди, терпени;

– фітогормони (ауксини, гібереліни, абсцизини, етилен, фенольні сполуки) та сполуки фітогормональної дії (брасиностероїди, жасмонати, саліцилати).

До кожного типу наведених хімічних сполук належать десятки хімічних компонентів, тому продуктивність рослинної сировини забезпечується динамікою вмісту усього спектру останніх, причому першою стадією життєдіяльності рослин є вміст хімічних сполук у насіннєвому матеріалі, який є генетично обумовленим у межах селекційних сортів, ліній та гібридів сільськогосподарських культур, зразки яких зберігаються у відповідних наукових установах (рис. 1.1).



Рис. 1.1. Зразки сільськогосподарських культур, що характеризуються певними хімічними критеріями

Життєдіяльність рослин залежить від інтенсивності хімічних процесів, що відбуваються між хімічними сполуками в їх організмі, та починаються в системі насінневої матеріал у ґрунті + орґано-мінеральний ґрунтовий розчин → розвиток первинних органів паростку сільськогосподарських культур. При цьому, хімічні взаємоперетворення, що забезпечують фізіологічний стан рослин, здійснюється у процесі метаболізму у кожному їх структурному компоненті – клітинах, тканинах та органах.

Метаболізм – хімічний процес, що здійснюється у послідовних хімічних реакціях та поєднує: 1) взаємозалежні та протилежні процеси – синтез й розщеплення орґанічних сполук; 2) динаміку мінеральних сполук як критеріїв мінерального живлення

Метаболізм рослин забезпечується двома типами хімічних реакцій:

– ензиматичними – відбуваються за участі ензимів;

Ензими забезпечують швидкість перебігу хімічних реакцій (є каталізаторами), але не належать до біомолекул – біомолекулами є субстрати, коензими та продукти ензиматичних реакцій

– неензиматичними – не потребують участі ензимів, але здійснюються використанням енергії.

Взаємоперетворення орґанічних сполук у клітинах рослин регулюється за наступними принципами:

I. Усередині клітин:

1) генетичними – в процесі збереження та передавання генетичної інформації, яка зберігається у нуклеїнових кислотах в процесі реплікації, транскрипції, трансляції та пострансляційних процесів у клітинах рослин, що визначається відповідною локалізацією та функціями: ядро – синтез нуклеїнових кислот, рибосоми та цитоплазма – протеїнів, причому головною одиницею генетичної інформації у клітинах рослин є гени;

2) мембранними – за участі хімічних сполук у складі клітинних біомембран;

Обидва види регуляції метаболізму на рівні клітин – мембранний і генетичний – є взаємопов'язаними: властивості мембран залежать від генної активності, а активність самих генів перебуває під контролем мембранних протеїнів рослинних клітин

II. У позаклітинному середовищі:

1) фітогормональними – базується на швидкості метаболічних процесів між фітогормонами у відповідь на внутрішньоклітинні хімічні зміни, а також на зовнішні чинники, які впливають на молекулярну структуру та вміст хімічних сполук у рослинах;

2) за перебігом мінерального живлення – хімічні процеси, що включають поглинання, розподіл, метаболізм, запасання та виділення мінеральних сполук, що здійснюється клітинами кореневої системи або органів рослин.

Основою формування продуктивності рослинної сировини є хімічні процеси в організмі рослин, кожен з яких відбувається у великій кількості хімічних реакцій на усіх рівнях життєзабезпечення рослинного організму:

- 1) клітинному;
- 2) тканинному;
- 3) органному;
- 4) організмовому.

Клітина рослин – найменший структурний компонент їх організму, складається із десятків хімічних сполук, поєднаних між собою у певні анатомо-морфологічні форми (табл. 1.1).

Таблиця 1.1 – Хімічні структурні компоненти клітин рослин

<i>Хімічні сполуки</i>	<i>Молекулярні структурні компоненти клітини рослин</i>
Сполуки первинного та вторинного генезу	1) <i>поверхневі</i> – біомембрани, плазмалема та тонопласт, які вкривають як поверхню кожної клітини, так й її внутрішньоклітинні органели; 2) <i>внутрішньоклітинні органели</i> : – одномембранні (ендоплазматичний ретикулум, апарат Гольджи та мікротільця (олеосоми, гліоксисоми та пероксисоми)); – двомембранні (мітохондрії, пластиди, ядро); 3) <i>внутрішньоклітинне середовище</i> – цитозоль та вакуолі
Фітогормони	Зовнішня поверхня біомембан клітин та позаклітинне середовище
Мінеральні сполуки	Усі компоненти клітини рослин

Розмір клітин рослин вимірюється у мікрометрах, а розмір її компонентів – у нано- та пікометрах, тому анатомо-морфологічний стан клітин рослин досліджується за допомогою електронної мікроскопії після обробки специфічними барвниками рослинних зразків на предметному склі електронного мікроскопу. Кожна рослинна клітина має свій життєвий цикл, сукупність клітин формує тканини організму рослин, які мають біохімічну спеціалізацію.

Фізіологічний стан кожної клітини організму рослин формує продуктивність рослинної сировини, що залежить від співвідношення хімічних сполук у кожній клітині, щоє результатом швидкості та якості перебігу хімічних реакцій між її структурними компонентами (табл. 1.2)

Таблиця 1.2 – Структурні клітинні компоненти рослин та їх хімічні взаємодії

<i>Мінеральні елементи</i>	<i>Біомолекули</i>
<i>Структурні компоненти хімічних сполук рослин</i>	
Кожного мінерального елементу – ядро із ядерною оболонкою, електронами та атомами	Вуглеводів – моно- та поліцукри; ліпідів – хімічні складові відповідних класів; протеїнів – амінокислоти та пептиди; нуклеїнових кислот – нуклеотиди
<i>Взаємодія між структурними компонентами хімічних сполук рослин</i>	
– синергізм – вплив одного елементу підсилює біологічний ефект іншого; – антагонізм – вплив одного елементу зменшує біологічний прояв іншого	– типи хімічних зв'язків між: амінокислотами, пептидами та протеїнами – пептидний зв'язок; вуглеводами – простий ефірний та глікозидний; ліпідами – фосфодіефірний; нуклеїновими кислотами – складний ефірний, а сполуками вторинного генезу – глікозидний, ефірний, складноефірний або водневий; – специфічне розташування функціональних груп в молекулах: OH – спиртова; S-S/SH – дисульфідна/сульфідрильна; CO ₂ – карбонатна; CH ₃ – метальна; NO ₃ /NO ₂ – нітратна/нітритна; HPO ₄ ²⁻ – фосфатна; COOH – карбоксильна; NH ₂ – амінна
<i>Хімічні реакції, що відбуваються між хімічними сполуками рослин</i>	
окисно-відновні реакції – зміна валентності металів із змінною валентністю	– окисно-відновні реакції – дегідрогенізація, виникнення відновних потенціалів, перетворення макроергів – реакції між С-С зв'язками – альдольна та кляйзенівська конденсація / альдольне розщеплення; ізомеризація, переміщення та/або утворення подвійних або потрійних зв'язків між атомами Карбону (–C=C–, C≡C–), перенесення функціональних груп та ін. – вільнорадикальні реакції – Фентона реакція, ліпо- й протеїнопероксидація

Продуктивність рослинної сировини на залежить від хімізму кожного структурного компоненту клітини рослин, в якому здійснюються одночасно десятки хімічних реакцій, таких як, гідроліз, гідрогенування, амінування, карбоксилювання, дезамінування, сульфонування, хлорування, нітрифікація та ін., в основі яких лежить перетворення функціональних хімічних компонентів. На динаміку та співвідношення хімічних сполук в організмі рослин, що забезпечують їх продуктивність, на усіх стадіях росту й розвитку впливають наступні чинники:

1) екзогенні (зовнішні):

- хімічні – хімічний склад ґрунту, води для зрошення посівів рослин, добрив, засобів захисту рослин;
- біологічні – наявність та активність мікроорганізмів, що мають відповідну біологічну дію;
- фізичні – кліматичні умови географічної зони вирощування, ступінь зволоження системи ґрунт-рослини, швидкість руху хімічних сполук у ґрунті тощо;
- механічні – технології агрохімсервісу, пошкодження посівів рослин комахами, тваринами тощо;

2) ендогенні (внутрішні) – метаболічні процеси, що відбуваються у кожній клітині рослинного організму залежно від його фізіологічного стану та залежать, наприклад, від зміни концентрації біогенних металів, швидкості транспорту хімічних сполук через біомембрани, прояву експресії генів, гіперутворенню оксигеновмісних сполук тощо.

Вищенаведені фактори агровиробництва, залежно від їх тривалості та інтенсивності дії, біологічної активності, хімізму, дози або концентрації здатні на усіх етапах їх органогенезу:

1) забезпечувати оптимальний баланс хімічних сполук у клітинах рослин;

2) викликати стан розбалансування хімічних сполук, що має назву *стрес* – загальна неспецифічна, тобто однотипна, реакція клітин рослин на дію перелічених чинників факторів агровиробництва у позаоптимальних параметрах, яка характеризується каскадом певних хімічних процесів, та спрямована на підтримання, збереження та відновлення метаболічного стану рослин.

Отже, оптимальна забезпеченість рослин хімічними сполуками на усіх стадіях органогенезу – основа формування їх оптимальної життєдіяльності та продуктивності за метаболічного стану, завдяки якому проводиться селекційний відбір сільськогосподарських культур за наступними біохімічними критеріями: морозо-, жаро-, посухостійкістю, фотоперіодизмом; стійкістю шкідливої мікрофлори, важких металів тощо. Оцінку забезпеченості рослин хімічними сполуками на стадіях

агровиробництва здійснюють за допомогою аналітичних технологій, які реалізуються з використанням методик біохімічного аналізу рослинної сировини, принципи технологічних етапів яких наведено на сторінках даного видання.

ПРАКТИЧНИЙ БАЗИС

Практична робота № 1. Принципи технологічних етапів проведення кількісної біохімічної оцінки продуктивності рослинної сировини

У практичних роботах та їх завданнях, наведених у практичному базисі тем видання, описано методики проведення біохімічного аналізу рослинної сировини, що включає набуття навичок здійснення поетапності оцінювання якості рослин на прикладах визначення вмісту окремих хімічних сполук, активності ензимів, а також оцінки швидкості перебігу метаболічних процесів в організмі рослин на усіх етапах органогенезу за технологій агровиробництва.

Перед початком проведення кількісної біохімічної оцінки якості рослинної сировини проходять інструктаж з техніки безпеки у навчально-науковій лабораторії, основні аналітичні вимоги якої наступні:

- працювати у лабораторії медичному халаті та гумових рукавицях, а при роботі із концентрованими хімічними препаратами – окулярах, масці та гумовому фартусі на полицях увімкненої витяжної шафи;

- аналітичні операції проводити за закріпленим викладачем робочим місцем згідно вимог відповідної біохімічної методики. Усі етапи та відповідні примітки в ході біохімічного аналізу рослин фіксувати у прошитому лабораторному журналі;

- відбирати у роботу хімічно чистий посуд та оснащення, а прилади – у функціонально придатному для біохімічного аналізу стані;

- в процесі виконання певних етапів роботи застосовувати промаркований за допомогою олівця по склу або маркеру лабораторний посуд та оснащення. Кожен варіант досліду проводити у не менш, ніж шести повторень із певним маркуванням;

- уважно читати етикетки та маркування із назвами хімічних реактивів на ємкостях, які необхідні для роботи;

- відкривши посудину, корку покладати на лабораторний стіл зовнішнім боком. Для відбирання наважки хімічних реактивів у сухому стані використовувати лабораторні шпателі, а для перемішування розчинів – лабораторні скляні палички;

- вихідні хімічні розчини зберігайте у темних скляних ємкостях, гігроскопічні – в ексікаторі, а такі, що швидко псуються, – на полицях лабораторного холодильника;

– не залишати в лабораторії без нагляду ввімкнуті електроприлади, гарячі водяні лазні, газові пильники, прилади. Наприкінці лабораторного заняття прибрати робоче місце, перекрити воду, ввимкнути лабораторні прилади, ретельно вимити використаний лабораторний посуд та оснащення, ретельно вимити руки. У випадку пожежі негайно гасити вогонь, використовуючи вогнегасник та пісок;

– не виливати в раковину вміст пробірок з концентрованими кислотами або лугами, не кидати папір, сірники, побитий лабораторний посуд у водотічну раковину, для цього користуватись смітником;

– при порізах склом слід видалити уламки скла з рани, змазати уражене місце 3 % спиртовим розчином йоду і перев'язати бинтом, щоб припинити кровотечу; якщо на шкіру потрапили бризки кислоти або лугу, то уражене місце слід промити великою кількістю води, а потім відповідно 3 % розчином соди або 2 % розчином оцтової кислоти, відповідно; при отруєнні шкідливими газами негайно припинити дослід і відкрити вікна та двері, потерпілого винести на свіже повітря, розстебнути одяг, дати понюхати вату, змочену нашатирним спиртом;

– проводити інструктажі слухачів щодо техніки безпеки при роботі в біохімічній лабораторії до початку кожного лабораторно-практичного заняття із фіксацією результатів допуску до виконання відповідних аналітичних робіт у журналі з техніки безпеки при поводженні з потенційно безпечними реагентами.

Після проведення інструктажу із техніки безпеки при роботі у науковій лабораторії з біохімічного аналізу рослинної сировини приступають до виконання основних технологічних етапів кількісної оцінки її продуктивності.

Завдання 1. Компоненти наукової лабораторії та технологічні етапи кількісної біохімічної оцінки продуктивності рослинної сировини

Оцінку забезпеченості рослин хімічними сполуками на стадіях агровиробництва здійснюють за допомогою аналітичних технологій, які реалізуються з використанням методик біохімічного аналізу рослинної сировини у навчально-науковій лабораторії. На рис. 1.1 наведено приклад лабораторного приміщення з біохімічного аналізу рослинної сировини.



Рис. 1.1. Приклад лабораторного приміщення з біохімічного аналізу продуктивності рослинної сировини

До основного обладнання лабораторного приміщення з проведення біохімічного аналізу рослин належать:

- 1) лабораторні столи із полицями для розміщення:
 - лабораторний посуд, оснащення та прилади;
 - ємкості із хімічними реактивами;
 - інструктивний матеріал щодо проведення етапів біохімічного аналізу – методичні вказівки, навчальні посібники, довідники, стандарти, а також письмове приладдя для виконання лабораторного практикуму;
 - пакети для відбирання та маркування рослинного матеріалу;
- 2) витяжні шафи лабораторні для:
 - вентиляції повітря лабораторії під час роботи із концентрованими або токсичними реактивами;
 - встановлення металевих системи для латунного оснащення з гніздами для термостійких пробірок: проведення етапу оголення рослинного матеріалу перед визначенням вмісту мінеральних сполук в останньому – із зразками, а також штативів металевих та горілок газових;
 - штативів металевих для підігріву ємкостей із розчинами хімічних реактивів із використанням горілок газових тощо;
- 3) місце для миття лабораторного посуду та оснащення, – раковина з краном з водопровідною водою, а також для над якою розміщують полицю з ємкістю з дистильованою водою – хімічно очищеною водопровідною водою за допомогою дистилляторів;
- 4) водяні лазні лабораторні для підігріву розчинів хімічних розчинів при розчиненні наважок важкорозчинних хімічних реактивів, а також для проведення окремих хімічних реакцій, передбачених методикою виконання відповідного аналізу;
- 5) термостати для висушування некалібрувального лабораторного посуду, а також рослинного матеріалу у металевих бюксах перед проведення етапу оголення рослинного матеріалу при визначенні вмісту мінеральних елементів у рослинах;

6) системи для проведення оголення – оснащення латунне із гніздами для встановлення термостійких пробірок;

7) системи хімічного очищення органічних розчинників із використанням зворотних холодильників із сифонами;

8) титриметричні бюретки для титрування – встановлення значення рН, необхідного для аналізу;

9) годинник для контролю часу здійснення етапів аналізу;

10) камери фітотрону для вегетаційного вирощування рослин у випадку вирощування овочевих культур за лабораторних умов.

Технологічні етапи проведення біохімічної оцінки продуктивності рослинної сировини включають:

1) ознайомлення із методиками проведення біохімічного аналізу рослин.

В основі методик – інструкцій щодо проведення біохімічного аналізу рослин – покладено стандарти з виконання аналітичних етапів визначення хімічних критеріїв якості рослинної сировини в хімічних лабораторіях, які розробляються як в Україні – ДТСУ (Державні технічні стандарти України), так й у країнах європейського союзу – ЕС (європейські стандарти).

Методики з проведення біохімічного аналізу рослин наведено у навчально-методичних виданнях та методичних вказівках щодо навчальних практикумів з освітніх курсів, програмою яких передбачено аналіз якості рослинної сировини. Крім того, особливості технологічних етапів приготування розчинів хімічних реактивів наведено також у відповідних довідниках;

2) технології отримання рослинних препаратів для аналізу шляхом проведення:

– озолення рослинного матеріалу перед визначенням концентрації мінеральних елементів;

– екстракції рослинного матеріалу перед визначенням концентрації хімічних форм мінеральних елементів, а також органічних біомолекул;

3) розділення клітинних фракцій або хімічних компонентів в отриманому рослинному препараті за допомогою центрифугування, електрофорезу, хроматографії та ампліфікації;

4) визначення концентрації хімічного показника в отриманих рослинних препаратах на лабораторних приладах, що базується на специфічній хімічній реакції між хімічними сполуками рослинного препарату та хімічними реактивами;

5) розрахунок вмісту хімічного показника у рослинному матеріалі із використанням аналітичних даних щодо проведення відповідного методу та концентрації хімічних сполук у дослідних та стандартних зразках.

У табл. 1.3 проведено порівняльну характеристику основних технологічних етапів проведення біохімічних методик аналізу критеріїв життєдіяльності та якості рослинної сировини.

Таблиця 1.3. Порівняльна характеристика основних технологічних етапів проведення біохімічних методик аналізу критеріїв життєдіяльності та якості рослинної сировини

<i>Етап</i>	<i>Вміст мінеральних сполук у рослинах</i>	<i>Вміст біомолекул у рослинах</i>
I	Озолення – хімічне руйнування органічної частини рослинного матеріалу за дії концентрованих мінеральних кислот з отриманням у дослідних розчинах мінеральної частини	Екстракція, або гомогенізація – переведення хімічних компонентів, що містяться в рослинному матеріалі, у аналітичний препарат для аналізу – екстракт, який механічно очищують шляхом фільтрації
II	–	Розділення хімічних компонентів рослинного фільтрату на окремі складові із використанням електрофореграм, хроматографічних засобів, центрифуг, ампліфікаторів
III	Проведення хімічної реакції, внаслідок відбувається взаємодія між мінеральною сполукою, що досліджується, та специфічними хімічними реактивами з утворенням відповідної хімічної сполуки, концентрацію якої вимірюють на приладі	Проведення хімічної реакції, внаслідок якої відбувається взаємодія між хімічною сполукою, що досліджується, у рослинному препараті, а також специфічними хімічними реактивами з утворенням відповідної хімічної сполуки, концентрацію якої вимірюють на приладі
IV	Визначення концентрації мінерального елемента із використанням біохімічних приладів або оснащення	Визначення концентрації органічної сполуки із використанням біохімічних приладів та оснащення
V	Розрахунок вмісту мінеральної сполуки у рослинній сировині	Розрахунок вмісту органічної сполуки у рослинній сировині

Таким чином, технологія проведення кожної методик з аналізу продуктивності рослинної сировини передбачає два етапи:

- 1) підготовчий, на якому здійснюється:
 - ознайомлення із основними правилами техніки безпеки у лабораторії;
 - підбирається необхідний лабораторний посуд та оснащення для аналізу з урахуванням його хімічної чистоти;

- здійснюється приготування розчинів хімічних реактивів для як проведення специфічних хімічних реакцій, так й для стандартних препаратів для побудови калібрувального графіка;
 - оцінюється функціональний стан лабораторних приладів;
- 2) основний, на якому здійснюється:
- вимірювання концентрації хімічного показника;
 - розрахунок вмісту хімічного показника.

Завдання 2. Техніка підготовки рослинної сировини для проведення кількісної біохімічної оцінки її продуктивності

Зразки рослинного матеріалу відбирають з ділянок польових посівів або з вегетаційних експериментальних варіантів. Якщо на полі виділяються ділянки з поганим станом рослин та з гарним, то окремо відбирають зразки рослин, що характеризують ці ділянки. Для аналізу відбирають середню пробу кожного варіанту із не менше, ніж 3 повтореннями варіантів, після чого:

- маркують ємкості та вміщують в них рослинну сировину (рис.1.4).



Рис. 1.4. Етап відбирання рослинного матеріалу та маркування ємкостей відбору

- промарковані ємкості із рослинною сировиною вносять у лабораторію з біохімічного аналізу продуктивності рослинної сировини;
- фіксують номери кожного варіанту дослідження, що відповідає маркуванню ємкостей відбору рослинного матеріалу з польових виробничих ділянок, у лабораторному журналі;
- підготовлену середню пробу кожного варіанту зважують на технологічних терезах, попередньо виставлених за масою тари (рис. 1.5).



Рис. 1.5. Зважування рослинного матеріалу на технохімічних вагах [фото автора]

Кількісну оцінку забезпеченості рослинної сировини хімічними сполуками здійснюють у:

1) *висушній у термостаті* рослинній сировині – при визначенні вмісту мінеральних елементів:

– зважують на технохімічних терезах: металеві бюкси – ємкості для термостатування, а також рослинну сировину – наважку для аналізу;

– заповнюють металеві бюкси зваженою наважкою рослинного матеріалу із наступною фіксацією маси бюксів із матеріалом у лабораторному журналі;

– вмикають термостат, встановлюють його температурний режим на 100°C та витримують 15 хвилин для встановлення цього значення;

– розміщують зразки у ємкості у камері термостату (рис. 1.6) та витримують за температури 100°C на протязі 40 хвилин;



а)



б)



в)

Рис. 1.6. Термостат (а), металевий бюкс (б) та термостатований рослинний матеріал (в)

– виймають ємкості з рослинним матеріалом, охолоджують їх за кімнатної температури, розраховують відсоток вологи, що містився у рослинній сировині та фіксують результати у лабораторному журналі;

– вмикаємо систему вентиляції витяжної шафи, після чого у термостійкі пробірки, обережно, за допомогою піпетки, вносимо концентровані кислоти, в залежності від того, вміст якого мінерального елемента визначатимемо далі, часто це: сульфорова (H_2SO_4), азотна (HNO_3), хлорна ($HClO_4$) кислоти, а в якості окиснювачів – гідрогену пероксид (H_2O_2), амоніакова селітра (NH_4NO_3), спиртовий розчин магнію оцтовокислого ($Mg(C_2H_3O_2)_2$). Так, наприклад, для визначення вмісту Калію у дослідних рослинних зразках, в процесі озолення до наважки матеріалу у термостійких пробірках, вносять концентровану H_2SO_4 та $HClO_4$ у співвідношенні 5:0,4, а в якості окиснювача використовують 3 % розчин H_2O_2 (це дослідні зразки). Окремо у дві термостійкі пробірки додаємо лише вищенаведені концентровані кислоти та окиснювач – це контрольні зразки;

– починаємо озолення дослідних зразків, в процесі якого спостерігаємо за кольором останніх – від чорного до прозорого (ри. 1.8). За появи оранжевого кольору дослідних зразків, припиняємо озолення, охолоджуємо пробірки із дослідними зразками за кімнатної температури, після чого вносимо декілька крапель окиснювача та продовжуємо озолення;



Рис. 1.8. Зміна кольору рослинних зразків в процесі оголення рослинного матеріалу

Отримання прозорих зразків свідчить про закінчення озолення – процесу, пов'язаному із руйнуванням хімічної будови органічних сполук, що містились у рослинній сировині, при цьому дослідні зразки у термостійких пробірках містять лише мінеральні елементи. Розчиняємо вміст пробірок, згідно відповідних методик аналізу вмісту мінеральних елементів – макро-, -мікро-, -ультрамикроелементів – у рослинній сировині.

3.2. Техніка проведення екстракції та розділення органічних сполук у рослинній сировині для визначення їх концентрації

Процес екстракції рослинної сировини – це переведення хімічних сполук, що містяться в останній, у розчин для аналізу, що необхідно для наступного визначення органічних сполук, технологічна послідовність якого наступна:

– зважують рослинну сировину, відібрану за варіантами, на технохімічних терезах та вносять у порцелянову ступку, в якій подрібнюють матеріал ножицями, додають розчинник – дистильована вода, буферні розчини, спирти, хлороформ або естери – та механічно руйнують рослинні тканини порцеляновим стовпчиком (рис. 1.9).

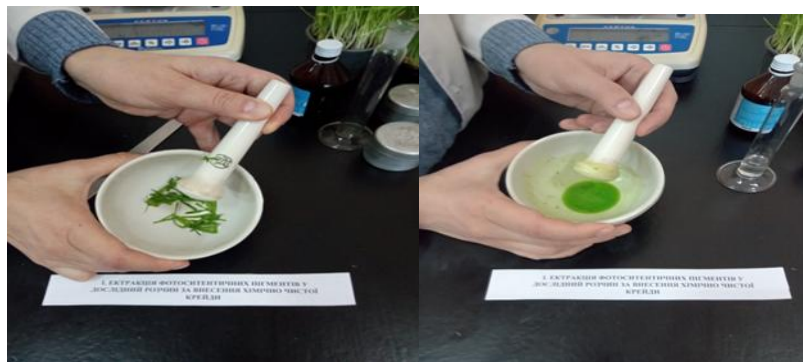


Рис. 1.9. Зважений та механічно екстрагований рослинний матеріал у порцеляновій ступці з стовпчиком [фото автора]

– віджимають залишки рослинних тканин через два-три шари марлі медичної та фільтрують рослинний препарат через фільтрувальний папір в іншу хімічну пробірку, промарковану відповідно до варіантів дослідження (рис. 1.10).



Рис. 1.10. Етап віджимання та фільтрації рослинного препарату для аналізу [фото автора]

Якщо методикою аналізу передбачено розділення органічних сполук у рослинному препараті на клітинні фракції або низькомолекулярні компоненти, то здійснюють додаткові технологічні етапи – центрифугування, електрофорез, хроматографія тощо.

Центрифугування – це процес розділення клітин, що складають рослинний препарат, на клітинні фракції – ядерну, мітохондріальну,

постмітохондріальну, рибосомальну, цитоплазматичну, фракцію мікротілець, фракцію вакуолей – із використанням *центрифуг* (рис. 1.11).

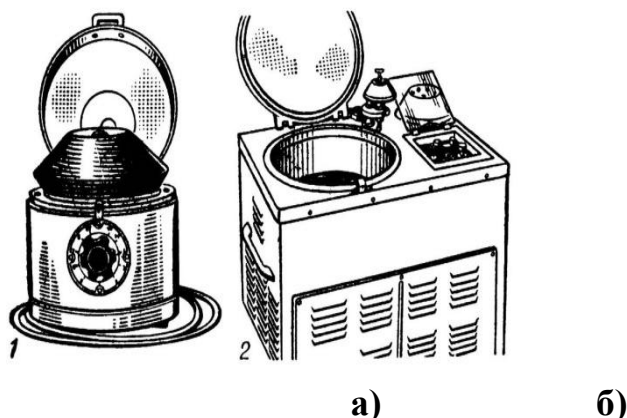


Рис. 1.11. Центрифуги настільні (а) та напольні (б)

Принцип функціонування центрифуг базується на швидкості обертань ротора приладу у діапазоні від 500 до 105000 за хвилину, в результаті чого осідають клітинні фракції рослин в наступній послідовності: спочатку цілі клітини та їх фрагменти, потім ядра, хлоропласти, мітохондрії, рибосоми, мікросоми, мікротільця, цитозоль (рис. 1.12).

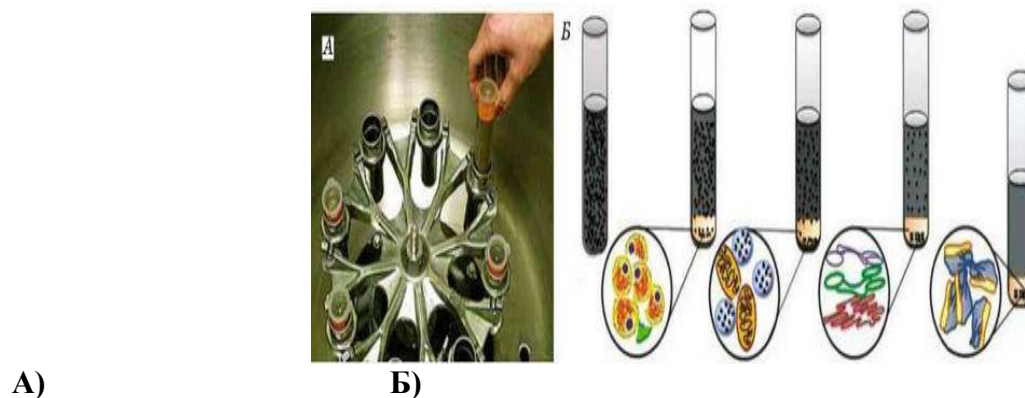


Рис. 1.12. Ротор центрифуги із розчинами рослинного препарату (А) та розділені клітинні фракції (Б)

Перед розміщення пробірок із рослинними препаратами їх поміщають у центрифужні пластикові стакани, після чого врівноважують їх об'єм друг напроти друга за допомогою терезів (рис. 1.13).

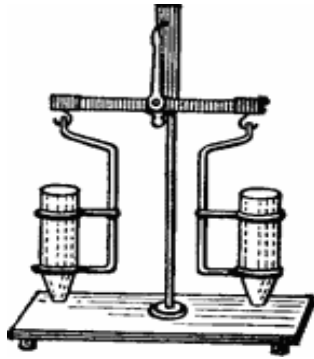


Рис. 1.13. Врівноваження центрифужних пробірок із рослинним препаратом перед центрифугуванням

В отриманих за допомогою центрифугування клітинних фракціях ідентифікують компоненти біомолекул:

– ліпідів – жирні кислоти (насичені та ненасичені), тригліцериди, фосфоліпіди, олії, кутин тощо – за методом *паперової хроматографії*, що базується на використанні хроматографічної камери та хімічних середовищ (рис. 1.14);

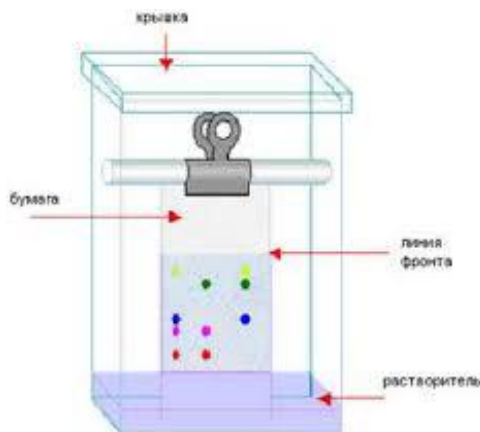


Рис. 1.14. Хроматографічна пластина у камері для тонкошарової хроматографії (на рос. мові)

– суміші амінокислот – окремі амінокислоти (протеїногенні та непротеїногенні) – за методом *електрофорезу*, що базується на використанні електрофоретичної камери, відповідних пластин та хімічних середовищ (рис. 1.15).

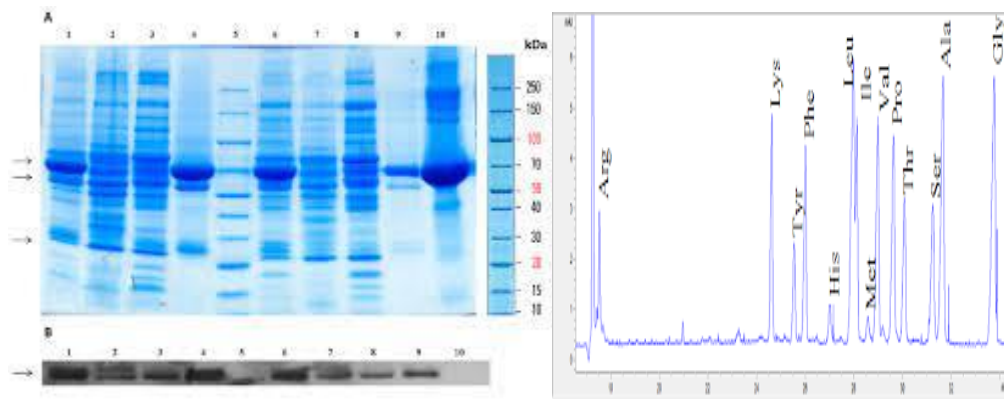


Рис. 1.15. Електрофоретичне розділення амінокислот у рослинній витяжці

Після розділення або ідентифікації хімічних компонентів рослинного препарату визначають концентрацію дослідних хімічних сполук, використовуючи при цьому відповідні біохімічні методики.

Завдання 4. Техніка визначення концентрації хімічних сполук в рослинних препаратах та принципи розрахунку їх вмісту у рослинній сировині

Концентрацію ідентифікованих хімічних сполук у рослинних препаратах визначають методами із використанням відповідних приладів:

- 1) оптичними:
 - фотоелектроколориметрія – фотоелектроколориметрів;
 - спектрофотометрія – спектрофотометрів;
 - флуорометрія – флуорометрів;
 - емісійна спектрофотометрія – атомно-адсорбційних фотометрів;
 - полуменева фотометрія – полуменевих фотометрів;
 - кінетична фотометрія – автоматичних та напівавтоматичних аналізаторів;
- 2) седиментація та ідентифікація – центрифуги, електрофоретичні камери, хроматографи, ампліфікатори, аналізатори кінетичні ін.

У матеріалі даного навчально-методичного видання, в якості тренінгу, наведено методики проведення визначення концентрації окремих хімічних сполук у рослинній сировині із використанням одного з типів оптичних приладів – фотоелектроколориметрів (ФЕКів), тому наведемо техніку визначення концентрації критеріїв якості рослин на цих приладах. Так, на рисунку наведено вигляд двох типів ФЕКів – стрілкового та кнопкового (рис. 1.16).

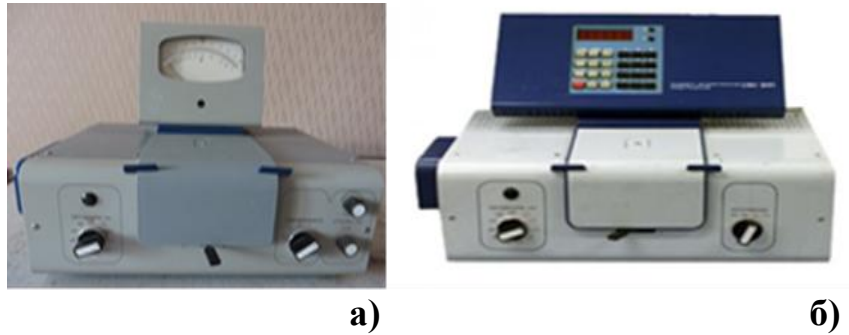


Рис. 1.16. Вигляд фотоелектроколориметрів КФК-3 (а) та КФК-2 (б)

Обидва типи оптичних прилади складаються з основних частин:

- 1) кюветне відділення – має два відділа (рис. 1.17):
 - у перший відділ вносять кювети із дослідними (стандартними) розчинами;
 - у другий відділ вносять кювети із контрольним розчином.



Рис. 1.17. Етап заповнення кювет розчинами – дослідним та контрольним – та їх розміщення у кюветному відділенні ФЕКу для аналізу вимірювання концентрації хімічної сполуки у рослинній сировині

Склад розчинів при фотоколориметрії наведено у табл. 1.4.

Табл. 1.4. Компоненти дослідних, контрольних та стандартних розчинів, якими заповнюють кювети при фотоколориметрії та спектрофотометрії

<i>Дослідний зразок</i>	<i>Контрольний зразок</i>	<i>Стандартний зразок</i>
Рослинний фільтрат та усі реактиви, необхідні для виконання відповідного методу	Замінник рослинного фільтрату та усі реактиви, необхідні для виконання відповідного методу	Робочі стандартні розчини різної концентрації (у кількості рослинного фільтрату) та усі реактиви, необхідні для виконання відповідного методу

Після розміщення у зразків кюветному відділенні ФЕКів, зачиняють кришку приладів та починають вимірювання;

2) оптична частина оптичних приладів:

– фотоелектроколориметрів – світлофільтри, що виділяють світло певного забарвлення та інтенсивності, або довжини хвилі (зліва на панелі приладів на рис. 20 (а,б): 380, 400, 440, 490, 540, 590, 670 та 750 нанометрів (нм). Кожна довжина хвилі світла фотоелектроколориметрів має певне його забарвлення (табл. 1.5).

Табл. 1.5. Відповідність довжини хвилі світла забарвленню дослідних розчинів

<i>Довжина хвилі світла приладу, нм</i>	<i>Колір світла приладу</i>
380	бузковий
400	голубий
440	синій
490	блакитний
540	зелений
590	жовтий
670	червоно-оранжевий
750	червоний дальній

Відповідність регулюється гвинтом «чувствительность» та встановлення кювети із контрольний розчином на «О» .

Принцип визначення концентрації дослідної хімічної сполук у рослинному препараті із використанням ФЕКу наведено на рис. 1.18.

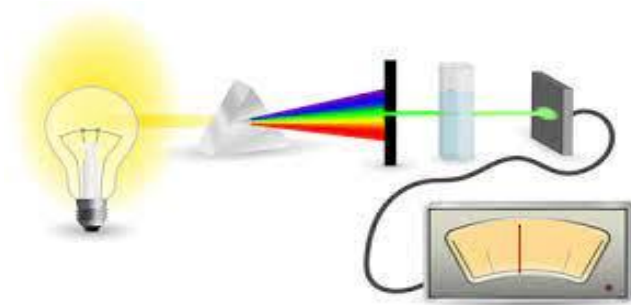


Рис. 1.18. Принцип визначення концентрації дослідної хімічної сполук у рослинному препараті із використанням ФЕК

3) табло показника двох типів фотоелектроколориметрів – кнопкове та стрілочне, на якому проявляється оптична довжина дослідних розчинів відносно контрольного та позначається літерами «E, D».

За показниками оптичної густини стандартних робочих розчинів (E,) до їх концентрації (C) олівцем на міліметровому папері будують калібрувальний графік (рис.1.19).

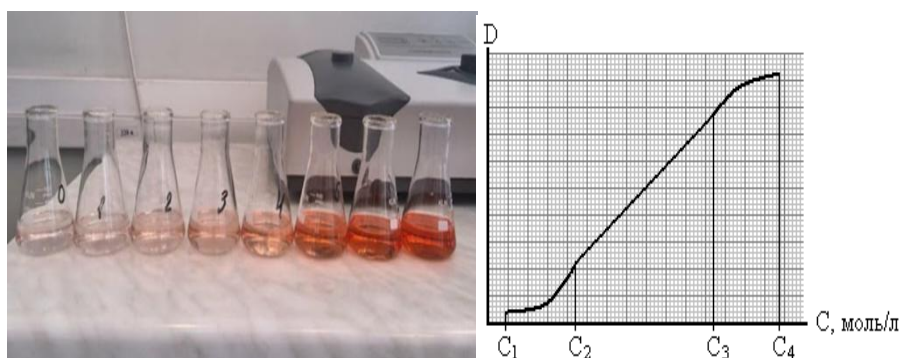


Рис.1.19. Відношення оптичної густини розчину (D) до концентрації дослідного розчину

За результатами показників оптичної густини дослідних зразів розраховують *концентрацію* хімічних критеріїв якості рослинної сировини (рис. 1.20).



Рис. 1.20. Фіксація результатів визначення концентрації дослідної сполуки у кюветі відносно контрольних на табло ФЕКу

Вміст хімічних критеріїв якості рослин оцінюють за формулами розрахунку, наведеними у кожній відповідній методиці аналізу, використовуючи дані:

– коефіцієнт розведення (K розв.) включає масу наважки, загальний об'єм, відібрану для аналізу аліквоту, концентрацію хімічного показника розчину дослідного зразку;

– коефіцієнт графіку (K граф.) розраховують за показниками оптичної густини хімічного показника у стандартних розчинів за певного діапазону їх концентрацій при побудові калібрувальної кривої;

– коефіцієнт загальний (K загал) розраховують шляхом множення даних $K \text{ розв} \cdot K \text{ граф} \cdot \text{оптичної густини (E) дослідного}$.

Виражають результати вмісту хімічних сполук у рослинах у: %, нг, мкг, мг або у розрахунку на масу наважки рослинної сировини або на об'єм дослідного розчину, а активності ензимів – у кількості продукту або субстрату ензиматичної реакції (мкг, мкМ, мг) у розрахунку на час перебігу ензиматичної реакції (хвилина, година, півгодин) та на кількість протеїну або кількість наважки.

ЧАСТИНА II. ХІМІЧНІ СПОЛУКИ ЯК КРИТЕРІЇ ФОРМУВАННЯ ПРОДУКТИВНОСТІ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ ТА МЕТОДИКИ ЇХ КІЛЬКІСНОЇ БІОХІМІЧНОЇ ОЦІНКИ

ТЕОРЕТИЧНИЙ БАЗИС

2.1. Мінеральні сполуки як критерії формування продуктивності рослинної сировини

Ці хімічні сполуки є неорганічними компонентами клітин організму рослин, що забезпечують якість рослинної сировини та класифікуються на:

I. Мінеральні елементи рослин – метали, що мають атомарну хімічну будову, відрізняються за хімізмом ядра та умовно поділяються на:

- 1) біогенні, або есенціальні, – компоненти хімічних процесів у рослинах:
 - макроелементи (N, P, K, Ca, S, Mg, Na);
 - мікроелементи (Fe, Cu, Mo, B, Zn, Mn);
 - ультрамікроелементи (Se, Cl, Al, Au, Cr, I, Ag, Ni);
- 2) небіогенні полютанти, або неесенціальні – участь цих елементів у хімічних процесах не досліджена, проте, вони поглинаються клітинами кореневої системи рослин за умов їх локалізації у ґрунтах сільськогосподарського призначення, до них належать важкі метали – елементи, щільність яких перебільшує 4 г/дм³: Cd, Hg, Ba, Sr, Pb, Sn, Rn, Be.

Мінеральні елементи впливають на перебіг хімічних процесів у рослинах в іонній формі, причому їх прояв залежить від хімізму ядра та молекулярної маси. Макро- та мікроелементи у рослинах:

– є компонентами біомолекул, а також складовими активного центру або простетичних груп ензимів (табл. 2.1).

Таблиця 2.1 – Мінеральні сполуки у складі біомолекул, а також ензимів або їх простетичних груп у рослинах

<i>Макроелементи</i>	<i>Біомолекули</i>
Нітроген, або Азот (N)	Протеїни, амінокислоти, нуклеїнові кислоти, азотисті основи, алкалоїди, глікозиди ціаногенні, індоліл-3-оцтова кислота, біотин, фолієва кислота, тіамін, S-метилметіонін тощо
Фосфор (P)	Складні протеїни, нуклеїнові кислоти та їхні компоненти нуклеотиди, фосфогліцерінова кислота,

	рибулозобіфосфат, фосфогліцериновий альдегід тощо
Сульфур або Сірка (S)	Амінокислоти цистеїн, метіонін, трипептидглутатіон, S-метилметіонін, ацетилкоензим тощо
Магній (Mg)	Магнієвмісні протеїни
Кальцій (Ca)	Кальцієвмісні протеїни
Калій (K) і Натрій (Na)	Ензими типу K-Na-АТР-ази

<i>Мікроелементи</i>	<i>Ензим</i>
Ферум (Fe^{2+}, Fe^{3+})	Пероксидаза, каталаза, цитохромоксидаза, супероксиддисмутаза, сукцинатдегідрогеназа, протокатехит-3,4-діоксигеназа, ліпооксигеназа
Кобальт (Co^{2+}, Co^{3+})	Метилкобальт-СоА-мутаза
Купрум (Cu^{2+})	Аскорбатоксидаза, галактооксидаза, поліфенолоксидаза, катехолоксидаза, тирозиназа, цитохром-с-оксидаза, супероксиддисмутаза
Молібден ($Mo^{6+}, Mo^{5+}, Mo^{4+}, Mo^{3+}$)	Ксантинооксидаза, нітратредуктаза, альдегідоксидаза
Манган ($Mn^{2+}, Mn^{3+}, Mn^{4+}$)	Ауксинооксидази, РНК-полімераза II, еноіл-СоА-дисмутаза, нітратредуктаза, гідроксиламіноредуктаза, ізоцитратдегідрогеназа, піруваткарбоксилаза, глутамінсинтетаза
Селен ($Se^{2+}, Se^{4+}, Se^{6+}$)	Селенометіонінредуктаза, глутатіонпероксидаза, тіодоксинредуктаза
Цинк (Zn^{2+})	Супероксиддисмутаза, рибонуклеотидредуктаза, дезоксирибонуклеаза, метиласпартатмутаза, метіонінсинтетаза, глутаматдегідрогеназа

Зауважимо, що біогенні мінеральні входять до складу клітинних компонентів рослин, наприклад, Na і K входять до складу ензиму Na-K-АТР-ази, що локалізується у біомембрані клітин рослин та бере участь у позаклітинному транспорті хімічних сполук у рослинах (рис. 2.1).

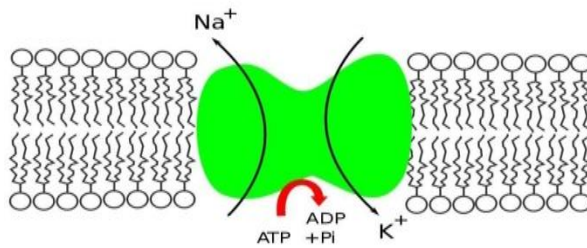


Рис. 2.1. Макроелементи Na і K входять до складу ензиму Na-K-АТФ-ази рослин

В якості прикладу включення мінеральних елементів у структуру ензимів наведемо включення іону Mg^{2+} в активний центр ензиму піруваткінази, що каталізує реакцію перетворення фосфоенолпірувату (рис. 2.2).

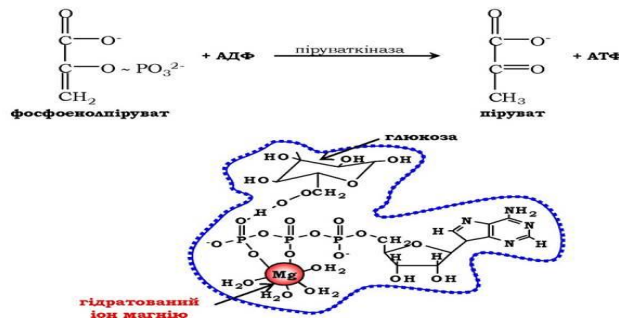


Рис. 2.2. Приклад включення іону Mg^{2+} у структуру ензиму піруваткінази рослин

Для перебігу наведеної ензиматичної реакції, крім іону Mg^{2+} , необхідна енергія у вигляді аденозиндифофату (АДФ), оскільки субстрат дії піруваткінази – фосфоенолпіруват є фосфорильованою сполукою, яка активується макроергічно. Крім того, іон Mg^{2+} є структурним компонентом фотосинтетичних пігментів рослин хлорофілів.

Між мінеральними елементами у рослинах існують два типи взаємовпливу – синергізм та антагонізм: перший характеризується посиленням біологічної дії одного елемента іншим, другий – навпаки, пригніченням або блокуванням. Найбільш досліджено є взаємодія біогенних елементів, так, зокрема, взаємодія між іонами Mg, N, K, S часто є синергетичної, проте, Ca є антагоністом P, Fe, Mg, Zn, Cu, B тощо;

II. Хімічні форми мінеральних елементів – луги, оксиди, кислоти мінеральні, солі мінеральні. В останньому випадку в якості аніонної частини можуть бути: Cl^- , NO_2^-/NO_3^- , SO_4^{2-}/SO_3^- , HPO_4^{2-}/HPO_3^- , CO_3/CO_2 , SeO_2 , MoO_4 , VO_4 тощо, від назв яких походять відповідні мінеральні солі.

Сукупність хімічних процесів, пов'язаних із поглинанням кореневою системою або поверхнею рослин мінеральних елементів у формі відповідних солей, оксидів та лугів, швидкістю їх транспортування по організму рослин, ступеня їх включення у метаболічні процеси, а також виділення із рослин, має назву *мінеральне живлення*. Цей хімічний процес дуже важливий для розвитку рослин на усіх стадіях їх онтогенезу, тому оптимальна забезпеченість рослин мінеральними сполуками є фактором оптимізованого інтенсивності перебігу біохімічних процесів в останніх. Нині існує метод оцінки дефіциту або надлишку, але не вмісту, у рослинах 14 мінеральних елементів – N, P, K, S, Ca, Mg, Cu, B, Zn, Mn, Fe, Mo, Co, J – на ранніх стадіях розвитку рослин – листкова діагностика із використанням фотометрів типу агровектор (рис. 2.3).



Рис. 2.3. Прилад для оцінки дефіциту або надлишку мінеральних елементів

Суть цього методу полягає у хімічній реакції між хлорофілом зелених частин рослин та реактивом 2,6-дихлорфеноліндофенолом за внесення 14 стандартних хімічно очищених розчинів (на рис. у штативі) мінеральних елементів.

Оптимізацію забезпеченості мінеральними сполуками рослинної сировини здійснюють шляхом позакореневої та підкореневої обробки посівів рослин препаратами певного хімічного складу, в той час як родючість ґрунту як субстрату для виробництва рослин підтримують шляхом внесення добрив.

Критерієм перебігу мінерального живлення у рослинах в аспекті гомеостазу є показник рН, який віддзеркалює перевагу мінеральних кислот та лугів – лужне, нейтральне або кисле. Кількісну оцінку забезпеченості рослин мінеральними сполуками здійснюють оптичними методами біохімічного аналізу рослин після проведення процесу оголення рослинного матеріалу – хімічного руйнування молекулярної структури та властивостей органічних сполук в присутності концентрованих мінеральних кислот за температури кипіння – з метою отримання зразків, що містять лише мінеральні елементи.

2.2. Біомолекули первинного генезу як критерії формування продуктивності рослинної сировини

До цих органічних критеріїв формування продуктивності рослинної сировини належить велика кількість хімічних показників, які локалізовані та функціонують у кожній клітині організму рослин, та включають:

- 1) вуглеводи, або цукри;
- 2) ліпіди та ліпідоповідні сполуки;
- 3) протеїни, або білки;
- 4) нуклеотиди.

Назва цього класу біомолекул – «біомолекули первинного генезу» пов'язана із тим, що ці хімічні критерії життєдіяльності рослин мають власні шляхи хімічного взаємоперетворення порівняно із сполуками вторинного походження, про що піде мова нижче. За поєднання цих хімічних критеріїв продуктивності рослин складається анатомо-морфологічна структура кожної клітини та, зокрема, її поверхневого компоненту – біомембрани (рис.2.5).

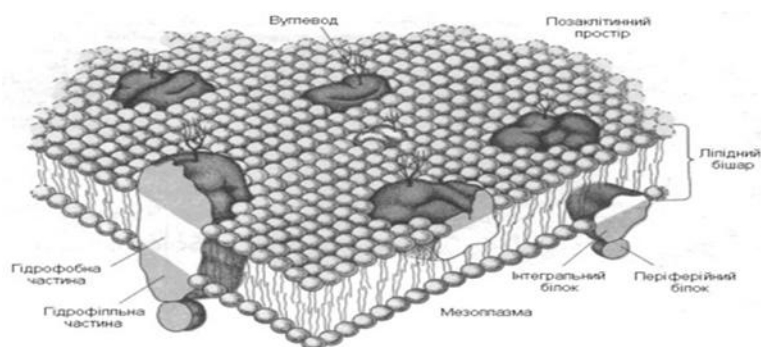


Рис. 2.5. Анатомо-морфологічна структура клітини рослин як результат участі критеріїв продуктивності рослинної сировини в її основі [8]

Якість рослинної сировини залежить від великої кількості хімічних реакцій, що відбуваються між наведеними типами біомолекул у кожній клітині. Нижче описано хімізм кожного класу біомолекул рослин як критеріїв життєдіяльності та якості рослинної сировини.

Вуглеводи поділяються на дві основні групи:

- моносахариди (моноцукри);
- полісахариди (поліцукри): оліго- та полісахариди.

Моносахариди – похідні спиртів, що містять від трьох до шести атомів карбону, один з яких заміщений на карбонільну групу ($-COH$) або кетонну групу ($C=O$) з утворенням альдоз та кетоз, відповідно (табл. 2.2).

Таблиця 2.2 – Класифікація моносахаридів у рослинах

<i>Альдози</i>		<i>Кетози</i>	
<i>Тріози – три атоми Карбону</i>			
Гліцеральдегід		Дигідроксиацетон	
<i>Тетрози – чотири атоми Карбону</i>			
Еритроза, треоза		Еритрулоза	
<i>Пентози – п'ять атомів Карбону</i>			
Рибоза, ксилоза	дезоксирибоза, арабіноза,	Рибулоза, ксилулоза	
<i>Гексози – шість атомів Карбону</i>			
Глюкоза, галактоза, маноза, талоза		Фруктоза, тагалоза	

Моноцукри сполуки утворюються з CO_2 та H_2O у *пластидах* клітини рослин при фотосинтезі у відновних реакціях, а розщеплюються в цих органелах при фотодиханні в окисних реакціях або у *мітохондріях* в дихальному ланцюзі до вказаних мінеральних сполук, тобто вступають у протилежні, взаємопов'язані реакції *окиснення* \leftrightarrow *відновлення*: у першому випадку – це вплив O_2 на карбонільну групу моносахаридів з утворенням органічних (моно- або дикарбонових) кислот, а, у другому – вплив 2H^+ на карбонільну або альдегідну групу моносахаридів з утворенням багатоатомних спиртів за схемами:

$\text{CHO} \rightarrow \text{O}_2 \rightarrow \text{COOH}$ або $\text{CH}_2\text{OH} \rightarrow -2\text{H}^+ \rightarrow \text{CHO} \rightarrow \text{O}_2 \rightarrow \text{COOH}$, а також $\text{CHO} \rightarrow +2\text{H}^+ \rightarrow \text{CH}_2\text{OH}$ або $-\text{C}=\text{O} \rightarrow +2\text{H}^+ \rightarrow \text{CHOH}$.

При окисненні моноцукрів утворюються органічні кислоти, що містять одну, дві та три карбоксильні (COOH) групи:

- монокарбонові (оцтова, пропіонова, гліоксилова, гліколева, піровиноградна);
- дикарбонові (щавелева, яблучна, фумарова, янтарна, винна, щавелевооцтова);
- трикарбонові (лимонна, ізолимонна, аконітова, щавелевоянтарна, α -кетоглутарова).

Відбувається також реакція розщеплення моноцукрів – *альдольна конденсація* – перетворення моноцукрів із більшою кількістю атомів Карбону до моноцукрів із меншою їх кількістю, наприклад, перетворення пентоз (із шістьма атомами С) до тріоз (із трьома атомами С) відбувається у рослинах за дії ензиму альдолази (рис.2.6).

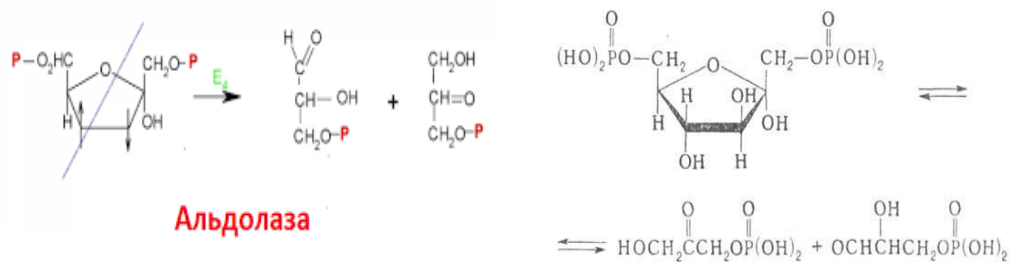


Рис.2.6. Приклад альдольного розщеплення фруктозо-1,6-фосфату до ДАФ та 3-ФГК у рослинах

Протилежною реакцією до окиснення моносахаридів є реакція їх відновлення за дії 2H^+ з утворенням багатоатомних спиртів, так, під час відновлення манози утворюється манніт рибози – рибіт, а глюкози та фруктози – сорбіт (рис.2.7).

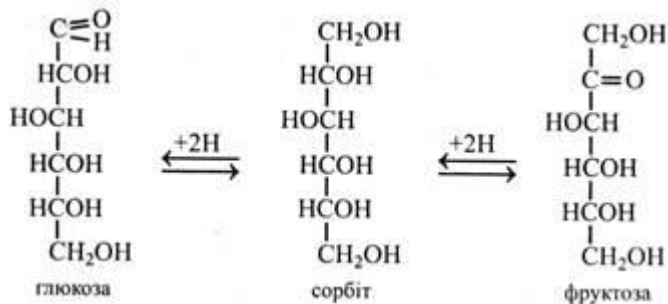


Рис.2.7. Приклад спирту – продукту відновлення моносахаридів рослин

Спирти сорбіт та манніт є заміниками сахарози для людини, які у великій кількості містяться в ягодах горобини, вишнях, сливах, яблуках, грушах, рибіт є компонентом нуклеотидів рослин. Глюкоза у великих кількостях міститься у винограді, тому її називають виноградним цукром, а фруктоза – у плодах, тому її називають плодовим цукром. Глюкоза може окиснюватись до ПВК, яка може далі окиснюватись до CO_2 і H_2O , але може бути попередником утворення, наприклад, амінокислот: $\text{ПВК} + \text{NH}_3 + \text{NADH}_2 \leftrightarrow \text{аланін} + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$.

При заміщенні гідроксильної ($-\text{OH}$) групи моносахаридів на O, S, N, C з утворенням відповідних глікозидів сполук: O-, S-, N- або C-глікозидів – сполук вторинного походження, що складаються з вуглеводної частини – глікону, а також неуглеводної – аглікону, поєднання яких відбувається за допомогою глікозидного зв'язку (рис.2.8).

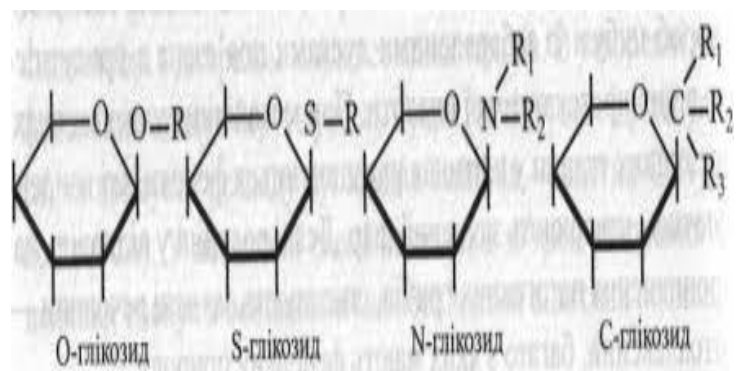


Рис.2.8. Заміщення гідроксильної (–ОН) групи моносахаридів з утворенням відповідних глікозидів рослин

Зауважимо, що до складу R можуть входити різноманітні за хімічним складом сполуки рослин – терпени, фенольні сполуки, алкалоїди, нуклеотиди. Глікозиди мають специфічний запах та смак, наприклад, глікозид синігрин ефірної олії гірчиці, амідгалін з насіння мигдалю, персику й вишні, соланін із зеленої картоплі є гіркими.

Моноцукри є джерелом утворення протеїногенних амінокислот рослин: ериторофосфат, 3-фосфогліцерат, оксалоацетат, фосфоенолпіруват

Переважаюча кількість моносахаридів вступає в реакцію *фосфорилування* – приєднання до їх молекули неорганічної сполуки – фосфату (Pi) з утворенням фосфорильованих похідних, назви яких складаються із назви моносахариду із додаванням «фосфат», наприклад: гліцеральдегід – гліцеральдегідфосфат, треоза – треозофосфат, глюкоза – глюкозо-6-фосфат (рис. 2.9) і т.д.

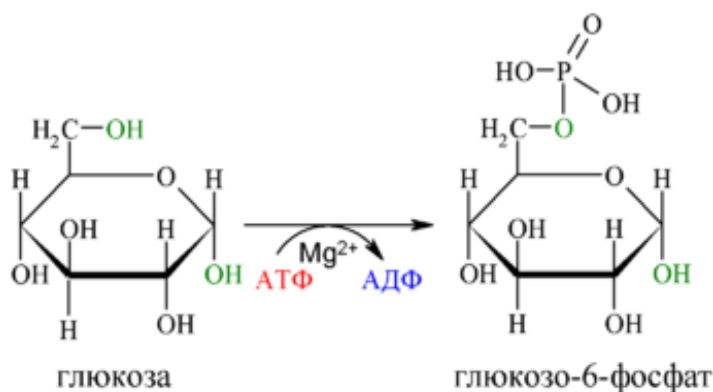


Рис. 2.9. Приклад реакції фосфорилування глюкози АТФ (містить фосфатну групу) з утворенням глюкозо-6-фосфату

Наведена реакція фосфорилування відбувається за участю Mg^{2+} , який є активатором ензиму цієї реакції – гексокінази, а також ензимів, що прискорюють інших реакції, зокрема, ацетил-СоА-дифосфатаза,

малатсинтаза, ДНК-полімераза. Під час розщеплення АТР до АДФ виділяється енергія, яка включається у зв'язки фосфорильованих сполук, зокрема, глюкозо-6-фосфату.

Фосфорильовані моносахариди рослин є енергетично збагаченими сполуками

Під час фосфорильовання пентози утворюються коензими рослин, наприклад, NADPH, або сполуки, збагачені енергією, наприклад, АТР (рис. 2.10).

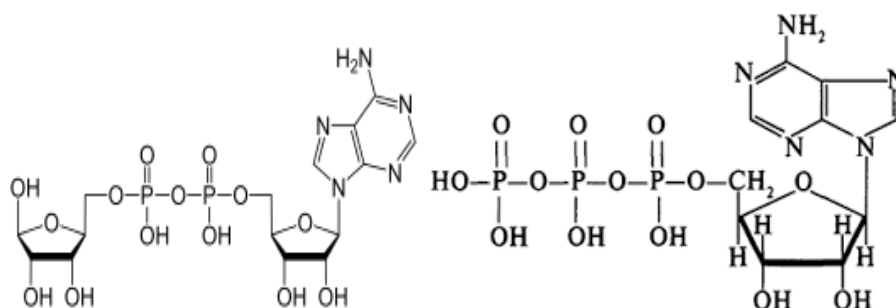


Рис. 2.10. Моносахарид рибоза у складі NADPH та АТР у рослинах

У вільному стані NADPH та його окиснена форма – NADP, є коензимами ензимів дегідрогеназ, що беруть участь в окисно-відновних реакціях. Зауважимо, що в окисно-відновних реакціях беруть участь флавінові нуклеотиди (FAD / FMN), а також убіхінон, пластохінон, ферум-сульфуровмісні протеїни та цитохроми, які розглянемо у наступному матеріалі.

У результаті окиснення *фосфорильованих* моносахаридів через проміжні сполуки утворюються органічні кислоти: гліколева кислота утворюється з 3-ФГК за схемою: 3-ФГК \rightarrow -2H^+ , $-\text{CO}_2 \rightarrow$ 3-ФГА \rightarrow $+\text{H}_2\text{O}$, $-2\text{H}^+ \rightarrow$ гліколева кислота; яблучна кислота – з ФЕП за схемою: ФЕП \rightarrow $+\text{HCO}_3^-$, $\text{Mg}^{2+} \rightarrow$ ЩУК \rightarrow $+\text{NADH}_2 \rightarrow$ яблучна кислота. У зв'язках фосфатної групи міститься енергія, тому фосфорильовані групи надають молекули моносахаридів енергетичної цінності. Також 3-ФГК є попередником утворення тетроз, пентоз і гексоз, а також їх полімерів – оліго- та полісахаридів.

Фосфорильовані похідні моносахаридів збагачені енергією фосфату, та здатні вступати у реакцію *ізомеризації* – утворення ізомерів моносахаридів за наявності ензимів класу ізомераз (рис. 2.11).

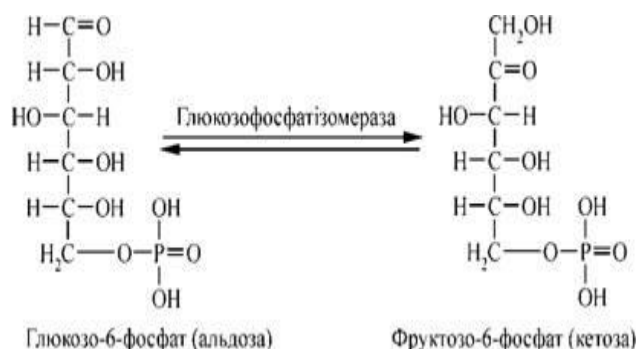


Рис. 2.11. Приклад реакції ізомеризації моноцукрів у рослинах

Крім ензиму глюкозофосфатізомерази, у реакціях ізомеризації моносахаридів рослин беруть участь рибозофосфатізомераза та тріозофосфатізомераза, які перетворюють рибозо-5-фосфат до рибулозо-5-фосфату та гліцеральдегід-3-фосфат до дигідроксиацетонфосфату, за наявності цих ензимів відбувається темнові реакції фотосинтезу.

Модифікацією реакції ізомеризації є переміщення групи $-PO_4^{2-}$ усередині молекули моноцукрів, зокрема, від глюкозо-1-фосфату до глюкозо-6-фосфату за дії ензиму фосфоглюкомутази.

Поєднання молекул моносахаридів між собою за допомогою глікозидного зв'язку з утворенням оліго- та полісахаридів має назву конденсація (рис. 2.12).

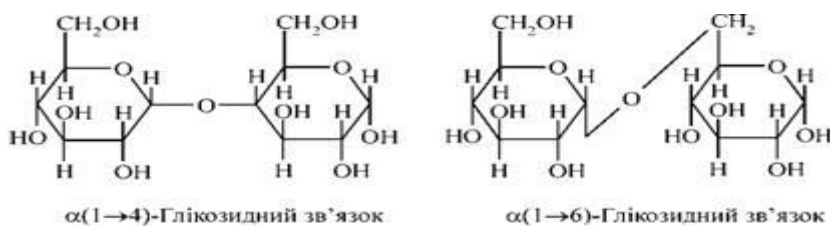


Рис. 2.12. Глікозидний зв'язок між моносахаридами

Глікозидний зв'язок має важливе біологічне значення, за його допомогою відбувається зв'язування моносахаридів у складі оліго- та полісахаридів рослин.

Моноцукри входять до складу біомолекул: глюкоза – до складу сахарози, мальтози крохмалю, целюлози, глікозидів, дубильних речовин, фруктоза – рафінози, стахіози, петинів, маноза – слизей, геміцеллюлоз, галактоза – глікозидів, інліну, рибоза – нуклеотидів, коензимів, вітаміну рибофлавіну тощо.

Олігосахариди, або олігоцукри – це сполуки, що складаються з моносахаридних залишків: двох – дисахариди, трьох – трисахариди, чотирьох – тетрасахариди і т.п, при поєднанні понад двадцяти моносахаридних залишків утворюються **полісахариди**, хімічний склад та біохімічну роль яких у рослинах наведено у табл. 2.3.

Таблиця 2.3 – Хімічний склад та біохімічна роль деяких оліго- та полісахаридів у рослинах

<i>Назва</i>	<i>Хімічний склад</i>	<i>Біохімічна роль</i>
1	2	3
<i>Олігосахариди</i>		
Сахароза	Залишок глюкози і фруктози	Енергетична, транспортування тріозофосфатів з цитозолу клітини листків до тканин, захист фосфоліпідів біомембран від несприятливих чинників
Мальтоза	Два залишки глюкози	Передають енергію для перетворення олігосахаридів або інших біомолекул рослин
Рафіноза	Залишок галактози, глюкози, фруктози	
Стахіоза	Два залишки галактози, залишок глюкози і фруктози	
<i>Полісахариди</i>		
<i>Гомополісахариди</i>		
Крохмаль	Полімери глюкози – амілоза та амілопектин: амілоза містить нерозгалужені залишки амілози та амілопектину	Основна форма запасання моносахаридів, що утворюється у пластидах, є джерелом енергії для клітини рослин при відкладанні у її вакуолях
Інулін	Залишки фруктози	Посилює швидкість гліколізу, регулює обмін гліцероліпідів
Целюлоза, або клітковина	Лінійні нерозгалужені залишки D-глюкози	Компонент зовнішньої поверхні біомембрани клітини рослин, підтримання структури клітин рослин

Продовження таблиці 2.3

<i>Гетерополісахариди</i>		
Геміцелюлози	Залишки манози, глюкози, галактози, ксилози	Компонент зовнішньої поверхні біомембрани клітини рослин, підтримання структури клітин рослин
Пектини	Залишки галактуронової кислоти, поєднані глікозидними зв'язками, містять пектин, протопектин та пектинові кислоти	Поєднання полімерних ланцюгів позаклітинного матриксу

Сахароза утворюється із фруктози й глюкози за дії ензиму сахарофосфатсинтази, а розщеплюється на вказані моносахариди за дії

ензиму сахарози, яка є попередником деяких оліго- та полісахаридів. Сахарозу використовують у харчовій промисловості людини, а також у кормовиробництві, мальтоза утворюється при розщепленні крохмалю амілазою.

Крохмаль складається з амілози та амінопектину, які поєднуються із жирними кислотами і мінеральними сполуками, целюлоза також поєднується із лігніном, пектином і ліпідами, крохмаль використовують у харчовій промисловості, медицині, з нього отримують глюкозу, клей, пластмаси.

Інулін як запасний полісахарид відкладається в підземних органах рослин – у клубнях картоплі, топінамбуру, кореневищах артишоку, також відомі похідні інуліну – фруктоманани, але їх хімічна будова досліджується, вживання інуліну підвищує кількість корисних біфідобактерій у кишківнику тварин і людини.

Целюлоза складає мікрофібрили клітинної біомембрани рослин, –ОН-групи в її складі заміщуються на –СН₃-групи, що знаходить використання у виробництві штучних волокон та шкіри, лаків, деревени, паперу, а також у кормових раціонах жуйних тварин у складі соломи, у шлунку цих тварин наявні бактерії, що виробляють ензиму целюлазу.

Пектини у великій кількості містяться у яблуках, буряку, цитрусах, червоній смородині, сливах, завдяки здатності пектинів до желетування, їх використовують як желетуючі сполуки під час виготовлення фруктових желе, мармеладу, також вони використовуються у медицині завдяки кровоспинній та антитоксичній дії.

Частина оліго- та полісахаридів на зовнішній поверхні біомембран (рис. 1.2) поєднується із ліпідами або протеїнами з утворенням, відповідно, глікопротеїнів або гліколіпідів, що складають поверхневий апарат клітини рослин та у невеликій кількості наявні у комплексі Гольджи, поєднаному із внутрішньоклітинними біомембранами рослин, вони виконують роль посередників у процесах специфічної взаємодії клітин між собою та з позаклітинним матриксом. У внутрішньоклітинних взаємодіях, крім глікопротеїнів та гліколіпідів, беруть участь також фітогормони та неорганічні сполуки, наприклад, іони Са²⁺, які поєднуються із фосфатними групами фосфоліпідів й гліколіпідів.

Ліпіди рослинної сировини включають гідрофобні – нерозчинні у водно-сольових розчинах– біомолекули:

- жирні кислоти;
- триацилгліцероли;
- фосфоліпіди;
- гліколіпіди;
- воски;
- ліпідоподібні сполуки.

Вищі жирні кислоти рослин – це компоненти ліпідів, які класифікуються на насичені та ненасичені. Вони складаються із карбоксильної групи ($-COOH$), а також вуглеводневого $(CH)_n$ ланцюга, в якому атоми С поєднуються між собою одинарним зв'язком $C-C$ (у насичених жирних кислотах), а також подвійним та потрійним, $C=C$ та $C\equiv C$, відповідно (у ненасичених жирних кислотах рослин), що наведено на рис. 2.14.



Рис. 2.14. Компоненти жирних кислот рослин

До найбільш важливих для рослин *насичених* ВЖК належать пальмітинова, стеаринова, капронова, каприлова, лауринова, арахінова, міристинова, а до *ненасичених* – олеїнова, ліолева, ліоленова, ерукова, рицинолева, арахідонова, пальмітоолеїнова тощо, які містять дві, три, чотири подвійні зв'язки між атомами С.

У табл. 2.4 наведено кількість атомів Карбону у складі ВЖК у рослинах.

Таблиця 2.4 – Кількість атомів Карбону у складі вільних жирних кислот у рослинах

<i>Кислоти</i>	<i>Кількість атомів Карбону та позначення</i>
1	2
<i>Насичені</i>	
Гексанова (капронова)	C6:0
Октанова (каприлова)	C8:0
Деканова (капринова)	C10:0
Додеканова (лауринова)	C12:0
Тетрадеканова (міристинова)	C14:0
Гексадеканова (пальмітинова)	C16:0
Октадеканова (стеаринова)	C18:0

Ейкозанова (арахінова)	C20:0
Декозанова (бегенова)	C22:0
Тетракозанова (лігноцерінова)	C24:0
Гексакозанова (церотинова)	C26:0
Октакозанова (монтанова)	C28:0
Тріакозанова (мелісинова)	C30:0

Продовження таблиці 2.4

<i>Ненасичені (C_nH_{2n-2}O₂)</i>	
Бутен-2-онова (кротонова)	C4:1
Гексен-3-онова (тиглінова)	C4:1
Децен-3-онова	C10:1
Додецен-5-онова	C12:1
Тетрадецен-9-онова (міристолеїнова)	C14:1
Гексадецен-9-онова (пальмітолеїнова)	C16:1
Октадецен-9-онова (петроселінова)	C18:1
Докозен-13-онова (ерукова)	C22:1
<i>Ненасичені (C_nH_{2n-4}O₂)</i>	
Октадекадіен-9,12-онова (лінолева)	C18:2
<i>Ненасичені (C_nH_{2n-6}O₂)</i>	
Октадекадіен-9,12,15-онова (ліноленова)	C18:3

У номенклатурі жирних кислот зазначають довжину ланцюга Карбону та кількість подвійних зв'язків, розділяючи ці показники двокрапкою, а положення подвійних зв'язків відображують цифрами у рядку зверху після знаку дельта Δ (табл. 2.5).

Таблиця 2.5 – Принцип номенклатури жирних кислот рослин

<i>Вуглецевий ланцюг</i>	<i>Структура</i>	<i>Систематична назва</i>	<i>Поширена назва</i>
12:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH	Додеканова кислота	Лауринова кислота
18:3 (Δ ^{9,12,15})	CH ₃ CH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(C H ₂) ₇ COOH	Октадекатрієнова кислота	α-Ліноленова кислота

Примітка: нумерація починається з атома Карбону карбоксильної групи, Δ означає, в якому місці C=C у ланцюзі ВЖК

У рослинах ВЖК, що містять більше, ніж 3 подвійних зв'язки, не утворюються. Ліноленова кислота є попередником утворення жасмонатів, які належать до сполук фітогормональної дії. Усі відомі жасмонати походять від ненасичених гексадеценових ($C_{16:3}$) ВЖК, що утворюються у пластидах за дії відповідних ензимів.

Кількість атомів С у складі ВЖК рослин є парною – від C_6 до C_{22} , вони входять до складу рослинних олій, а також восків, в останньому випадку кількість С – від C_{24} до C_{30} . При розщепленні кожної з ВЖК виділяється енергія, що дорівнює приблизно 30-40 кДж/г. На вміст подвійних або потрійних зв'язків у ненасичених ВЖК впливає різка зміна температурних показників, що призводить до зменшення їх кількості.

Високий вміст ненасичених ВЖК міститься в рослинних оліях: соєвій, соняшниковій, лляній, оливковій, хлопковій, кукурудзяній тощо, джерелом насичених ВЖК є олії тропічних рослин. Важливими хімічними реакціями ВЖК у рослинах є реакції десатурації, окиснення, синтезу, поєднання та приєднання.

Десатурація ВЖК – це реакція додавання подвійних ($C=C$) зв'язків у вуглеводневий ланцюг насичених ВЖК у хлоропластах та ендоплазматичному ретикулумі клітини рослин. Так, мононенасичені ВЖК утворюються із насичених у процесі десатурації за участі ензиму ацил-СоА-оксигеназа, причому перший подвійний зв'язок у ВЖК ($C_{18:1}$, $C_{18:2}$ та $C_{18:3}$) знаходиться у положенні 9 та 10 від групи $COOH$.

Окиснення ВЖК – це вплив O_2 або його похідних, зокрема, H_2O_2 , OH , O^{\cdot} , на подвійні або потрійні зв'язки $C=C$ й $C\equiv C$ у ненасичених ВЖК, що призводить або до розриву цих зв'язків та утворення $C-C$, або до утворення пероксидів жирних кислот, гідрпероксидів тощо, що відбувається у мікротільцях пероксисомах за дії ензимів оксидаз з утворенням ацетил-СоА, який за умов локалізації у стромі пластид є субстратом для реакцій синтезу ВЖК.

Синтез ВЖК – це процес послідовного додавання двох атомів С до малоніл-СоА до утворення C_{22} , що відбувається у стромі хлоропластів у процесі фотосинтезу за участі АТР, $NADPH$ і $FADH_2$. Попередниками малоніл-СоА є CO_2 та ацетил-СоА, ця сполука бере участь в синтезі інших біомолекул, наприклад, флавоноїдів та фітоалексинів.

Також ВЖК вступають у реакції *поєднання*. Так, при поєднанні ВЖК зі спиртами утворюються **воски**, які збагачені на похідні каротиноїдів. Воски тонким шаром вкривають поверхню листя, стебел, плодів рослин, містяться в насінневих оболонках олійних культур, зокрема, вміст воску у сім'янці соняшнику становить близько 1,5 % від маси, а у плодовій оболонці близько 83 %, в ядрі насіння до 1 %, тому для отримання прозорої соняшникової олії здійснюють процес виморожування восків. До складу восків входять як вищенаведені ВЖК, так й специфічні ВЖК, серед останніх

найбільш дослідженими є лігностеринова ($C_{24}H_{48}O_2$), церотинова ($C_{26}H_{52}O_2$) і монтанова ($C_{28}H_{56}O_2$), а серед спиртів – цетиловий ($CH_3(CH_2)_{14}CH_2OH$), гексакозанол ($CH_3(CH_2)_{24}CH_2OH$), триаконтанол ($CH_3(CH_2)_{28}CH_2OH$).

Також ВЖК є компонентами запасних ліпідів – **ацилгліцеролів**, а також мембранних ліпідів – гліколіпідів і фосфоліпідів. У разі приєднання однієї, двох або трьох молекул ВЖК до спирту гліцеролу в *реакції етерифікації* утворюються ацилгліцероли (рис. 2.15): моноацилгліцероли (МАГ), диацилгліцероли (ДАГ) та триацилгліцероли (ТАГ), попередником утворення останніх є фосфатидна кислота.

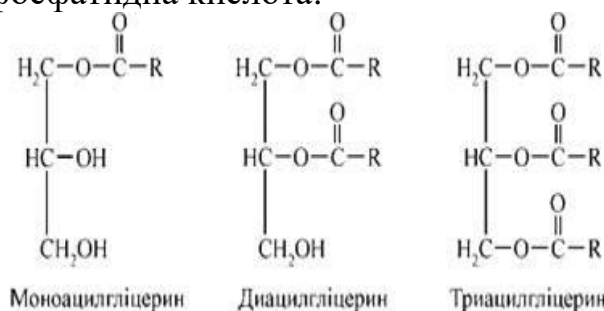
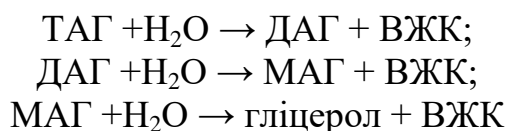


Рис. 2.15. Хімічна будова ацилгліцеролів (R_1, R_2, R_3 – залишки вищих жирних кислот)

Ацилгліцероли містяться в *олеосомах* рослин – одному з трьох типів мікротілець (два інших види мікротілець – пероксисоми та гліоксисоми), що за формою нагадують пухирці різної форми, містять неорганічний фосфат, ензими ліпази, ліпоксигенази й оксидази тощо. Ацилгліцероли за дії ензимів ліпаз, зокрема, триацилгліцеролліпази й діацилгліцеролліпази (в біомембрані олеосом), а також моноацилгліцеролліпази (в біомембранах мікротілець гліоксисом) розщеплюються за схемою:



До складу ліпаз входить SH-група та іони Ca^{2+} , оптимум дії вказаних ензимів може значно змінюватися залежно від параметрів рН, температури або динаміки вмісту ненасичених ВЖК.

Після розщеплення ТАГ, гліцерол, в свою чергу, розщеплюється до фосфотріоз і далі до піровиноградної кислоти, а ВЖК вступають в процес β -окиснення

Триацилгліцероли є попередниками глюкози, сахарози та інших сполук рослин: тригліцероли \rightarrow жирні кислоти \rightarrow β -окиснення \rightarrow ацетил-СоА \rightarrow оксалоацетат \rightarrow глюкоза \rightarrow сазароза, полісахариди, амінокислоти, нуклеотиди, а також проміжні продукти.

Ацигліцероли є головними компонентами рослинних олій – гідрофобних сумішей, що містять, крім ТАГ, ліпідорозчинні сполуки: вітаміни, пігменти, фенольні сполуки, монотерпени, а також мінеральні елементи. Якщо в молекулі ТАГ усі залишки жирних кислот однакові, то ТАГ називають простим, якщо різні, то змішаним. Властивості рослинних олій обумовлені набором жирних кислот у складі ТАГ.

Рослинні олії отримують в процесі холодного або гарячого пресування з насіння багатьох рослин: рицини, сої, кокосу, соняшнику, кукурудзи, ріпакутощо. За умов інтенсивного перебігу біохімічних процесів у процесі зберігання насіння та рослинних олій відбувається зменшення кількості подвійних або потрійних зв'язків у ненасичених ВЖК, що негативно впливає на якість олій. Якість рослинних олій в процесі зберігання визначають за такими показниками: *кислотне, йодне число та число омилення*: перший показник визначає кількість мг КОН, яка потрібна для нейтралізації вільних жирних кислот з 1 г олії, другий – кількість мг I_2 в 100 г олії, третій – кількість мг КОН, яка потрібна для нейтралізації суми жирних кислот як вільних, так із'язаних із гліцерином при омиленні 1 г олії. Рослинні олії є рідкими, а при пропусканні через олію H_2 за наявності каталізаторів, відбувається процес гідрогенізації, завдяки якому рідкі олії перетворюються на тверді завдяки зменшенню подвійних зв'язків жирних кислот (рис.2.16).

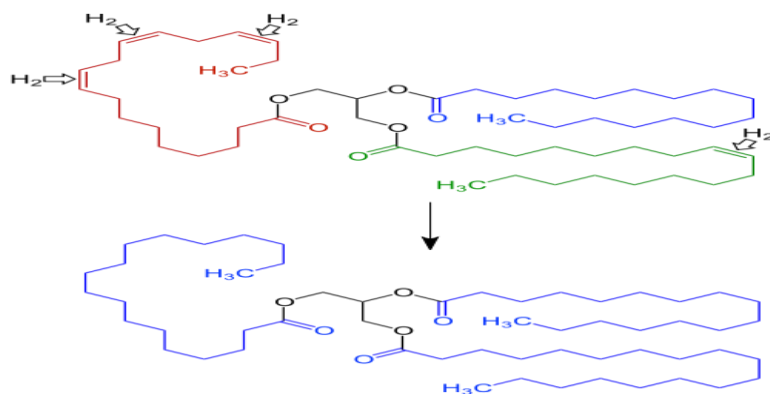


Рис. 2.16. Принцип гідрогенізації рослинних олій

Ацигліцероли використовуються як енергетичний резерв клітини рослин, в той же час, інші ліпіди – *гліколіпіди* та *фосфоліпіди* – виконують *структурну* функцію, оскільки разом із протеїнами й вуглеводами є компонентами біомембран (рис. 1.2) хлоропластів, мітохондрій та усієї клітини рослин.

З терміном «*гліколіпіди*» ми вже зустрічалися в попередньому матеріалі, – це сполуки, що складаються із залишків вуглеводів («гліко») та ліпідів, термін «*фосфогліколіпіди*» свідчить про наявність фосфатної ($-HPO_4^{2-}$) групи.

Гліколіпіди поділяються на *галактоліпіди* – моногліцеролдіацилгліцериди (МГДГ) і дигліцеролдіацилгліцериди (ДГДГ), сульфоліпіди (СХДГ), а також *фосфоліпіди* (ФЛ), або гліцерофосфоліпіди, – на фосфатидилхолін (ФХ), фосфатидилетаноламін (ФЄ), фосфатидилсерин (ФС), фосфатидилгліцерол (ФДГ), фосфатидилінозитол (ФІ).

Молекули обох класів мембранних ліпідів – гліколіпіди та фосфоліпіди – є *амфипатичними* молекулами, – містять як гідрофільну (неполярну), так і гідрофобну (полярну) частину (рис. 2.17): гідрофільна частина містить два залишки ВЖК, а склад гідрофобної частини дещо відрізняється – обидва ліпіди містять спирт гліцерол, а також: МГДГ і ДГДГ – одну або дві молекули галактози, відповідно, СХДГ – залишки інших моносахаридів і SO_4^{2-} , а ФЛ – нітрогеновмісні спирти (холін, етаноламін, гліцерол, інозитол, серин).

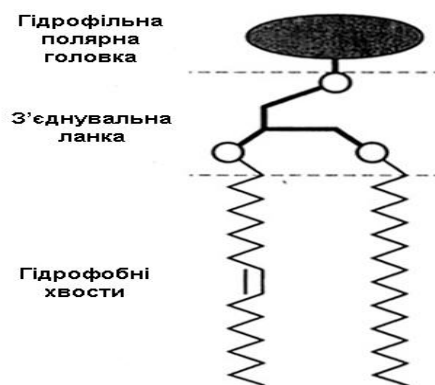


Рис.2.17. Схематичний вигляд гліколіпідів та фосфоліпідів

Гліколіпіди розташовані у біомембранах тилакоїдів хлоропластів рослин, їх утворення забезпечується, з одного боку, синтезом гліцеролу, з другого, – етерифікацією ВЖК, з третього, – вмістом ацетил-СоА як продукту окиснення ВЖК. Як наведено вище, молекула МГДГ містить ДАГ та одну молекулу галактози, а ДГДГ – дві. Попередником ДАГ є гліцерол-3-фосфат з дигідрооксиацетонфосфату в процесі фотосинтезу, у біомембранах хлоропластів ключовим ензимом є фосфатаза фосфатидної кислоти – фосфатидатфосфатаза, за дії якої відбувається синтез діацилгліцеролу (ДАГ).

Тип гліколіпідів, що містить SO_4^{2-} , – СХДГ, – синтезується на внутрішній біомембрані хлоропластів за дії ензиму сульфохіновозилтрансферази. Для синтезу СХДГ необхідні протеїни SQD_1 та SQD_2 : перший здійснює реакцію між УДФ-глюкозою та SO_4^{2-} , другий – утворює сульфохіновози за дії сульфоліпідсинтетази. Доведено, що СХДГ

беруть участь в орієнтації допоміжних пігментів фотосинтезу – каротиноїдів та ксантофілу хлоропластах.

Фосфоліпиди, або гліцероліпиди, є похідними ТАГ, у яких одна із жирних кислот заміщена на HPO_3^{2-} із приєднанням до неї нітрогеновмісним спиртом – холіном (рис. 2.18).

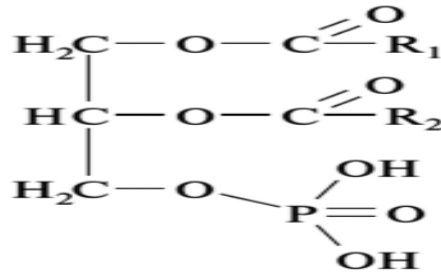


Рис. 2.18. Загальна формула фосфоліпідів

Примітка: R_1 та R_2 – вільні жирні кислоти, а замість одного атому H^+ , поєднаного із фосфатом, – нітрогеновмісний спирт

Нітрогеновмісні спирти фосфоліпідів, що містять холін, етаноламін, серин або інозитол, відповідно, мають назву фосфатиділхоліни, фосфатидилетаноламіни, фосфатидилсерини, фосфатидилінозитолу (рис. 2.19).

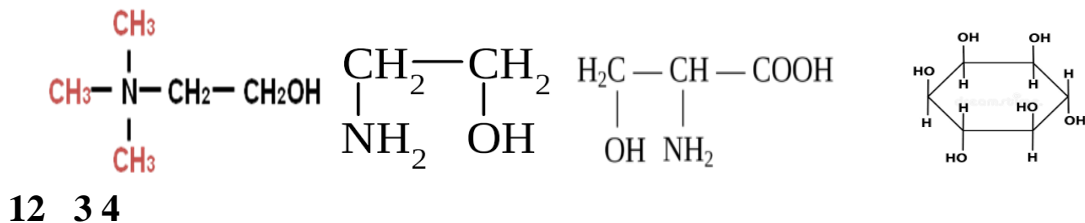


Рис. 2.19. Нітрогеновмісні компоненти фосфоліпідів рослин:

1 – холін, 2 – етаноламін, 3 – серин, 4 – інозитол

Фосфоліпиди, які не містять нітрогеновмісного спирту, мають назву фосфатидних кислот. Фосфатидні кислоти взаємодіють із хімічними сполуками у біомембрані, до її мішеней належать як фосфоліпази, так і протеїнові кінази, фосфатази, іонні канали і трансмембранні переносники.

Розщеплення ефірних зв'язків у фосфоліпідах здійснюється за участі ензимів *фосфоліпаз*, які, залежно від розташування гідролізованого зв'язку, поділяються на п'ять класів: фосфоліпази D, фосфоліпази C, фосфоліпази A_1 , фосфоліпази A_2 та фосфоліпази B (рис. 2.20).

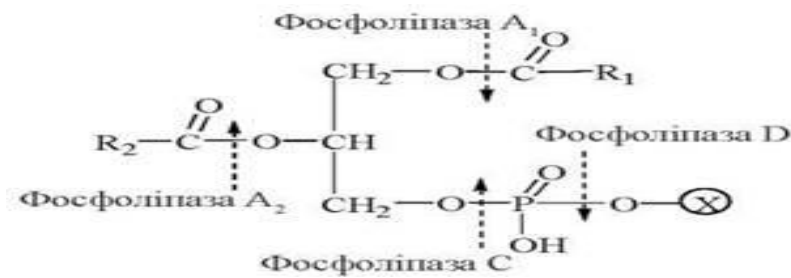


Рис. 2.20. Ділянки впливу фосфоліпаз на фосфоліпіди рослин
Примітка: X – нітрогеновмісний спирт

Фосфоліпази D розщеплюють фосфоліпіди до фосфатидної кислоти та нітрогеновмісного спирту, ці ензими виконують центральну роль у стресових реакціях рослин, в яких опосередковують дію стресових фітогормонів (абсцизової кислоти, етилену, жасмонатів).

Фосфоліпази C розщеплюють фосфоліпіди до ДАГ і фосфорильованого нітрогеновмісного спирту, вони у біомембранах рослин поділяються на три групи:

- поліфосфоінозитиди специфічні – гідролізують фосфатидилінозитолполіфосфати;
- неспецифічні – діють на фосфатидилхолін;
- глікозлфосфатидилінозитол специфічні – відщеплюють глікопротеїни, поєднані із біомембраною за допомогою глікозидних зв'язків.

Фосфоліпази A₂ у біомембранах рослин поділяються на дві групи – секреторні та внутрішньоклітинні Ca²⁺-незалежні: перші чутливі навіть до мілімолярних концентрацій Ca²⁺ у клітині, а другі чутливі до концентрації кальмодуліну, у разі його відсутності не реагують на зміну іонів Ca²⁺. Фосфоліпази цього типу регулюють октадеканоїдний цикл, в якому з октадекадієн-9,12-онової (ліноленої) кислоти утворюються жасмонати, що беруть участь в регуляції реакцій на механічні пошкодження рослин та на вплив патогенів, активують накопичення ліпідів.

Між гліко- та фосфоліпідами як складовими подвійного шару біомембран відбуваються відповідні переміщення (рис. 2.21).

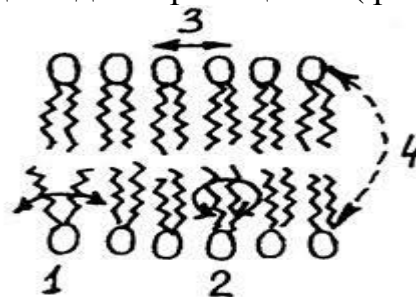


Рис. 2.21. Типи переміщення молекул ліпідів у подвійному шарі біомембран: 1 – сегментальне, 2 – обернене; 3 – латеральне (флап); 4 – перехідне з одного шару до іншого (фліп-флоп)

Плинність та в'язкість біомембран залежить від пропорції між насиченими і ненасиченими ВЖК у бік збільшення кількості останніх.

Фосфоліпіди також є компонентами рослинних олій, для їх виділення із останніх здійснюють процес гідrataції – обробка тканин рослин невеликою кількістю води, результатом чого є випадіння фосфоліпідів в осад. Фосфоліпіди використовують як сировину при виготовленні лікарських та фітокосметологічних засобів, а також як кормову базу для тварин.

Вищерозглянуті ліпіди – ацигліцероли, гліколіпіди, фосфоліпіди та воски – належать до *ліпідів* та є головними компонентами клітин рослин, проте відіграють *пасивну* роль в обмінних процесах у клітинах рослин: ацигліцероли зберігаються у клітині, доки немає потреби у клітинній енергії, а мембранні ліпіди є компонентами подвійного шару біомембран, що оточують клітини рослин та їхні окремі органели. Проте, у рослинах також наявні хімічні сполуки, що належать до *ліпідоподібних*, вони є водонерозчинними, мають різний хімічний склад та відіграють активну роль в метаболізмі рослин, до них належать:

1) фотосинтетичні пігменти – хлорофіли *a* і *b*, каротиноїди (α -каротин, β -каротин тощо) та ксантофіли, які локалізовані у хлоропластах клітини рослин та беруть участь у поглинанні світла в процесі фотосинтезу;

2) кофактори ензимів, залучені до електронно-транспортних реакцій у хлоропластах та мітохондріях – пластохінони, убіхінони (коензими Q) тощо;

3) вітаміни водонерозчинні – токофероли, кальцифероли, філохінони таретиноли, які локалізовані у біомембранах органел клітин рослин, беруть участь в окиснювальних реакціях та є біологічно активними сполуками, зокрема, виявляють антиоксиданту дію;

4) фітогормони – ауксини, гібереліни, етилен, абсцизини, цитокініни, брасини, жасмонати і саліцилати.

Перші три групи ліпідоподібних сполук є похідними терпенів, одного з класів сполук вторинного походження у рослинах, хімічною основою будови яких є ізопреноїдні сполуки, що складаються із декількох залишків вуглеводню ізопрену (рис. 2.23).

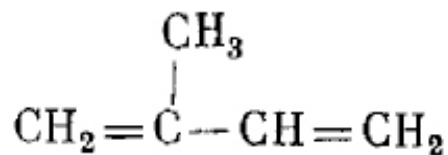


Рис. 2.23. Ізопрен

Терпени складаються із двох (дитерпени), трьох (тритепсени), чотирьох (тетратерпени), восьми й більше (сексвітерпени) молекул ізопрену, а їх похідні фітостероли – з тетрациклічних тритерпенів.

Ізопреноїдна частина вищенаведених ліпідоподібних сполук є боковою вуглеводневою частиною, яка приєднана до відповідних циклічних кілець – пірольного, хроманового, фенольного, хінонного.

Так, *хлорофіліза* структурою є гетероциклічними сполуками, що мають зелено-синє забарвлення та складаються з чотирьох N-вмісних порфіри нових кілець, одного – циклопентанового, спиртів метанолу та фітолу ($C_{20}H_{39}OH$), останній є терпеном (рис. 2.24).

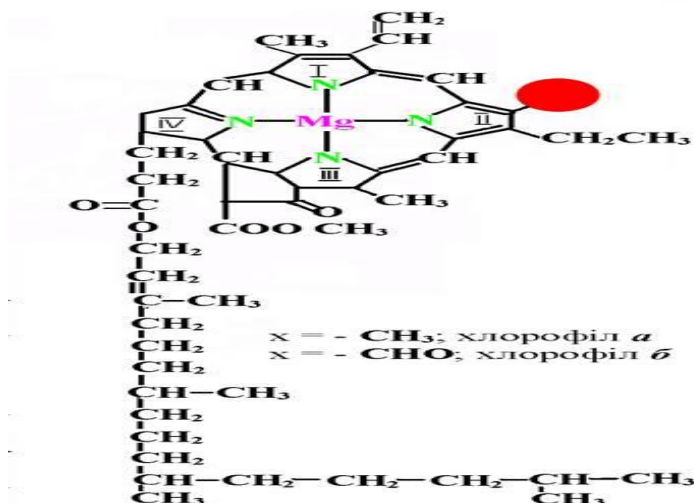


Рис. 2.24. Хімічна структура хлорофілів а і б

Відрізняються два типи хлорофілів за функціональними групами: хлорофіл *а* – містить метильну групу, *ab* – альдегідну. Загальна формула хлорофіла *aa* – $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$, хлорофіла *ab* – $C_{55}H_{74}O_5N_4Mg$.

Каротиноїди, або вітаміни групи А, та *ксантофіли* є похідними тетратерпенів, що мають жовто-червоне забарвлення, основою яких є іононове кільце (α -іонон та β -іонон), одними з представників яких є α -каротин та β -каротин (рис. 2.26).

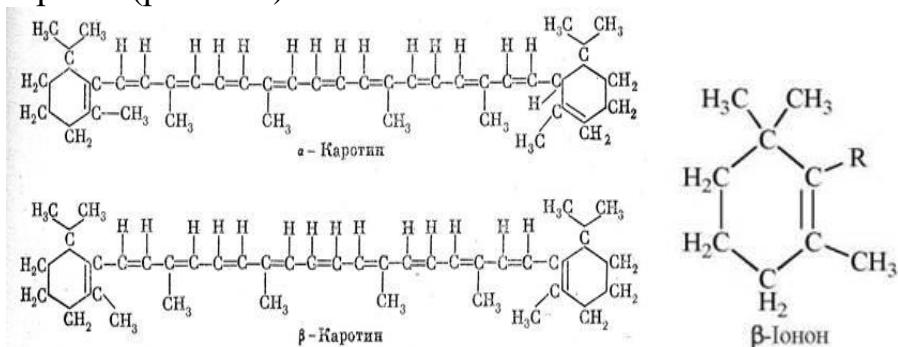


Рис. 2.26. Хімічна структура α -каротину та β -каротину рослин

При окисненні іононового кільця каротиноїдів утворюються ксантофіли, до яких належать, наприклад, зеаксантин, ксантофіл, віолаксантин та ауруксатин.

Порфіринові кільця лежать в основі хімічної будови цитохромів – сполук, що беруть участь у процесах дихання

На рис. 2.27 наведено хімічну структуру переносників електронів та протонів, локалізовані у тилакоїдних мембранах хлоропластів – пластохінону й убіхінону.

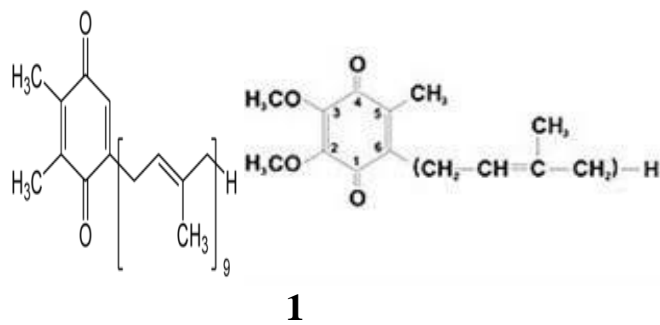


Рис.2.27.Хімічна структура пластохінону – 1 і убіхінону – 2

Також до ліпідоподібних сполук рослин належать водонерозчинні вітаміни, зокрема, вітаміни групи Е, щомають назву токоферолі, а вітаміни групи К – філохінони.

***Вітаміни** – це біологічно активні сполуки рослин, що поділяються на водонерозчинні та водорозчинні*

Токоферолі належать до фенолів, зокрема, до класу флавоноїдів, містять хроманове кільце та ізопреноїдний ланцюг і поділяються на типи: α -, β -, γ - (рис.2.28).

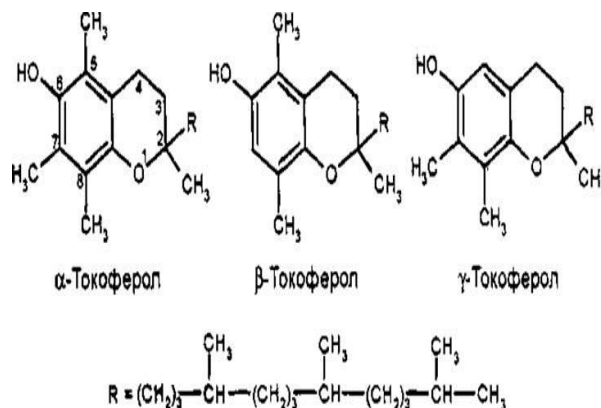


Рис. 2.28.Типи токоферолів рослин

У табл. 2.5 наведено відмінності у заміщенні трьох радикалів (R).

Таблиця 2.5 –Заміщення радикалів у трьох типах токоферолів рослин

Заміщення радикалів на групу $-CH_3$ та H	Тип токоферолу
$R_1 = R_2 = R_3 = CH_3$	α -токоферол
$R_1 = R_3 = CH_3, R_2 = H$	β -токоферол
$R_1 = R_2 = CH_3, R_3 =$	γ -токоферол

Токофероли взаємодіють із фосфоліпідами біомембран та захищають ненасичені жирні кислоти (C=C) від окиснення й перетворення на насичені (C-C), що пояснюється взаємодією ароматичного кільця вітамінів з активними похідними O_2 та іншими вільними радикалами з утворенням пероксидів ліпідів (рис. 2.29).

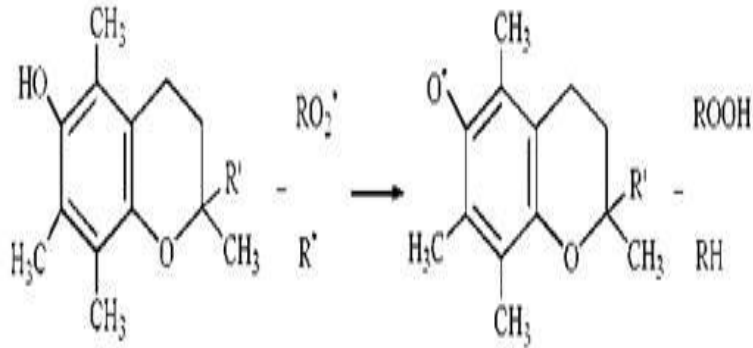


Рис. 2.29. Схема взаємодії ароматичного кільця токоферолів з активними похідними O_2 з утворенням пероксидів ліпідів рослин

Філохінони є похідними 2-метил-1,4-нафтохінону, які містять ізопреноїдну частину, представниками яких є філохінон, або вітамін K_1 , та фарнохінон, або вітамін K_2 (рис. 30).

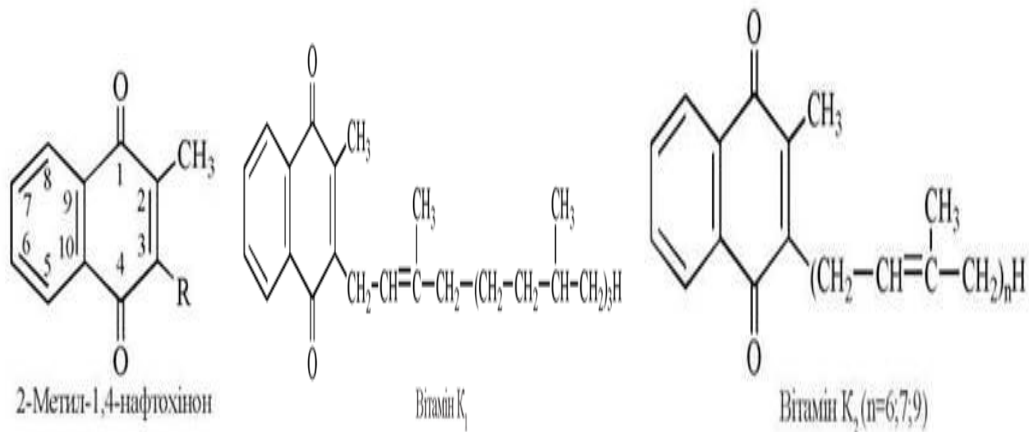


Рис. 30. Філохінони рослин

Власне ліпіди та ліпідоподібні сполуки складають поняття «загальні ліпіди» рослинної сировини.

Амінокислоти рослин – це нітрогеновмісні компоненти рослин, які є структурними компонентами протеїнів (протеїногенні) або не входять до складу протеїнів (непротеїногенні): перші утворюються у мітохондріях, пластидах або цитозолі, другі – у цитозолі та вакуолях клітини рослин.

Структура протеїногенних амінокислот рослин наведена на рис. 2.30.

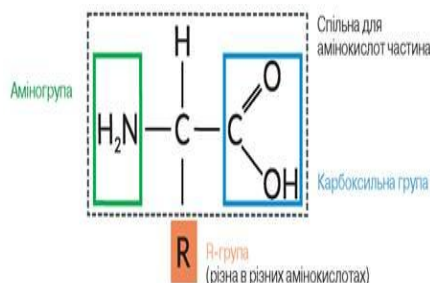


Рис. 2.30. Загальна структура протеїногенних амінокислот рослин

Нині у рослинах виявлено 22 протеїногенні амінокислоти, які відрізняються за хімічним складом R-груп, 20 з яких наведено на рис.2.31.

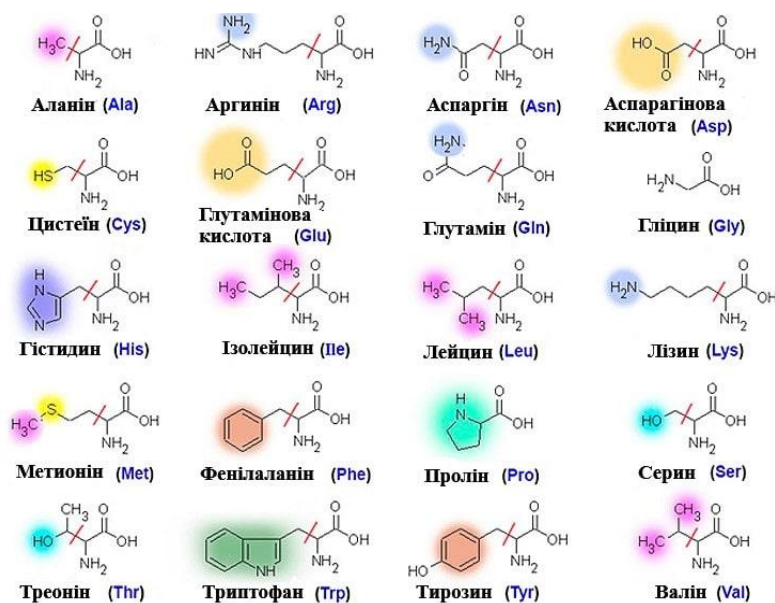


Рис. 2.31. Протеїногенні амінокислоти

Ще 2 протеїногенні амінокислоти – селенометіонін і селеноцистеїн – складаються з мікроелементу селену (Se), а також амінокислот і метіоніну, відповідно. Найпростіша за хімічним складом амінокислота *Gly* є амінопохідним оцтової кислоти (CH_3COOH), а всі інші амінокислоти – похідні амінокислоти *Ala*, у яких атоми H^+ у групі CH_3 заміщені відповідними функціональними групами (рис. 2.31). Протеїногенні амінокислоти містять:

– карбоксильні групи – *Asn, Glu*;

- аміногрупи – *Lys, Arg*;
- гідроксильні групи – *Ser, Tre*;
- імідазольні групи – *His*;
- індольні групи – *Trp*;
- сульфгідрильні групи – *Cys*;
- тіоестерні групи – *Met*;
- ароматичне кільце – *Phe*.

Наряду з протеїногенними амінокислотами, якість рослин також забезпечують *непротеїногенні амінокислоти* – похідні протеїногенних, які у вільному стані локалізуються у цитозолі клітин рослин та виявляються за допомогою методу хроматографії – біохімічного методу послідовного розділення суміші амінокислот на пластині, обробленої тонким шаром сорбенту, в якому як стандарти для порівняння використовуються протеїногенні амінокислоти рослин (рис.2.32).



Рис. 2.32. Схема виявлення та розділення амінокислот рослин при паперовій хромаатографії

Хроматографічно виявлено більше 64 непротеїногенних амінокислот, таких як селеноцистеїн, селенометіонін, 5-гідроксилізин, β -аланін, гомосерин, орнітин, селеноцистеїн, аміноадипін, циртулін, алліїн, S-метилцистеїнсульфоксид, метиленглутамат, таурин, азетидинкарбоксілін тощо. Проте, їх біохімічна роль ще досліджується. Методом хроматографії визначають вміст як непротеїногенних, так і протеїногенних амінокислот у рослинному матеріалі. Після розділення амінокислот на платинці, кожен пляму елюють, тобто вискаблюють з паперу у пробірки, після цього проводять відповідні хімічні реакції із наступним визначення їх концентрації за допомогою аналізаторів. На даний час виділені та очищені протеїногенні амінокислоти, отримані з витяжок із рослинного матеріалу.

Препарати або витяжки амінокислот з рослинної сировини використовуються як компоненти:

- лікарських препаратів для людини та тварин;
- біологічно активних добавок до раціону харчування для людини та тварин;

– стандартних зразків при біохімічному визначенні вмісту амінослот у рослинному матеріалі;

– засобів захисту рослин та добрив, що використовуються в процесі агровиробництва рослин (рис. 2.33).

Протеїногенні амінокислотирослин умовноподіляються за їхнім значенням у життєдіяльності організму споживачів (тварин і людини) рослинної продукції на незамінні та замінні: перші синтезуються лише у рослинах та повинні надходити в організм людини та тваринразом із їжею рослинного походження, а другі – утворюються в організмі тварин та людини, але як складові рослинного матеріалу поповнюють амінокислот, вони позначаються на латині за абrevіатурами з трьох перших літер (табл. 2.6).

Таблиця 2.6 – Незамінні та замінні амінокислоти рослин

<i>Незамінні</i>	<i>Замінні</i>
Фенілаланін <i>Phe</i>	Тирозин <i>Tyr</i>
Триптофан <i>Trp</i>	Аланін <i>Ala</i>
Валін <i>Val</i>	Пролін <i>Pro</i>
Лейцин <i>Leu</i>	Гліцин <i>Gly</i>
Треонін <i>Thr</i>	Серин <i>Ser</i>
Лізін <i>Lys</i>	Аспарагін <i>Asn</i>
Аргінін <i>Arg</i>	Глутамін <i>Gln</i>
Ізолейцин <i>Ile</i>	Аспартат <i>Asp</i>
Гістидин <i>His</i>	Глутамат <i>Glu</i>
Метіонін <i>Met</i>	Цистеїн <i>Cys</i>
Селенометіонін <i>SeMet</i>	
Селенометіонін <i>SeMet</i>	

Збалансованість протеїногенних амінокислот у рослинах прийнято вважати показником повноцінності раціонів для різних вікових груп споживачів, критерії якого, розробляються організацією FAO (*Food Association Organization*) з урахуванням показників життєдіяльності та здоров'язбереження останніх.

Джерелом протеїногенних амінокислот у рослинах є похідні вуглеводів: пірвиноградна кислота – *Ala, Val, Leu, Ile*; фосфоенолпіруват та еритрозо-4-фосфат – *Phe, Trp, Tyr*; 3-фосфогліцерат – *Ser, Gly, Cys*, а також органічні кислоти циклу Кребса: оксалоацетат – *Asp, Asn, Met, Thr, Lys*; α -кетоглутарат – *Glu, Gln, Pro, Arg*; рибозо-5-фосфат – *His*. Амінокислоти, в свою чергу, є попередниками N-вмісних сполук – алкалоїдів, терпенів й глікозидів рослин.

Амінокислоти у рослинах вступають в такі основні хімічні реакції:

1) реакція окисного дезамінування – це відщеплення NH_2 від амінокислот за наявності NAD^+ і H_2O з утворенням органічних кислот, наприклад, α -кетоглутарату (рис.2.33).

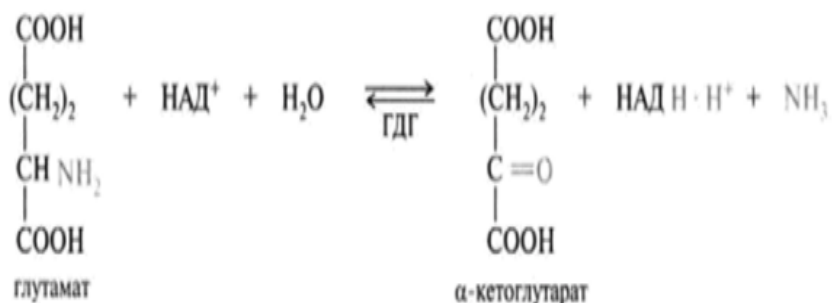


Рис. 2.33. Реакція окисного дезамінування глутамату

Ця реакція є зворотною – при приєднанні NH_3 до органічної кислоти α -кетоглутарату утворюється амінокислота глутамат, що відбувається в реакції відновного амінування.

Органічні кислоти – це сполуки, що містять одну, дві або три карбоксильні групи COOH , та утворюються, крім реакції окисного дезамінування амінокислот, також в листі рослин в процесі фотосинтезу та беруть участь у багатьох біохімічних процесах, зокрема, у процесі дихання рослин – циклі Кребса, який є зв'язуючою ланкою між перетворенням вуглеводів, ліпідів, протеїнів

Органічні кислоти поділяються на аліфатичні, жирні та ароматичні. Наведемо назви аліфатичних органічних кислот (жирні кислоти розглянуто у матеріалі посібника), а, оскільки, у навчальній літературі можна зустріти їх англійські назви, то наведемо їх у дужках:

–леткі – однокарбонові – мурашина (форміат), оцтова (ацетат), пропіонова (пропіонат), масляна (бутират), ізовалеріанова (ізовалеріат);

–нелеткі – однокарбонові – гліоксилова (гліоксилат), гліколева (гліколат); дикарбонові – щавелева (оксалат), яблучна (малат), фумарова (фумарат), янтарна (сукцинат), винна (тарtrat); трикарбонові – аконітова (аконітат), лимонна (цитрат), ізолимонна (ізоцитрат), щавелевоянтарна (оксалосукцинат) та ін.

З ароматичних амінокислот за одночасного перебігу реакцій декарбоксилювання і дезамінування можуть утворюватися фенол або індол (рис.2.34).

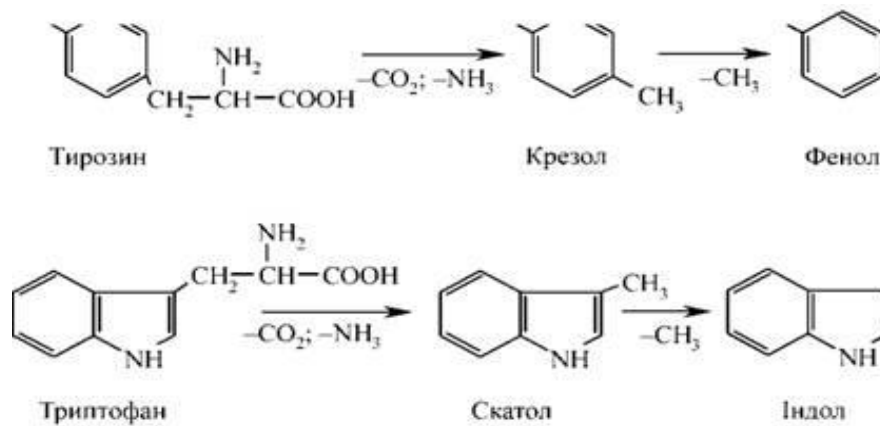


Рис. 2.34. Фенол або індол як похідні амінокислот (російською мовою)

2) *трансамінування*, або переамінування – це реакції переміщення -NH₂-групи амінокислот на органічні кислоти, що відбуваються за участю ензимів трансаміназ – ензимів, що беруть участь в азотному обміні рослин та каналізують реакції перенесення -NH₂ –групи між аміно- та кетокислотами. На рис. 2.35 наведено приклад субстратів та продуктів ензиматичної реакції за дії ензиму аланінамінотрансферази.



Рис. 35. Реакція транс амінування амінокислот рослин за дії аланінамінотрансферази

До трансаміназ, крім, аланінамінотрансферази, належать аспаратамінотрансфераза і тирозинамінотрансфераза, прояв активності яких потребує наявності кофактору – пірідоксальфосфату (ПРФ).

Відмінною особливістю реакцій окисного дезамінування та трансамінування є те, що у першому випадку реакція відбувається за участі коензиму NAD⁺, а у другому – ензиматично

3) реакції *відновлення*: у першому випадку – це приєднання Н⁺ до амінокислот з утворенням карбонових кислот із виділенням NH₃(рис. 2.36).

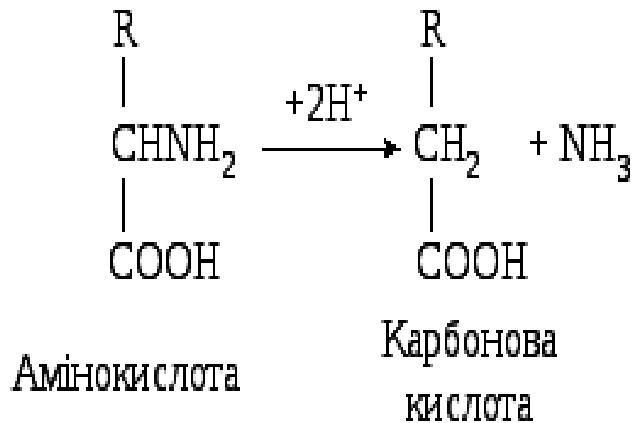


Рис.2.36. Реакція гідрогенування амінокислот у рослинах

Зворотньою до відновлення амінокислот є реакція їх *окиснення*.

4) реакція *сульфування* – це реакції приєднання H_2S до амінокислот, що не містять S, з утворенням сульфуровмісних амінокислот – Met, Cys та Cis. Утворюється H_2S внаслідок відновлення Сульфуру:



5) реакція *декарбоксілювання* – відщеплення групи $-\text{CO}_2$ від COOH амінокислот за дії ензиму карбоксилази з утворенням **амінів** (рис. 2.37).

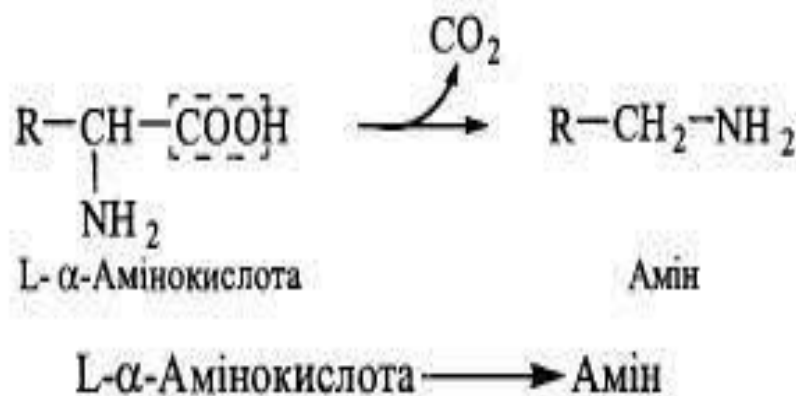


Рис. 2.37. Реакція декарбоксілювання амінокислот

Аміни рослин є діючою основою рецептури лікарських засобів, вони також утворюються внаслідок мікробного гниття протеїнів і часто мають різкий запах.

Аміни – це продукти заміщення H^+ в молекулі NH_3 аліфатичними або ароматичними функціональними групами

Наведемо деякі амінокислоти та їхні аміни (табл.2.7).

Таблиця 2.7 – Амінокислоти та аміни рослин

Амінокислота	Амін
Гліцин	Метиламін
Серин	Етаноламін
Лізін	Кадаверин
Фенілаланін	Фенілетиламін
Тирозин	Тирамін
Триптофан	Триптамін
Гістидин	Гістамін
Лейцин	Ізопентиламін
Валін	Ізобутиламін
Аргінін	Агматин

Так, наприклад, з гліцину ($\text{CH}_3\text{NH}_2\text{COOH}$) при декарбоксілюванні утворюється амін метиламін із хімічним складом $\text{CH}_3\text{NH}_2 + \text{H}^+$, а при відщепленні CO_2 від серину ($\text{HOCH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$) – амін із хімічним складом $\text{HOCH}_2\text{CHNH}_2 + \text{H}^+$ і т.д.

Існують аміни первинні, вторинні, третинні та четвертинні, схематична будова яких наведена на рис. 2.38.

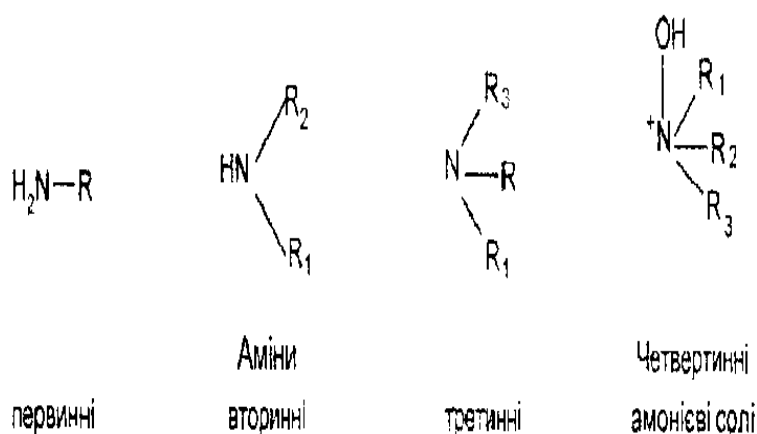


Рис. 2.38. Будова первинних, вторинних, третинних та четвертинних амінів рослин

Виявлено, що аміни, у свою чергу, вступають в реакцію *метилування* – приєднання CH_3- з утворенням *бетаїнів*.

Джерелом метильних (CH_3) груп є амінокислота метіонін

Бетаїни у рослинах утворюються за схемою: амінокислота → декарбоксілювання → аміни → метилування → бетаїни (рис. 2.39).

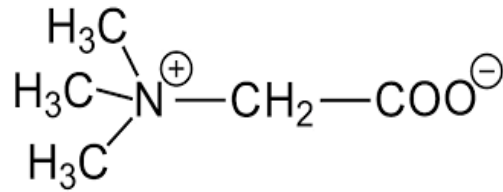


Рис. 2.39. Бетаїни рослин

У рослинах виявлено бетаїн гліцину – гліцидрин, проліну – стахідрин, триптофану – гіпоформін, валіну – кадавердин.

б) реакція *заміщення* –ОН-групи амінокислоти на –NH₂-групу з утворенням *амідів*. На рис. 2.40 наведена реакція заміщення спиртового радикалу глутамінової кислоти з утворенням амиду, який містить дві –NH₂-групи.

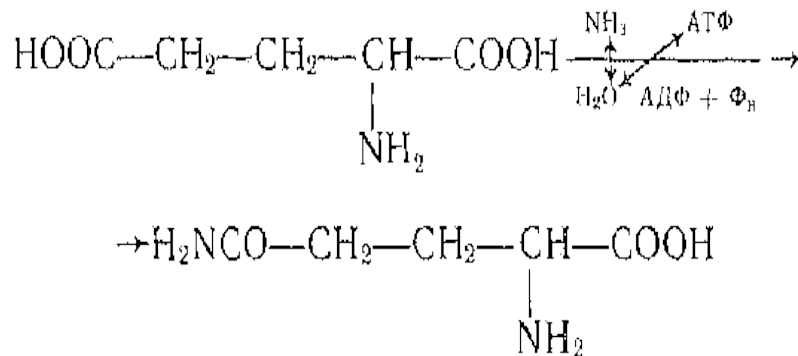


Рис. 2.40. Приклад реакції заміщення глутамінової кислоти

Як видно з рис. 2.40, вказана реакція відбувається за участі приєднання NH₃ до глутамінової кислоти за наявності АТФ та ⁺.

7) реакція *конденсації* – це реакції поєднання амінокислот з одночасним виділенням молекули води з утворенням *пептидів* (рис.2.41).

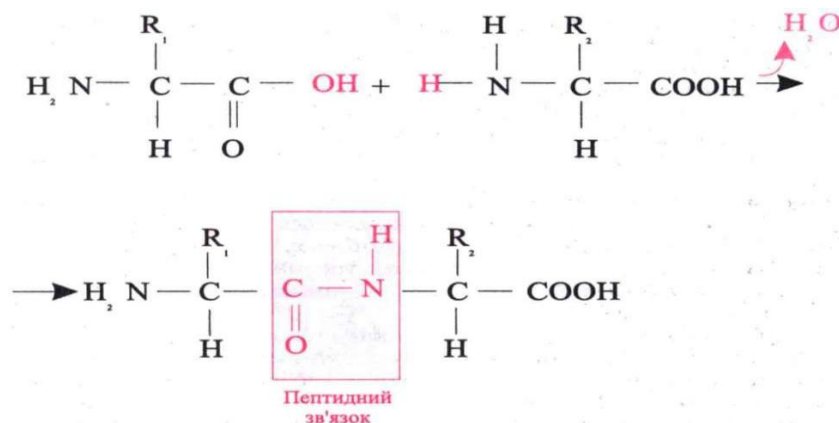


Рис. 2.41. Реакція конденсації амінокислот на прикладі утворення дипептиду

Наявність пептидного зв'язку визначають за реакцією із біуретовим реактивом, до складу якого входять купрума сульфат, їдкий натр, гліцерин,

дистильована вода, – суть біуретової реакції полягає у взаємодії пептидної групи (CO-NH) із розчином, що містить іони Cu^{2+} з утворенням розчину синього кольору, що містить іони Cu^+ . Вміст амінокислот у рослинах визначають на амінокислотному аналізаторі після розділення на хроматографічній колонці.

Амінокислоти беруть участь у багатьох хімічних процесах у рослинах, зокрема, у реалізації генетичної інформації – між клітинами у кожній рослині, а також між сортами, лініями та гібридами рослин: кожна амінокислота кодується триплетом нуклеотидів ДНК, а реалізація спадкової інформації відбувається тільки в одному напрямі ДНК→РНК→протеїн, про що йдеться у наступному розділі. Амінокислотна послідовність визначає функціональну активність протеїнів у рослинах.

Пептиди рослин – це послідовності протеїногенних амінокислот: поєднання двох амінокислот за участю пептидного зв'язку (CO-NH) має назву дипептиду (рис.2.42), трьох – трипептиду, чотирьох – тетрапептиду, п'яти – пентапептиду і т.д., двадцяти – протеїну (інша назва – "білок").

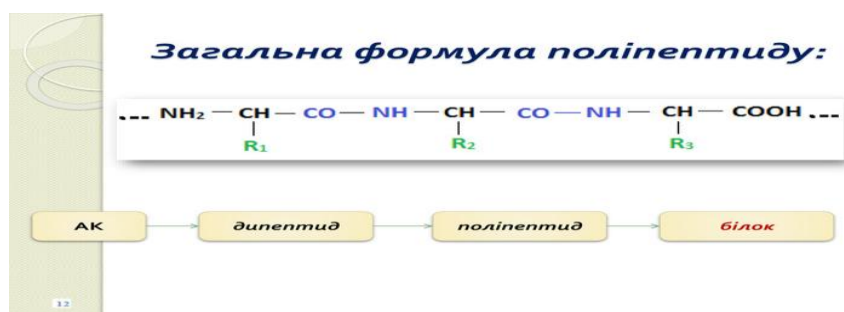


Рис. 2.42. Пептидний зв'язок між амінокислотами у складі пептидів рослин

До пептидів належать три пептид *глутатіон* (глутаміл-цистеїн-гліцин) та *фітохелатини* (глутаміл-цистеїніли), обидві сполуки містять S-вмісну амінокислоту Cys.

Трипептид *глутатіон* утворюється в процесі поєднання трьох амінокислот (рис. 2.43): глутамінової, цистеїна й гліцина за дії ензиму глутатіонсинтетази за участі АТФ та іонів Mg^{2+} за наступною схемою:
 1) глутамат + цистеїн + АТФ \leftrightarrow глутамілцистеїн + АДФ + H_3PO_4 ;
 2) глутамілцистеїн + гліцин + АТФ \leftrightarrow глутатіоніон + АДФ + H_3PO_4 .

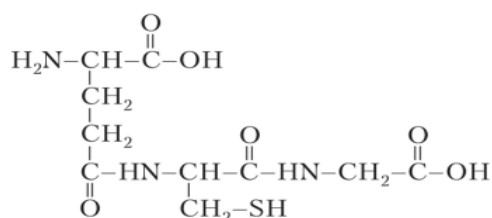


Рис. 2.43. Трипептидглутатіон

Глутатіон впливає на активність ензимів, зокрема, глутатіонтрансферази (GT), глутатіонпероксидази (GP) і глутатіонредуктази (GR). Глутатіон у формі SH є відновленим (GSH), а у формі S-S – окисненим (GSS), тому цей пептид має антиоксидатну дію у рослинах.

Фітохелатини є класом металотіонеїнів, попередників яких – глутатіон. Фітохелатини містять до десяти залишків *Gln* та *Cys*, утворюються у цитоплазмі клітини рослин за дії ензимів фітохелатинсинтетаз. З'ясовано, що фітохелатини з'являють важкі метали, які потрапляють у клітини рослин із ґрунту. Сульфур бере участь в окисно-відновних процесах, зокрема, у реакції $2SH - 2H^+ \leftrightarrow S-S + 2H^+$, тому пептиди, що його містять, мають антиоксидантні властивості.

Сполуки, що містять S, мають назву тіоли, а їх обмін має назву тіольний

Відомо, що на вміст S у рослинах впливають мінеральні сполуки: антагоністом S є Cd, а синергістом – Se. Кадмій є важким металом, який не входить до складу біомолекул рослин, а у разі потрапляння до рослин з ґрунту через корені спричиняє фітотоксичний ефект внаслідок гіперсинтезу активних форм Оксигену. Доведено, йони Cd збільшують вміст *фітохелатинів* та *глутатіону* у рослинах, наслідком чого є утворення фітохелатного комплексу S-Cd із знешкодженням токсичного елемента за дії вакуолярних ензимів. Селен, навпаки, є есенціальним, тобто входить до складу селеноамінокислот рослин – *SeMet* та *SeCys*, які містять S, при поєднанні восьми залишків яких утворюються відповідні *селеновмісні пептиди* – селенометилселеноцистеїн і селенометилселенометіонін. Виявлена роль Se як індуктора утворення SH-груп за умов поверхневої обробки рослин мікроелементом.

До дипептидів належать вітаміни, наприклад, *пантотенова кислота*, або вітамін B₃, ця сполука утворюється при поєднанні аланіну та пантоїнової кислоти (рис. 2.44) за схемою: 1) пантоїнова кислота + ензим + АТР ↔ ензимпантоїл-АМР + пірофосфат; 2) ензимпантоїл-АМР + аланін ↔ пантотенова кислота + АМР + ензим, та є компонентом коензиму А та ацетил-переносного протеїну (АПП).

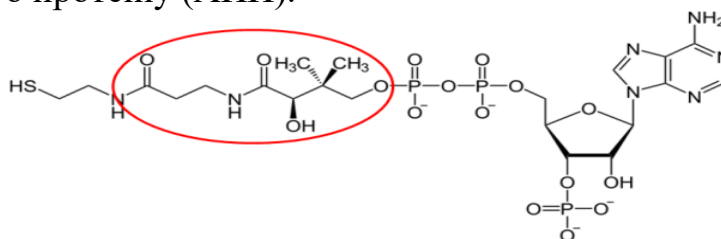


Рис. 2.44. Пантотенова кислота у складі коензиму А

Системін є поліпептидом фітогормональної дії, який складається з 18 амінокислот та утворюється у відповідь на механічне пошкодження тканин рослин патогенами або комахами, викликає репараційні механізми завдяки сигнальній трансдукції Ca^{2+} -кальмодулінового сигналу та експресії генів жасмонової кислоти.

Також до протеїнів належать *граміцидин* та *ліхеніформін*, які мають антибіотичну активність, тобто пригнічують процеси синтезу протеїнів у клітинах фітопатогенів, завдяки чому підвищують імунітет рослин, *гістони*, які містяться у хромосомах ядер, мітохондріях та рибосомах клітини рослин, відіграють роль в утворенні структури хроматину, *фітолектини*, що взаємодіють як із вільними моно- і олігосахаридами клітини, так із мембранними полісахаридами й ліпідами, а також велика група сполук під назвою *металотіонеїни* тощо.

Послідовності амінокислот у пептидах рослин визначають за допомогою автоматизованих методів, зокрема, за методом деградації Пера Едмана, що заснований на видаленні з фенілзотіоціату амінокінцевого залишку пептиду, не зачіпаючи решти пептидних зв'язків молекули – метод *секвестрування* рослинних поліпептидів.

Функціональна активність протеїнів залежить від комбінацій та послідовностей протеїногенних амінокислот у пептидах, поєднаних пептидними зв'язками CO-NH, що є основою їх *первинної* структури, організація якої за умов розташування амінокислот у дві форми – α -спіраль й β -структура – є основою *вторинної* структури поліпептидної молекули (табл. 2.8).

Таблиця 2.8 –Здатність амінокислот утворювати вторинну структуру поліпептидної молекули

<i>α-спіраль</i>	<i>β-структура</i>	<i>Здатність амінокислот до утворення вторинної структури</i>
<i>Gly, Ala, Leu</i>	<i>Val, Ile, Met</i>	Активно утворюють
<i>Gly, His, Phe, Glu</i>	<i>Trp, Tyr, Gly, Leu, Cys, Ala</i>	Слабо утворюють
<i>Pro, Tyr, Asn</i>	<i>Lys, Gly, His, Ser, Asn</i>	Протидіють утворенню структури

Вміст амінокислот у клітині у формі α -спіралі становить від 5 до 80 %, а у формі β -структури – до 40 %. При поєднанні розташованих на відстані амінокислот, утворюється *третинна* структура протеїнів, а поєднання декількох поліпептидних ланцюгів за рахунок водневих, іонних, гідрофобних і електростатичних зв'язків утворює *четвертинну* структур протеїну (рис. 2.45).

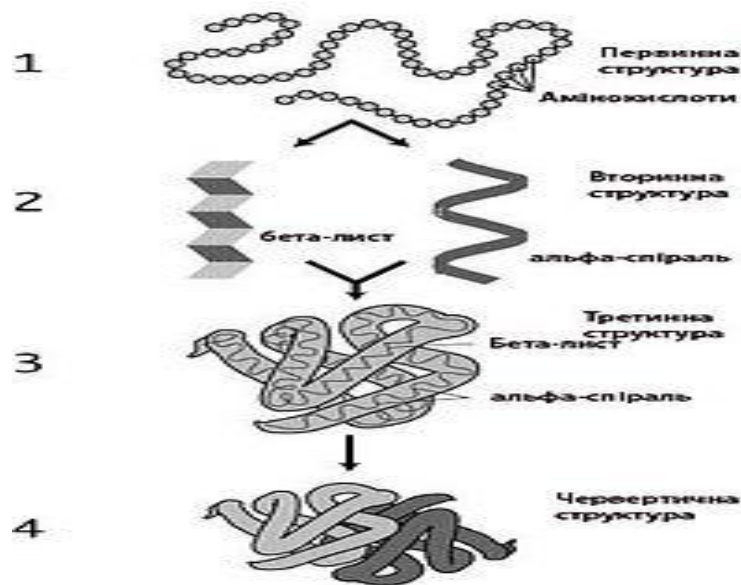


Рис.2.45. Рівні молекулярної структури протеїнів рослин

Кожен поліпептидний ланцюг, що бере участь в синтезі четвертинної структури протеїнів, складається з компонентів – *субодиниць*.

За хімічними властивостями протеїни поділяють на:

- *протеїни* (прості) – складаються лише з амінокислотних залишків – альбуміни, глобуліни, проламіни та глютеліни;
- *протеїди* (складні) – складаються з амінокислотних залишків + сполук непротеїнового походження (табл. 2.9).

Таблиця 2.9 – Класи складних протеїнів рослин та їх простетичні групи

<i>Клас складних протеїнів</i>	<i>Непротеїнова компонента</i>
Ліпопротеїди	Ліпіди мембранні
Глікопротеїди	Вуглеводи
Флавопротеїди	Нуклеотиди флавінові
Піридинопротеїди	Нуклеотиди піридинові
Хромопротеїди	Ліпідоподібні сполуки (пігменти фотосинтетичні)
Нуклеопротеїди	Нуклеотиди
Металопротеїди	Макро- або мікроелементи

Деякі прості протеїни виконують *каталітичну роль* – є ензимами – високоспецифічними протеїнами, здатними прискорювати, або каталізувати, хімічні реакції у клітинах рослин, їх активність залежить від наявності додаткових простетичних груп (див. «Ензими рослин»).

Протетичними групами у складних протеїнах (протеїдах) називають інші, крім протеїнових, молекули, а в ензимах – додаткові хімічні сполуки, завдяки яким відбувається прояв їх активності

Протеїди виконують **структурну** функцію, є хімічними компонентами біомембран, які локалізовані на поверхні (інтегральні) та «пронизують» подвійний шар біомембрани (рис. 2.46).

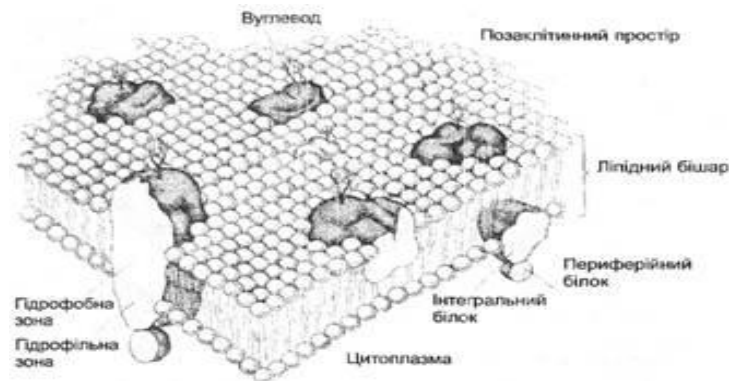


Рис. 2.46. Протеїни, як хімічні компоненти біомембран клітини («білок» – протеїд)

Протеїди складають подвійну біомембрану рослин, яка вкриває як саму клітину рослин, так й окремі її внутрішньоклітинні органели. Інтегральні протеїни міцно поєднані з молекулами фосфоліпідів й гліколіпідів, а периферійні протеїни беруть участь в окисно-відновних реакціях, процесах перетворення енергії й транспортних процесах, у процесах сигналізування у біомембранах тощо. Останнє також відокремлює наступну функцію протеїдів рослин – **сигнальну**.

Сигнальна функція протеїдів полягає в сприйманні та передаванні сигналів щодо вмісту хімічних сполук – органічних та мінеральних, як усередині, так і ззовні клітини рослин (рис. 2.47).

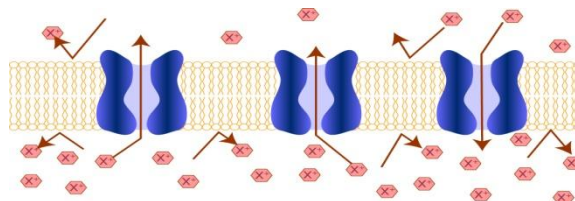


Рис. 2.47. Транспорт хімічних сполук за участі протеїдів у біомембранах клітин рослин

Сигнальна функція протеїдів полягає в оцінці вмісту хімічних сполук з обох сторін клітини рослин. Зокрема, зміна концентрації мінеральних сполук з обох сторін біомембран клітин рослин, наприклад, іонів Ca^{2+} ,

регулюють Ca^{2+} -чутливі протеїн *кальмодулін*, при зниженні концентрації Ca^{2+} у клітині рослин відбувається декальцінування вказаної сполуки. У Ca^{2+} -сигнальному механізмі задіяні Ca^{2+} -залежні ензими – Ca^{2+} -залежні протеїнові кінази (*CDPK–Calcium-Dependent-Protein-Kinases*) та Ca^{2+} -зв'язуючий протеїн (*CBLP–CalcineurinD-Like*). Також важливе значення мають світлові рецепторні протеїни – *фототропіни* й *фітохроми*.

*Сигнальну функцію, крім протеїдів, також виконують **фітогормони** – хімічні сполуки, які розташовані на зовнішній поверхні біомембран клітин рослин, а також у тканинах*

Крім того, від вмісту Ca^{2+} залежать регуляція генів фототропінів – рецепторних протеїнів, що реагують на синє світло із максимумом хвилі 450 нм, а фітохроми – на червоне із максимумом хвилі 660 нм та далекого червоного із максимумом хвилі 730 нм.

Нуклеїнові кислоти рослинної сировини. У рослинах існують два типи нуклеїнових кислот – дезоксирибонуклеїнова (ДНК) та рибонуклеїнова (РНК), структурними компонентами яких є *нуклеотиди*.

Молекула *нуклеотидів* складається з наступних хімічних сполук:

- 1) азотистих основ – гетероциклічних сполук, які поділяються на:
 - пуринові нуклеотиди – містять пурин;
 - піримідинові нуклеотиди – містять піримідин (рис. 2.49).

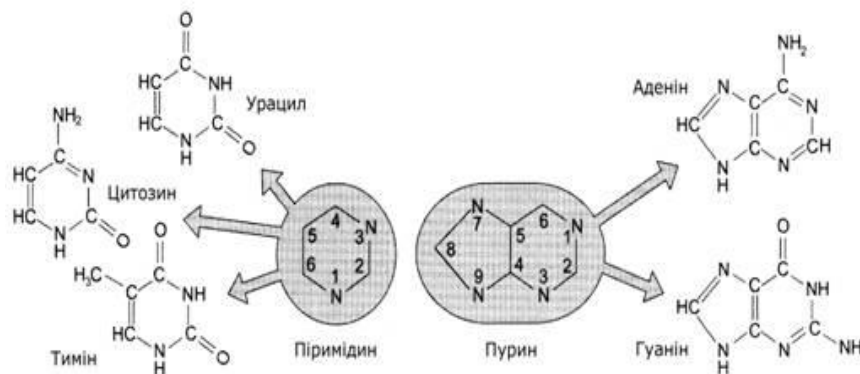


Рис. 2.49. Азотисті основи у складі нуклеотидів

До складу ДНК входять азотисті основи *Аденін* (А), *Тимін* (Т), *Цитозин* (С) і *Гуанін* (G), а тРНК (саме цей тип РНК) – *Аденін* (А) – *Урацил* (U), а також *Цитозин* (С) і *Гуанін* (G). Молекула ДНК складається з двох полінуклеотидних ланцюгів в яких два нуклеотиди поєднані між собою подвійним – А=Т, два інших –С≡G потрійним зв'язком, а молекула РНК – з *одного* полінуклеотидного ланцюга в якому нуклеотиди поєднані наступним чином: А= U, С= G.

Правило поєднання між собою азотистих основ у різних нуклеотидах має назву **компліментарності**, або **відповідності**

Правило комплементарності у 1954 р. визначили Джеймс Д. Вотсон і Френсіс Крік. Саме таке специфічне спаровування азотистих основ забезпечує дуплікацію (подвоєння) генетичної інформації.

Склад азотистих основ не змінюється протягом вегетації рослин, а сумарна кількість пуринів дорівнює сумарній кількості піримідинів.

2) пентоз моносахаридів, в яких рибоза у С₂-положенні містить гідроксильну групу (–ОН), яка у дезоксирибози відсутня, що відображається у назві «дез» – немає, «окси» – О (рис. 2.50).

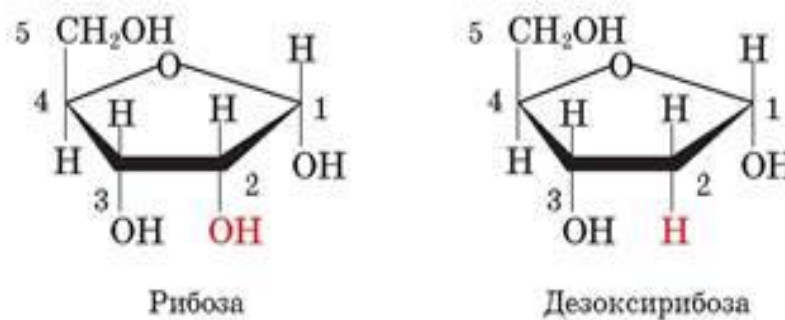


Рис. 2.50. Пентози у складі нуклеотидів рослин

3) фосфату – залишку ортофосфорної кислоти (H₃PO₄). Фосфати поєднуються між собою у пентози (у С₅-положенні) за допомогою ковалентних зв'язків – *фосфодієфірних*, а азотисті основи є бічними групами: молекула ДНК складається з антипаралельних полінуклеотидних ланцюгів, а РНК – з одного (рис. 2.51).

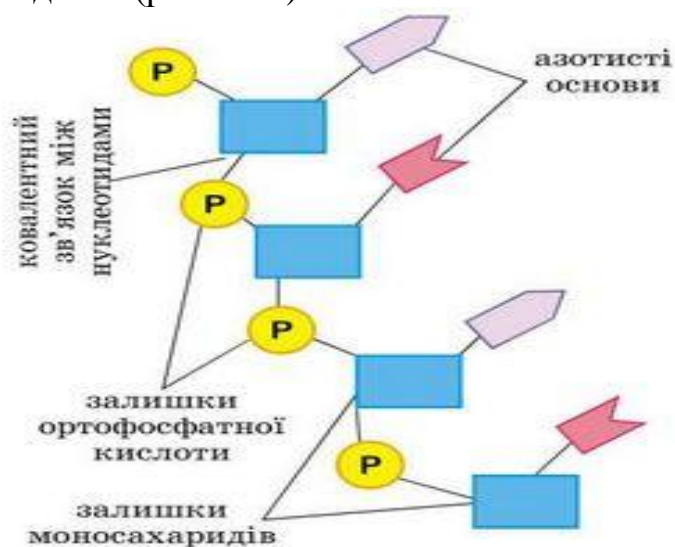


Рис.2.51. Загальна схема складу нуклеотидів

Отже, компонентами *нуклеотидів* є: нітрогеномісні основи (пурин або піримідин), вуглевод пентоза або дезоксипентоза, а також фосфатна група.

Нуклеотиди, у складі яких пентози поєднуються між собою у С₅-положенні, – є структурними компонентами нуклеїнових кислот у рослинах

Крім того, нуклеотиди, фосфатні групи (одна, дві або три) яких приєднані не лише в С₅-положенні, – мають назву *нуклеозидфосфати* (табл. 2.10).

Таблиця – Склад та назва нуклеозидфосфату

<i>Азотисна основа</i>	<i>Кількість фосфатних груп</i>	<i>Повна назва нуклеозидфосфату</i>
A	3	Аденозинтрифосфат (АТФ)
A	2	Аденозиндифосфат (АДФ)
A	1	Аденозинмонофосфат (АМФ)
G	3	Гуанозинтрифосфат (ГТФ)
G	2	Гуанозиндифосфат (ГДФ)
G	1	Гуанозинмонофосфат (ГМФ)
C	3	Цитизиндифосфат (СТФ)
C	2	Цитизиндифосфат (СДФ)
C	1	Цитизинмонофосфат (СМФ)
T	3	Тимідинатрифосфат (ТТФ)
T	2	Тимідиндифосфат (ТДФ)
T	1	Тимідинмонофосфат (ТМФ)

Зазначені нуклеозидфосфати мають назву, відповідно, аденілових, гуанідилових, цитидилових та тимідилових. Енергія, що міститься у зв'язках фосфатних груп наведених нуклеотидів, використовується як в процесі здійснення біохімічних процесів у напрямку нуклеотидтрифосфати → нуклеотиддифосфати → нуклеотидмонофосфати, так й у протилежному напрямку.

Нуклеотиди є не лише структурними компонентами нуклеїнових кислот, а й виконують інші функції, а саме: є *макроергічними сполуками*, або макроергами, – сполуками, збагаченими енергією, *сигнальними сполуками*, або хімічними посередниками, а також *переносниками електронів і Н⁺*, що також є кофакторами ензимів (табл. 2.11).

Таблиця 2.11 – Хімічний склад та біохімічна роль нуклеотидів рослин

<i>Назва коензиму</i>	<i>Хімічний склад</i>	<i>Біохімічна роль</i>
1	2	3
<i>Макроергічні сполуки</i>		
Коензим А (CoA-SH)	Азотиста основа – аденін, рибозо-3-фосфат (фосфорильне похідне рибози), сульфуровмісні β-меркаптоетиламін, ацетил-CoA. похідне вітаміну B ₂ (пантотенової кислоти)	Перенесення ацильних груп, компонент ензимів синтез: ацетил-CoA-АПП-трансацетилази, β-кетואцил-АПП-синтази, малонін-CoA-АПП-трансферази, β-гідроксиацил-АПП-дегідратази, еноіл-АПП-редуктази та ін.

Продовження таблиці 2.11

1	2	3
Коензим B ₁₂	Нуклеозид – дезоксиаденозин, коринове кільце (містить Co ³⁺), аміноізопропанол, одну фосфорильну групу. Сполхідним вітаміну B ₁₂ (ціанокобаламіну)	Кофактор ензиму метилмалоніл-CoA-мутази, каталізує реакцію обміну Гідрогену, бере участь в перетворенні рибонуклеотидів до дезоксирибонуклеотидів
S-аденозилметіонін	Нуклеозид – аденозин, метіонін (містить S)	перенесення метильної групи при катаболізмі амінокислот
<i>Сигнальні сполуки</i>		
Аденозин-3,5-циклічний монофосфат (циклічний AMP, або cAMP)	Азотиста основа – аденін, рибоза, одна фосфорильна група	Виконують регуляторні функції, ініціюють адаптаційні зміни у відповідь на дію позаклітинного чинника
Гуанозин-3,5-циклічний монофосфат (циклічний GMP, або cGMP)	Азотиста основа – гуанін, рибоза, одна фосфорильна група	
<i>Переносники, або кофактори ензимів</i>		
Нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат окиснений (NADP ⁺) та відновлений (NADPH)	Азотиста основа – аденін, два залишки рибози, три фосфорильні групи, похідне (амід) вітаміну B ₅	Беруть участь в ензиматичному каталізі ензимів – дегідрогеназ, перенесенні електронів у мітохондріях та хлоропластах

	(нікотинової кислоти)	
Нікотинамідаденіндинуклеотид окиснений(NAD ⁺) та відновлений (NADH)	Азотиста основа – аденін, два залишки рибози, дві фосфорильні групи, похідне (амід) вітаміну B ₅ (нікотинової кислоти)	
Флавінаденіндинуклеотид (FAD)	Азотиста основа – аденін, дві фосфорильні групи, вітамін рибофлавін	
Флавінаденінмононуклеотид (FMN)	Азотиста основа – аденін, однофосфорильна група, вітамін рибофлавін	

До нуклеотидів, які не є компонентами ДНК і РНК, належать нуклеотиди, що зустрічаються у клітині рослин у вільному стані як продукти розщеплення нуклеїнових кислот.

Дезоксирибонуклеїнові кислоти містяться у хромосомах ядра клітини рослин та мають вигляд подвійної спіralи (рис.2.52).

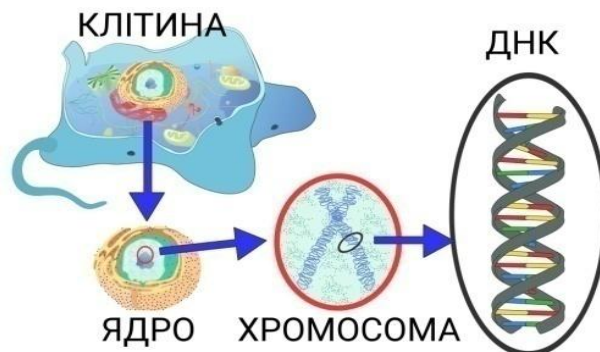


Рис.2.52. Локалізація ДНК та генів полінуклеотидних ланцюгах у ядрі клітини рослин

Ядро клітини рослин – сховище генетичної інформації, яка міститься у хроматині, а ділянки ДНК містять гени. Зауважимо, що ДНК, крім ядра, також міститься у мітохондріях та хлоропластах рослинної клітини (мітохондріальні та хлоропластні ДНК, відповідно) тому рослини мають також гени цих органел.

Хромосоми ядерної ДНК рослин виявляються за допомогою світлового мікроскопа після обробки клітини спеціальними барвниками, причому, хроматин може знаходитись у двох формах – еухроматин

(дифузна форма, яка слабо забарвлюється) та гетерохроматин (компактна форма, яка інтенсивно забарвлюється).

Під час клітинних циклів – мітозу та мейозу – відбуваються зміни хромосом, які під час профазі є більш чітко вираженими (рис. 2.53), на цій фазі можна зупинити процес поділу клітин рослин за умов обробки тканин рослин, що ростуть, відповідними речовинами, наприклад, алкалоїдом колхіцином, який впливає на ядро.

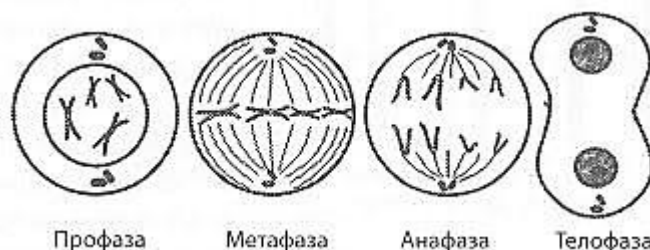


Рис. 2.53. Вигляд хромосом упродовж клітинних циклів рослин

У хромосомах ДНК ядра рослин розташовані гени та міжгенні ділянки.

Гени – це ділянки ДНК, в яких міститься інформація про первинну послідовність генного продукту – поліпептиду та які мають структурні і каталітичні функції

Міжгенні ділянки – це сегменти ДНК, які виконують регуляторну функцію й позначають початок або кінець генів

Також міжгенні ділянки функціонують як точки початку реплікації (подвоєння, або точне копіювання ДНК на РНК), репарації (відновлення помилок у розташуванні послідовностей нуклеотидів у ланцюзі ДНК) чи рекомбінації (змінення лінійного розташування послідовностей нуклеотидів у частині ДНК шляхом розщеплення і повторного з'єднання під час кросинговеру).

Гени мають особливість – їх нуклеотидні послідовності містять проміжні сегменти, які не кодують амінокислотну послідовність у поліпептидах та мають назву *інтрони*, в той час як ті ділянки гену, що передають генетичну інформацію, – *екзони*. Також ДНК містить сегменти чи послідовності, яким крім структурної і каталітичної функції, також властива регуляторна функція.

Розташування кожного гену у ДНК рослин має назву локус

Молекулярне визначення гена запропонували Джордж Білл та Едвард Тейтем ще у 1940 р. У складі хромосом ядра рослин міститься 28000-34000 генів.

Ген рослин – це сукупність генетичної інформації, що міститься у клітині рослин.

Генотип рослин – це сукупність генів організму рослин

Біохімічна ступінь прояву генів рослин має назву їх *експресії*.

Існує наукова гіпотеза: один ген кодує інформацію про один поліпептид, тобто **один ген – один поліпептид**. Видатним відкриттям біохімії є вивчення генетичного коду рослин.

Спосіб, за яким інформація про структуру протеїна записана в структурі нуклеїнових кислот рослин, має назву генетичного коду

Експериментальне підтвердження триплетності – кодування триплетом амінокислот першим виявив М. Ніренберг у 1960-х рр., який провів синтез протеїну у пробірці на синтетичній мРНК із відомою послідовністю (міні-матриця) за наявності всіх протеїногенних амінокислот, виявилось, що триплет УУУ кодує амінокислоту *Phe*, а інші амінокислоти у цьому випадку не синтезуються.

Шляхом підбору різних міні-матриць встановлені кодони для різних амінокислот рослин

Генетична інформація у рослинах захищена від пошкоджень завдяки розташуванню *азотистих основ* – на внутрішній ділянці подвійної спіralі та *фосфатних груп* – на поверхні молекули ДНК рослин (рис. 2.54). Проте, численні пошкодження ДНК виникають як спонтанно, за звичайного перебігу хімічних процесів, так і викликані чинниками різноманітного походження.

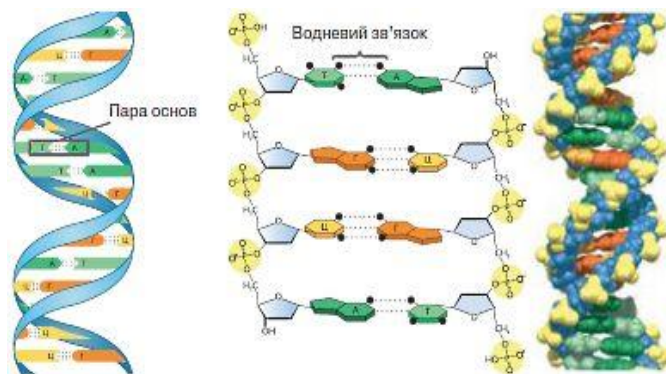


Рис. 2.54. Розташування азотистих основа та фосфатних груп в молекулі ДНК рослин

За сутністю змін у молекулі ДНК, пошкодження цієї молекули поділяються на точкові ушкодження та ушкодження ланцюга ДНК: перші

стосуються одного нуклеотиду та виявляються у включенні некомплементарного нуклеотиду (помилки внаслідок реплікації), втраті азотної основи (депуризація), хімічній модифікації структури азотистих основ (окиснення, відновлення, дезамінування), а другі виявляються у переміщенні нуклеотидної ділянки в результаті обміну між хромосомами ядра.

Депуризація відбувається внаслідок розриву N-глікозидного зв'язку між пурином та дезоксирибозою, утворена в результаті цього ділянка ДНК має назву АП-сайту, ензим ДНК-інсертaza (від англ. *Insert* – виправляти) виправляє цю помилку, каталізуючи реакцію утворення глікозиду дезоксирибози із потрібними основами. Дезамінування основ у складі ДНК призводить до перетворення Ц в У, А в гіпоксантин, а Г у ксантин, в результаті порушується комплементарність ланцюгів ДНК рослин. Дезамінування – це реакція відщеплення – NH₃-групи за участі Н₂О від азотистих основ ДНК з утворенням похідних. Посилене утворення активних форм Оксигену у клітинах рослин також призводить до порушень у ДНК внаслідок впливу О₂ на протеїни і ліпіди, внаслідок чого утворюються відповідні високореакційні сполуки – альдегіди у випадку протеїнів та пероксиди – у випадку ліпідів, що, в свою чергу, призводить до хімічних модифікацій азотних основ нуклеїнової кислоти.

Порушення балансу між процесами пошкодження та відновлення (репарації) ДНК призводить до її змін. Зміни в структурі хромосом ДНК, що призводять до стабільних змін генетичної інформації, – називають *мутаціями*, або *абераціями*, різновиди яких зображено на рис. 2.55.

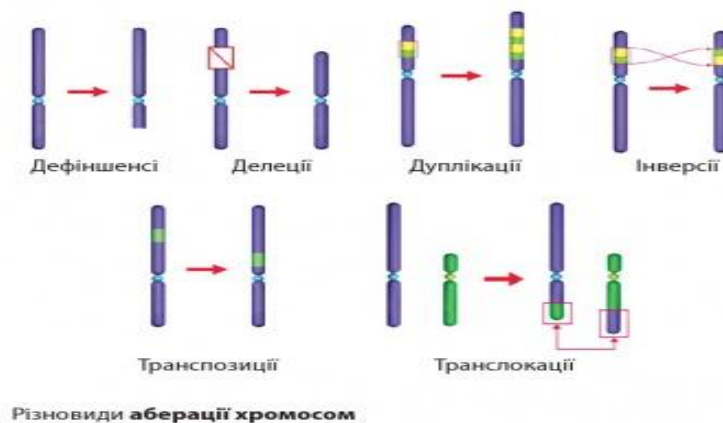


Рис. 2.55. Різновиди аберацій хромосом рослин

Причинами мутацій ДНК рослин можуть бути наступні чинники:

- 1) ультрафіолетове світло з діапазоном довжини хвиль 200-400 нм;
- 2) радіація, яку випромінюють радіоактивні елементи, наприклад, Радій, Плутоній, Радон, Карбон¹⁴ і Гідроген³;
- 3) дія активних хімічних речовин, які потрапляють в агросферу внаслідок господарської діяльності, наприклад, азотиста кислота (HNO₃) або

сполуки, що можуть до неї перетворюватися, а також диметилсульфат, S-аденозилметіонін;

4) окиснювальне ушкодження, що виникає за умов гіперсинтезу АФО в складі пероксид гідрогену, гідроксильних і супероксильних радикалів, що утворюються під час опромінення або як побічні продукти аеробного (за участі O₂) метаболізму тощо.

Мутагенез як процес змін послідовностей нуклеотидів у хромосомах ДНК за дії мутагенів є завданням науки селекція і генетика рослин.

Селекція і генетика рослин – це наука, що вивчає технології створення сортів, лінійта гібридів рослин підґрунтям для чого є знання генетичних основ, що базуються на менделівських принципах, сучасними напрямками якої є біотехнологія і генна інженерія рослин

За допомогою біотехнологічних методів дослідження можна змінювати структуру ДНК в ядрі рослин шляхом введення чужорідних генів. У цьому аспекті проводяться методи клонування ДНК. *Клонування ДНК* – це процес виділення певного гена чи сегмента ДНК з великої хромосоми, приєднання його до малої ДНК-переносника та ампліфікації – збільшення кількості копій сегменту ДНК. Ампліфікують послідовності ДНК за допомогою сучасного методу, розробленого у 1983 р. Карі Муллісом – полімеразної ланцюгової реакції (рис. 2.56).



Рис. 2.56. Схема полімеразної ланцюгової реакції ДНК рослин

Також шляхом експресії клонованих генів отримують велику кількість генів протеїнів рослин. «Бібліотеки» ДНК є «каталогами» генетичної інформації у рослинах, що містить колекцію клонів ДНК рослин.

Генна інженерія як наука займається дослідженням перебудови генотипів рослин, що дозволяє переносити генетичну інформацію з одного генотипу в інший, це дає змогу переборювати міжвидові бар'єри і

передавати окремі спадкові ознаки одних рослин іншим. Сутність генної інженерії полягає у тому, що у генотип рослини можна вбудувати чи виключати з окремих або групи генів. У результаті вбудовування у генотип рослин відсутнього раніше гена можна змусити клітину рослин синтезувати протеїни, які до цього не синтезувалися. Завдяки методам генної інженерії можна досягти високих урожаїв, увівши гени, що забезпечують стійкість до багатьох хвороб рослин.

Генна інженерія принципово відрізняється від класичної селекції, оскільки за допомогою методів класичної селекції не можна схрещувати неспоріднені види рослин, не можна ззовні керувати процесом рекомбінації у клітинах рослин, не можна передбачити, які генетичні особливості будуть притаманні нащадкам. Сучасний арсенал методів генетичної модифікації рослин включає «обстріл» тканин мікрочастинками металів, вкритих розчином ДНК, уведення ДНК у голі клітини (протопласти), електропорацію клітин, мікроін'єкції ДНК у клітини тощо.

У процесі прояву генетичної інформації, записаної в ДНК, приймає участь інша нуклеїнова кислота, а саме – РНК, що міститься в рибосомах.

Рибосоми – складний клітинний комплекс, що містять РНК, в якому відбувається синтез протеїнів та який розташований в рибосомах клітини рослин

Під час експресії генів рибосорма функціонує як посередник, використовуючи генетичну інформацію, що міститься в ДНК для визначення амінокислотної утвореної послідовності протеїнів у рослинах.

Рибонуклеїнові кислоти поділяються на три типи, які містяться у ядрі, цитоплазмі та рибосомах (рис. 2.57).

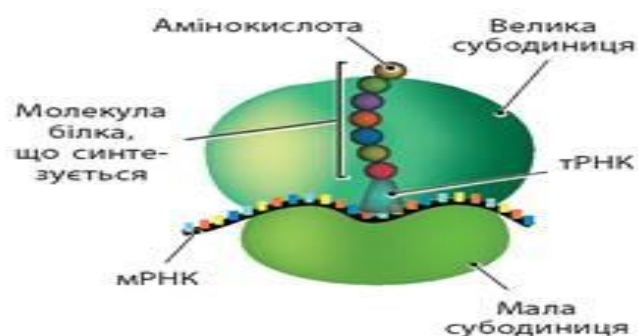


Рис. 2.57. Схема локалізації тРНК та іРНК в субодинацях рибосом у клітині рослин

*Примітка: *рРНК є частиною рибосоми, тому на рисунку не зображена*

У рослинах виділено наступні види РНК:

1) інформаційна або матрична (іРНК, або мРНК) – тип РНК, що кодує послідовність поліпептидів, визначається групою генів, та міститься в ядрі клітини рослин;

2) транспортна (тРНК) – тип РНК, що зчитує інформацію, записану в іРНК, і переносить амінокислоти до поліпептидного ланцюга, та міститься у рибосомах та цитоплазмі клітини рослин;

3) рибосомальна (рРНК) – тип РНК, який є компонентом рибосом та бере участь в процесі синтезу протеїнів рослин.

Напрямок та передачу генетичної інформації у клітинах рослин наведено на рис. 2.58.

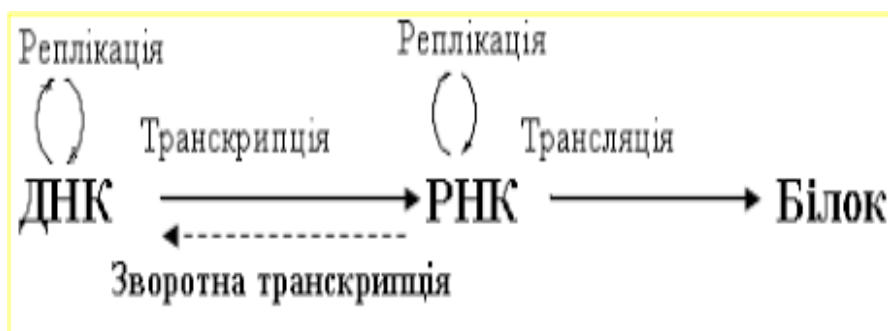


Рис. 2.58. Головні процеси напрямку та передачі генетичної інформації у клітині рослин

Реплікація – копіювання ДНК з утворенням молекул, що мають ідентичну послідовність нуклеотидів, *транскрипція* – точне копіювання частин генетичної інформації, що міститься в ДНК, молекулі РНК, а *трансляція* – копіювання генетичної інформації з мРНК на рибосомі та формування специфічної амінокислотної послідовності.

Отже, біохімічна роль ДНК у рослинах – це зберігання і передавання генетичної інформації на РНК, який використовує закодовану в ДНК генетичну інформацію для утворення протеїнів рослин.

2.3. Біомолекули вторинного генезу як критерії формування продуктивності рослинної сировини

До цих органічних критеріїв формування продуктивності рослинної сировини належить велика кількість хімічних показників, які локалізовані та функціонують у кожній клітині організму рослин, та включають:

- 1) фенольні сполуки, або поліфеноли;
- 2) глікозиди;
- 3) терпени;
- 4) алкалоїди.

Назва цього класу біомолекул – «біомолекули вторинного генезу» пов'язана із тим, що ці хімічні критерії життєдіяльності рослин не мають власних шляхів метаболізму – синтезуються та розщеплюються за перебігу

хімічних процесів, властивих протеїнам, ліпідам, вуглеводам та нуклеотидам.

Фенольні сполуки – це сполуки, що складаються із одного або декількох бензольних кілець, заміщених –ОН-групою, а також іншими функціональними групами (табл. 2.12).

Таблиця 2.12 – Функціональні групи у фенольних сполуках з якими поєднане одне ароматичне кільце та назва групи

Функціональні групи	Група фенольних сполук
<i>Одне бензольне кільце</i>	
– OH	Прості феноли C6
– COOH	Фенольні кислоти C6-C1
– CH ₂ OH	Фенольні спирти C6-C1
– CONH ₂	Фенольні альдегіди C6-C1
– COCH ₃	Ацетофенони C6-C6
– CH ₂ COOH	Фенілоцтові кислоти C6-C6
– CH=CH-COOH	Гідроксикоричні кислоти C6-C3
– CH=CH-CH ₂ OH	Гідроксикоричні спирти
– CH=CH-CONH ₂	Гідроксикоричні альдегіди
<i>Два бензольних кільця та одне гетероциклічне (піранове)</i>	
– OH, – CH ₃ , – OCH ₃	Флавоноїди

Фенольні сполуки поділяються на:

– *прості феноли* – вони найчастіше поєднані з карбоновим ланцюгом або циклом (рис. 2.59) представниками яких є фенол, пірокатехін, резорцин, пірогалол, гідрохінон;

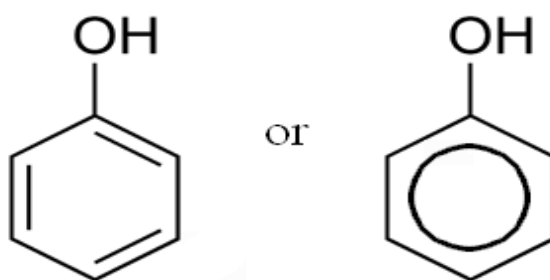


Рис. 2.59. Фенол як основа будови фенольних кислот та фенілпропаноїдів рослин

– *фенольні кислоти та їх похідні* – це сполуки, що містять фенольні – OH і –COOH-групи та поєднані з ароматичним кільцем, наприклад, гідроксибензойна, галова, ванілінова, саліцилова кислоти, вони зустрічаються як у вільній формі, так і у формі глікозидів, їх похідними є фенольні спирти, наприклад, саліциловий, синаповий, ваніліновий, ацетофенольний, а також фенольні альдегіди, наприклад, ванілін, глікокалін;

– *фенілпропаноїди* – сполуки, що містять етиленовий зв'язок (СН=СН) поєднаний із відповідними функціональними групами до них належать гідроксикоричні кислоти (корична, хлорогенова, кофейна, ферулова), гідроксикоричні спирти (гідроксикоричний, кумаровий, синаповий, феруловий) та кумарини, в який бензольні кільця замикаються між карбоксильною і гідроксильною групами, наприклад, кумарин, дикумарин, ескулетин;

– *флавоноїди* – найбільший клас фенольних сполук, основний скелет яких подібний до флавону (рис. 2.60) містить два бензольні ядра (А і В) та одне оксигеновмісне піранове, при цьому два ароматичні кільця поєднані з трьома атомами Карбону (С₆-С₃-С₆).

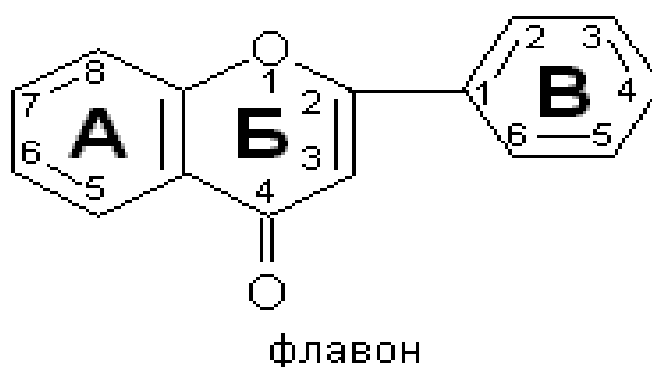


Рис. 2.60. Флафон

Флавоноїди поділяються на: флаволи, флавоноли, ізофлаволи, флавоноли, антоціанідини, катехіни та хінони: флавоноли відрізняються від флавонів лише тим, що подвійний зв'язок у положенні 2,3 замінений на одинарний, як в апігеніну та лутеоліну, ізофлаволи – приєднанням до кільця В не С₂, а С₃ кільця Б, як у даїдзеїну, геністеїну та ороболу, флавоноли – наявність –ОН-групи у положенні 3 кільця Б флавону, як у кемпферолі, кверцетині, рутині, мірицетині й ізорафнетині, а антиціанідини – є відновленими глікозидами антоціаніну (рис. 2.61), які забарвлюють органи рослин у широкий діапазон відтінків – від жовтого до пурпурового, що залежить від замісників: пеларгонідин – R₂-ОН, ціанідин – R₁-ОН, R₂-ОН; дельфінін – R₁-ОН, R₂-ОН, R₃-ОН; пеонідин – R₁-ОСН₃, R₂-ОН; мальвідин – R₁-ОСН₃, R₂-ОН, R₃-ОСН₃.

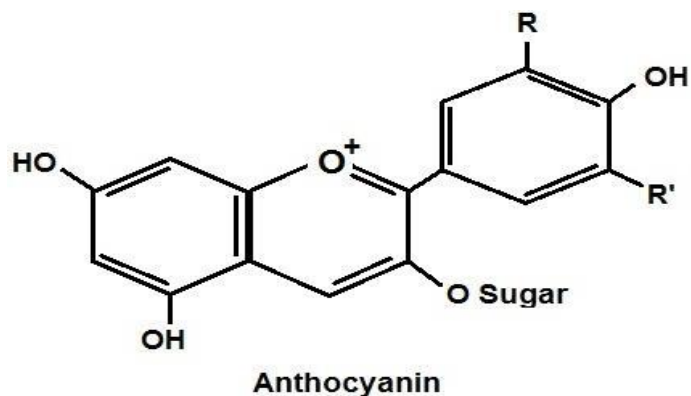


Рис.2.61. Антоціани як похідні антоціанідинів

Усі зазначені фенольні сполуки зустрічаються переважно у нездерев'янілих органах рослин: квітах, листі, плодах, овочах, насінні.

– *полімерні фенольні сполуки*– сполуки, що утворюються в процесі конденсації дубильних речовин – конденсованих танінів, які є полімерами флавоноїдів, гідролізованих танінів – катехінів й антоціанів, а також лігніну – фенілпропаноїдних спиртів (рис. 2.62).

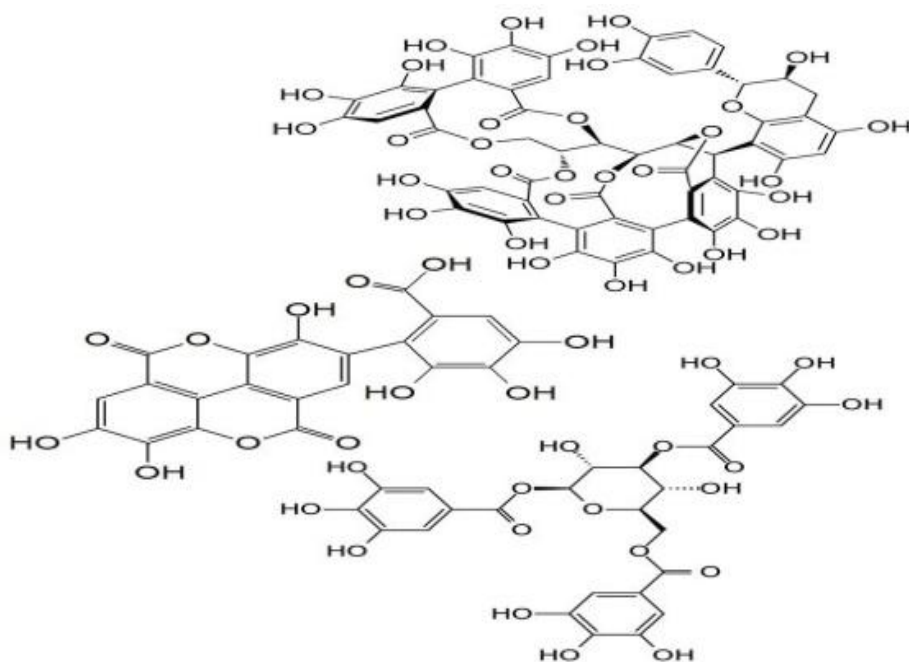


Рис. 2.62. Полімерні фенольні сполуки рослин

Лігнін окиснюється до ароматичних альдегідів, які є компонентами біомембран клітини рослин (рис.2.63), в яких він поєднується з поліцукрами (целюлозою, геміцелюлозою, пектином).



Рис.2.63. Лігнін у складі кори деревних форм рослин

Фенольні сполуки існують у формі глікозидів, тобто поєднуються з іншими біомолекулами – вуглеводами, амінокислотами, органічними кислотами, жирними кислотами, алкалоїдами й терпенами за допомогою *ефірних зв'язків*.

Наявність в молекулах фенольних сполук одного або декількох бензольних кілець визначає таку їх хімічні властивість, як поглинання променів світла в діапазоні 240 – 280 нм, що співпадає із діапазоном визначення протеїнів, тому під час визначення вмісту фенолів здійснюють процедуру відмивання фільтратів рослин від залишків протеїнів.

Хімічні реакції фенольних сполук здійснюються за –ОН-групою та ароматичним кільцем й полягають у наступному:

1) *окиснення* – феноли окиснюються до хінонів із переміщенням подвійних зв'язків в ароматичному кільці (рис.2.64), а також сполук, що мають –ОН-групу, – амінокислоти, органічні кислоти та ін.

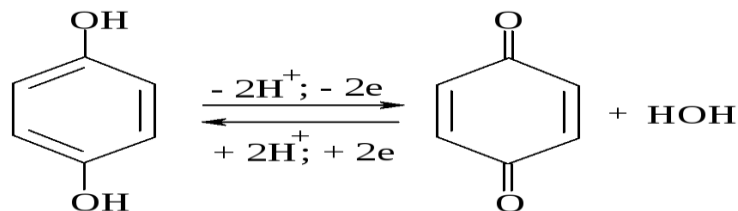


Рис. 2.64. Окиснення фенолу до хінону

2) *вільнорадикальні реакції* – взаємодія фенольних сполук з активними формами Оксигену (пероксид, супероксид, гідроксид), які виникають як в ході нормальних біохімічних процесів у клітинах рослин, так й у стресових умовах, з утворенням відповідних фенокисільних радикалів;

3) *гідроксилювання* – приєднання –ОН-груп до фенольних сполук, що призводить до розривання бензольного кільця – шляху розщеплення усіх ароматичних сполук, із наступним перегруповуванням та утворенням нових сполук на їх основі: пурини, піримідини, алкалоїди, ароматичні амінокислоти, пігменти, гетероауксин;

4) *комплексоутворення* – взаємодія фенольних сполук із важкими металами з утворенням солей у вигляді комплексів, що використовується з

аналітичною метою, зокрема, додавання нерозчинних комплексів солей Рb призводить до осадження фенольних сполук з рослинного матеріалу.

Кількісне визначення фенольних сполук у рослинах здійснюють після осадження протеїнів за допомогою реактиву Фоліна з наступним колориметуванням розчину синього кольору.

Фенольні сполуки мають однакові спектри із протеїнами, тому для визначення їх вмісту у рослинах, потрібно відділення від протеїнів у результаті осадження останніх

Фенольні сполуки відіграють:

– *захисну*, або протекторну роль за дії стресових чинників – підвищується активність фенілаланінамоніакліази як ключового ензиму, збільшується вміст лігніну та флавоноїдів, як антиоксидантів, які знижують кількість АФО або як металозв'язуючих сполук, а захисна роль цих сполук виявляється у збільшенні вмісту лігнінів, танінів, ферулової кислоти;

– *сигнальну та регуляторну* роль – оптимальний їх вміст впливає на забарвлення рослин, що приваблює потенційних запилювачів квітів та поширювачів насіння або, навпаки, відлякує птахів і комах, разом із абсцизінами, які входять до складу β -інгібіторного комплексу, який відповідає за спокій насіння й запобігання його проростання, лімітують ріст клітин шляхом зв'язування із полісахаридами біомембран;

– *структурну та резервну* роль – є компонентами біомембран клітини рослин, зокрема, лігнін, флавонони локалізуються у вакуолях клітини рослин як резервні сполуки;

– *окисно-відновну* роль – є компонентами електротранспортних ланцюгів дихання й фотосинтезу та переносниками H^+ , деякі фенольні сполуки інгібують дихальний процес, зокрема, кумарини, а також система поліфенол-поліфенолоксидаза за дії O_2 окиснює амінокислоти, пептиди та органічні кислоти, зокрема, яблучну, аскорбінову, лимонну.

Антиоксидатні властивості фенольних сполук рослин є основою їх взаємодії з аскорбіною кислотою, що пояснюється наявністю гідроксильних груп та збільшенням величини рН до слаболужного. Фенольні сполуки, виділені з рослин, використовують у фармації, оскільки вони чинять токсичний вплив на мікроорганізми, а препарати на основі цих сполук мають антимуутагенні, антиоксидантні та протизапальні властивості.

Терпени – це клас сполук вторинного походження рослин, що утворюються у цитозолі клітин рослин із ацетил-СоА, попередником яких є ізопрен (C_5H_8), що містить два зв'язки $C=C$. Залежно від кількості молекул C_5H_8 терпени поділяються на групи:

– монотерпени – $C_{10}H_{16}$;

– сесквитерпени – $C_{15}H_{24}$;

- дитерпени – $C_{20}H_{32}$;
- тритерпени – $C_{30}H_{48}$;
- тетратерпени – $C_{40}H_{64}$;
- політерпени – $(C_5H_8)_n$, до $C_{100}H_{160}$ та більше.

Попередником *монотерпенів* є геранілдіфосфат, *сесквітерпенів* – фарнезилфосфат, *дитерпенів* – геранілпірофосфат, *тритерпенів* – фарнезилпірофосфат й сквален, *тетратерпенів* – скваленфосфат.

Наведемо приклад утворення моно терпену геранілпірофосфату у цитозолі клітини рослин: ацетил-CoA+ ацетоацетил-CoA → мевалонова кислота → 5-фосфомевалонова кислота → ізопентилпірофосфат → геранілпірофосфат.

До *монотерпенів* ациклічних належать мерцен, гераніол, ліналоол, оцимен, цитронелол, до монотерпенів моноциклічних – лімонен та пінен, піретроїн, ментол, до моно терпенів біциклічних – камфора, борнеол, камфен, карен тощо (рис. 2.66).

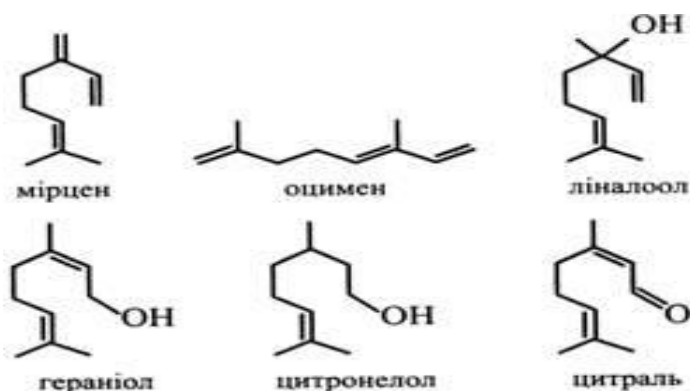


Рис. 2.66. Деякі монотерпени рослин

До *сесквітерпенів* ациклічних належить неролідол, до сесквітерпенів моноциклічних – бісаболан, елеман, гумулан, ейсдеман, до сесквітерпенівбіциклічних – даукан, еремофілан тощо.

Тритерпени мають стероїдну структуру, компонентами якої є стерани та стероли (рис. 2.76), до їх складу входять глікозилзовані похідні фітостеринів, сапонинів, карденолідів, зокрема, гопан, фернан, лупан, урсан, світенін і ланостан.

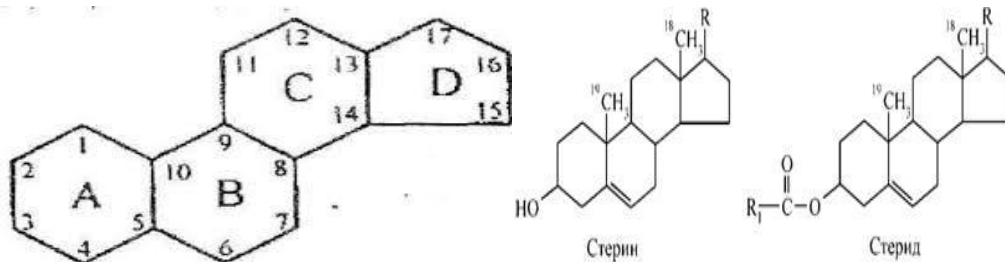


Рис. 2.67. Стероїдна структура тритерпенів рослин

Представниками *тетратерпенів* є пігменти каротиноїди ($C_{40}H_{56}$), до яких входять каротини, лікопіни і лютеїни, що складаються з іонону. Продуктами окиснення каротиноїдів є ксантофіли, кроцетини, фукоксантини.

Дополі *терпенів* належать каучук та гутта, які мають формулу $(C_5H_8)_n$. Каучук може містити від 1000 до 5000 залишків ізопрену, а гута – близько 100. Каучук виявлено у рослинах-каукоконосах, зокрема, у соці гевеї, а гутту – у коренях бересклету.

Терпени, завдяки наявності подвійних зв'язків, здатні швидко окиснюватись за дії O_2 з утворенням C–C, внаслідок чого синтезуються похідні відповідного терпену, що належать до спиртів (R-OH), альдегідів (R-C=O), кислот (R-COOH) та їх ефірів.

Терпени входять до складу багатокомпонентних сумішей – ефірних олій, що синтезуються в ефіроолійних рослинах, наприклад, цитрусові, троянди, лавр, кипарис, м'ята, сосни, піхти та ін., що мають специфічний різкий аромат внаслідок окиснення ефірів відповідних кислот терпенів.

Ефірні олії – олії ефіроолійних рослин, що містять жирні кислоти та леткі спирти, леткі органічні кислоти, ароматичні амінокислоти

Як леткі органічні кислоти, що входять до складу ефірних олій, належать мурашина, оцтова, пропіонова, масляна, ізомасляна та ізовареріанова, які мають різкий запах.

Якість виділених з рослинної сировини ефірних олій оцінюють за кислотним числом – кількістю мг КОН, яка необхідна для нейтралізації ВЖК з 1 г ефірної олії, а також ефірним числом – кількістю мг КОН, яка необхідна для омилення ефірів з 1 г ефірної олії.

Алкалоїди – це нітрогеновмісні гетероциклічні сполуки, назва яких походить від арабської «*Algali*» – луги й грецької «*eides*» – подібний, поділяються на справжні алкалоїди, протоалкалоїди та псевдоалкалоїди. Попередниками утворення алкалоїдів є амінокислоти або їх похідні аміні-похідні амінокислот, що утворюються при їх декарбоксілюванні, тобто відщепленні CO_2 (рис.2.68).

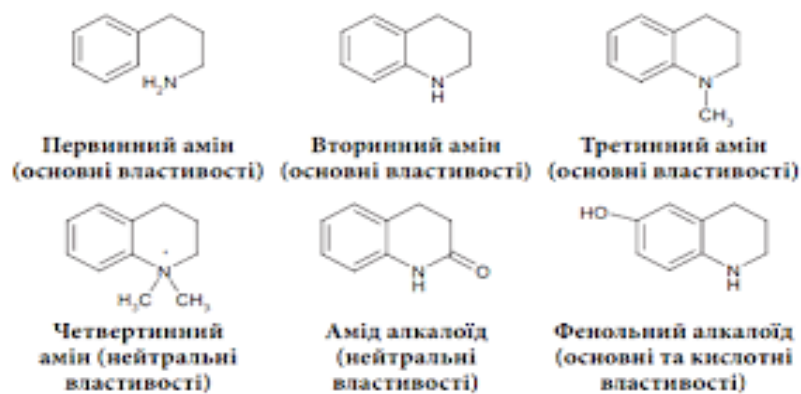


Рис. 2.68. Аміни як попередники алкалоїдів рослин

Локалізуються алкалоїди у вакуолях клітини та в обкладинці судинних пучків клітин епідермальних тканин судинних рослин. Виявлено високий вміст алкалоїдів у рослин родин макакових, бобових, лютикових – від 0,01 до 0,9 %.

Справжні алкалоїди походять від амінокислот Lys, Tyr, Gly, His, основою їх будови є індол, хінолін, пурин (рис.2.69).



Рис. 2.69. Приклади основи будови справжніх алкалоїдів рослин

Розрізняють наступні типи справжніх алкалоїдів рослин:

- ізохінолінові;
- піперидинові;
- пиридинові;
- дигідроіндолні;
- пірролідинові;
- пуринові;
- хіназолінові.

У харчовій промисловості алкалоїди є сировиною для чаю, кави, какао та табачних виробів, при виготовленні інсектицидів в агрономії. Також справжні алкалоїди є компонентами лікарських засобів: морфін, атропін, платифілін, папаверін, но-шпа, промедол, кофеїн, що мають знеболювальну, наркотичну дію на організм людини, є антагоністами алкоголю й наркотичних речовин (рис.2.70).

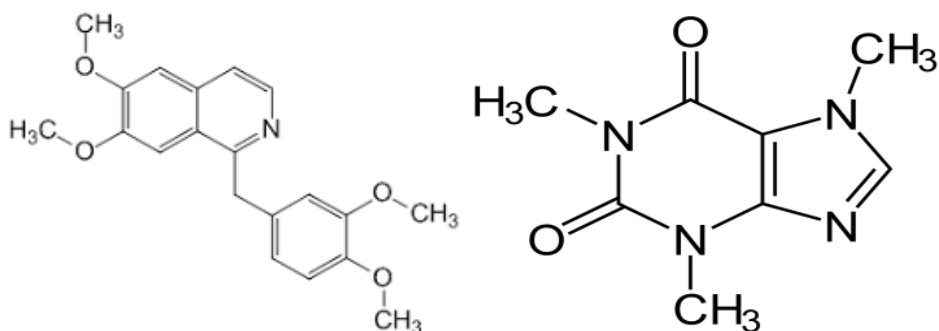


Рис. 2.70. Папаверін та кофеїн як приклади справжніх алкалоїдів рослин

Морфін міститься в опійному маці, атропін – у беладоні, кофеїн – у плодах кавового дерева.

Протоалкалоїди, як і справжні алкалоїди, походять від амінокислот, але містять N у складі функціональних груп – радикалів, а не у складі гетероциклічного кільця (рис. 2.71).

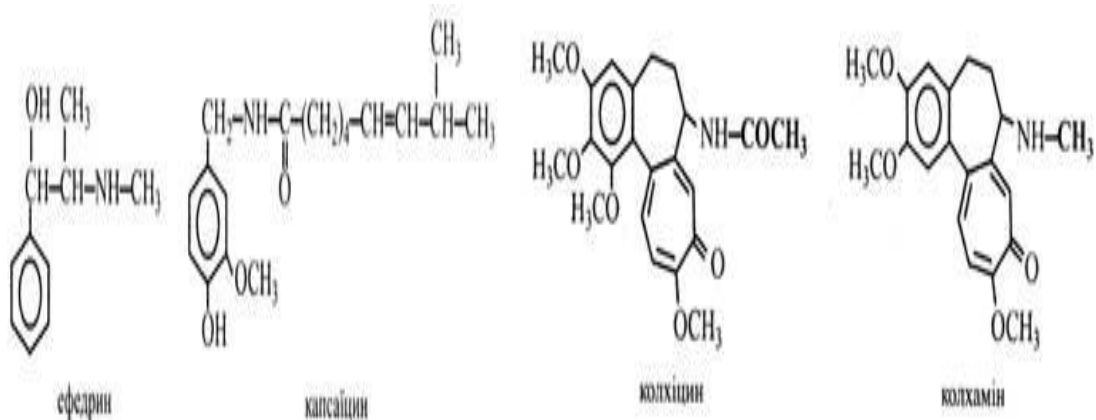


Рис. 2.71. Приклади будови протоалкалоїдів рослин

До протоалкалоїдів належать: аліфатичні протоалкалоїди (сферофізин), фенілалкіламінові алкалоїди (ефедрин), а також колхіцинові алкалоїди. У рослинах вони зустрічаються часто, але, на відміну від справжніх алкалоїдів, не накопичуються в них.

Псевдоалкалоїди є похідними циклопентанпергідрофенантрону (рис. 2.72), що поєднаний з гетероциклічною будовою, яка містить N, тобто є похідними терпенів рослин. Вони поділяються на дві групи – глікоалкалоїди та ізопреноїдні алкалоїди. Найвідомішими предстаніками перших є томатидин, соланідин, а других – похідні моно- та сесквітерпенів. У більшості глікоалкалоїдів у положенні 5,6 розташований подвійний зв'язок, а вуглеводна частина може містити глюкози, галактозу, рамнозу, арабінозу та ксилозу (на рис. 2.72 «sugarchain» – цукрова частина).

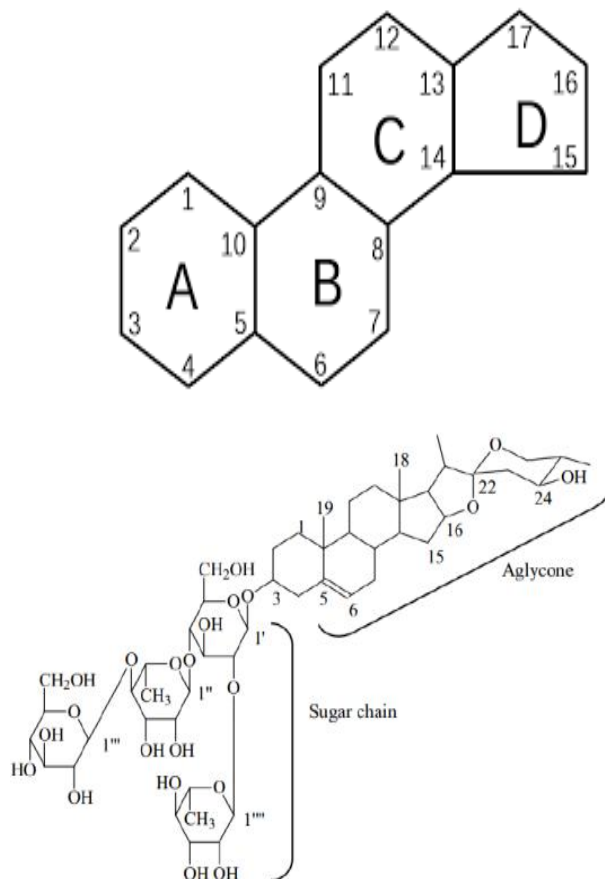


Рис. 2.72. Циклопентанпергідрофенантрен та соланін рослини

Алкалоїди беруть участь у процесах детоксикації, або знешкодження важких металів або патогенів, що потрапляють у рослини через корені, отже, відіграють у рослинах захисну роль. На користь цього є дані щодо збільшення вмісту алкалоїдів лупініну і хлореніну у відповідь на дію бактерії *Ranstonia solanacearum* на корені томатів, а також, те, що алкалоїдовмісні рослини непридатні для поїдання травоядними тваринами. Механізми дії алкалоїдів рослин на організм людини є різними: більшість з них, як правило, у малих дозах збуджують нервову систему, а у позаоптимальних – пригнічують, зокрема, алкалоїд кокаїноспочатку збуджує, а потім пригнічує нервову систему людини.

Якісними хімічними реакціями на алкалоїди у рослинах є:

- 1) утворення осаду при взаємодії алкалоїдів із солями ВМ та J_2 ;
- 2) наявність зеленого забарвлення на хроматографічній пластині після розділення фільтрату рослин за дії УФ-опромінення.

Глікозиди – це біомолекули, назва яких походить від грецького «*glykys*» – солодкий, вони складаються з вуглеводної (глікон) та неуглеводної (аглікон) частин, та поєднані через атом О, N, S або С-глікозиди: О-глікозиди, N-глікозиди, S-глікозиди, С-глікозиди (рис.2.73).

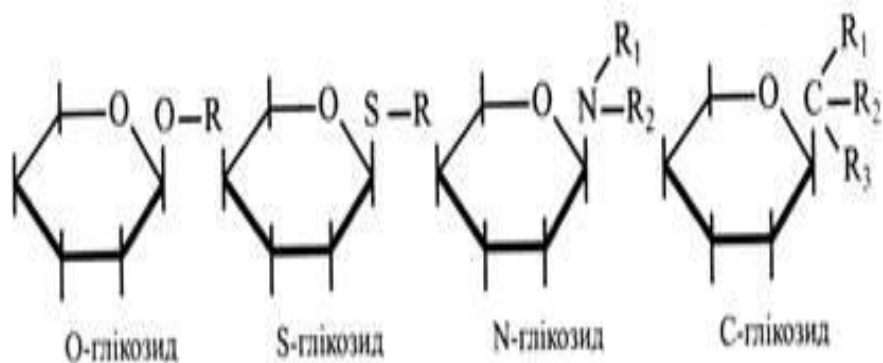


Рис.2.73. Схема будови глікозидів рослин

За допомогою методу тонкошарової хроматографії у рослинах виявлено більше 30 глікозидів, які, залежно від структуриглікону, поділяються на монозиди, біозиди й тризиди, тобто містять один, два й три залишки моносахаридів: глюкозиди містять глюкозу, галактозиди – галактозу та галактуроназиди – галактуронову кислоту. Аглікони глікозидів у складі моносахаридів рослин, наведено у табл. 2.13.

Таблиця2.13 – Аглікони глікозидів у складі моносахаридів рослин

Клас сполуки	Назва циклу	Представники	Біохімічна роль
1	2	3	4
<i>N-глікозиди</i>			
Алкалоїди	Пурин, піримідин, імідазол, індол, нікотин, пірол, піридин, піперидин, хінолін	Хінін, кофеїн, нікотин	Утворення нуклеотидів, мембранний транспорт й синтез протеїнів, фітогормональна активність

Продовження таблиці 2.13

1	2	3	4
Фітогормони	Індол	Гетероауксин та його похідні	Стимулювання клітинного росту, біологічний сигналінг
Пігменти	Пірол	Хлорофілиа і в	Поглинання енергії світла, необхідного для фотосинтезу
Вітаміни	Нікотин, флаван, піридин	Нікотинова кислота (вітамін РР), рибофлавін (вітамін В ₂), піридоксаль-фосфат (вітамін В ₆)	Компонент коензиму NAD (нікотинаденін-динуклеотиду), FAD та ензимів амінотрансфераз

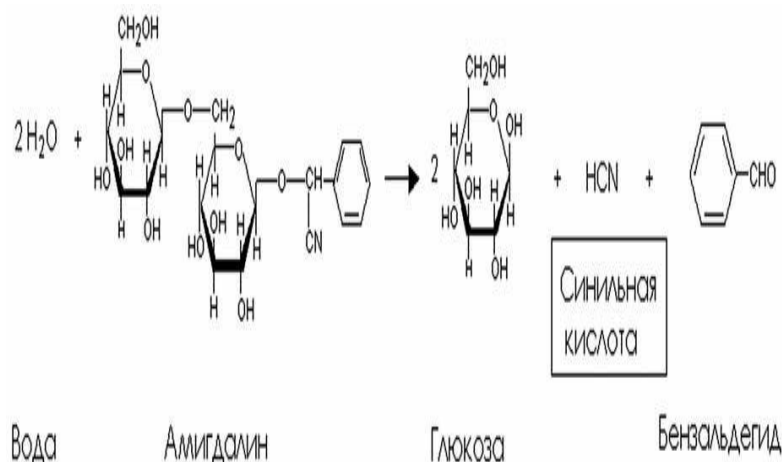


Рис. 2.75. Синильна кислота, як компонент ціаногенних глікозидів

Також HCN містять синігрин та синальбамін характерний для рослин родини Капустяних та Крестоцвітних, які містять S і K (рис. 2.76).

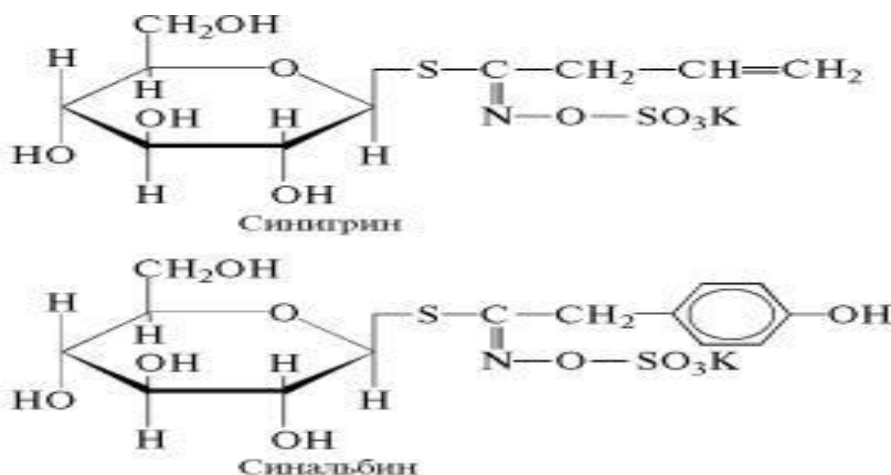


Рис. 2.76. Амігдалін, синігрин та синальбін (рос. мовою)

Синильна кислота впливає на окиснення Fe^{2+} до Fe^{3+} у складі цитохрому *c* комплексу IV (цитохромооксидази) дихального ланцюга мітохондрій, результатом чого є пригнічення активності ензиму: цитохромоксидаза + HCN \rightarrow O₂ не утворюється.

Серцеві глікозиди – це сполуки, агліконами яких є похідні циклопентапергідрофенантрени (рис. 2.77).

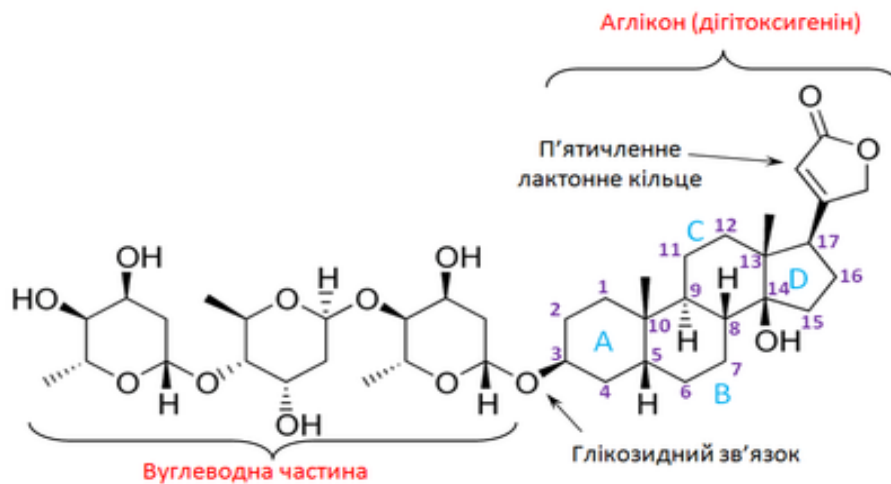


Рис. 2.77. Приклад структури серцевих глікозидів рослин

Представниками серцевих глікозидів є гітоксигенін, дігітоксигенін, а також карденолід і буфадієнолід (рис.2.78), які є компонентами лікарських засобів кардіологічної дії, оскільки впливають на стінки серцевого м'язу людини.

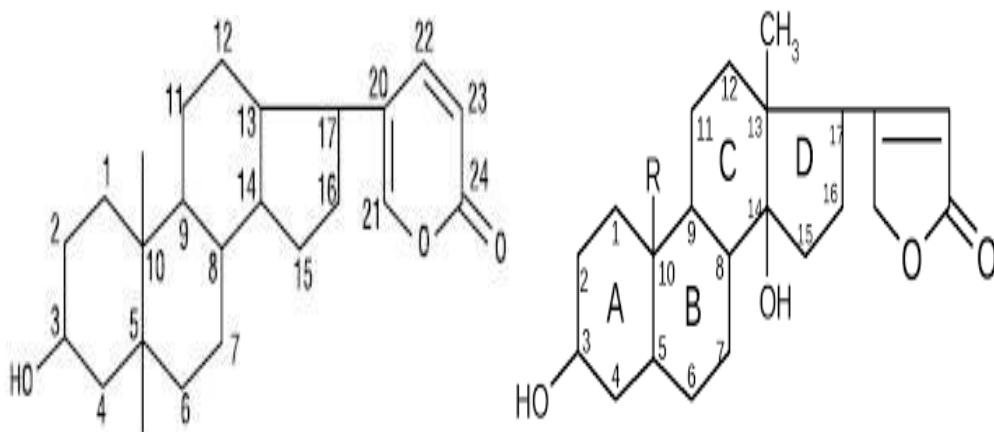


Рис. 2.78. Лікарські засоби буфадієнолід і карденолід

Серцеві глікозиди з рослин не мають синтетичних аналогів, тому препарати на рослинній основі є головними засобами під час лікування серцево-судинної недостатності у людини.

2.4. Фітогормони як критерії формування продуктивності рослинної сировини

З боку зовнішньої поверхні подвійної біомембрани клітин рослин розташовані «сигнальні» сполуки, чутливі до внутрішньоклітинних та позаклітинних хімічних змін, які беруть участь у міжклітинних взаємодіях – **фітогормони**, дія яких виявляється, переважно, у забезпеченні ростових процесів рослин.

Відокремлюють класичні фітогормони та сполуки фітогормональної дії у рослинах.

До класичних фітогормонів належать п'ять класів:

- абсцизини;
- гібереліни;
- ауксини;
- цитокіни;
- етилен

За впливу позаоптимальних параметрів у рослинах відбуваються швидкі або повільні реакції: швидкі реакції виявляються майже одразу після сприйняття фітогормонами хімічних змін, а повільні – залежать від синтезу протеїнів *denovo*, та пов'язані зі зміною експресії генів, тому розвиваються пізніше за часом.

Розвиток реакції-відповіді рослин на зовнішні чинники супроводжується активацією або пригніченням генів на рівні транскрипції

На рис. 2.79 наведено представники п'яти класів фітогормонів.

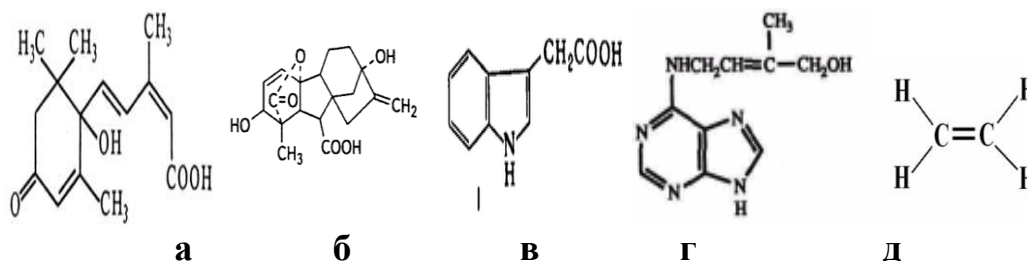


Рис. 2.79. Фітогормони: а) абсцизова кислота, б) гіберелова кислота, в) індоліл-3-оцтова кислота, г) зеатин, д) етилен

Уявлення щодо фітогормональної системи квіткових рослин сформувався також на фоні бурхливого розвитку учення щодо медичної ендокринології тварин, проте, гормональна система рослин є більш поліфункціональною, ніж у тварин, принциповими особливостями фітогормонів є наступні:

– фітогормони мають різну хімічну структуру: абсцизини та гібереліни, що належать до класу терпенів, хоча їх будова доволі різна: цитокініни – похідні азотистої основи пурину, індоліл-оцтова кислота – індолу, а етилен – вуглеводнів, в той час як гормони тварин представлено двома класами – стероїдами і пептидами;

– фітогормони, як і гормони тварин, мають високу біохімічну активність навіть у малих концентраціях – близько 10^{-5} – 10^{-12} М, проте перші діють дистанційно – утворюються в одному місці, а впливають на

процеси в інших тканинах й органах рослин, в той час, у тварин гормони синтезуються й діють в одних й тих самих органах, – це, ймовірно, пояснює те, що фітогормонів менше (п'ять) ніж гормонів тварин (більше двадцяти).

Розчини синтетичних фітогормонів для поверхневої обробки рослин використовуються у мікромолярних концентраціях

Утворення фітогормонів відбувається за наступними схемами:

- абсцизинів – мевалонова кислота → ізопентанілпірофосфат → геранілпірофосфат або за умов розщеплення віолоксантину;
- гіберелінів – ацетат + мевалонова кислота → гераніл-гераніол-пірофосфат → каурен → гібереліни;

Абсцизини й гібереліни рослин є похідними сесквітерпенів

- цитокінінів – ізопентиніладенінрибозид → зеатинрибозид → ізопентиніладенін → зеатин → мевалонова кислота;
- ауксинів – триптофан → триптофанозалежні процеси: триптамін → IAA, або IAD, або IPK → індоліл-3-оцтова кислота;

IAA, IAD і IPK – це скорочені назви похідних індолу

– етилену – метіонін → в процесі перетворення метіоніну група $\text{CH}_3\text{-S}$ залишається у тканині, CO_2 та NH_4 використовується у відповідних процесах обміну рослин → етилен.

На рис. 2.80 наведено структуру деяких попередників фітогормонів, зокрема, абсцизинів та гіберелінів – мевалонової кислоти, ауксинів – триптофану, етилену – метіоніну.

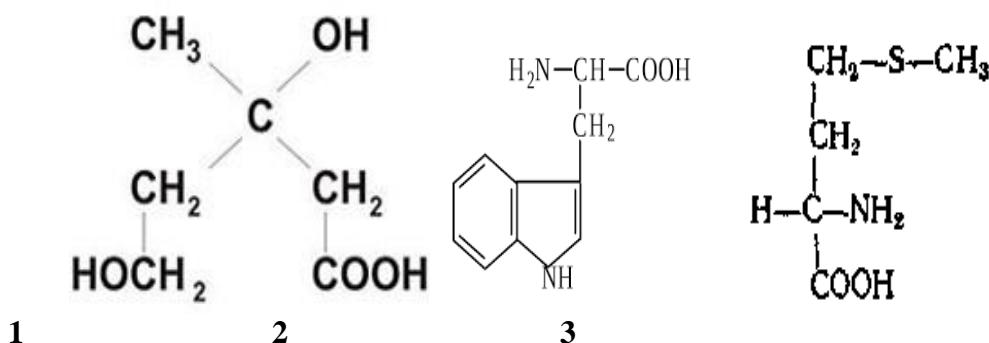


Рис. 2.80. Попередники або похідні фітогормонів: 1 – мевалонова кислота, 2 – триптофан, 3 – метіонін

У рослинах функціонує єдина фітогормональна система (рис.2.81).

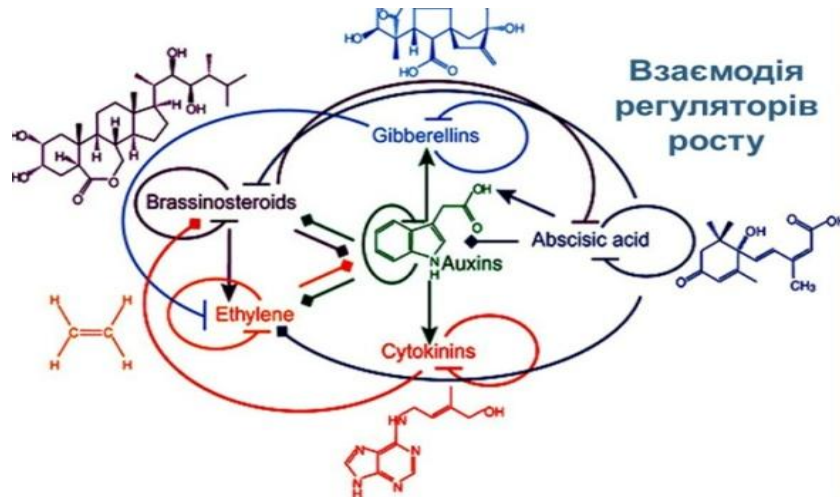


Рис. 2.81. Взаємодія фітогормонів – регуляторів росту рослин (з англ. мови: Auxines – ауксини, Gibberellines – гібереліни, Cytokinines – цитокініни, Ethylene – етилен, Abscisic acid – абсцизова кислота)

Фітогормони поділяють на активатори (ауксини, гібереліни та цитокініни) та інгібітори (абсцизова кислота та етилен) біохімічних процесів, пов'язані із ростом рослин, проте цей поділ є умовним, оскільки фітогормони впливають один на одний: так, індоліл-3-оцтова кислота індукує синтез етилену й зеатину, дія гіберелінів супроводжується збільшенням вмісту індоліл-3-оцтової кислоти, а етилен збільшує вміст абсцизової кислоти.

Між фітогормонами є синергізм та антагонізм, в основі цих процесів лежить непряма дія, а саме, – вплив одного фітогормону на рівень іншого

Фітогормони впливають на хромосомний апарат клітини рослин, тобто на процес передачі генетичної інформації в нуклеїнових кислотах, зашифрованої у генетичному коді, на синтез специфічних протеїнів рослин.

Розглянемо генетичні механізми передавання сигналів фітогормонів у тканинах рослин, що виникають під час взаємодії останніх із чинниками генетичної регуляції у рослинах та полягають у класичній біохімічній схемі: фітогормональний комплекс – гіберелін + рецепторний протеїн → ДНК → мРНК → протеїн → ензим, що зв'язує фітогормони. Наприклад, кількість абсцизин-регульованих генів знаходиться під контролем активаторів транскрипції / інгібіторів – PYR/SnRK₂, гіберелін-регульованих – GID/GARE, цитокінін-регульованих – SKP1 /RRA, ауксин-регульованих – ARF /Aux/IAA, етилен-регульованих – EREBP /CTR₁.

Розглянемо детальніше кожен з класів фітогормонів.

Ауксини – це похідні індолу, що мають однакову активність із індолілоцтовою кислотою. Прийняті умовні скорочення ауксинів:

індолілоцтова кислота – ІОК; 5-окисіндолілоцтова кислота – 5-ОІОК, α -нафтилоцтова кислота – α -НОК; 2,4-дихлорфеноксиоцтова кислота – 2,4-Д; 2,4-дихлорфенол – 2,4-ДХФ; 2,4,5-трихлорфеноксиоцтова кислота – 2,4,5-Т; 2-метил-4-хлорфеноксиоцтова кислота – 2М4Х; індолілацетальдегід – ІААльд; індолілетанол (триптофол) – Т-ОН; індолілацетонітрил – ІАН, індолілпіровиногтадна кислота – ІПВК; індолілацетиласпарагінова кислота – ІААсп; глюкобрасицин – ГБр; метиловий ефір ІУК – Ме-ІУК; індолілмасляна кислота – ІМК; тіамінпірофосфат – ТПР тощо.

До природних ауксинів рослин належить індолілоцтова кислота інші – синтетичні аналоги

Джерелом утворення *природного ауксину* – ІОК є амінокислота триптофан, що відбувається двома шляхами: через ІПВК або через Т-NH₂, а розщеплення ІОК відбувається за дії ензиму ІОК-оксидази.

Ензим ІОК-оксидаза є іденсичним за дією із ензимом пероксидаза, що вказує на наявність у рослинах ізозиму пероксидази – ізопероксидази

Окиснення ІОК відбувається поза участі H₂O₂. Крім ІОК, ензим ІОК-оксидаза здійснює окиснення аліфатичних аналогів ІОК таких як 5-ОІОК і ІМК. Пероксидази можуть окиснювати за участі O₂ також інші сполуки, зокрема, гідрохінони.

До *синтетичних ауксинів* належать: ауксини індольного ряду, ауксини типу фенілоцтової, фенолоцтової та бензойної кислот, а також антиауксини – це сполуки, що конкурують із ІОК за місця зв'язування із рецептором на поверхні біомембрани клітин рослин, зокрема, 2,4-дихлоранізол (похідне 2,4-Д) і п-ХФІМК.

Гібереліни – це похідні дитерпеноїдів, зокрема, гіббану, каурану, каурену, гібереллану та С19-гібберелінів, які складаються із тетрациклічних карбонових кислот.

Серед *природних гіберелінів* розрізняють вільні, зв'язані та кон'юговані форми. У кон'югованих гіберелінах, поєднаних міцним зв'язком із низькомолекулярними сполуками, виділено наступні їх типи: О-ацетати, н-пропілові складні ефіри, О- β -D-глюкопіранози (глюкозиди). Кон'юговані гібереліни утворюються у рослинах як продукти їх природних форм.

Місцем локалізації гіберелінів є хлоропласти та вакуолі клітин рослин

Індивідуальні гібереліни позначають символом ГА або символ А з номером (A_n), який присвоюється кожному новому представнику цього класу фітогормонів за мірою ідентифікації. Так, на даний час за допомогою тонкошарової хроматографії виявлено не менше 62 сполук. Нумерація гіберелінів рослин є наступною: A₅, A₆, A₈, A₁₇, A₁₈, A₁₉, A₂₀, A₂₁, A₂₂, A₂₃, A₂₆, A₂₇, A₂₈, A₂₉, A₃₀, A₃₁, A₃₂, A₃₃, A₃₄, A₃₅, A₃₈, A₃₉, A₄₃, A₄₄, A₄₅, A₄₆, A₄₈, A₄₉, A₅₀, A₅₁, A₅₂, A₅₃, A₅₈, A₅₉, A₆₀, A₆₁, A₆₂;

Гібереліни також систематизують як за ступенем окисненості кільця А, так і за ступенем гідроксилування. Так, С₂₀-гібереліни групуються за ступенем окисленості С₂₀-атома кільця А: від –СН₃-групи до –СООН-групи, а С₁₉-гібереліни – за ступенем ненасиченості кільця А за однакових –ОН-замісників. Похідними гіберелінів є 3-оксигіберелліни та 3-дезоксигіберелліни: попередником перших є А₁₄-альдегід, а других – А₁₂-альдегід. Виявляють гібереліни після тонкошарової хроматографії, як виявник використовують розчин 5 % Н₂SO₄ в етанолі при ультрафіолетовому світлі, гібереліни в цих умовах флуоресціюють відповідними кольорами (табл. 2.14).

Таблиця 2.14 – Кольори деяких гіберелінів у процесі флуоресценції на пластинах для тонкошарової хроматографії

<i>Гібереллін</i>	<i>Колір</i>
A ₅ , A ₈ , A ₂₉ , A ₃₁	Синій
A ₇ , A ₂₂ , A ₃₀ , A ₃₅	Жовтий
A ₉ , A ₁₆ , A ₃₄ , A ₃₈	Бурий
A ₁₉ , A ₂₇ , A ₃₂	Червоний
A ₄₉ , A ₅₈	Жовтий
A ₃₃ , A ₅₂	Зелений

Цитокініни – це похідні N-вмісної основи пурину, в якому –NH₂-група при С6-атомі заміщена на відповідні функціональні групи. Сполуки, що належали до цього класу фітогормонів, були об'єднані під загальною назвою «кініни», оскільки, у біохімії тварин термін «кініни» використовується для інших сполук – поліпептидів, то нині загальновизнаним є термін «цитокініни».

Місцем локалізації цитокінінів є цитоплазма та нуклеїнові кислоти

Одним з представників цитокінінів – 6-фурфуріламінопурин, або кінетин, – утворюється у ДНК за умов її руйнування шляхом автоклавування у кислому середовищі. Інший представник цієї групи

фітогормонів – пурин, або зеатин, – виділений з насіння кукурудзи, повна назва цієї сполуки – 6-(4-окси-3-метил-транс-2-бутеніламіно)-пурин. Родиною до зеатину сполукою є 6-(3-метил-2-бутеніламіно)-пурин, наявний у багатьох видах рослин. Цитокиніни виявлено також у складі тРНК амінокислот, зокрема, *Ser* і *Tyr*, проте, роль тРНК як джерела утворення вільних фітогормонів цитокинінового ряду у рослин не доведена.

Абсцизини належать до класу терпенів, зокрема, до типу сесквітерпенів, попередником яких є ізопентенілпірофосфат, який, в свою чергу, утворюється із мевалонової кислоти, та є джерелом утворення фотосинтетичних пігментів – каротиноїдів.

Природні сполуки, які є близькими до АБК, розглядають як продукти руйнування каротиноїдів

До представників природних абсцизинів належить абсцизова кислота (АБК), а до їх похідних – продукти руйнування каротиноїдів: 2-транс-АБК, лоліолід, теаспірон, волміфоліол, квіззон тощо.

До синтетичних абсцизинів належать нор-абсцизова кислота, абсцизовий спирт, абсцизовий альдегід, а також нітрил-2-транс-АБК, α -іонілаеноцтова кислота, 4-транс- β -іоніладенетанол, 2-епокси- β -іоніладеноцтова кислота тощо.

*У рослинах, крім класичних фітогормонів, виявлено сполуки, які мають **фітогормональну дію***

Виявлено фітогормональну дію таких сполук як:

- жасмонати;
- брасиностероїди;
- саліцинати.

Брасиностероїди, або брасини – це ліпідоподібні сполуки, основу яких складає ізопрен (рис. 2.80).

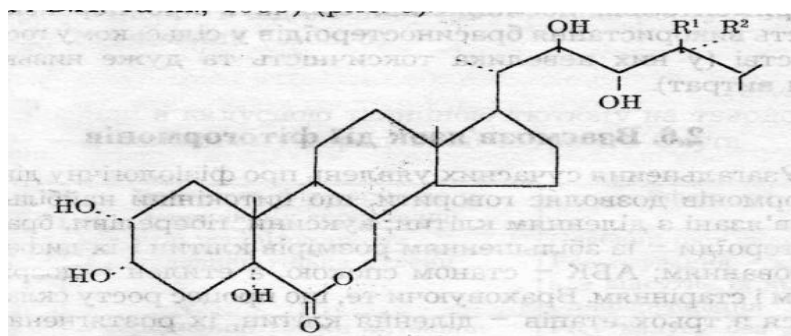


Рис. 2.80. Загальна біохімічна структура брасинів рослин

Сьогодні в рослинних тканинах визначено кілька десятків *брасиностероїдів*, або брасинів, попередником утворення яких є терпеноїд кампестерол. Брасини впливають на активність низки генів, експресія яких викликається при перенесенні етильованих проростків на світло, їх рецептор складається з 1196 залишків амінокислот, локалізований на зовнішньому боці біомембрани. Також брасини підвищують стійкість рослин до несприятливих чинників довкілля, тому їх розглядають як перспективну групу фітогормонів для рослинництва, у цьому напрямку виявлено ефективність комбінацій брасинів із гіберелінами, етиленом і цитокінінами. Виявлено сильний синергетичний ефект брасинів та ауксинів, який виникає при екзогенній обробці рослин спочатку розчином брасинів, а потім ауксинів. При обробці рослин в іншій послідовності синергізм не простежується.

Предстаником жасмонатів у рослинах є жасмонова кислота та її ефір – метилжасмонат. Безпосереднім попередником утворення жасмонової кислоти є метиленфітостерол, який перетворюється до кампестеролу. У процесі синтезу жасмонатів активується пептид, що складається з 18 амінокислот – системін, який утворюється при пошкодженні рослин комахами і патогенами та переноситься по флоемі у непошкоджені ділянки рослин, де зв'язується з рецепторами біомембрани та активує жасмонозалежні гени, причому активація синтезу жасмонатів у відповідь на низку стимулів відбувається за участю Ca^{2+} -кальмодулінового шляху сигнальної трансдукції.

Саліцилати – це речовини фітогормональної дії, що належать до похідних фенольних сполук, найвідоміший їх представник саліцилова кислота, попередником утворення якої є ароматична амінокислота *Phe*, здатна передавати сигнал про зараження рослин патогенами. Саліцилова кислота бере участь у формуванні імунітету у рослин, відіграє роль в адаптивних метаболічних реакціях, підвищує стійкість рослин до інфекцій. Одночасно із підвищенням вмісту салицилатів активується утворення фітоалексинів, що пригнічують розвиток патогенного процесу в рослині внаслідок активації SAR-генів, продуктами яких є PR-протеїни.

У регулюванні складного ростового процесу рослин активну участь беруть фенольні сполуки, які мають цитокінінову та ауксинову активність, зокрема, бензойна, корична і кофейна кислоти, а також деякі вітаміни такі як: тіамін, аскорбінова та нікотиновакислота (рис.2.81).

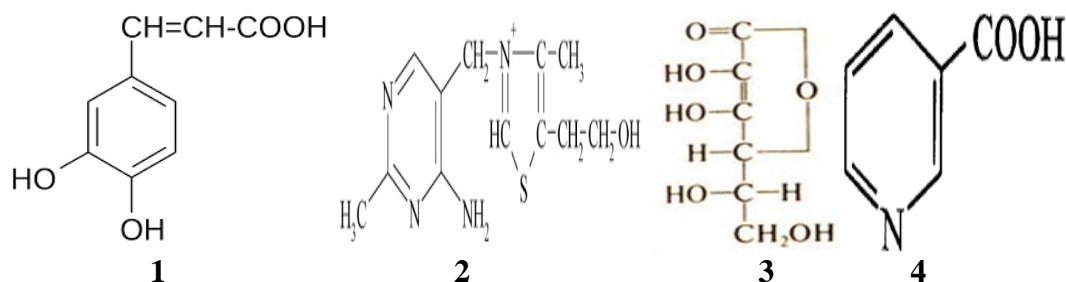


Рис. 2.81. Сполуки нефітогормональної природи: кофейна кислота – 1, тіамін – 2, аскорбінова кислота – 3, нікотинова кислота – 4

Серед синтетичних регуляторів росту рослин є ретарданти та пестициди, асортимент яких постійно розширюється, це, наприклад, івін, зеастимулін, агростимулін, радостим, реаком тощо.

2.5. Поняття стресу у рослинах

Фактори агровиробництва рослинної сировини, залежно від їх тривалості та інтенсивності дії, біологічної активності, хімізму, дози або концентрації, здатні на усіх етапах їх органогенезу рослин:

- 1) забезпечувати *оптимальний баланс хімічних сполук*:
 - мінеральних: мікроелементів, мікроелементів ультрамікроелементів, важких металів та радіонуклідів, а також їх хімічних форми;
 - органічних сполук: біомолекул первинного та вторинного генезу, а також фітогормонів;
- 2) викликати *зміни динаміки та співвідношення хімічних сполук*, тобто розвиток стресу – загальної неспецифічної, тобто однотипної, реакції рослин на дію чинників факторів агровиробництва у позаоптимальних параметрах, яка характеризується каскадом хімічних процесів розбалансування вмісту хімічних сполук, спрямована на підтримання, збереження та відновлення метаболічного стану рослин.

Аспекти, пов'язані із стресом рослин в процесі агровиробництва, часто є дискусійними, тому розглянемо біохімію стресу рослин більш детально. Так, дія стресорів на рослини може бути:

- пряма або безпосередня;
- непряма або опосередкована.

В обох випадках відбувається взаємодія стресору із хімічними сполуками у складі структурних компонентів рослинних клітин, причому початковими мішенями впливу стресору на рослини є рецепторні сполуки біомембран клітин, а також та позаклітинного середовища.

За оптимальних умов їх життєдіяльності, в ході перебігу метаболічних реакцій у рослинах, постійно утворюється певна кількість вільних радикалів – супероксидний радикал, гідроксильний радикал, пероксильний радикал, гідрогена пероксид, синглетний кисень, гіпохлорна

кислота, нітроген оксиди, ліпоперокси, пероксинітрит тощо, яким притаманний великий спектр хімічної дії на рослини, проте, за дії стресора кількість вільних радикалів перевищує оптимальні параметри, що впливає на динаміку вмісту хімічних сполук в рослинному організмі.

В основі розвитку стресу рослин лежить гіперутворення активних форм Оксигену (АФО) у рослинних клітинах

Збільшення концентрації вільних радикалів у клітинах рослин, в свою чергу, спричиняє збільшення Оксигену та оксигеновмісних сполук. У той час, за умов надмірної кількості АФО за *стресового стану*, ці сполуки набувають вираженої цитотоксичності, тому становлять загрозу для оптимального перебігу реакцій у рослинах. На рис. 1.4 наведено схему дії вільних радикалів на клітину рослин.

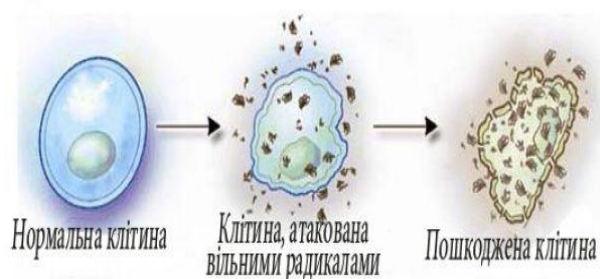


Рис.2.82. Схема дії вільних радикалів на клітину рослин [8]

У рослинах з метою послаблення пошкоджуючої дії АФО на структуру хімічних компонентів клітин рослин активується метаболізм антиоксидантів.

Антиоксиданти – це певні вуглеводи, пептиди та протеїни, ліпіди і ліпідоподібні сполуки, поліфеноли, сполуки фітогормонаної дії, а також певні ензими рослин, що здатні знижувати гіперсинтез АФО у клітинах рослин

До антиоксидантів належить, наприклад, поліфеноли, глутатіон, пролін, саліцилова кислота, лимонна кислота, яблучна кислота, токоферолі тощо. Антиоксиданти створюють так звану антиоксидатну систему захисту (АОЗС), компоненти якої знижують підвищений вміст АФО за стресових умов життєдіяльності рослин, завдяки чому відновлюється оптимальний перебіг метаболічних процесів в їх організмі. Проте, в разі продовження стресового впливу на рослини, відбувається порушення балансу між АФО та АОЗС – внаслідок зниження концентрації АФО або перевищення концентрації АОЗС.

Стан різко порушеного окисно-відновного статусу клітин рослин, коли АФО не здатні блокувати АОЗС, отримав назву «оксидативного стресу рослин»

За оксидативного стресу АФО, що виявляють високу хімічну активність, можуть спричиняти окислювальну модифікацію тих нуклеїнових кислот, протеїнів, ліпідів, що знаходяться у радіусі їх дифузійного пробігу у клітинах рослин.

Стрес-реакція у відповідь на стресовий чинник у проходить наступні умовні стадії: первинна стресова реакція, стадія адаптації та виснаження енергетичних ресурсів рослин

Усі стадії прояву стресової реакції рослин характеризуються зміною інтенсивності перебігу хімічних реакцій, але у різному діапазоні, наслідком такого метаболічного стану є зміна забезпеченості рослинних клітин хімічними сполуками із наступним відновленням балансу осанних у структурних компонентах рослинного організму. Таким чином, стрес є метаболічним станом рослин, за якого проявляються потенційні адаптаційні механізми кожної рослини залежно від її фізіологічних особливостей, а також агротехнологічних умов виробництва.

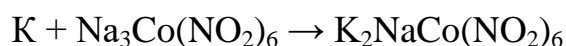
Отже, оптимальна забезпеченість рослинної сировини хімічними сполуками на усіх стадіях органогенезу – основа формування їх оптимальної життєдіяльності та продуктивності.

ПРАКТИЧНИЙ БАЗИС

Практична робота № 2. Методики кількісної біохімічної оцінки забезпеченості рослинної сировини мінеральними та органічними сполуками

Завдання 5. Техніка визначення вмісту Калію у рослинній сировині

Нижче наведено методику визначення вмісту цього макроелементу у рослинному матеріалі, що здійснюється у препаратах після проведення мокрого озолення, принцип якої полягає у взаємодії іонів Калію, які містяться у дослідних зразках, із кобальтнітридом натрію з утворенням подвійної комплексної солі каліюнатріюкобальтнітриду на наступною схемою:



Хімічні реактиви для методики:

- 15 % розчин $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (кобальту нітриду) в 20 % розчині CH_3COOH (оцтової кислоти) – розчин I;
- 30 % розчин NaNO_2 (натрія нітриту) – розчин II;

– розчин натрію кобальтнітрит – змішують розчин I та II у співвідношенні 6:10. На протязі трьох годин продувають повітря для видалення нітроген оксиду із наступним відфільтровування осаду, а розчин використовують в аналізі;

– 5% розчин трилону Б (Na_2 -етилендіаамнотетраоцтова кислота);

– 30 % розчин H_2O_2 (гідрогену пероксиду);

– хімічно очищений K_2SO_4 (калію сульфат).

Технологічні етапи проведення цієї методики наступні:

1) здійснюють процес мокрого озолення рослинного матеріалу, наведений вище;

2) осаджують мікроелемент з розчину – відбирають у центрифужні пробірки солянокислого розчину після оголення із рН 7,0, вносять за краплинами із мікробюретки 0,01 Н розчин CH_3COOH за краплинами додають 0,5 мл розчину натрію кобальт нітриту, накривають корками та залишають на ніч, після чого центрифугують на протязі 20 хв. за 3000 об/хв. Промивають осад двічі дистильованою водою, кожен раз додаючи по 2,0 мл із наступним центрифугуванням за вказаного режиму;

3) проводять кольорову реакцію – до осаду у пробірці вносять по 1,0 мл 5% розчину трилону Б та по 1,0 мл 30 % розчину H_2O_2 , перемішують та витримують на киплячій водянній лазні до розчинення осаду та появи рожевого забарвлення розчинів визначають концентрацію розчинів при 540 нм (дослідні зразки). Вимірюють концентрацію Калію у дослідних зразках проти контрольного зразка на ФЕЦі при довжині хвилі 540 нм.

Контрольний зразок готується так: у дві пробірки об'ємом 10 мл додають 1,0 по 1,0 мл 5% розчину трилону Б та по 1,0 мл 30 % розчину H_2O_2 , перемішують та витримують на киплячій водянній лазні. Вимірюють оптичну щільність на ФЕЦі при довжині хвилі 540 нм.

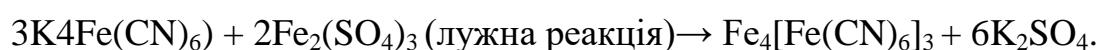
4) розрахунок вмісту Калію здійснюють за показниками концентрації стандартних зразків із використанням формули для розрахунку.

В якості стандарту для визначення вмісту цього елемента використовують хімічно чистий K_2SO_4 , який зважують на аналітичних терезах у кількості 2,2284 г та розчиняють послідовно у колбі об'ємом 1 дм³, при цьому розчин містить Калій у дозі 1 мг/мл, після чого роблять ряд розведень із концентрацією розчинів у діапазоні 12-340 мкг/мл, при цьому до кожного зразка вносять до 2,0 мл розчину H_2SO_4 із доведенням об'єму дистильованою водою до 100 мл. Відбирають по 1,0 мл, вносять за краплинами із мікробюретки 0,01 Н розчин CH_3COOH за краплинами додають 0,5 мл розчину натрію кобальт нітриту, вносять по 1,0 мл 5% розчину трилону Б та по 1,0 мл 30 % розчину H_2O_2 , перемішують та витримують на киплячій водянній лазні до розчинення осаду та появи рожевого забарвлення розчинів визначають концентрацію розчинів при 540 нм проти контрольного зразку.

Розраховують вміст Калію за формулою: $X, \% = C \cdot V \cdot 100 / V1 \cdot m$, де C – кількість елементу за калібрувальним графіком, мг; V – об'єм фільтрату загальний, мл; $V1$ – об'єм фільтрату, відібраний для аналізу, мл; m – маса наважки рослинного матеріалу, відібраної для мокрого оголення, г.

Завдання 6. Техніка визначення вмісту глюкози у рослинній сировині

Нижче наведено методику визначення цього вуглеводу у рослинному матеріалі – А. Швецова й Є. Лук'яненко, яка заснована на фотоколориметричному урахуванні ступеню відновлення цукрами рослин ферриціаніду калію ($K_4Fe(CN)_6$) в присутності лужного розчину вуглеводів до ферроціаніду феруму ($Fe_4[Fe(CN)_6]_3$), що відбувається за наступною реакцією:



Хімічні реактиви для методики:

- 10 % розчин ТХО (трихлороцтової кислоти), ємкість із реактивом витримується на холоді на протязі 30 хв перед використанням;
- 30 % розчин $ZnSO_4$ (цинку сульфату), ємкість із реактивом витримується на холоді на протязі 30 хв перед використанням;
- 5 % розчин HCl (кислоти соляної);
- 5 % розчин $NaOH$ (натрію гідроксиду);
- 1,65 г $K_3Fe(CN)_6$ та 10 г Na_2CO_3 розчиняють в 1 л води;
- 5 г $FeSO_4$ розчиняють у 20 мл H_2SO_4 та доводять водою до 1 л;
- 10 % розчин желатину;
- перед аналізом змішують розчин $FeSO_4$ та желатину у співвідношенні 20:1.

Технологічні етапи проведення цієї методики наступні:

I. екстракція – наважку рослин масою близько 0,5 г сухого або 2 г сирого рослинного матеріалу переносять у пробірки об'ємом 10 мл, додають 10 мл води дистильованої нагрітої до $80^\circ C$, перемішують скляними паличками, накривають скляними лійками (в якості зворотнього холодильника) та нагрівають на водяній лазні при $80^\circ C$ на протязі 10 хв. Відбирають 5 мл рідини піпеткою 5 мл у плоскодонну колбу об'ємом 25 мл.

До осаду або жому пробірок додають 5 мл дистильованої, перемішують скляними паличками, накривають скляними лійками (використовуються в якості зворотнього холодильника) та нагрівають на водяній лазні при $80^\circ C$ на протязі 10 хв. Відбирають 5 мл рідини піпеткою 5 мл у вищенаведену колбу об'ємом 25 мл. Повторюють описану процедуру ще раз.

Після триразових екстракцій у колбі об'ємом 25 мл відібрано близько 15 мл, загальний об'єм розчину у колбі доводять водою дистильованою до

риски (25 мл). Фільтрують отриманий розчин в іншу у плоскодонну широкогорлу колбу об'ємом 100 мл.

**Примітка:* якщо потрібно відділення олігосахаридів від спиртонерозчинних полісахаридів, то при екстракції матеріалу замість води дистильованої використовують 80 °С C₂H₅ОН.

Фільтрат, в залежності від використаного матеріалу, набуває відповідного кольору та є багатокомпонентним за хімічним складом, оскільки, поряд із водо- або спирторозчинними вуглеводами, до його складу також входять інші сполуки, зокрема протеїни. Тому для здійснення кольорових реакцій доцільно у фільтраті осадити протеїни, що відбувається на холод;

II. Осадження протеїнів – до фільтрату об'ємом 25 мл додають 12 мл 10 % ТХО при інтенсивному перемішуванні скляною паличкою. Відбирають піпеткою необхідну кількість розчину для проведення кольорової реакції;

III. Проведення кольорової реакції:

з отриманого фільтрату відбирають 1 мл розчину у колби об'ємом 10 мл, додають 1,0 мл дистильованої води, вміст пробірок перемішують скляними паличками, додають 1,0 мл K₄Fe(CN)₆ та витримують у киплячій водянній лазні 15 хв, охолоджують, додають у пробірки 2 мл розчину Fe₂(SO₄)₂, об'єм доводять до 20 мл водою (*дослідний зразок*). Вимірюють концентрацію глюкози у дослідних зразках проти контрольного зразка на ФЕЦі при довжині хвилі 670 нм.

Контрольний зразок готується так: у пробірку об'ємом 10 мл додають 1,0 мл води, додають 1,0 мл K₄Fe(CN)₆ та витримують у киплячій водянній лазні 15 хв, охолоджують, додають у пробірки 2 мл розчину Fe₂(SO₄)₂, об'єм доводять до 20 мл водою. Вимірюють оптичну щільність на ФЕЦі при довжині хвилі 670 нм.

5) *розрахунок вмісту протеїну здійснюють за показниками концентрації стандартних зразків із використанням формули для розрахунку.*

В якості стандарту для визначення вмісту глюкози у дослідних зразках використовують хімічно чисту глюкозу, яку зважують на аналітичних терезах та з якої готують ряд розведень, необхідних для отримання даних для калібрувального графіку з концентрацією глюкози у діапазоні 0,1 до 90 мг/мл. Відбирають по 1 мл розчину глюкози із певною концентрацією концентрацією глюкози додають 1,0 мл дистильованої води, вміст пробірок перемішують скляними паличками, додають 1,0 мл K₄Fe(CN)₆ та витримують у киплячій водянній лазні 15 хв, охолоджують, додають у пробірки 2 мл розчину Fe₂(SO₄)₂, об'єм доводять до 20 мл водою. Вимірюють концентрацію глюкози у стандартних зразках проти контрольного зразка на ФЕЦі при довжині хвилі 670 нм;

IV. Розрахунок вмісту вуглеводів:

4.1 у мг/г користуються наступними даними:

- розраховують коефіцієнт розведення ($K_{\text{розв}}$);
- розраховують коефіцієнт графіку ($K_{\text{граф}}$);
- розраховують коефіцієнт загальний ($K_{\text{загал}} = K_{\text{розв}} * K_{\text{граф}}$);
- вміст глюкози, мг/г = $E * K_{\text{загал}}$, де E – екстинкція розчинів при 670 нм;

4.2. у %, розраховують за формулою: $X = (C * V * 100) / V_1 * m$, де C – кількість цукрів в усьому об'ємі фільтрату, знайдене за калібрувальним графіком, побудованим за глюкозою, мг; V – об'єм фільтрату загальний, мл; V_1 – об'єм фільтрату, відібраний для аналізу, мл; m – маса наважки рослини, г.

Завдання 7. Техніка визначення вмісту протеїнів у рослинній сировині

Нижче наведено методику кількісної оцінки визначення протеїну у рослинах під назвою Лоурі в модифікації Міллера. *Принцип* цієї методики базується на реакції протеїнів рослин із реактивом, що містить суміш мідного купоросу ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$), тартрат калію-натрію тартрат, сегнетова сіль ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) та карбонат натрію (Na_2CO_3), внаслідок чого утворюється комплексна сполука фіолетового забарвлення (рис. 2.83).

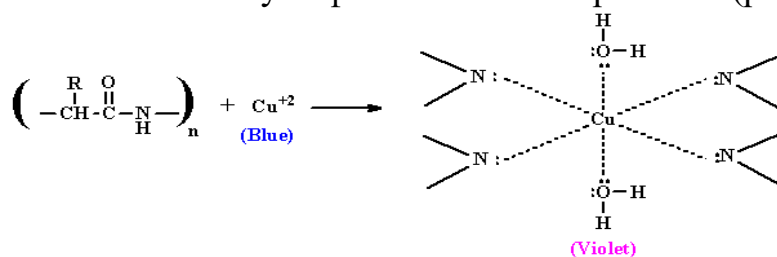


Рис. 2.83. Хімічна реакція між фільтратом з рослин та реактивом Фоліна

Хімічні реактиви для методики:

- 0,1 М буфер трис-гліциновий (рН8,3) – 1,2 г трисоксиметиламінометану і 5,8 г гліцину розчиняють в 1 л води;
- 0,01 М етилендіамінтетраоцетат (ЕДТА);
- 0,1 М КСl (калію хлориду);
- середовища виділення, що містить 0,1 М трис-НСl буфер, 0,01 М ЕДТА та 0,1 М КСl у співвідношенні 1:1:1;
- 10% ТХО (три хлороцтової кислоти);
- 96°C етиловий спирт;
- ефір етиловий концентрований;
- 0,1 Н NaOH (натрію гідроксиду);
- реактив «А» – 2% розчин Na_2CO_3 у 0,1 Н розчині NaOH;
- реактив «В» – 0,5% розчин $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ у 1 % розчині $(\text{CH}_3\text{НСOO})_2\text{NaK}$ (зважують у стакані 0,25 г $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ та розчиняють у 20 мл води, в окремому стакані зважують 0,5 г $(\text{CH}_3\text{НСOO})_2\text{NaK}$ та розчиняють у 20 мл

води. безпосередньо перед аналіз змішують розчини в емкості об'ємом 50 мл, додають 10 мл води;

– реактив «С» – 10 мл реактиву «В» змішують зі 100 мл реактиву «А»;

– реактив Фоліна – 100 г вольфрамату натрію ($\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) та 25 г молібдату натрію ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) розчиняють у 700 мл води, до суміші додають 50 мл 85 % H_3PO_4 та 100 мл HCl , кип'ятять вміст колби на протязі 10 годин із зворотнім холодильником у витяжній шафі. Після охолодження колби в неї вносять 150 г сернокислого літію, 50 мл води та 5 крапель бромної води, суміш кип'ятять ще 15 хв для видалення залишків бромиду, доводять до 1 л та фільтрують у скляну банку з притертою коркою, в якій розчин зберігається не менше 3-х років при концентрації 1 Н. Перед початком аналізу реактив Фоліна розводять у 6 разів до концентрації 0,165-0,167 Н.

Технологічні етапи даного методу визначення протеїнів у рослинній сировині здійснюються за охолодження лабораторного оснащення, приладів та розчинів хімічних реактивів, для чого використовують льод з емкості пластикові об'ємом 1,5 – 2 л, обрізані посередині, заповнені льодом з холодильної камери, який перед початком методики подрібнюють у пластикові полумиски.

Технологічні етапи проведення цієї методики наступні:

1) *екстракція протеїнів* із рослинного матеріалу – наважку рослинної сировини у кількості 0,2 г сухого чи 2 – 5 г сирого розтирають у ступці з 5 мл середовища виділення (рН 8,0 – 8,3), що містить 0,1 М трис- HCl буфер, 0,01 М ЕДТА та 0,1 М KCl , до однорідної маси, яку віджимають крізь 2 шари марлі у центрифужну пробірку об'ємом 10 мл, після цього додають 4 мл буферу, перемішують та заміряють об'єм розчину. Центрифужні пробірки із розчином поміщають у холодильник на 30 хв для екстракції протеїнів. Зразки центрифугують при 3000 об/ хв на протязі 15 хв;

2) *осадження протеїнів* здійснюють шляхом відбирання 3 мл центрифугату у пробірки об'ємом 10 мл, які попередньо витримують 15 хв в емкості із льодом та додають 6 мл 10 % охолодженої ТХО. Вміст пробірок перемішують та витримують 10 хв на льоді, після чого центрифугують при 1500 об/ хв на протязі 5 хв. Наосадову рідину зливають так, щоб не зкаламутити осад;

3) *промивання отриманого протеїнового осаду* від непротеїнових сполук шляхом додавання до нього 4 мл етилового спирту 96°C із наступним центрифугуванням при 1500 об/ хв на протязі 5 хв, надосадову рідину також зливають, а до осаду додають суміш етиловий спирт та ефір (1:1) та повторно центрифугують при 1500 об/ хв на протязі 5 хв. Розчинення осаду проводять у 2 – 5 мл розчину 0,1 Н NaOH та отримують рослинний препарат для наступного технологічного етапу аналізу;

4) проведення кольорової реакції – з розчину, отриманого розчиненням 2 – 5 мл 0,1 Н NaOH, відбирають 0,1 мл фільтрату та додають 0,9 мл води, потім вносять 1 мл реактиву «С» та залишають при кімнатній температурі 10 хв, після чого додають у пробірки по 3 мл реактиву Фоліна, розведеного у 6 разі перед початком аналізу, пробірки витримують на водяній лазні при температурі 50°C протягом 10 хв, охолоджують та колориметрують на ФЕЦі при довжині хвилі 750 нм (дослідні зразки). Вимірюють концентрацію протеїнів у дослідних зразках відносно контрольних зразків на ФЕЦі при довжині хвилі 750 нм.

Контрольні зразки готують наступним чином: у дві пробірки відбирають по 1 мл 0,1 Н NaOH, додають 1 мл реактиву «С» та залишають при кімнатній температурі 10 хв, після чого додають у пробірки по 3 мл реактиву Фоліна, розведеного у 6 разі перед початком аналізу, пробірки витримують на водяній лазні при температурі 50°C протягом 10 хв, охолоджують та колориметрують на ФЕЦі при довжині хвилі 750 нм;

5) розрахунок вмісту протеїну здійснюють за показниками концентрації стандартних зразків із використанням формули для розрахунку.

В якості стандарту для визначення вмісту протеїну у дослідних зразках використовують бичачий сироватковий альбумін (БСА), з якого готують стандартний розчин за умов розчинення у 0,1 Н розчині NaOH з концентраціями у діапазоні 15-300 мкг/мл. До кожної пробірки додають 1 мл реактиву «С» та залишають при кімнатній температурі 10 хв, після чого додають у пробірки по 3 мл реактиву Фоліна, розведеного у 6 разі перед початком аналізу, пробірки витримують на водяній лазні при температурі 50°C протягом 10 хв та колориметрують на ФЕЦі при довжині хвилі 750 нм. Згідно показань ФЕКу будують калібрувальний графік на міліметровому папері. Вміст протеїну (А, %) розраховують за формулою: $A = (C \cdot V \cdot k) / (V_1 \cdot m) \cdot 100\%$, де С – концентрація протеїну в зразку за калібрувальним графіком, мкг/мл; V – загальний об'єм витяжки, мл; V₁ – об'єм витяжки, взятий для аналізу, мл; m – наважка рослинного, мг; k- коефіцієнт розведення.

Завдання 8. Техніка визначення вмісту ліпідів у рослинній сировині

Тригліцериди містять більшу кількість метаболічної енергії, порівняно з іншими вищезазначеними класами ліпідів, тому, в якості тренінгу, наведемо методику кількісної оцінки визначення тригліцеридів у рослинному матеріалі за періодатнофенінгідразиним методом. *Принцип* цієї методики базується на реакції окиснення гліцерину періодатом натрію з утворенням формальдегіду із наступною взаємодією останнього із фенілгідразиним у кислому середовищі.

Хімічні реактиви для методики:

–суміш хлороформ: метанол у співвідношенні 2:1 за об'ємом;

- 0,5 М розчин калія хлориду (KCl);
- 4 % спиртовий KOH (калію гідроксиду);
- 3,8 % розчин MgSO₄ • 7H₂O (магнію сульфату);
- 1 М розчин H₂SO₄ (сульфатної кислоти);
- 2,25% розчин Na₂JO₄ (періодату натрію);
- 5 Н розчин HCl (соляної кислоти);
- 1 % розчин C₆H₈N₂HCl (фенілгідразину солянокислого);
- 10 мг % розчин C₃H₈O₃ (гліцерину).

Технологічні етапи проведення цієї методики наступні:

1) *екстракція приготування ліпідного екстракту.* Зважують у ступці 2 – 6 г рослинної наважки, подрібнюють ножицями, додати 5 мл суміші хлороформ:метанол. Переливають у мірні пробірки та ретельно перемішують та витримують у водяній лазні при температурі 35 °С на 30 хв. та перемішувати скляною паличкою через кожні 5 хв. Після цього переливають надосадову рідину у мірну колбу на 25 мл. До осаду у пробірках додають двічі по 5 мл, після кожного разу ставити пробірки у водяну лазню та поєднують екстракти у мірній колбі на 25 мл, об'єм екстракту доводять до риски;

2) *розділення фаз* – ліпідно-хлороформної та водно-метальної – в іншу мірну пробірку або прилад для розділення вносять 10 мл отриманого екстракту, додають по 1–3 мл 0,5 М розчину KCl, перемішують скляною паличкою та залишають за кімнатної температури на 20 хв. для розділення фаз: верхня фаза – водно-метанольна, середня фаза – протеїново-вуглеводнева, нижня фаза – ліпідно-хлороформена. Шприцем скляним із довгою голкою обережно відділити нижню фазу – ліпідно-хлороформну фазу, заміряють її об'єм та вносять у склянку із темного скла;

3) *проведення кольорової реакції* – відбирають 0,5 мл розчину у фарфорову ступку та випарюють хлороформ, після чого вносять 0,6 мл 4 % розчину KOH, перемішують скляною паличкою, яку промивають 0,2 мл цього розчину, та витримують ємкості на водяній лазні на протязі 1 год. за температури 30°C, вносять по 1,0 мл 3,8% розчину MgSO₄ • 7H₂O та по 3,0 мл дистильованої води, центрифугують 15 хв. За 3000 об/хв. Відбирають по 1,0 мл розчину, до нього вносять по 1,0 мл 1 М розчину H₂SO₄ та 0,2 мл 2,25% розчину Na₂JO₄, перемішують та залишають у темряві на 10 хв. Додають 0,5 мл 1% розчину C₆H₈N₂HCl та залишають у темряві на 20 хв. Для розвитку забарвлення, яке через цей час фіксують шляхом внесення 3 мл 5 Н розчину HCl. та колориметрують на ФЕЦі при довжині хвилі 530 нм (*дослідні зразки*). Вимірюють концентрацію протеїнів у дослідних зразках відносно контрольних зразків на ФЕЦі при довжині хвилі 750 нм.

Контрольні зразки готують наступним чином: у дві пробірки вносять 0,6 мл 4 % розчину KOH, перемішують скляною паличкою, яку промивають 0,2 мл цього розчину, та витримують ємкості на водяній лазні на протязі 1

год. за температури 30°C, вносять по 1,0 мл 3,8% розчину $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ та по 3,0 мл дистильованої води, центрифугують 15 хв. За 3000 об/хв. Відбирають по 1,0 мл розчину, до нього вносять по 1,0 мл 1 М розчину H_2SO_4 та 0,2 мл 2,25% розчину Na_2JO_4 , перемішують та залишають у темряві на 10 хв. Додають 0,5 мл 1% розчину $C_6H_8N_2HCl$ та залишають у темряві на 20 хв. Для розвитку забарвлення, яке через цей час фіксують шляхом внесення 3 мл 5 Н розчину HCl , та колориметрують на ФЕЦі при довжині хвилі 530 нм;

4) *розрахунок вмісту тригліцеридів здійснюють за показниками концентрації стандартних зразків, після чого використовують формулу для розрахунку.*

В якості стандарту для визначення вмісту тригліцеридів у дослідних зразках використовують гліцерин, з якого готують стандартний розчин за умов розчинення у дистильованій з концентраціями у діапазоні 0,197 -1,37 мкг/мл. Відбирають по 0,1 мл розчину кожної концентрації гліцерину, після чого вносять 0,5 мл 4 % розчину KOH , перемішують скляною паличкою, яку промивають 0,2 мл цього розчину, та витримують ємкості на водяній лазні на протязі 1 год за температури 30°C, вносять по 1,0 мл 3,8% розчину $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ та по 3,0 мл дистильованої води, центрифугують 15 хв. За 3000 об/хв. Відбирають по 1,0 мл розчину, до нього вносять по 1,0 мл 1 М розчину H_2SO_4 та 0,2 мл 2,25% розчину Na_2JO_4 , перемішують та залишають у темряві на 10 хв. Додають 0,5 мл 1% розчину $C_6H_8N_2HCl$ та залишають у темряві на 20 хв. Для розвитку забарвлення, яке через цей час фіксують шляхом внесення 3 мл 5 Н розчину HCl , та колориметрують на ФЕЦі при довжині хвилі 530 нм Згідно показань ФЕКу будують калібрувальний графік на міліметровому папері. Вміст тригліцеридів у рослинній сировині (А, %) розраховують за формулою: $A = (E \cdot V) / (0,0643 \cdot V_1 \cdot 1000 \cdot m) \times 100\%$, де Е – екстринкція дослідного зразку, мкг/мл; V – загальний об'єм витяжки, мл; V_1 – об'єм витяжки, взятий для аналізу, мл; m – наважка рослинного матеріалу, мг.

Частина III. ХІМІЧНІ ПРОЦЕСИ ЯК КРИТЕРІЇ ФОРМУВАННЯ ПРОДУКТИВНОСТІ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ ТА МЕТОДИ ОЦІНКИ ІНТЕНСИВНОСТІ ЇХ ПЕРЕБІГУ

- 3.1. Основи метаболізму рослин та принципи його регуляції при формуванні продуктивності рослинної сировини
- 3.2. Ензими рослин як критерії формування продуктивності рослинної сировини
- 3.3. Фотосинтез та дихання рослин як критерії формування продуктивності рослинної сировини
- 3.4. Взаємоперетворення біомолекул рослин при формуванні продуктивності рослинної сировини

3.1. Основи метаболізму рослин та принципи його регуляції при формуванні продуктивності рослинної сировини

Метаболізм рослин, або обмін речовин – це сукупність усіх послідовних, координованих та контрольованих змін (ензиматичних та/або неензиматичних) у складі біомолекул, що відбуваються у двох протилежних процесах – *синтезі* (анаболізмі або асиміляції) і *розщепленні* (катаболізмі або дисиміляції) хімічних сполук.

Координація і контроль метаболічних процесів у рослинах відбувається за участі біомембранної, генетичної та фітогормональної систем

Метаболізм рослин здійснюється за участю *енергії*, яка у синтетичних реакціях – використовується, а у реакціях розщеплення – вивільнюється.

Енергія у клітинах рослин міститься у фосфорильованих нуклеотидах – нуклеотидах, до яких приєднана фосфатна група

На рис. 3.1 зображено *енергетичні* взаємозв'язки між протилежними стадіями метаболізму: енергія, вивільнена у ході катаболічних процесів, використовується для анаболічних процесів: $ADP + HPO_4^{2-} \leftrightarrow ATP, NAD^+ \leftrightarrow NADH_2, NADPH_2 \leftrightarrow NADP^+, FADH_2 \leftrightarrow FAD$.

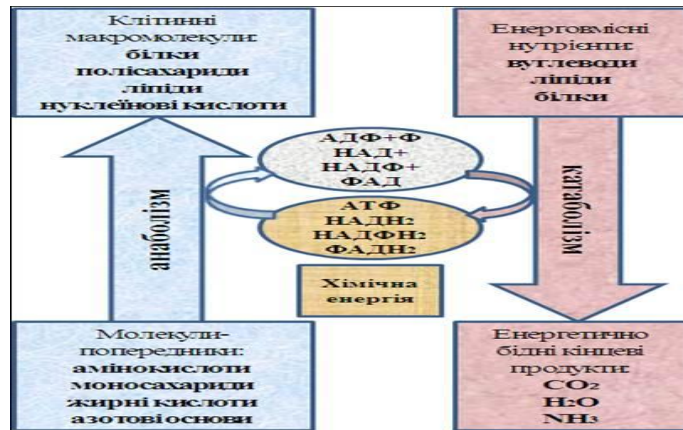


Рис. 3.1. Енергетичні взаємозв'язки між катаболічними та анаболічними шляхами метаболізму.

Примітка: у тексті Ф позначений як HPO_4^{2-} , а НАДН_2 , НАДФН_2 , ФАДН_2 – на латині)

Метаболічні шляхи можуть бути прямими, розгалуженими, циклічними або спіральними (рис. 3.2) та закінчуються утворенням відповідних сполук – метаболітів.

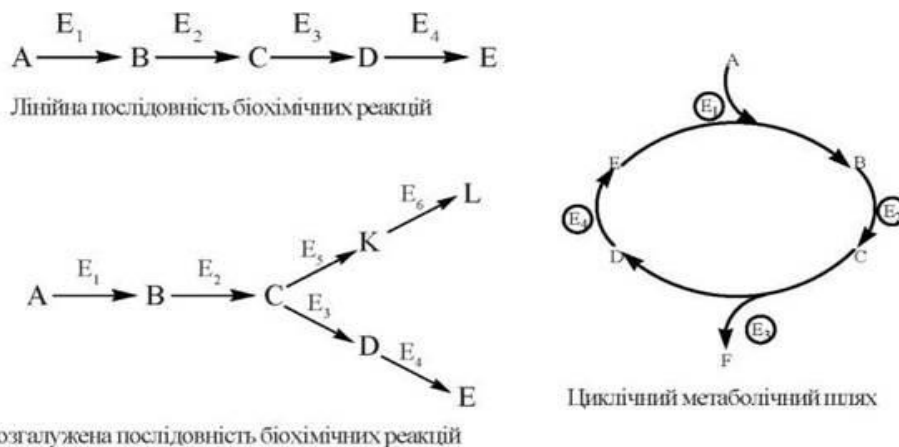


Рис. 3.2. Схема типів напрямку метаболічних шляхів у рослинах

У табл. 3.1 наведено приклади метаболічних шляхів у рослин.

Таблиця 3.1 – Назва та приклад метаболічного шляху у рослинах

Назва метаболічного шляху	Приклад метаболічного шляху
Лінійний	Гліколіз
Розгалуджений	Гліоксилатний цикл
Циклічний	Цикл трикарбонних кислот
Спіральний	Окиснення жирних кислот

Більша частина метаболічних процесів рослин здійснюється в *ензиматичних* реакціях за участю ензимів – високоспецифічних протеїнів, щонають високу специфічність до відповідних субстратів, діють у певній

послідовності, прискорюють сотні реакцій перетворення біомолекул – у 10^5 – 10^{17} разів швидше, порівняно із *неензиматичними*.

Однчасне утворення і розщеплення біомолекул призводило б до даремного витрачання енергії у рослині, тому для запобігання цьому в клітині є механізми взаємного регулювання послідовності метаболічних шляхів: у випадку активування синтетичних реакцій – реакції розщеплення пригнічуються.

Хоча процеси синтезу і розпаду, наприклад, піруват \leftrightarrow глюкоза, відбуваються за участі одних і тих же ензимів, проте останні локалізуються у різних клітинних компартментах клітини: β -розщеплення жирних кислот відбувається у мітохондріях та пероксисомах, тоді як їхній синтез – у цитозолі. До неензиматичних реакцій належать перетворення коензимів, які за хімічною структурою належать до нуклеотидів, а також водонерозчинних вітамінів.

У табл. 3.2 наведено метаболічні цикли вуглеводів, ліпідів та амінокислот у клітинах рослин.

Таблиця 3.2 – Метаболічні цикли вуглеводів, ліпідів та амінокислот у клітинах рослин

<i>Цикл</i>	<i>Біохімічна суть</i>
<i>Дихання</i>	
Окиснювальне фосфорилування	Синтез АТФ
Цикл трикарбонових кислот	Ацетил-СоА \rightarrow 2 CO ₂
<i>Розщеплення вуглеводів</i>	
Гліколіз	Глюкоза \rightarrow піруват
Молочно-кисле бродіння	Глюкоза \rightarrow лактат + АТФ
Надходження гексоз у гліколіз	Фруктоза, маноза, галактоза \rightarrow глюкозо-6-фосфат
Піруватдегідрогеназна реакція	Піруват \rightarrow ацетил-СоА
Петозофосфатний цикл	Глюкозо-6-фосфат \rightarrow пентозофосфати + NADPH
<i>Синтез вуглеводів</i>	
Глюконеогенез	Проміжні сполуки циклу трикарбонових кислот \rightarrow глюкоза
Синтез фосфоцукрів	Глюкозо-6-фосфат \rightarrow глюкозо-1-фосфат \rightarrow глікоген
Гліоксилатний цикл	Ацетил-СоА + NAD ⁺ \rightarrow сукцинат + NADH ₂ + СоА
Глюкозо-аланіновий цикл	Глюкоза \rightarrow піруват \rightarrow аланін \rightarrow глюкоза
<i>Розщеплення ліпідів</i>	
β -окиснення жирних кислот	Жирні кислоти \rightarrow ацетил-СоА
Окиснення фітостеринів	β -гідроксибутират \rightarrow ацетил-

	CoA → CO ₂ у циклі трикарбонних кислот
Гліюксилатний цикл	Ліпіди → вуглеводи
<i>Синтез ліпідів</i>	
Синтез жирних кислот	Ацетил-CoA → жирні кислоти
Синтез триацилгліцеролів	Ацетил-CoA → жирні кислоти → триацилгліцероли
Синтез фосфоліпідів	Жирні кислоти → фосфоліпіди
<i>Метаболізм амінокислот та нуклеотидів</i>	
Розщеплення амінокислот	Амінокислоти → ацетил-CoA → проміжні сполуки циклу трикарбонних кислот
Синтез амінокислот	Проміжні метаболіти → амінокислоти
Синтез нуклеотидів	Амінокислоти → пурини, піримідини

Метаболічні процеси у рослинах регулюються на клітинному та міжклітинному рівнях.

У рослинах виділяють два основних взаємопов'язаних принципи регуляції метаболізму:

- клітинна регуляція: мембранна та генетична;
- позаклітинна, або міжклітинна: біосигналізуюча та фітогормональна.

Мембранна регуляція полягає в участі біомембран клітин рослин у хімічних перетвореннях. Як обговорювалось раніше, біомембрани вкривають внутрішньоклітинні органели (ядро, ендоплазматичний ретикулум, мітохондрії, хлоропласти), а також усі поверхню кожної клітини рослин (див. рис. 1.2), до їх біохімічних властивостей належать:

1) *бар'єрна* – мембрани визначають зовнішні межі клітин рослин, а також розділяють внутрішній об'єм клітини на окремі ділянки, розмежовуючи у такий спосіб їхні компоненти та біохімічні процеси, що в них відбуваються;

2) *транспортна* – мембрани регулюють рух або переміщення, хімічних сполук (як органічних, так і неорганічних) через клітину та позаклітинне середовище, а також між внутрішньоклітинними органелами та внутрішньоклітинним середовищем.

Рух хімічних сполук через біомембрани залежить від їх хімічного походження, для однієї і тієї ж сполуки існують наступні напрями транспорту (рис. 3.3): уніпорт – транспортується одна сполука; симпорт – дві сполуки у спільному напрямку; антипорт – дві сполуки у протилежних напрямках.

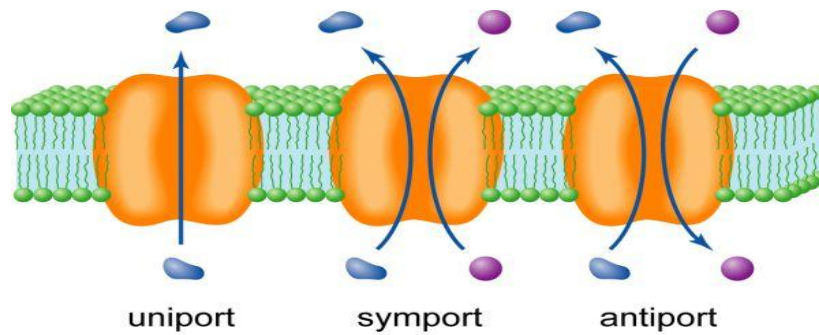


Рис. 3.3. Напрями транспорту сполук через біомембрани

Переміщення хімічних сполуку рослинах здійснюється за участі специфічних мембранних протеїнів, що пронизують подвійний шар ліпідів – транспортерів або пермеаз, – двома основними шляхами (рис. 3.4):

– за градієнтом концентрації – пасивний транспорт – шляхом простої дифузії, за участі комплексу протеїн-каналу або протеїн-переноснику, а також за умов полегшеної дифузії;

– проти градієнту концентрації – активний первинний або вторинний транспорт) – за участі енергії у вигляді АТФ – через помпи, або насоси, причому рух хімічних сполук усередину клітини за цим шляхом транспортування має назву ензоцитоз (піно- або фагоцитоз), а назовні – екзоцитоз.

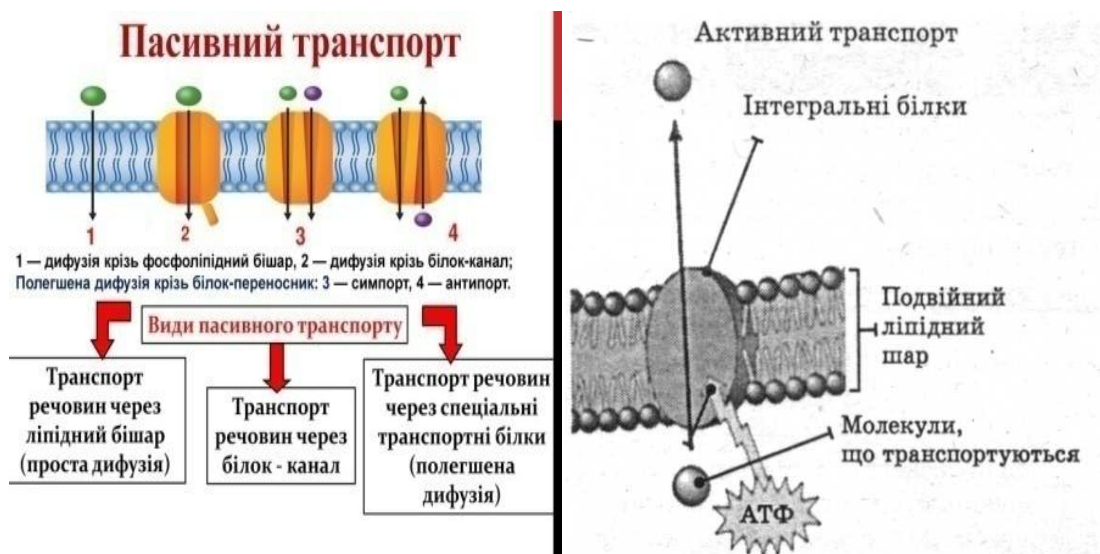


Рис. 3.4. Шляхи транспорту хімічних сполук через біомембрани клітини у рослинах

3) *контактна* – взаємодія між хімічними сполуками як усередині клітини, так між клітинами.

Клітини рослин постійно обмінюються між собою інформацією щодо динаміки вмісту в них хімічних сполук та активності ензимів завдяки наявності специфічних протеїнів-рецепторів на зовнішньому

боціплазматичних мембран (рис. 3.5), наслідком чого є формування хімічної відповіді у вигляді метаболічних змін.

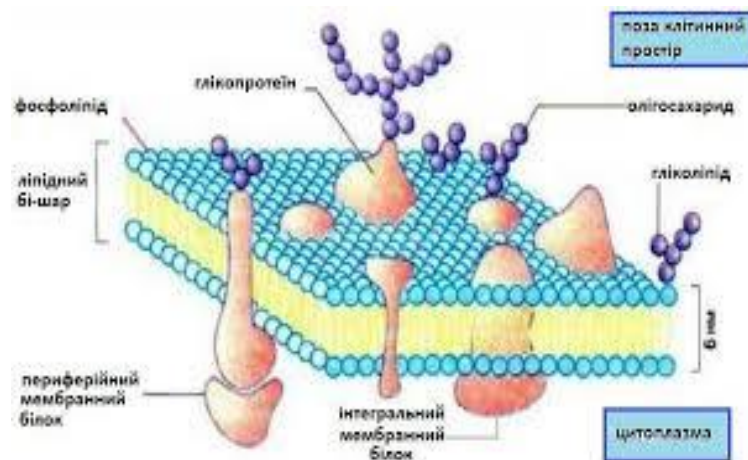


Рис. 3.5. Зовнішня біомембрана як місце локалізації рецепторів хімічних позаклітинних сигналів у рослинах

Генетична, або інформаційна, регуляція метаболізму рослин полягає у перетворенні нуклеїнових кислот (ДНК та РНК) та реалізації генетичного матеріалу (послідовності нуклеотидів), що здійснюється в ядрі, цитозолі та рибосомах клітини у наступній послідовності:



Як раніше згадувалось, головною одиницею інформації щодо послідовності, що міститься (або є закодованою) в *хромосомах* ДНК рослин, необхідною для синтезу протеїнів, – є *ген*. У хромосомах ДНК налічується тисячі генів, поєднаних міжгенними ділянками: ділянки ДНК, що беруть участь у передаванні генетичної інформації, мають назву екзони, а ті, що не беруть – інтрони. У нуклеотидних послідовностях ДНК закодована генетична інформація про первинні структури РНК та протеїнів. Існує три основних біохімічних процеси пов'язаних із передаванням генетичної інформації у клітинах – реплікація, транскрипція та трансляція.

До біохімічних механізмів генетичної регуляції метаболізму у клітинах рослин належать:

- 1) метаболізм ДНК;
- 2) метаболізм РНК;
- 3) метаболізм протеїнів.

Біосигналізувальна регуляція метаболізму включає набір механізмів за допомогою яких координується клітинний цикл рослин.

Процес передавання позаклітинної хімічної інформації має назву трансдукція

Позаклітинна трансдукція підпорядковується *фітогормональному принципу* метаболізму рослин, який полягає в перебігу метаболічних процесів та способів їхнього регулювання за участю фітогормонів або сполук фітогормональної дії на рівні різних типів тканини рослин. Здатність клітини рослин адекватно відповідати на позаклітинні сигнали на різних стадіях клітинного циклу є основою їх гомеостазу, а порушення цього процесу призводять до патологічних метаболічних станів. Трансдукція молекулярних сигналів із позаклітинного середовища усередину клітини є надзвичайно специфічним процесом – специфічність досягається завдяки високій відповідності (комплементарності) сигнальних сполук та рецепторів.

Хімічні сполуки, що сприймають позаклітинні сигнали та передають їх усередину клітин рослин, мають загальну назву «трандуктори»

Реалізація позаклітинних хімічних сигналів у клітині рослин здійснюється у три стадії:

- сприйняття – розпізнавання сигналу клітиною-мішенню;
- передача – перетворення позаклітинного сигналу;
- відповідь – динаміка швидкості перебігу хімічних реакцій.

У рослинах трансдуктори поділяються на наступні головні типи:

- рецепторні ензими та рецепторні протеїни.

Один з типів рецепторних ензимів має назву МАРК (*Mitogen-activated Protein Kinase*), тобто мітоген активованих ензимів *протеїнкіназ*, які чутливі до наявності амінокислот *Ser* і *Thr*.

Мітогенами називають позаклітинні сигнали, що викликають мітоз та поділ клітин рослин

Ензими протеїнкінази здійснюють реакцію фосфорилування специфічних протеїнів у точно визначені інтервали часу, тобто поділ клітини рослин є регульованим. Ці ензими складаються з регуляторної субодиниці – цикліну та каталітичної субодиниці – циклінозалежної протеїнкінази (ЦЗК, від англ. CDK, *-dependent Protein Kinase*).

Регулювання клітинного циклу ензимами протеїнкіназами є кінцевим результатом біосигналізуючого принципу метаболізму у рослинах

Існує чотири механізми регулювання активності ензимів протеїнкіназ: фосфорилування чи дефосфорилування, розщеплення та синтез циклінів й ЦЗК, а також дія ЦЗК-інгібіторних протеїнів.

Клітинний цикл рослин відбувається не у хромосомах, а стосується всієї клітини

До іншого типу рецепторних ензимів належить ензим гуанілатциклаза, що здійснює синтез циклічного GMP (гуанозинмонофосфату) із GTP (гуанозинтрифосфату), причому суттєво відмінним типом гуанілатциклази є ензим NO-синтеза, що здійснює перетворення амінокислоти аргініну за допомогою NADPH за наявності іонів Ca^{2+} до аміду цитруліну. До рецепторних протеїнів належить кальмодулін, який чутливий до, так званих, «вторинних месенджерів» трансдукції – іонів Ca^{2+} , який функціонує також як інтегральна субодиниця ензимів родини Ca^{2+} -кальмодулінозалежних протеїнкіназ (CaM-кіназа I-IV).

У рослинах також наявна двокомпонентна система реагування на фітогормон етилен ($\text{CH}_2=\text{CH}_2$), – Ser-Thr-протеїнкіназа, яка належить до RLK(від аггл. *Receptor-Like-Kinases*), тобто рецептороподібних кіназ, у цитоплазматичній мембрані.

Сигнали від пептидів та брасиностероїдів передають рецептороподібні протеїнкінази, що каталізують реакцію перенесення фосфорильної групи від ATP до протеїнів

Загалом, до цієї групи протеїнів належать більше 30 ензимів та 80 пептидів, а також похідні ароматичних амінокислот;

– фітостероїдні рецептори до яких належать фітогормони жасмонова кислота, індоліл-3-оцтова кислота та брасинолід;

– воротні, або керовані, канали зовнішньої біомембрани, які у відповідь на різноманітні подразники забезпечують регульований шлях до переміщення неорганічних іонів: K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- .

Кінцевим підсумком дії трансдукторів рослин є підвищення транскрипції специфічних генів;

4) *репаративна* – мембрани відновлюють свою цілісність після порушення, завдяки чому в процесі функціонування дві мембрани можуть:

- злипатися в процесі адгезії;
- ділитися – в процесі поділу.

Мембрани здатні утримувати хімічні сполуки всередині клітини рослин та, водночас, забезпечувати виділення останніх з клітини

Також, за тривалої дії на рослини концентрації розчинів препаратів – гіпертонічних, ізотонічних або гіпотонічних – відбуваються зміни структури клітин рослин, що є наслідком молекулярних модифікацій їхніх мембран (рис. 3.6).

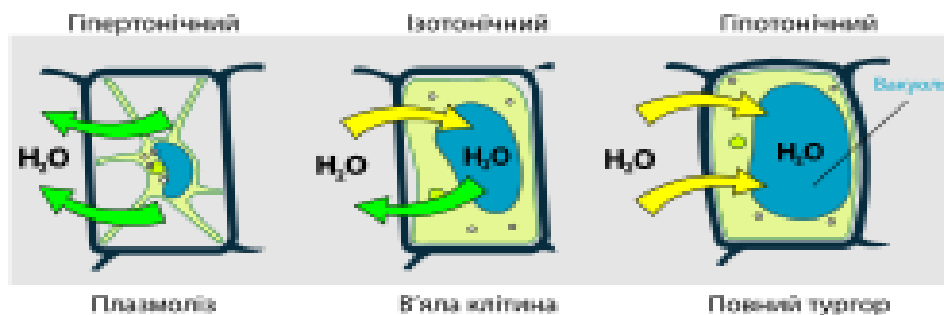


Рис. 3.6. Структурні зміни клітинних мембран рослин залежно від концентрації розчинів хімічних препаратів

Трансдуктори позаклітинних сигналів у рослинах за хімічним походженням є похідними поліпептидів, ліпідів, цукрів та нуклеотидів останніх.

3.2. Ензими рослин як критерії формування продуктивності рослинної сировини

Ензими (інша назва "ферменти") – каталізатори або прискорювачі більшості хімічних реакцій, що забезпечують відповідні метаболічні процеси – ензиматичні. Каталіз ензимів – це зміна швидкості хімічної реакції як у бік синтезу так й розщеплення хімічних сполук.

Ензими впливають на швидкість відповідних хімічних реакцій у рослинах, а не на їхню рівновагу

Рівновага хімічної реакції – це метаболічний стан, при якому концентрація субстратів, реагентів та продуктів ензиматичної реакції не змінюється. Ензими, кількісно не змінюючись, суттєво підвищують швидкість специфічних хімічних реакцій.

Ензими мають визначну *специфічність* по відношенню до субстратів ензиматичної реакції.

Субстрат ензиматичної реакції – це сполука, яка підлягає каталітичній дії ензиму

Продукт ензиматичної реакції – це сполука, яка утворюється в результаті каталітичної дії ензиму

Під «специфічністю» розуміють здатність кожного ензиму розрізняти специфічні субстрати для своєї реакції, а також каталізувати перетворення одного або групи подібних за будовою субстратів. Існує декілька видів специфічності ензимів:

- *абсолютна* – властивість ензиму каталізувати перетворення лише одного субстрату;
- *відносна* – властивість ензиму каталізувати перетворення подібних за будовою субстратів;
- *стерео специфічність* – властивість ензиму каталізувати перетворення стереоізомерів одного стереохімічного ряду.

Кожен ензим каталізує специфічну реакцію, тому для функціонування кожної клітини необхідні тисячі ензимів. Різноманітність ензимів, їхня специфічність до регуляторних впливів зумовлюють здатність клітин вибірково знижувати активаційні бар'єри, що важливе для ефективного регулювання клітинних процесів. Функціонування ензимів забезпечується специфічними умовами, у яких необхідні реакції відбуваються з великою швидкістю. Наприклад, тріозофосфатізомераза прискорює перебіг відповідної хімічної реакції у 10^9 разів, сукциніл-СоА-трансфераза – 10^{13} разів і т.д.

Енергія зв'язування постачає енергію для каталізу та визначає також специфічність ензиму

Під дією численних слабких взаємодій з субстратом, що виникають у разі його зв'язування, конформаційних змін зазнає і сам ензим – це явище називають *індукованою відповідністю*. Механізм цього явища запропонував Даніел Кошланд у 1958 р. Індукована відповідність забезпечує оптимальне для ефективного каталізу розташування специфічних функціональних груп ензиму.

Офіційною одиницею ензимів у системі СІ є катал(кат) – це така кількість ензиму, яка каталізує перетворення 1 моль субстрату реакції за 1 с.

Катал показує досить високу ензиматичну активність, яка при сучасному аналізі рослин виявити не можливо, тому активність ензимів на практиці виражають в частках катал – мікрокатал (мккат), нанокатал (нкат).

Широке розповсюдження має також позасистемна одиниця *E (U)* – це така кількість ензиму, яка за оптимальних умов каталізує перетворення 1 мкмоль субстрату за 1 хв (мкмоль /хв.).

Питома активність ферменту – це кількість одиниць ензиму у перерахунку на 1 мг протеїну в ензиматичному препараті або числом кат на 1 мг протеїну.

Молекулярна або стандартна активність ензиму – це кількість молекул субстрату, яка перетворюється 1 молекулою ензиму за 1 хв. ензиматичної реакції.

Існують загальні принципи кількісного визначення активності ензимів:

- за швидкістю накопичення у реакційному середовищі продукту реакції;
- за швидкістю зменшення вмісту субстрату реакції в реакційному середовищі.

Визначення активності ензимів рослин, зазвичай, здійснюють за температури не більше 35 °С.

Кількість ензиму в клітині визначається швидкостями його синтезу і розпаду. Оскільки ці два процеси, зазвичай, контролюються різними ензимами у клітині та позаклітинному середовищі рослин, то можливе здійснення тонкої незалежної регуляції процесів синтезу та розпаду ензимів.

У структурі ензимів беруть участь дві частини – *протеїнова* та *непротеїнова*.

Усі відомі ензими належать до протеїнів, за винятком кількох РНК (рибонуклеїнових кислот) які мають каталітичну активність.

<p><i>Апоензим або апофермент</i>, – протеїновий компонент складного ензиму</p>

Амінокислотну одиницю у складі пептиду часто називають *залишком* – це частина амінокислоти, що залишилась після втрати атома H^+ в аміногрупі (NH_2) і $-OH^-$ в карбоксильній групі ($COOH$).

Деякі апоензими складаються з поліпептидних ланцюгів – *мультиензимних комплексів*, які є надмолекулярними структурами, ми розглянемо їх нижче.

Ензими залежно від їх хімічної структури поділяються на прості та складні:

– *прості ензими* (однокомпонентні, ензими-протеїни) – представлені поліпептидними ланцюгами з амінокислотних залишків;

– *складні ензими* (двокомпонентні, ензими-протеїди) – мають протеїнову частину (апоензим) та непротеїнову (кофактор або коензим), причому наявність непротеїнової частини абсолютно необхідна для каталітичної активності.

У структурі будь-якого ензиму існують обмежені ділянки, своєрідні кишені ензиму, які безпосередньо забезпечують каталітичну реакцію (власне активний центр) або впливають на функціонування активного центру. Поверхня активного центру складається із залишків амінокислот, наприклад, гліцин (*Gly*), аланін (*Ala*), цистеїн (*Cys*), метіонін (*Met*) та ін.

Активний центр ензиму – ділянка його молекули, яка бере участь у зв'язуванні та каталізі субстрату, це структура, утворена при взаємодії розташованих поблизу амінокислотних залишків

У структурі активного центру ензимів рослин існує дві функціонально різні ділянки: ділянка для зв'язування субстрату та каталітична (рис. 3.7).

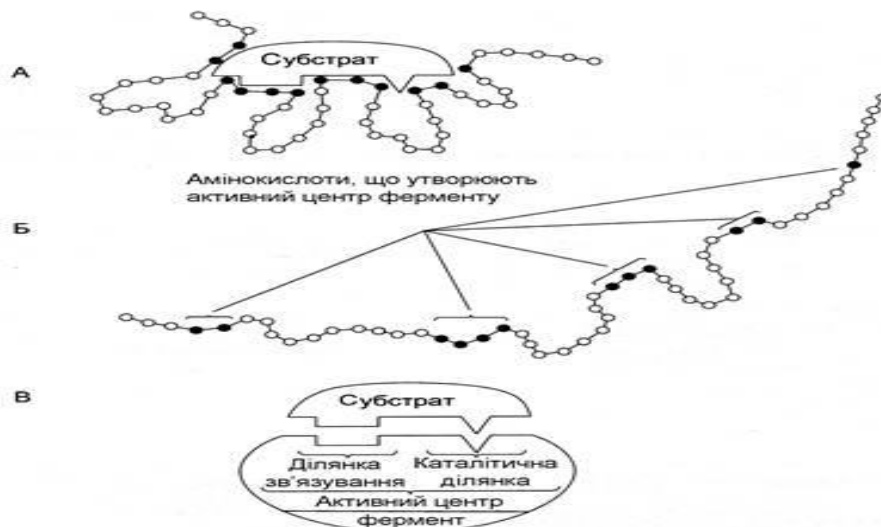


Рис. 3.7. Схематична взаємодія функціональних ділянок у молекулі ензиму

Під час утворення ензимосубстратного комплексу в безпосередній контакт із молекулою субстрату вступає обмежена кількість амінокислот поліпептидного ланцюга, тому виникло уявлення про активний центр ензиму. Крім того, у складі ензимів також виділяють контактні та допоміжні функціональні групи: перші беруть участь в утворенні активованого комплексу – це R-групи протейіногенних амінокислот, а другі – не беруть участі в активному каталізі, вони необхідні для утворення каркасу активного центру – це R-групи протейіногенних амінокислот.

Значна кількість ензимів рослин для свого функціонування потребує, крім, апоензиму, наявності непротейінових сполук – **кофакторів** чи **коензимів**, причому останні можуть зв'язуватися з апоферментом за участі простетичної групи. Так, у прояві каталітичної активності металоензимів важливу роль відіграють **іони металів** (Me), які належать до мінеральних сполук: Fe, Zn, Cu, Mo, Mn, Se, Mg, Ca. В табл. 3.3 наведено мікролементи, що входять до складу ензимів.

Іони металів складають непротейінову частину ензимів та беруть участь в багатьох біохімічних процесах – перенесенні функціональних груп, окисно-відновних процесах, гідролітичних

Металоензими – це складні ензими в яких іони Me беруть активну участь у здійсненні каталітичних процесів у рослинах, існує взаємна дія Me на апоензим і навпаки:

- апоензими, які здійснюють контроль за концентрацією іону Me, забезпечують включення останнього у відповідну ензиматичну систему;
- іони Me змінюють фізико-хімічні та функціональні властивості апоензиму.

Поряд з іонами металів, у ролі коензимів або кофакторів виступають **органічні низькомолекулярні речовини**. Зазвичай, органічні кофактори відіграють роль проміжних переносників атомів H^+ або e^- , а також функціональних груп, вони за біохімічними властивостями поділяються на такі групи:

1. Похідні нуклеотидів:

- піридинові дегідрогенази: *нікотинамідаденіндинуклеотид (NAD) і нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат (NADP)*;
- флавінові дегідрогенази: *флавінаденіндинуклеотид (FAD) і флавінмононуклеотид (FMN)*;

Таблиця 3.3 – Деякі ензими дегідрогенази, коензимами яких є NAD^+ , $NADP^+$, FMN, FAD

<i>Ензим</i>	<i>Коензим</i>
1	2
Ізоцитратдегідрогеназа	NAD^+
α -Кетоглутаратдегідрогеназа	NAD^+

Продовження табл. 3.3

1	2
Малатдегідрогеназа	NAD^+
Глутаматдегідрогеназа	NAD^+ або $NADP^+$
Гліцеральдегід-3-дегідрогеназа	NAD^+
Сукцинатдегідрогеназа	FAD
Ацил-СоА-дегідрогеназа	FAD
Дигідроліпоїлдегідрогеназа	FAD
Гліцерол-3-фосфатдегідрогеназа	FAD
NADH-дегідрогеназа (комплекс I)	FMN
Гліколатоксидаза	FMN

2. протеїни:

– *цитохроми* – коензими цитохромоксидази;

Виділяють три типи цитохромів, що містять Fe і компоненти дихального ланцюга рослин.

– *убіхінон*, або коензим Q – коензим дегідрогеназ дихального ланцюга мітохондрій;

Це протеїн, що містить ланцюг вуглеводню ізопрену, що переносить \bar{e} для утворення АТФ;

– *глутатіон*, або λ -L-глутаміл-L-цистеїніл гліцин – коензим гліоксилази;

Глутатіон є трипептидом, який існує у двох формах: окисненої – GSSG та відновленої – SH-SH, глутатіон у відновній формі бере участь у нейтралізації токсичного H_2O_2 , утвореного клітинами під час росту рослин;

– *ліпоєва кислота* або ліпоат – коензим α -кетоглутаратдегідрогеназного ензиматичного комплексу;

– *ферумпорфіринові протеїни*.

Указані протеїни містяться у мітохондріях клітин рослин, беруть участь в одній із стадій дихання – у перенесенні \bar{e} в електронтранспортному ланцюзі цих органел

3. похідні вітамінів:

– *тетрагідрофолієва кислота* (ТГРК) – відновлена форма фолієвої кислоти, яка переносить метильні групи ($-CH_3$) та групи з одним атомом Карбону, входить до складу ензимів *аланінамінотрансферази* й *аспартатамінотрансферази*. Тетрагідрофолієва кислота відіграє важливу роль в процесах катаболізму амінокислот та метаболізму нуклеотидів;

– *тіамінпірофосфат* (ТПР) – переносник альдегідних груп, який є похідним вітаміну B_1 . Тіамінпірофосфат входить до складу *піруват-* та *α -кетоглутаратдегідрогеназної*, *піруватоксидазної* і *2-оксоглутаратоксидазної* системи. Цей кофермент відіграє роль у реакціях розщеплення зв'язків, суміжних із карбоксильною групою, наприклад, у разі декарбоксілювання α -кетокислот, а також у реакціях хімічної перебудови, в яких активована альдегідна група переноситься від одного атома Карбону на інший. Функціонально активною частиною ТПР є тiazольне кільце, що містить H^+ , що зумовлює кислотні властивості молекули;

– *S-аденозилметіонін* є складовою частиною *метіонаденозилтрансферази*, складається з *Met*, та разом із ТГРК бере участь у перенесенні метильної групи ($-CH_3$) при розщепленні амінокислот;

– *коензим A* містить реакційно активну тіолову групу ($-SH$) та пантотенову кислоту, відіграє головну роль у перенесенні ацильних груп у ході численних метаболічних реакцій. Входить до складу ензимів, що беруть участь в синтезі жирних кислот у складі синтази жирних кислот: *ацетил-*

CoA-АПП-трансацетилаза, β-кетואцил-АПП-синтаза, малонін-CoA-АПП-трансфераза, β-гідроксиацил-АПП-дегідратаза, еноіл-АПП-редуктаза тощо;

– коензим B_{12} . – це кофакторна форма вітаміну B_{12} , що містить коринове кільце та атом Co^{3+} . Коензим B_{12} є кофактором *метилмалоніл-CoA-мутази* – ензиму, який каталізує реакцію перетворення L-метилмалоніл-CoA до сукциніл-CoA, що бере участь у розщепленні зв'язку Co-C, у перетвореннях рибонуклеотидів до 2-дезоксирибонуклеотидів;

– *піридоксальфосфат (ПР)* – це похідна сполука піридоксину або вітаміну B_6 , яка є простетичною групою *аланінамінотрансферази* та *аспартатамінотрансферази* – ключових ензимів азотного метаболізму, при цьому ПР переносить аміногрупи ($-NH_2$), а також цей коензим активує реакції за участю α - та β -вуглецевих атомів амінокислот (від C_2 до C_4);

– *біотин* – це коензим *піруваткарбоксилази* – ензиму, що каталізує реакцію перетворення пірувату на оксалоацетату циклі трикарбонових кислот, у цій реакції біотин є переносником HCO_3^- . Біотин також відіграє ключову роль в багатьох реакціях карбоксилювання, він функціонує як специфічний переносник одновуглецевих груп в їхній окисненій формі – у формі CO_2 . Перенесення одновуглецевих груп виконують також інші кофактори – тетрагідрофолієва кислота і S-аденозилметіонін;

3. Нуклеозидфосфати, які забезпечують перенесення фосфатних груп:

- аденозинтрифосфат (АТР),
- аденозиндифосфат (АДР),
- аденозинмонофосфат (АМР).

Отже, кофактори та коензими забезпечують каталітичну активність ензимів, що вказує на пріоритетну роль протеїнової частини ензиму у прояві його специфічності.

В основу міжнародної **класифікації ензимів** покладено тип хімічної реакції, яку даний ензим каталізує, тобто прискорює. Ензими поділяються на 6 основних класів, кожен з цих класів поділяється на підкласи, а останні – на підпідкласи. Це пояснюється тим, що у рослинах існують сотні ензимів у межах кожного з класів, проте, кожен з них має свої біохімічні особливості. Кожен ензим має свій шифр, який складається з 4-х цифр, розділених крапками. Перше число вказує до якого з шести класів належить ензим:

1. Оксидоредуктази.
2. Трансферази.
3. Гідролази.
4. Ліази.
5. Ізомерази.
6. Лігази (синтетази).

Друге число вказує на номер підкласу, третє – відповідає підпідкласу, а четверте – це конкретний ензим. Зазвичай, говорячи про конкретний фермент, користуються його тривіальною (робочою) або систематичною (раціональною) назвою. Наприклад, ензим із робочою назвою *алкогольдегідрогеназа* має систематичну назву алкоголь: NAD-оксидоредуктаза та шифр 1.1.1.1:

1. – даний ензим належить до 1-го класу ферментів (оксидоредуктази);
- 1.– даний ензим належить до 1-го підкласу (діє на СН-ОН групу);
1. – даний ензим належить до 1-го підпідкласу (акцептором є NAD) і має перший порядковий номер у класі.

1. Оксидоредуктази – це ензими, які каталізують окисно-відновні реакції, що відбуваються між двома субстратами, один з яких є донором, а інший – акцептором, вони поділяється на підкласи:

1.1. Оксидоредуктази, які діють на СН-ОН-групу.

Цей підклас містить оксидоредуктази, які діють на первинні, вторинні спирти інапівацеталі.

1.2. Оксидоредуктази, які діють на альдегідну або кетонну групу.

1.3. Оксидоредуктази, які діють на СН-СН -групу.

До цього класу віднесено ферменти, які каталізують утворення подвійного зв'язку в молекулі субстрату.

1.4. Оксидоредуктази, які діють на СН-NH₂ -групу.

У цей підклас входять оксидоредуктази, які впливають на розщеплення амінокислот.

1.5. Оксидоредуктази, які діють на СН-NH -групу.

До цього підкласу входять оксидоредуктази, що каталізують дегідрування вторинних амінів з утворенням подвійного зв'язку С=N.

1.6. Оксидоредуктази, які діють на NADH або NADPH.

До цього підкласу належать оксидоредуктази, які використовують NADH або NADPH для відновлення субстратів.

Згідно з тривіальною номенклатурою оксидоредуктази залежно від способу окислення субстрату поділяють на:

- *дегідрогенази*;
- *оксидази*;
- *оксигенази*;
- *пероксидази*.

До *дегідрогеназ* належать ензими, які каталізують окиснення субстрату шляхом відщеплення атомів Н⁺ або \bar{e} та перенесення їх на акцептори, окрім О₂.

Дегідрогенази – це двокомпонентні ензими, кофакторами яких є NAD, NADH, FAD, FMN.

Субстратами дегідрогеназ є оксикислоти, амінокислоти, спирти та вуглеводи. Якщо донор Н⁺ не встановлено, то такі дегідрогенази називають

редуктазами. Серед дегідрогеназ виділяють первинні та вторинні: первинні дегідрогенази здійснюють безпосереднє окислення субстратів, а вторинні забезпечують окиснення вторинних субстратів.

Оксидази, або аеробні дегідрогенази – це ензими класу оксидоредуктаз, які каталізують реакції перенесення H^+ або ена O_2 . Цитохромоксидаза відіграє роль у завершенні процесу дихання – евід відновленої форми цитохромоксидази переходять на O_2 з наступним утворенням H_2O . Наприклад, ензим поліфенолоксидаза, що бере участь у неензиматичному перетворенні фенольних сполук, належить до цього типу ензимів рослин.

Оксигенази – це ензими класу оксидоредуктаз, які каталізують процеси вільного окиснення субстратів шляхом приєднання двох атомів O_2 .

Пероксидази – це ензими класу оксидоредуктаз, які каталізують реакції окислення різних сполук за участі H_2O_2 . Їх субстратами є фенольні сполуки, аміни, жирні кислоти, деякі гетероциклічні сполуки. Поділяють пероксидази на:

- монооксигенази (приєднують до субстрату один атом O_2 , другий атом використовується на окиснення $NADPH_2$);
- діоксигенази (приєднують до субстрату два атома O_2).

До цього класу ензимів належать глютаматдегідрогеназа (ЕС 1.4.1.3), нітратредуктаза (ЕС 1.6.6.2), аскорбатоксидаза (ЕС 1.10.3.3), поліфенолоксидаза (ЕС 1.10.3.1), каталаза (ЕС 1.11.1.6), пероксидаза (ЕС 1.11.1.7), ліпоксигеназа (ЕС 1.13.11.12) та ін.

2. Трансферази – це ензими, які каталізують міжмолекулярне перенесення функціональних груп між сполуками, вони поділяються на підкласи:

- 2.1 – трансферази, що переносять метильні і карбоксильні групи;
- 2.2 – трансферази, що переносять альдегідні або кетонні групи;
- 2.3 – ацилтрансферази, що переносять кислотні групи;
- 2.4 – глікозилтрансферази, що переносять метильні і карбоксильні групи;
- 2.5 – трансферази, що переносять алкільні групи;
- 2.6 – трансферази, що переносять амінні групи;
- 2.7 – трансферази, що переносять сірковмісні групи.

До цього класу ферментів належать фосфорілаза (ЕС 2.4.1.1), сахаросинтеза (ЕС 2.4.1.13), аспартатамінотрансфераза (ЕС 2.6.1.1), аланінамінотрансфераза (ЕС 2.6.1.2), тирозинамінотрансфераза (ЕС 2.7.1.1) та ін.

3. Гідролази – це ензими, які каталізують реакції розщеплення внутрішньо молекулярних зв'язків органічних сполук за наявності H_2O , їх активність забезпечується залишками амінокислот та іонами Me , вони поділяється на пікласи:

- 3.1 – гідролази, що діють на складноестерні зв'язки або естерази;
- 3.2 – гідролази, що гідролізують глікозильні сполуки або глікозидази;
- 3.3 – гідролази, що діють на естерні зв'язки;
- 3.4 – гідролази, що діють на пептидні зв'язки;
- 3.5 – гідролази, що діють на С-N зв'язки, які відрізняються від

пептидних;

- 3.6 – гідролази, що діють на ангідрильні зв'язки;
- 3.7 – гідролази, що діють на С-С зв'язки;
- 3.8 – гідролази, що діють на зв'язок Карбону із галоїдом;
- 3.9 – гідролази, що діють на Р-N зв'язки;
- 3.10 – гідролази, що діють на S-N зв'язки;
- 3.11 – гідролази, що діють на С-З зв'язки.

До цього класу ензимів належать триацилгліцеролліпаза (ЕС 3.1.1.3), α -амілаза (ЕС 3.2.1.1), β -амілаза (ЕС 3.2.1.2) та ін.

4. Ліази – це ензими, які каталізують негідролітичне відщеплення від субстратів певної хімічної групи з утворенням подвійного зв'язку або приєднання групи за місцем розриву подвійного зв'язку. У деяких випадках ліази можуть здійснювати синтез сполук без використання енергії АТФ тому такі ензими називають синтазами. Вони поділяються на підкласи:

- 4.1 – ліази, що каталізують реакції розщеплення між атомами С-С;
- 4.2 – ліази, що каталізують реакції розщеплення між С-О;
- 4.3 – ліази, що каталізують реакції розщеплення між С-N;
- 4.4 – ліази, що каталізують реакції розщеплення між С-S;
- 4.6 – ліази, що каталізують реакції розщеплення між Р-О;

До цього класу ензимів належать ізоцитратліаза (ЕС 4.1.3.1), малатсинтаза (ЕС 4.1.3.2), рибулозодифосфаткарбоксилаза (ЕС 4.1.1.39), фосфоенолпіруваткарбоксикіназа (ЕС 4.1.1.49), аспартатамоніакліаза (ЕС 4.3.1.1) та ін.

5. Ізомерази – це ензими, які каталізують процеси внутрішньомолекулярних перетворень з утворенням ізомерів тобто реакції ізомеризації, вони поділяються на підкласи:

- 5.1. – епімерази й епімерази;
- 5.2 – цис-транс-ізомерази;
- 5.3 – внутрішньомолекулярні оксидоредуктази;
- 5.4 – внутрішньомолекулярні трансферази;
- 5.5 – внутрішньомолекулярні ліази;
- 5.6 – інші ізомерази.

До цього класу ензимів належать тіозофосфатізомераза (ЕС 5.3.1.1), метиласпартатмутаза (ЕС 5.4.99.1), S-метилмалоніл-CoA-мутаза (ЕС 5.4.99.2) та ін.

6. Лігази, або синтетази, – це ензими, що каталізують синтетичні реакції конденсації (сполучення) двох молекул із використанням енергії

макроергічних зв'язків АТФ або інших нуклеозидтрифосфатів. Якщо джерелом енергії для реакції є АТФ, то такі ензими називають *синтетазами*, а якщо джерелом енергії є не АТФ, а інша макроергічна сполука – *синтазами*. Лігази поділяються на підкласи:

- 6.1. – лігази, що утворюють зв'язок С-О;
- 6.2 – лігази, що утворюють зв'язок С-S;
- 6.3 –лігази, що утворюють зв'язок С-N;
- 6.4–лігази, що утворюють зв'язок С-С;
- 6.5–лігази, що утворюють фосфоестерний зв'язок.

До цього класу ензимів ацетил-СоА-синтетаза (ЕС 6.2.1.1), глутамінсинтаза (ЕС 6.3.1.2), піпуваткарбоксилаза (ЕС 6.4.1.1) та ін.

Залежно від локалізації у рослинній клітині ензими поділяються на: мітохондріальні, рибосомальні, ядерні, ферменти апарату Гольджі, хлоропластні, мікросомальні (пероксисомальні, олеосомні, гліоксимомні), вакуолярні, цитозольні, мембранні.

Треба зазначити, що кожен клас ензимів характеризується певним набором коензимів:

- кофактори *оксидоредуктаз* –NAD, NADP, FAD, FMN, металопорфірини, глутатіон, ліпоєва кислота;
- кофактори *трансфера з*– піридоксинові, пантотенові, нуклеотидні, кобамідні та фолієві.

Для класу *гідролаз* у рослин характерна відсутність коензимів, вони зв'язуються лише з іонами Me.

Кофакторами ензимів класу *ліаз* є піридоксальфосфат, пантотенові, тіамінові та кобамідні.

Ізомерази використовують як кофактори переважно піридоксальфосфат, кобамідні коферменти, фосфати моносахаридів та глутатіон.

Кофакторами ензимів класу *лігаз* є нуклеотидні, біотинові, фолієві.

Мультиензимні комплекси, або системи – це надмолекулярні ензимні структури, що каталізують послідовні перетворення субстратів, тобто єдиний багатостадійний процес біохімічних перетворень, зокрема, гліколізу, біосинтезу ряду амінокислот, окислення жирних кислот тощо.

Мультиензимні системи формуються на структурних компонентах клітини, внаслідок чого утворюються ділянки в яких відбувається окремий біохімічний процес. Мультиензимні системи структурно зв'язані із біомембранами – високоорганізованими структурами, що складаються з білків, ліпідів, вуглеводів та містять відповідні ензими, а також з певними органелами рослин – мікротільцями, рибосомами, мітохондріями тощо.

Існують три типи мультиензимних систем рослин:

1) мультиензимні комплекси (наприклад, піруватдегідрогеназний комплекс, α -кетоглутаратдегідрогеназний комплекс, нітрогеназний комплекс);

2) мультиферментні кон'югати (наприклад, синтаза жирних кислот, мультифункціональний протеїн);

3) мембранно зв'язані протеїни мультиферментних систем (наприклад, дихальний ланцюг, трифункціональний протеїн).

Піруватдегідрогеназний комплекс (ПДГ-комплекс) складається з численних копій трьох окремих ензимів – піруватдегідрогеназа (E_1), дигідроліпоїлтрансацилаза (E_2), дигідроліпоїлдегідрогеназа (E_3), а також п'ятьох коферментів (КоА, FAD, NAD, тіамініпрофосфат, ліпоат).

Піруватдегідрогеназа (E_1) каталізує декарбоксилювання пірувату з утворенням гідроксиетил-тіамініпрофосфату та окиснення останнього до ацетильної групи.

Дигідроліпоїлтрансацилаза (E_2) каталізує реакцію перенесення ацетильної групи на коензим А з утворення ацетил-СоА.

Дигідроліпоїлдегідрогеназа (E_3) каталізує реакцію генерації дисульфідної (окисненої) форми ліпоєвої кислоти

За суттю реакція, яку каталізує піруватдегідрогеназний комплекс, є окисним декарбоксилюванням – необоротним окисним процесом, у ході якого карбоксильна група (COOH) відщеплюється від пірувату у вигляді молекули CO₂, а дві молекули C перетворюються на ацетильну групу ацетил-СоА.

Цей комплекс є класичним прикладом мультиензимного комплексу у якому низка хімічних проміжних сполук пов'язана з ензимом до повного перетворення субстрату до продукту. У результаті злагодженої дії всіх трьох ензимів вказаний мультиензимний комплекс з величезною швидкістю здійснює перетворення піровиноградної кислоти до ацетил-СоА. Піруватдегідрогеназний комплекс подібний до двох інших мультиензимних комплексів – α -кетоглутаратдегідрогенази циклу трикарбонових кислот та дегідрогенази α -кетокислот із розгалуженим ланцюгом, яка бере участь в окисному катаболізмі амінокислот.

α -Кетоглутаратдегідрогеназний комплекс здійснює окиснення α -кетоглутарату до сукциніл-СоА, причому NAD⁺ відіграє роль акцептора електронів, а СоА – переносника сукцинільної групи. Вказана реакція практично ідентична до розглянутої вище піруватдегідрогеназної реакції. До цього комплексу входять три ензими, гомологічні ПДГ-комплексу, а також коферменти – КоА, FAD, NAD, тіамініпрофосфат, ліпоат.

Незважаючи на те, що E_1 -компоненти цих комплексів структурно подібні, їхні амінокислотні послідовності відрізняються і мають різну

специфічність для зв'язування субстратів: E_1 ПДГ-комплексу зв'язує піруват, а $E_1\alpha$ -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу – α -кетоглутарат. Компоненти E_2 обох комплексів також дуже подібні, оскільки містять ковалентно зв'язані ліпоїльні частини. У складі обох комплексів однаковими є і компоненти E_3 .

<i>Піруватдегідрогеназний</i>	<i>та</i>	<i>α-</i>
<i>кетоглутаратдегідрогеназний комплекс</i>	<i>функціонують</i>	<i>у</i>
<i>мітохондріях рослин в процесі циклу трикарбонових кислот</i>		

Нітрогеназний комплекс є висококонсервативним комплекс, функцією якого є забезпечення біологічного фіксування N. Головними компонентами цього комплексу є ензими *редуктаза* та *динітрогеназа*: ензим редуктаза динітрогеназа є димером, тобто складається з двох однакових субодиниць, містить один 4Fe-4S центр і два центри для зв'язування АТР, а динітрогеназа є тетрамером, тобто складається з двох копій двох різних субодиниць, а також 32 атомів Fe, 2 атомів Mo і 30 атомів S. Привертає увагу незвична роль АТР у цьому комплексі – забезпечення конформаційних змін ензиму редуктази динітрогенази.

Комплекс синтази жирних кислот. Цей мультиензимний комплекс каталізує біосинтез жирних кислот рослин, він містить сім активних центрів у семи окремих поліпептидах: *ацилпереносний протеїн*, *ацетил-CoA-АПП-транс ацетилаза*, *β -кетואцил-АПП-синтаза*, *малоніл-CoA-АПП-трансфераза*, *β -кетואцил-АПП-редуктаза*, *β -гідроксил-АПП-дегідратаза*, *еноїл-АПП-редуктаза*. Ацилпереносний протеїн (АПП) є протеїном, що переносить ацильну групу, кофактором якого є фосфопантетеїн, який ковалентно зв'язується з гідроксильною групою залишку амінокислоти *Ser*.

Комплекс дихального ланцюга. У дихальному ланцюзі існує чотири мультиензимних комплекси. Переносники e^- у дихальному ланцюзі організовані у надмолекулярні комплекси, які вбудовані у біомембрану і фізично розділені.

Комплекс I (NADH: убихінон-оксидоредуктаза) каталізує перенесення e^- від NADH до убихінону – це великий ензим, який складається із 42 поліпептидних ланцюгів, флавопротеїну, що містить FMN, і принаймні, шести ферум-сульфурних (Fe-S) центрів (кластерів).

Комплекс II (сукцинатдегідрогеназа) каталізує перенесення e^- від сукцинату до убихінону, цей комплекс складається з п'яти кофакторів та чотирьох простетичних одиниць (інтегральних протеїнів). Протеїни містять три ферум-сульфурних (2Fe-2S) кластери та флавопротеїн, що містить FAD та центр зв'язування субстрату – сукцинату.

Комплекс III (убихінон: цитохром *c*-оксидоредуктаза, або комплекс цитохромів bc_1) каталізує перенесення e^- від убихінону до цитохрому *c*–

протеїну, локалізованому у міжмембранному просторі. Цей комплекс є димером, мономері яких складаються з 11 протеїнів. Кожен мономер містить цитохром *b*, ферум-сульфурвмісний протеїн Ріске з 2Fe-2S-кластерами та цитохром *c*.

Комплекс IV (цитохромоксидаза) каталізує перенесення \bar{e} від цитохрому *c* на O_2 з відновленням H_2O . Цей ензим складається з 13 протеїнів, містить Cu-центр (купрум-зв'язуючу ділянку), в якому іони Cu знаходяться у комплексі з SH-групами залишків амінокислоти цистеїну, а також 2Fe-2S-кластери. Для перетворення O_2 на H_2O на кожні 4 \bar{e} , які проходять через цей комплекс, ензиму необхідне надходження 4 субстратів з матриксу.

Трифукціональний комплекс (ТФК). Цей комплекс є зв'язаний із внутрішньою мембраною мітохондрій, а також з мембраною пероксисом, він бере участь у процесі β -окиснення жирних кислот, якщо ацильний ланцюг останніх містить не менш дванадцяти вуглецевих атомів. Цей комплекс складається з трьох ензимів: *ацил-СоА-оксидази*, *еноїл-СоА-гідратази*, *гідроксил-ацил-СоА-дегідрогенази* як коензим виступає ацетил-СоА.

Регуляція активності ензимів може здійснюватися за такими генетично обумовленими механізмами:

I. *Шляхом зміни кількості молекул ензиму у клітині* – відбувається в період синтезу ензимів (синтетичний період);

Динаміка кількості молекул ензиму у клітині залежить від швидкості синтезу або деградації його апоензиму, що полягає у змінах інтенсивності біосинтезу протеїнів-ензимів, пов'язаних з генетичними принципами:

- синтезом первинних РНК-транскриптів (транскрипція);
- посттрансляційної модифікації мРНК;
- деградації мРНК;
- власного синтезу протеїнів (трансляції);
- посттрансляційної модифікації протеїнів;
- спрямування до місць призначення та транспортування протеїнів;
- деградації протеїнів.

Найефективнішим місцем регулювання активності ензимів є початок метаболічного шляху. Синтез протеїнів пов'язаний з надзвичайно великими витратами енергії, сьогодні, вчені продовжують відкривати складні, інколи несподівані регуляторні механізми. Гени, продукти яких потрібні клітині постійно, як, зокрема, гени ензимів центральних метаболічних шляхів, експресуються на більш чи менш стабільному рівні;

II. *Шляхом зміни каталітичної активності молекул ензимів* – відбувається в постсинтетичний період.

Цей шлях регулювання активності ензимів пов'язаний із наступними механізмами:

- алостеричним регулюванням;
- процесом ковалентної хімічної модифікації протеїнів;
- процесом часткового протеолізу протеїнів;
- зміною концентрації субстратів;
- продуктів та кофакторів ензиматичної реакції;
- процесами взаємодії протеїн-протеїн;
- впливом іонів металів на ензими.

Групи ензимів у клітинах рослин функціонують разом у послідовних реакціях, що забезпечує багатоступове ензиматичне перетворення біомолекул, наприклад, перетворення глюкози до лактату або синтез глюкози з простих попередників тощо. При цьому у кожному метаболічному шляху існують ензими які найбільше впливають на метаболічні процеси – регуляторні ензими.

***Регуляторні ензими** – ензими, здатні збільшувати або зменшувати швидкість ензиматичної реакції*

Зміна швидкості реакцій, що каталізуються регуляторними ензимами, а отже, і швидкості всієї послідовності хімічних перетворень дає змогу клітині коригувати потреби в енергії або біомолекулах, необхідних для росту й оновлення клітин рослин.

Існує особливий вид регуляторних ензимів – *алостеричні ензими* (ключові, або швидкість лімітуючі), за дії яких здійснюється алостеричне регулювання метаболічних процесів у рослинах.

***Алостеричні ензими** – це тип регуляторних ензимів, каталітична активність яких регулюється внаслідок зв'язування специфічного метаболіту не з активними, а з регуляторним центром в молекулі протеїну*

У більшості мультиензимних систем *ключові ензими*, як правило:

- каталізують першу реакцію багатостадійного хімічного процесу;
- володіють найменшою каталітичною активністю серед інших ензимів багатостадійного хімічного процесу.

Наприклад, до ключових ензимів азотного метаболізму належать – *аланінамінотрансфераза, аспаратамінотрансфераза*, метаболізму ліпідів – *ізоцитратліаза, малатсинтаза*, метаболізму вуглеводів – *фосфоенолпіруваткарбоксікіназа*.

Аланінамінотрасфераза – каталізує реакцію перенесення глутамату до пірувату у цитозолі клітин тварин
Аспаратамінотрансфераза – каталізує реакцію перенесення

аспартату до оксалоацетату у мітохондріях клітин тварин

Ізоцитратліаза – каталізує реакцію розщеплення ізоцитрату з утворенням сукцинату та гліоксилату у гліоксисомах клітин жуйних тварин

Малатсинтаза – каталізує реакцію конденсації гліоксилату з ацетил-СоА з утворенням малату у гліоксисомах клітин жуйних тварин

Фосфоенолпіруваткарбоксікіназа – каталізує реакцію перетворення оксалоацетату до фосфоенолпірувату у цитозолі клітин тварин

Генетично обумовлені варіації в структурі ензимів не обмежуються видовими особливостями – існують *ізоензими* – множинні форми ензимів, що каталізують одну й саму реакцію. Існування ізоензимів у рослинах має важливе біологічне значення, пов'язане із можливістю перебігу багатостадійних ензиматичних реакцій у різних умовах росту і розвитку останніх;

III. Шляхом постсинтетичної ковалентної модифікації протеїнів. Цей вид регулювання здійснюється після синтезу частини ензимів. До реакцій, що підлягають цього типу регуляції активності ензимів у постсинтетичній фазі належать:

– фосфорилування/дефосфритування – це реакція приєднання/відщеплення фосфорильних груп;

– метилювання/деметилювання – це реакція приєднання/відщеплення залишків метильних груп за дії відповідних ензимів;

Постсинтетична модифікація призводить до ряду змін властивостей ензимів.

Постсинтетичній модифікації підлягають не лише протеїни, а і поліпептиди, вуглеводи, ліпіди, що визначає функціонування безлічі ензиматичних реакцій у рослинному організмі

Інгібування ензимів може здійснюватися продуктом ензиматичної реакції, а активація – субстратом: глюкозо-6-фосфат пригнічує активність ензиму *гексокінази*, сукциніл-СоА зменшує активність ензиму *цитратсинтази*, пальмітинова кислота інгібує активність ензиму *ацетил-СоА-карбоксілази*, малонат – ензиму *сукцинатдегідрогенази*, й навпаки, оксалоацетат активує активність цього ензиму.

Перетворення вуглеводів, ліпідів та протеїнів у біомембранах відбувається за дії ензимів, поєднаних із біомембранами і, навпаки, біомембрани виявляють суттєвий вплив на активність ензимів шляхом чутливості, контактної взаємодії, транспортування різних молекул тощо. Так, мембранозв'язаний ензим – сукцинатдегідрогеназа – каталізує реакцію окиснення сукцинату до фумарату у мітохондріях в процесі

дихання, крім того, активність цього прояв активності цього ензиму вказує на функціональний стан мітохондрій у клітинах рослин. Метаболізм протеїнів, ліпідів, вуглеводів, нуклеїнових кислот та сполук вторинного походження здійснюється за участю відповідних ензимів залежно від локалізації біохімічних процесів у рослинній клітині.

3.3. Фотосинтез та дихання як критерії формування продуктивності рослинної сировини

Фотосинтез та дихання рослин – це окисно-відновні процеси, що відбуваються за участі енергії у наступних органелах клітини рослин та хімічних процесах у:

- 1) *хлоропластах* – фотосинтез та фотодихання;
- 2) *мітохондріях* – окисне фосфорилування та ціанідрезистентне окиснення нуклеотидів.

Взаємозв'язок протилежних метаболічних процесів – фотосинтезу та дихання – зображено на рис. 3.8.

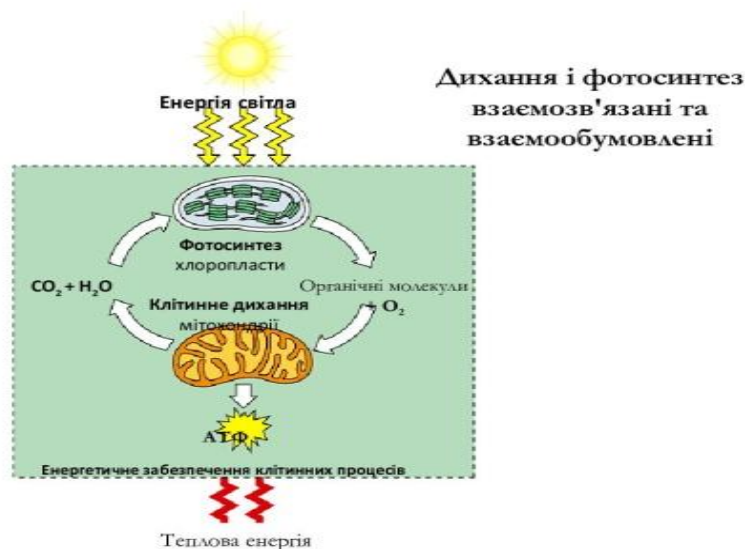


Рис. 3.8. Взаємозв'язок фотосинтезу та дихання

Пригадаймо принцип метаболізму рослин (рис. 3.2) – енергія, вивільнена при розщепленні, використовується у синтезі біомолекул, причому ці два протилежних процеси відбуваються одночасно і перебувають у стані рівноваги, завдяки чому енерговитратні синтетичні процеси збалансовані із енергопродукувальними, або біосинтетичними, процесами розщеплення клітинних компонентів рослин. Так, на світлі у хлоропластах утворюється енергія, а CO_2 та H_2O використовуються для синтезу вуглеводів, жирних кислот та амінокислот, внаслідок чого виділяється O_2 , що здійснюється у процесі **фотосинтезу** в наступних стадіях:

I. *світлозалежні реакції* або *світлові реакції* – це реакції, що полягають у поглинанні енергії світла фотосинтезувальними пігментами і запасанні її у вигляді АТФ і NADPH з одночасним виділенням O₂;

II. *реакції асиміляції вуглецю*, або *реакції фіксування вуглецю*, або *темнові реакції* – це реакції, що полягають у відновленні CO₂ та синтезі біомолекул.

Одночасно із процесом фотосинтезу відбуваються процес *дихання* – незалежне від світла окиснення біомолекул до H₂O та виділення CO₂ в атмосферу, що здійснюється у наступних стадіях:

I. окиснення біомолекул до ацетил-СоА;

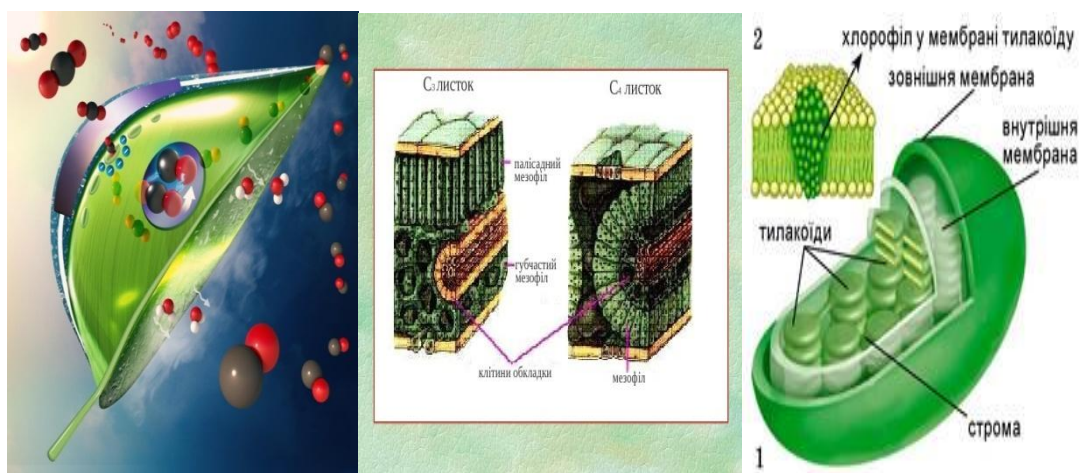
II. перетворення ацетил-СоА у циклі Кребса до CO₂;

III. окиснення NADH та FADH₂ у дихальному ланцюгу до H₂O.

Таким чином, процеси синтезу в рослинах відбуваються в процесі фотосинтезу, а розщеплення – дихання.

3.3.1. Фотосинтез як синтетичний процес рослин

Наведемо принцип поглинання світла та активації субстрату. Пригадаймо, що джерелом хімічної енергії для здійснення усіх метаболічних процесів у рослинах є енергія фотонів або квантів, видимого світла – електромагнітного випромінювання сонця, яке рослини сприймають фотосинтетичним органом – листям (рис. 3.9) – у діапазоні довжини хвилі від 380 до 740 нм (нанометрів, 1 нм = 10⁻⁶ метру) залежно від фотоперіоду – співвідношення світлої та темної пори, а також місяця року – за участі фотосинтетичних тканин – обкладинці та мезофілі, що містять у фотосинтетичних органелах – хлоропластах – фотосинтетичні пігменти: хлорофіла – 428-430 й 660-663 нм, хлорофіл *b* – 452-455 й 642-644 нм), каротиноїди – 400-500 нм.



абв

Рис. 3.9. Схематичне зображення уловлювання фотонів енергії світла (а), внутрішню будову фотосинтезувальних тканин (б) і фотосинтезувальних органел клітини – пластид хлоропластів (в)

Хлорофіл міститься в обох фотосинтетичних тканинах листя рослин: у мезофілі – у рослинах із C₃-типом фотосинтезу, а також у мезофілі й обкладинці – у рослинах із C₄-типом фотосинтезу та САМ-рослинах.

Біохімічна будова хлоропластів рослин:
 – зовнішня мембрана;
 – внутрішня мембрана – непроникна для H⁺ (тилакоїди, які вкриті своєю мембраною – тилакоїдною мембраною (містить фотосинтетичні пігменти та ензимні комплекси, завдячні у світловій фазі фотосинтезу), грани – стосики з тилакоїдів, а також строма, або водна фаза хлоропласта (містить ензими, задіяні в асиміляції вуглецю), яка вкрита своєю мембраною – стромальною мембраною

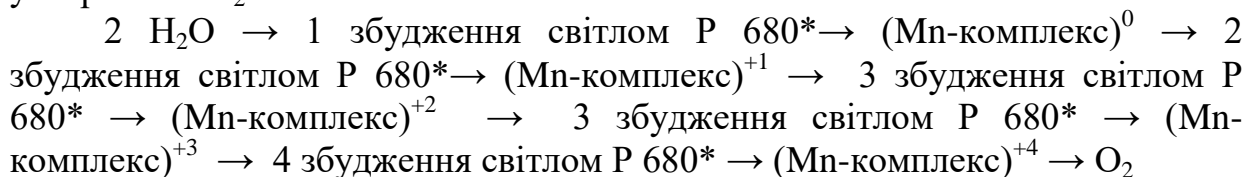
Активація субстрату – хлорофілу – відбувається унаслідок поглинання фотону світла та переведення на вищий енергетичний рівень, наслідком чого є збудження молекул хлорофілу.

3.3.2. Світлові реакції фотосинтезу рослин

Розглянемо процеси поглинання енергії і перенесення е⁻ H⁺ через мембрану тилакоїдів хлоропластів із фотосинтетичними пігментами на світлі:

1) *перенесення e⁻ від H₂O до NADPH у фотосистемах*, які функціонують у мембрані тилакоїдів хлоропластів сумісно.

Процес розщеплення молекули H₂O відбувається за участю водорозщеплювального комплексу, який містить Mn у п'яти валентностях з утворенням O₂ за схемою:



У табл. 22 наведено назву та компоненти фотосистем при передаванні e⁻ до NADPH усередині подвійної мембрани у мембрані тилакоїду хлоропластів рослин.

Таблиця 3.4 – Назва та компоненти фотосистем при передаванні електронів від H₂O до NADPH усередині подвійної мембрани у мембрані тилакоїду хлоропластів рослин

<i>Назва фотосистеми</i>	<i>Компоненти фотосистеми</i>
ФС II - активується світлом P 680	P 680* → пластохінон окиснений → пластохінон відновлений →
Комплекс цитохромів	Цитохроми b ₆ f → пластоціанін → P 700

ФС I – активується світлом P700	P 700* → феофітин → філохінон → Fe- S- протеїни → фередоксин → NADP ⁺ -фередоксин-оксидоредуктаза → NADP ⁺ → NADPH
---------------------------------	--

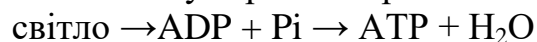
Компоненти обох фотосистем – пластохінон, цитохроми, пластоціанан, феофетин, Fe-S-протеїни та фередоксинта NADP⁺-фередоксин-оксидоредуктаза є протеїнами, які поєднані із фотосинтетичними пігментами у мембрані тилакоїдів хлоропластів рослин.

Одночасно із перенесенням \bar{e} через ФС II та ФС I усередині подвійної мембрани тилакоїдів хлоропластів відбувається також збільшення концентрації H⁺(pH), що створює «силу», потрібну для процесу фотофосфорильовання. Етапи циклічного перенесення H⁺ при синтезі АТФ з АДФ та Рі відбуваються у наступній послідовності:

спрямування H⁺ із стромі крізь мембрану тилакоїду → у порожнину тилакоїду → утворення різниці рН на зовнішньому та внутрішньому боці подвійної мембрани тилакоїду електрохімічного градієнту → переміщення H⁺ через АТФ-синтезу знову у строму хлоропласту.

***Електрохімічний градієнт** – це сума градієнтів концентрації та електричного заряду іонів на біомембрані, яка є рушійною силою при здійсненні окисного фосфорильовання і фотофосфорильовання у клітинах рослин*

АТФ-синтаза – це ензим, що каталізує реакцію **фотофосфорильовання** – утворення АТФ з АДФ та фосфату (Рі, або НРО₄²⁻), що здійснюється за участі пігментів стромі хлоропластів на світлі:



***Строма хлоропластів** – це водна фаза хлоропласта, оточена внутрішньою мембраною*

Отже, протонний градієнт відіграє важливу рольв процесі синтезу АТФ.

1 фотон світла постачає 1 \bar{e} , а для синтезу 1 моля АТФ використовується 30–50 кДж енергії фотонів світла

Таким чином, *світлові реакції* фотосинтезу при фотофосфорильованні – це реакції, які безпосередньо залежать від поглинання світла, внаслідок фотохімічного відщеплення \bar{e} від Н₂О й транспортування їх через низку протеїнів мембран з утворенням NADPH та АТФ. Вказані сполуки є

продуктами наступних реакцій – реакцій асиміляції С та фотодихання рослин.

3.3.3. Реакції асиміляції Карбону та фотодихання рослин

Реакції асиміляції CO_2 – це реакції, які здійснюються у *стромі хлоропластів* клітин обкладинки судинного пучка листя у циклі Кальвіна у незалежних від світла процесах й полягають у поглинанні CO_2 з атмосфери для синтезу фосфорильованих моносахаридів (тріозофосфатів та пентозофосфатів), що наведено у табл.3.5.

Таблиця 3.5 – Стадії, ензими, реакції та особливості циклу Кальвіна в ході реакцій асиміляції вуглецю у стромі хлоропластів рослин

<i>Стадія</i>	<i>Ензими</i>	<i>Особливості</i>
I. Конденсація рибулозо-1,5-бісфосфату із CO_2 з утворенням 3-фосфогліцерату (містить 3 С)	Рибулозо-1,5-бісфосфаткарбоксігеназа (рубіско)	Реакція характерна для рослин із C_3 -метаболізм, або C_3 -типом фотосинтезу
II. Перетворення 3-фосфогліцерату на гліцеральдегід-3-фосфат	3-фосфатгліцераткіназа, гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогеназа	Відновлення $NADPH \rightarrow NADP^+$ та розщеплення $ATP \rightarrow ADP + P_i$; додаткові продукти циклу – сахароза у цитозолі та крохмаль у стромі хлоропластів
III. Ренегерація рибулозо-1,5-бісфосфату з тріозофосфатів	трансальдолаза, фруктозо-1,6-бісфосфатаза, транскетолаза, трансальдолаза, рибулозофосфаткіназа	Розщеплення $ATP \rightarrow ADP + P_i$ для відновлення рибулозо-1,5-бісфосфату до CO_2 ; додаткові продукти – фосфорильовані моносахариди: тріози, тетрози, пентози та гексози

В активному центрі ключового ензиму цього циклу – рубіско (I-а стадія циклу Кальвіна) – міститься іон Mg^{2+} , який поєднаний із O_2 , останній походить: від CO_2 (поглинається з повітря) та від субстрату (рибулозо-1,5-бісфосфату), звідси й назви карбоксікіназна (CO_2 -залежна) та оксигеназна (O_2 -залежна) активність цього ензиму.

Для ензиму рубіско характерна специфічність як для CO_2 , так й O_2

Отже, перша стадія циклу Кальвіна відбувається у хлоропластах мезофілу за дії **карбоксігеназної** активності рубіско та характерна для рослин із C_3 -типом фотосинтезу.

Фотодихання– це процес, який полягає у поглинанні O_2 й синтезі біомолекул із виділенням CO_2 , що відбувається на світлі у:

1) *стромі хлоропластів клітин, пероксисомах й мітохондріях* у рослинах із C_3 -типом фотосинтезу;

2) у *мезофілі та обкладинці*– спеціалізованих клітинах листів у рослинах із C_4 -типом фотосинтезу та САМ-рослинах) в окисному фотосинтетичному циклі вуглецю.

Рослини із C_3 -типом фотосинтезу краще ростуть у зонах помірного клімату (більшість сільськогосподарських рослин), в той час, як рослини із C_4 -типом фотосинтезу – у зонах тропічних клімату (кукурудза, сорго, соняшник)

У табл. 3.6 наведено реакції та ензими гліколатного циклу у рослинах із C_3 -типом фотосинтезу.

Таблиця 3.6– Реакції та ензими гліколатного циклу у рослинах із C_3 -типом фотосинтезу

<i>Органели</i>	<i>Реакції</i>	<i>Ензими</i>
Строма хлоропластів	Конденсація рибулозо-1,5-бісфосфату із O_2 з утворенням 3-фосфогліцерату та 2-фосфогліколату	Рибулозо-1,5-бісфосфатоксигеназа(рубіско)
	Перетворення 2-фосфогліколату до гліколату	Фосфатаза
Пероксисоми	Окиснення гліколату до гліюксилату	Оксидаза гліколевої кислоти
	Трансамінування гліюксилату та синтез гліцину	Аланінамінотрансфераза
Мітохондрії	Окисне декарбоксілювання гліцину за реакцією $NAD^+ \rightarrow NADH$ із синтезом серину, NH_3 й виділенням CO_2	Гліциндекарбоксілазний комплекс

Отже, першою реакцією гліколатного циклу у рослинах із C_3 -типом фотосинтезу є конденсація O_2 із рибулозо-1,5-бісфосфатом, що забезпечується **оксигеназною** активністю рубіско та синтезом не лише 3-фосфогліцерату (який перетворюється у II та III стадії циклу Кальвіна), а й 2-фосфогліколату.

У процесі фотодихання на першій стадії циклу Кальвіна синтезується не фосфогліцерат, а фосфогліколат

У табл. 3.7 наведено реакції та ензими окисного фотосинтетичного циклу вуглецю у рослин із C_4 -типом фотосинтезу.

Таблиця 3.7 – Реакції та ензими окисного фотосинтетичного циклу вуглецю у рослин із C₄-типом фотосинтезу

<i>Тип клітин</i>	<i>Реакції</i>	<i>Ензими</i>
1	2	3
Мезофіл	Відновлення CO ₂ до HCO ₃ ⁻ за дії H ₂ O та виділення H ⁺	Фосфатаза
	Конденсація HCO ₃ ⁻ з енімом з утворенням оксалоацетату (містить 4 C), що характерно для рослин із C ₄ -метаболізм, або C ₄ -типом фотосинтезу	Фосфоенолпіруваткарбоксилаза
	Відновлення оксалоацетату за реакцією NADPH → NADP ⁺ з утворенням малату	NADPH-залежна малатдегідрогеназа

Продовження таблиці 3.7

1	2	3
Обкладинка судинного пучка	Окиснення малату за реакцією NADP ⁺ → NADPH із виділенням CO ₂ з утворенням пірувату	NADP-залежна малатдегідрогеназа
	Конденсація рибулозо-1,5-бісфосфату з вивільненням CO ₂ з утворенням 3-фосфогліцерату	Рибулозо-1,5-бісфосфаткарбоксигеназа (рубіско)

В активному центрі ключового ензиму – фосфоенолпіруваткарбоксилази (I-а стадія окисного фотосинтетичного циклу вуглецю) – міститься іон Mn²⁺, який поєднаний із CO₂, останній походить від повітря або субстрату (малату).

Для ензиму фосфоенолпіруваткарбоксилази характерна специфічність лише до CO₂, а не до O₂

Отже, першою реакцією окисного фотосинтетичного циклу вуглецю у рослинах із C₄-типом фотосинтезу, є конденсація HCO₃⁻ за дії ензиму **фосфоенолкарбоксилази** синтезом оксалоацетату, що відбувається у мезофілі листя, після чого здійснюється конденсація CO₂ з утворенням 3-фосфогліцерату та всі наступні реакції подібні до реакцій циклу Кальвіна відбуваються вже в обкладинці судинного пучка.

У рослинах із C₄-типом фотосинтезу процес окисного фотосинтетичного циклу вуглецю відокремлений просторово – відбувається у мезофілі та в обкладинці судинного пучка

Крім того, на відміну від рослин із C₄-типом фотосинтезу, у яких надходження CO₂ і його фіксування за дії ензиму рубіско відбувається у різних компартментах, тобто розділені проторово, у САМ-рослин (сукулентів) зазначені процеси розділені у часі (рис. 3.9).

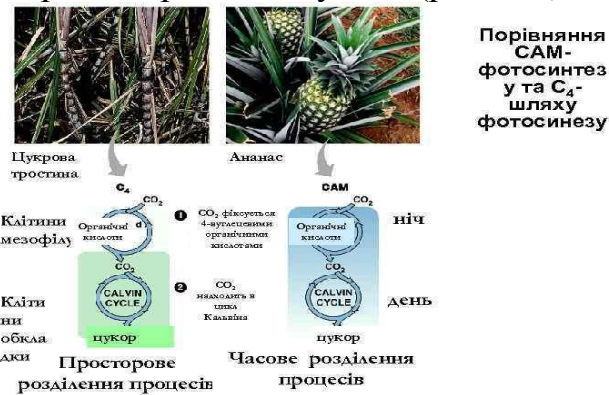


Рис. 3.9. Порівняння САМ-фотосинтезу та C₄-шляху фотосинтезу

Як зображено на рис. 3.9, у САМ-рослинах уночі CO₂ конденсується у формі малату, удень за дії **карбоксигеназної** активності рубіско утворюється малат.

3.3.4. Дихання як окиснювальний процес у рослинах

При окисненні глюкози у **цитозолі** в процесі гліколізу, а також жирних кислот, амінокислот, фенольних сполук, утворюється піруват, який у **внутрішній мембрані мітохондрій** перетворюється до ацетил-СоА (CoASH) та CO₂ за участю піруватдегідрогеназного комплексу (ПДГ) в ході реакцій дегідрування (відщеплення H⁺) і декарбоксілювання (відщеплення CO₂), як зображено на рис. 3.10.



Рис. 3.10. Перетворення пірувату до ацетил-коензиму А та CO₂

Склад ПДГ-комплексу у мітохондріях рослин наведено у табл. 3.8.

Таблиця 3.8 –Склад піруватдегідрогеназного комплексу у мітохондріях рослин

Ензими	Коензими	Кофактори	Біохімічне значення ензиматичної реакції
--------	----------	-----------	--

E ₁ - піруватдегідрогеназа	Тіамінпірофосфат (ТПР)	тіамін	декарбоксилювання пірувату з утворенням ТПР та його окиснення до ацетил-СоА
E ₂ - дигідроліпоїлацетил трансфераза	коензим А (СоА- SH)	пантотенова	перенесення ацетильної групи на коензим А з утворенням ацетил-СоА
E ₃ - дигідроліпоїлдегідр огеназа	флавінаденіндинук леотид (FAD) та нікотинамідаденінд инуклеотид (NAD)	рибофлавін та ніацин	регенерація (відновлення) дисульфідної (окисненої) форми ліпоату, причому вивільнені електрони на FAD, а потім – на NAD ⁺

Піруват, який утворився в процесі гліколізу у цитозолі, перетворюється на ацетил-СоА (CoASH), та є вихідним субстратом для циклу трикарбонових кислот у *мітохондріях* клітини рослин.

Цикл Кребса, або цикл три карбонових кислот – це процес, який відбувається у внутрішній мембрані *мітохондрій* клітини рослин та полягає у передаванні ацетильної (CH₃-CO) групи ацетил-СоА через органічні кислоти: оксалоацетат, цитрат, аконітат, ізоцитрат, α-кетоглутарат, сукциніл-СоА, сукцинатфумарат, малат, оксалоацетат) із запасанням енергії у формі NADH, FADH₂, АТФ та GTP. У табл. 3.9 наведено реакції та особливості здійснення стадій циклу Кребса у рослинах.

Таблиця 3.9 – Реакції та особливості здійснення стадій циклу Кребса у мітохондріях рослин

<i>Назва стадії</i>	<i>Ензим</i>	<i>Особливості хімічної реакції</i>
1	2	3
Конденсація	Цитратсинтеза (ЦС)	Це реакція Кляйзена – поєднання тіоестру (ацетил-СоА) і кетону (оксалоацетату)
Дегідратація /гідратація	Аконітатгідратаза, або аконітаза (АК)	Ензим містить Fe-S; сукцинат – H ₂ O → цис-аконітат (дегідратація), а цис-аконітат + H ₂ O → ізоцитрат (гідратація)

Продовження таблиці 3.9

1	2	3
Окисне декарбоксилювання	Ізоцитратдегідрогеназа (ІЦДГ)	Існує як NAD- ІЦДГ (у мітохондріях), так й NADH ІЦДГ (у цитозолі);

		утворення NADH і виділення CO ₂
Окисне декарбоксілювання	α-кетоглутаратдегідрогеназний комплекс	Утворення NADH; подібна до ПДК- реакції:
Субстратне фосфорилування	Сукциніл-СоА-синтетаза	Pi + ADP (GDP) → ATP (GTP)
Дегідрогенізація	Сукцинатдегідрогеназа (СДГ)	Ензим містить FAD та Fe-S
Гідратація	Фуматаргідратаза, або фумараза	-
Дегідрогенізація	L-малатдегідрогеназа	Утворюється оксалоацетат, цикл починається спочатку

На рис. 3.11 наведено структуру α-кетоглутаратдегідрогеназного комплексу цього циклу, а також ПДК-комплексу (при утворенні ацетил-СоА з пірувату).

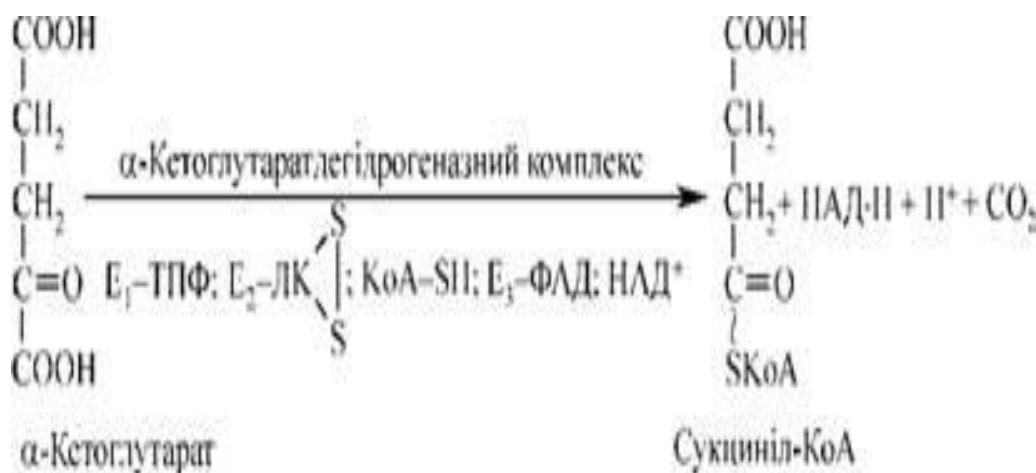


Рис. 3.11. Структура α-кетоглутаратдегідрогеназного комплексу

Наведені ензиматичні комплекси специфічні до субстратів: E₁ α-кетоглутаратдегідрогеназного комплексу специфічний до E₁ α-кетоглутарату, а E₁ піруватдегідрогеназного комплексу – до пірувату (рис. 3.12).

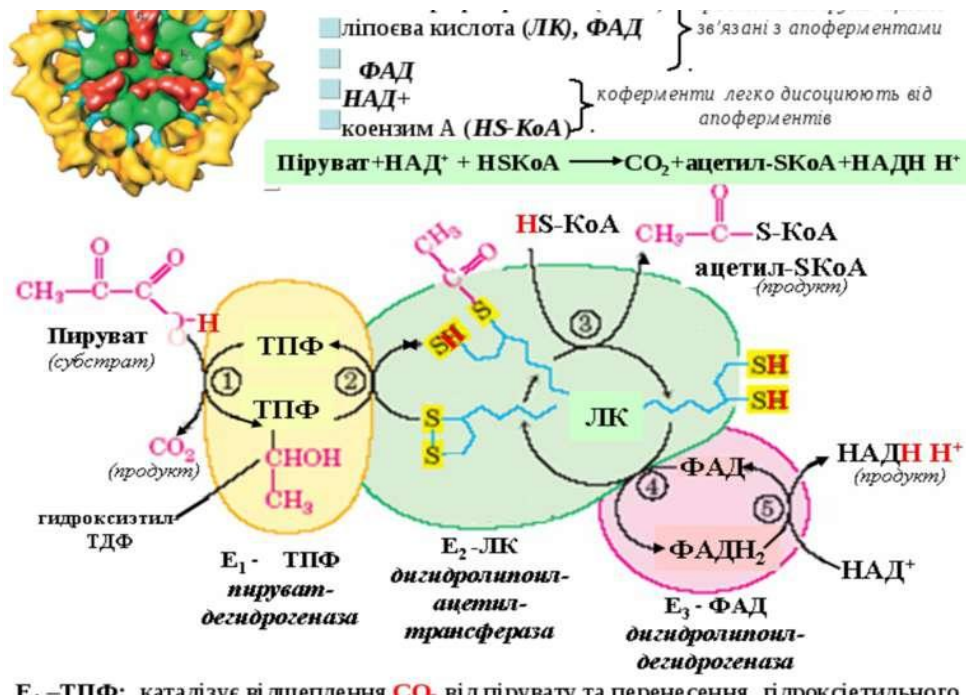


Рис. 3.12. Структура піруватдегідрогеназного комплексу

Ензим α -кетоглутаратдегідрогеназа, також як цитратсинтаза та ізоцитратдегідрогеназа – ключовий ензим циклу трикарбонових кислот у мітохондріях рослин, який є **амфіболічним** – органічні кислоти, що утворюються при окисненні біомолекул, використовуються як субстрати для синтезу хімічних біомолекул.

Також внесок до енергетичного балансу ЦТК робить **гліоксилатний цикл** – процес синтезу вуглеводів із запасних ТАГ, який функціонує у гліоксисомах олійних рослинах на ранніх стадіях проростання, ключовими ензимами якого є ізоцитратліаза і малатсинтаза.

Цикл трикарбонових кислот та гліоксилатний цикл регулюються скоординовано

Ензиматичні перетворення ди- і трикарбонових кислот у насінні, що проростає, відбуваються у трьох різних органелах – мітохондріях, гліоксисомах та цитозолі, між якими відбувається постійний обмін метаболітів.

Процес окисного фосфорилювання розпочинається з надходження \bar{e} у дихальний ланцюг мітохондрій клітини рослин.

Дихальний ланцюг – це електронтранспортна система, що складається з послідовності протеїнів – переносників \bar{e} від відповідних субстратів на O₂

У дихальному ланцюзі відбуваються реакції біологічного окиснення, які називають *реакціями дегідрогенізації*, а ензими, що їх каталізують – *дегідрогеназами*, вони базуються на донорно-акцепторних зв'язках. У ході реакцій біологічного окиснення сполука (донор) втрачає два e^- та два H^+ . У ході окремих реакцій біологічного окиснення атом С зв'язується з атомом O_2 , а ензими, що каталізують такі реакції, називаються *оксидазами*. У випадку, коли атом Оксигену походить безпосередньо з молекулярного O_2 , – *оксигеназами*.

Універсальними переносниками e^- є:

1. Коензими (NAD^+ , $NADP^+$, FMN , FAD);
2. Протеїни (цитохроми, ферумсульфурвмісні протеїни, убіхінони, пластохінони, біотин, тіамінпірофосфат, ліпоєвакислота, коензим А)

Дегідрогенази «збирають» e^- в реакціях розщеплення і спрямовують їх до універсальних акцепторів – нікотинаміднуклеотидів (NAD^+ , $NADP^+$) або флавіннуклеотидів (FMN , FAD).

Комплекси I каталізують перенесення e^- на убіхінон від двох різних донорів – $NADH$ (комплекс I) та сукцинату (комплекс II).

На рис. 3.13 наведено схему комплексу мітохондріального дихального ланцюга.

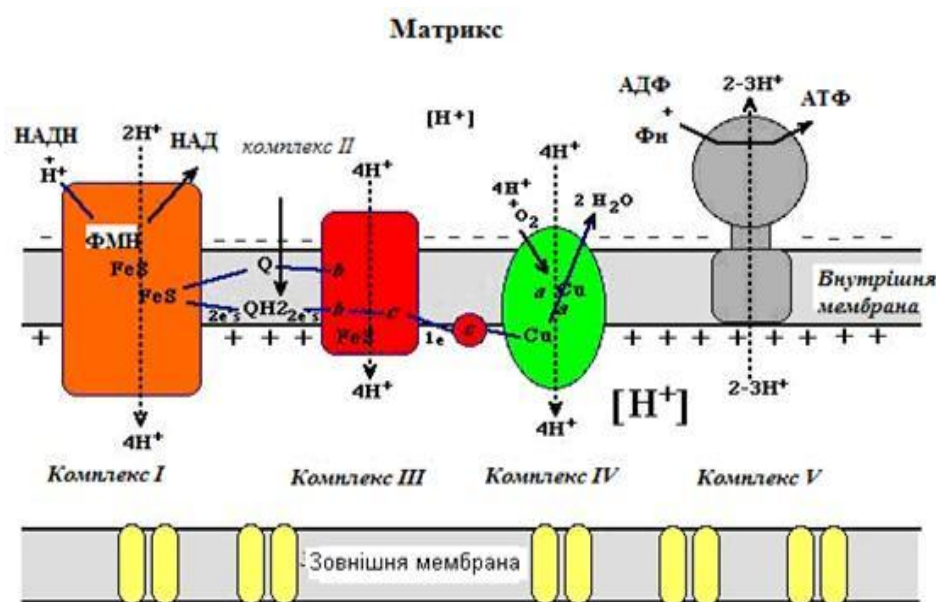


Рис. 3.13. Компоненти та організація дихального ланцюга

Комплекс III переносить e^- від відновленого убіхінону на цитохром c , а комплекс IV завершує дихальний ланцюг перенесенням e^- від цитохрому c на O_2 . Таким чином, у мітохондріальному дихальному ланцюзі e^-

переміщуються від NADH, сукцинату або інших первинних донорів через флавопротеїни, убіхінон, цитохроми, ферумсульфуровмісні протеїни і, врешті, на O_2 .

У рослинах функціонує альтернативний – ціанідорезистентний шлях окиснення NADH – e^- переносяться від NADH безпосередньо на O_2 , в обхід комплексів III і IV. У цьому процесі енергія NADH, розсіюється у вигляді тепла рослин. На відміну від цитохром оксидази (комплекс IV), активність альтернативної QH_2 -оксидази не пригнічується ціанідом (сполукою, яка інгібує СДГ у мітохондріях), а тому ціанідорезистентне (ціанідочутливе) окиснення NADH є ознакою унікального шляху перенесення e^- у рослин.

3.4. Взаємоперетворення біомолекул рослин при формуванні продуктивності рослинної сировини

3.4.1 Метаболізм вуглеводів рослинної сировини

Центральне місце у метаболізмі рослин, зокрема, в обміні вуглеводів, займає глюкоза, її похідні є попередниками в синтезі компонентів клітинних стінок рослин, нуклеотидів, коензимів та інших метаболітів рослин.

Синтез моносахаридів відбувається у хлоропластах рослин (рис. 3.14) в процесі при асиміляції CO_2 в ході циклу Кальвінадотріозофосфатів – фосфорильованих похідних гліцеральдегіду або дигідроксиацетону (див. Моносахариди рослин) під час *світлозалежних реакцій фотосинтезу*.

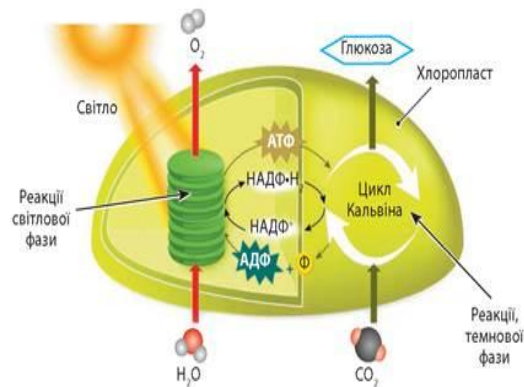


Рис. 3.14. Синтез моносахаридів із CO_2 в циклі Кальвіна у хлоропластах рослин

Цикл Кальвіна виявили Мелвін Кальвін, Андрюбенсон та ДжимБасшамна початку 1950 рр. Наведено стадії, продукти та ензими, а також особливості стадій циклу Кальвіна, найважливішою реакцією якого є **карбоксигеназна активність** лостеричного ензиму цього циклу – *рибулозо-1,5-бісфосфаткарбоксилази/оксигенази* (скорочено *рубіско*), який каталізує приєднання CO_2 до п'ятивуглецевого моносахариду – рибулозо-1,5-бісфосфату з утворенням шести вуглецевого моносахариду глюкози та розщепленням останнього на дві молекули 3-фосфогліцерату (3-ФГК).

Ензим рубіско відіграє ключову роль у процесі утворення біомаси рослин з CO₂, оскільки становить близько 50 % від загального вмісту протеїнів у хлоропластах рослин

На рис. 3.15 наведено ензими та реакції циклу Кальвіна у рослинах.

Реакції циклу Кальвіна	
Ензим	Реакція
1. Рибулозо-1,5-біфосфаткарбоксилаза/оксигеназа	6 Рибулозо-1,5-біфосфат + 6 CO ₂ + 6H ₂ O → 12 (3-фосфогліцерат) + 12 H ⁺
2. 3-Фосфогліцерат кіназа	12(3-фосфогліцерат) + 12 АТФ → 12 (1,3-біфосфогліцерат) + 12 АДФ
3. НАД:гліцеральдегід-3-фосфат дегідрогеназа	12 (1,3-біфосфогліцерат) + 12 НАДФН + 12 H ⁺ → 12 гліцеральдегід-3-фосфат + 12 НАДФ ⁺ + 12 Ф _n
4. Тріозофосфат ізомераза	5 гліцеральдегід-3-фосфат → 5 дигідроксиацетон-3-фосфат
5. Альдолаза	3 гліцеральдегід-3-фосфат + 3 дигідроксиацетон-3-фосфат → 3 фруктозо-1,6-дифосфат
6. Фруктозо-1,6-біфосфатаза	3 фруктозо-1,6-дифосфат + 3H ₂ O → 3 фруктозо-6-фосфат + 3 Ф _n
7. Транскетолаза	2 фруктозо-6-фосфат + 2 гліцеральдегід-3-фосфат → 2 еритрозо-4-фосфат + 2 ксилулозо-5-фосфат
8. Альдолаза	2 еритрозо-4-фосфат + 2 дигідроксиацетон-3-фосфат → 2 седогептулозо-1,7-біфосфат
9. Седогептулозо-1,7-фосфатаза	2 седогептулозо-1,7-біфосфат + 2 H ₂ O → 2 седогептулозо-7-фосфат + 2 Ф _n
10. Транскетолаза	2 седогептулозо-7-фосфат + 2 гліцеральдегід-3-фосфат → 2 рибозо-5-фосфат + 2 ксилулозо-5-фосфат
11 а. Рибулозо-5-фосфат епімераза	4 ксилулозо-5-фосфат → 4 рибулозо-5-фосфат 2 рибозо-5-фосфат → 2 рибулозо-5-фосфат

Рис. 3.15. Ензими та реакції циклу Кальвіна у рослинах [10]

Термін «цикл Кальвіна» використовується для специфічної реакції, під час якої CO₂ включається у трикарбонуву сполуку – тріозофосфат, який, у свою чергу, є попередником інших моно-, оліго- та полісахаридів та їхніх біомолекул.

Крім того, синтез вуглеводів з ліпідів у рослинах на ранніх стадіях проростання відбувається за участі ще одного метаболічного циклу – *гліоксилатного циклу*.

Гліоксилатний цикл – це процес синтезу вуглеводів із

триацилгліцеролів, що відбувається у гліоксисомах олійних рослинах на певних стадія онтогенезу рослин

Ензими гліоксилатного циклу каталізують пряме перетворення ацетату на сукцинат або на інші чотиривуглецеві проміжні продукти циклу трикарбонних кислот. У гліоксилатному циклі ацетил-СоА конденсується з оксалоацетатом з утворенням цитрату, який далі перетворюється в ізоцитрат, тобто аналогічно, як і в ЦТК. Проте, наступний етап розщеплення ізоцитрату відбувається не за дії ІДГ (ізоцитратдегідрогенази), а за дії ізоцитратліази (ІЦЛ) – ензиму, що каталізує утворення сукцинату та гліоксилату. Гліоксилат конденсується з наступною молекулою ацетил-СоА з утворенням малату в реакції, що каталізується малатсинтазою (МС).

Малатокиснюється до оксалоацетату, який може конденсуватися з іншою молекулою ацетил-СоА і запускати наступний оберт циклу. Упродовж кожного оберту гліоксилатного циклу відбувається поглинання двох молекул ацетил-СоА та утворення однієї молекули сукцинату, яка витрачається у процесах біосинтезу. Сукцинат перетворюється через фумарат і малат до оксалоацетату, з якого за дії фосфоенолпіруваткарбоккінази утворюється піруват – попередник синтезу глюкози в процесі глюконеогенезу рослин.

Ключовими ензимами гліоксилатного циклу є ізоцитратліаза і малатсинтаза

Ензими гліоксилатного циклу у рослин локалізовані у спеціальних мембранозв'язаних органелах – гліоксисомах, які є мікротільцями. Ензими, які є спільними для ЦТК та гліоксилатного циклу, представлені у вигляді двох ізоформ: одна з них є специфічною для мітохондрій, інша – для гліоксисом.

Гліоксимоми – це оточені мембраною органели рослин, проміжними продуктами β -окиснення в яких є похідні ацетил-СоА, а сам процес β -окиснення відбувається впродовж чотирьох етапів: дегідрогенізації, приєднання молекули води до утвореного подвійного зв'язку, окиснення β -гідроксіацил-СоА до кетону та тіолітичне розщеплення за участі ацетил-СоА. У гліоксисомах за утворення подвійного зв'язку відповідає флавопротеїнацил-СоА-оксидаза – ензим, що каталізує реакцію перенесення електронів від субстрату безпосередньо на O_2 з утворенням H_2O_2 . Детально цей процес розглянуто в розділі «Метаболізм ліпідів», а у розділі «Метаболізм вуглеводів» ми зустрінемось з гліоксилатним циклом.

Гліоксимоми виявлено не в усіх рослинних тканинах і функціонують вони не постійно впродовж онтогенезу. Гліоксимоми утворюються у багатому на запаси ліпідів насінні під час проростання і забезпечують

активне функціонування гліюксилатного циклу доки проросток не почне утворювати глюкозу шляхом фотосинтезу. Окрім ензимів гліюксилатного циклу, гліюксисоми містять усі ензими, необхідні для деградації жирних кислот, які є в складі запасних ліпідів насіння. Ацетил-СоА, утворений в процесі розщеплення ліпідів, у ході гліюксилатного циклу перетворюється на сукцинат, який переміщується у мітохондрії, де ензими ЦТК перетворюють його на малат. Цитозольна форм МДГ окиснює малат до оксалоацетату, який є субстратом для гліюконеогенезу.

Упродовж інтенсивного процесу фотосинтезу у листках рослин утворюється багато вуглеводів (у вигляді тріозофосфатів), необхідних для генерування енергії або синтезу інших вуглеводів, зокрема, сахарози або крохмалю (рис. 3.16).



Рис. 3.16. Синтез крохмалю та сахарози при фотосинтезі

Ці сполуки синтезуються у різних компартментах клітини: сахароза – у цитозолі, крохмаль – у пластидах, причому координація цих процесів відбувається за наявності різноманітних механізмів залежно від зміни рівня освітленості та інтенсивності фотосинтезу.

Крохмаль – це полімер, що складається із залишків D-глюкози поєднаних між собою ($\alpha 1 \rightarrow 4$) зв'язками. Як один зі стабільних кінцевих продуктів фотосинтезу, крохмаль синтезується і тимчасово зберігається у хлоропластах, а для тривалого зберігання його синтез відбувається в амінопластах нефотосинтезуючих частин рослин – насінні, бульбах, коренях.

Механізм активування глюкози для участі в синтезі крохмалю здійснюється шляхом конденсації глюкозо-1-фосфату з АТФ з утворенням

активованого моносахариднуклеотиду – ADP-глюкози, завдяки наявності у пластидах ензиму пірофосфатази.

ADP-глюкоза є субстратом для синтезу крохмалю у пластидах рослин

Потім за дії ензиму крохмальсинтази здійснюється реакція перенесення залишків глюкози від ADP-глюкози до молекул крохмалю. Більшість тріозофосфатів, що утворюються внаслідок фіксування CO₂ клітинами рослин, перетворюються на сахарозу або крохмаль. Синтез глюкози розпочинається у цитозолі з дигідроксиацетонфосфату та гліцеральдегід-3-фосфату, експортованих з хлоропласту. Дві молекули тріозофосфатів конденсуються утворенням фруктозо-1,6-бісфосфату (реакцію каталізує *альдолаза*), який гідролізується за дії ензим фруктозо-1,6-фосфатази з утворенням фруктозо-6-фосфату. Далі ензим сахарозо-6-фосфатсинтаза каталізує реакцію конденсації останнього з UDP-глюкозою з утворенням сахарозо-6-фосфату.

UDP-глюкоза є субстратом для синтезу сахарози в цитозолі клітин листка

Після цього ензим сахарозо-6-фосфатфосфатаза каталізує реакцію відщеплення фосфатної групи від сахарозо-6-фосфату, завдяки чому стає можливим переміщення сахарози до інших рослинних тканин.

Ключовим регуляторним ензимом синтезу крохмалю є ADP-глюкозопірофосфорилаза, яку активує 3-фосфогліцерат. Якщо синтез сахарози сповільнюється то накопичення 3-фосфогліцерату, що утворюється під час фіксування CO₂, що призводить до активування ензиму і стимулювання крохмалю. Конверсія тріозофосфатів до сахарози і крохмалю чітко регульована.

Таким чином, біосинтез крохмалю відбувається у хлоропластах та амінопластах за участю ензиму крохмалосинтези, що каталізує приєднання окремих залишків глюкози, донором яких є ADP-глюкоза до молекули крохмалю за двоетапним механізмом. Утворення відгалужень амілопектину відбувається за участі іншого ензиму. Сахароза синтезується у цитозолі і фруктозо-1-фосфату впродовж двоетапної реакції.

Целюлоза – це головний компонент клітинних стінок рослин, вона забезпечує міцність останніх, а це запобігає набряканню клітин і розриву плазматичної мембрани у випадку якщо осмотичну умову сприяють надлишковому надходженню води у клітину. Плазматичну мембрану клітини рослин пронизує складний мультиензимний комплекс –

термінальний комплекс або розетка – який забезпечує синтез целюлозних залишків та містить декілька ензимів, зокрема, целюлозосинтазу.

Гліколіз (від грец. *glycys* – солодкий та *lysis* – розщеплення) – це процес анаеробного розщеплення глюкози з утворенням двох молекул пірвіноградної кислоти (ПВК), або пірвату (рис.3.17), що відбувається у цитоплазмі клітини рослин.

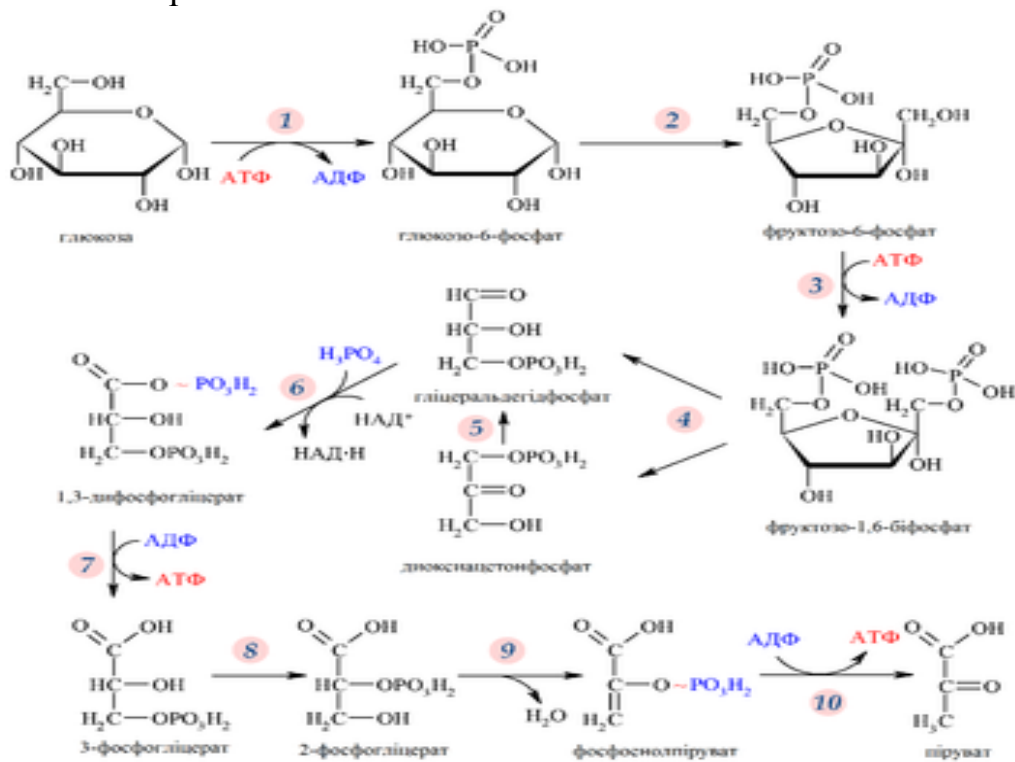


Рис. 3.17. Схема гліколізу у рослинах

Гліколіз відбувається у *двістадії*.

I. Підготовча стадія. Ця стадія складається з п'яти етапів. На цій стадії гліколізу відбувається активація глюкози шляхом фосфорилування із використанням АТФ. На першому етапі цієї стадії гліколізу глюкоза зазнає активації в процесі фосфорилування, а утворений глюкозо-6-фосфат перетворюється на фруктозо-6-фосфат, який знову зазнає фосфорилування (друга реакція активації) з утворенням фруктозо-1,6-бісфосфату. В обох реакціях фосфорилування функцію донора фосфорильних груп виконує АТФ. На наступному етапі цієї стадії гліколізу фруктозо-1,6-бісфосфат розщеплюється з утворенням двох тривуглецевих молекул – дігидроксиацетонфосфату та гліцераальдегід-3-фосфату – це етап розщеплення, який надав назву усьому метаболічному шляху. Внаслідок ізомеризації дігидроксиацетонфосфату утворюється ще одна молекула гліцераальдегід-3-фосфату і перша стадія гліколізу на цьому закінчується.

Ензими, за допомогою яких відбувається перша стадія гліколізу: гексокіназа → фосфоглюкоїзомераза → фосфоглюкокіназа → альдолаза →

триозофосфатізомераза. Продуктом першої стадії є 2 молекули гліцеральдегід-3-фосфату.

II. Стадія запасання енергії. На цій стадії виникає енергетичний виграш, тобто це стадія «виплати за інвестиції». Кожна молекула гліцеральдегід-3-фосфату окиснюється та зазнає фосфорилування за участі Pi (неорганічного фосфату), а не АТФ з утворенням 1,3-бісфосфогліцерату. Перетворення двох молекул якого на дві молекули пірувату супроводжується вивільненням енергії. Більша частина енергії накопичується у вигляді чотирьох молекул АТФ, які утворюються з чотирьох молекул АДФ у спряжених реакціях фосфорилування. Ензими, за допомогою яких відбувається перша стадія гліколізу: гліцеральдегід-3-фосфат-дегідрогеназа → 3-фосфогліцераткіназа → енолаза → піруваткіназа.

Значення гліколізу – енергетичне та пластичне.

Швидкість перетворення глюкози в процесі гліколізу регулюється активністю ключових ензимів:

- гексокінази;*
- фосфофруктокінази;*
- піруваткінази*

Особливу увагу треба звернути на те, що у ході гліколізу відбуваються хімічні перетворення трьох різних типів:

1. *утворення пірувату* в результаті розпаду скелету С у глюкози;
2. *утворення АТФ* в результаті фосфорилування;
3. *утворення NADH* в результаті перенесення гідрид-іона на NAD⁺.

Перетворення пірувату. Кінцевий продукт гліколізу – піруват – декарбоксилюється – втрачає CO₂ на ацетильну групу в складі ацетил-СоА, далі ацетильна група повністю окиснюється до CO₂ в циклі трикарбонових кислот. Електрони, що вивільнились в окисних реакціях через мітохондріальний ланцюг передаються на O₂ та відновлюють його до H₂O, а енергія, що вивільнюється, витрачається для синтезу АТФ у мітохондріях.

Окиснення пірувату – це важливий катаболічний процес, проте піруват вступає і в анаболічні реакції, наприклад, ця сполука може постачати атоми С для синтезу амінокислоти аланіну.

Окислювальне декарбоксилювання пірувату являє собою складний метаболічний процес, який відбувається за участю піруватдегідрогеназного комплексу ензиміву мітохондріях клітини рослин.

До складу піруватдегідрогеназного комплексу входять три ензими, що каталізують окремі реакції окислювального декарбоксилювання пірувату:

- піруватдегідрогеназа;*
- дигідроліпоїлацетилтрансфераза;*
- дигідроліпоїлацетилдегідрогеназа.*

У процесі окислювального декарбоксилювання пірувату беруть участь п'ять коензимів:

- ТПФ (тіамінпірофосфат);
- ФАД;
- НАД;
- ацетил-СоА;
- ліпоєва кислота.

За допомогою **пентозофосфатного шляху** у рослин здійснюється процес окиснення гексозофосфатів до пентозофосфатів та навпаки (табл. 3.10).

Таблиця 3.10 – Стадії пентозофосфатного шляху окиснення фосфогексоз

<i>Стадія шляху</i>	<i>Реакції шляху</i>	<i>Значення метаболітів шляху</i>
Окисна	Окиснення гексозофосфатів (наприклад, рибозо-5-фосфату, ксилулозо-5-фосфату, еритрозо-5-фосфату, рибулозо-1,5-фосфат та ін.) до пентозофосфатів (наприклад, глюкозо-6-фосфату, фруктозо-6-фосфату, 6-фосфоглюконату)	Утворені пентози необхідні для утворення нуклеїнових кислот (РНК, ДНК), а також для коензимів (переносників \bar{e} (коензиму А, NADH, FADH ₂))
Неокисна	Зворотня реакція – гексофосфати → пентозофосфати	Утворений NADPH є донором \bar{e} для відновних синтетичних процесів, наприклад, для відновлення окисненого глутатіону, а також для нейтралізації дії шкідливих радикалів

Неокисна стадія цього шляху відіграє вирішальну роль у засвоєнні рослинами CO₂ під час синтезу вуглеводів у процесі фотосинтезу (табл. 3.11).

Таблиця 3.11 – Синтез вуглеводів у процесі фотосинтезу

<i>Стадія синтезу вуглеводів в процесі фотосинтезу</i>	<i>Сполуки, що утворюються</i>
1. фіксування	3-ФГА
2. відновлення	NADPH
3. регенерація акцептора	РБФ

Взаємоперетворення моносахаридфосфатів забезпечують два властиві лише пентозофосфатному шляху ензими – транскетолаза і трансальдолаза, проте усі ензими цьому шляху, як і ензими гліколізу та більшість ензимів глюконеогенезу функціонують у цитозолі клітин рослин.

3.4.2. *Метаболізм ліпідів у рослинній сировині*

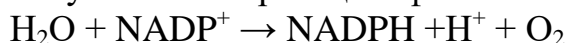
Ліпіди рослин є головною формою запасання енергії та компонентами подвійного шару біомембран, що вкривають як мембранні органели клітини рослин, так й саму клітину рослин, реакції їх синтезу є ендергонічними відновними реакціями, в яких як джерела енергії використовується АТР, а як відновник – NADPH.

До ліпідів рослин належать власне ліпіди (ацилгліцери, фосфоліпіди, гліколіпіди та воски), компонентами яких є вищі жирні кислоти, а також ліпідоподібні сполуки

Синтез *ліпідів* у клітині рослин відбувається у :

– хлоропластах – синтез ВЖК, АТР та NADPH;

NADPH утворюється у світлових реакціях фотосинтезу за схемою:



– *пероксисомах* та *гліоксисомах* – окиснення ВЖК (вищих жирних кислот) до H_2O_2 , а також подальше окиснення $2\text{H}_2\text{O}_2$ до $2\text{H}_2\text{O}$ та O_2 за дії ензимів каталази та пероксидази (у пероксисомах), а також малатсинтази та ізоцитратліази (у гліоксисомах);

– *ендоплазматичному ретикулумі* – десатурація жирних кислот, синтез фосфоліпідів, синтез терпоїдів.

У табл. 3.12 наведено окремі насичені та ненасичені ВЖК рослин.

Таблиця 3.12 – Деякі насичені та ненасичені ВЖК рослин

Вуглецевий каркас ВЖК	Хімічна структура ВЖК	Поширена назва ВЖК	Систематична назва ВЖК
1	2	3	4
Насичені ВЖК			
12:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	Додеканова кислота	Лауринова кислота
14:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	Тетрадеканова кислота	Міристинова кислота
16:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	Гексадеканова кислота	Пальмітинова кислота
18:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	Октадеканова кислота	Стеаринова кислота
20:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	Ейкозанова кислота	Арахінова кислота

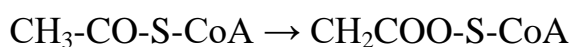
1	2	3	4
Ненасичені ВЖК			
16:1 (Δ^9)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Пальмітоолеїнова кислота	Цис-9-гексадеканова кислота
18:1 (Δ^9)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Олеїнова кислота	Цис-9-октадеканова кислота
18:2 ($\Delta^{9,12}$)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	Лінолева кислота	Цис-, цис-9,12-октадекадієнова кислота
20:4 ($\Delta^{5,8,11,14}$)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	Арахідонова кислота	Цис-, цис-, цис-, цис-5,8,11,14-ікозатетрадієнова кислота

Примітка: символ Δ вказує на розташування подвійного зв'язку між атомами С

Синтез ВЖК у хлоропластах клітин рослин відбувається шляхом послідовного приєднання двох атомів С з утворенням пальмітинової кислоти (C_{16}) за наявності мультиензимного комплексу – синтази жирних кислот чотири стадії:

- конденсація;
- відновлення карбонільної групи;
- дегідратація;
- відновлення подвійного зв'язку.

Попередником синтезу ВЖК є малоніл-СоА, який, в свою чергу, утворюється з ацетил-СоА за дії ензиму ацетил-СоА-карбоксилази:



Коензимом ацетил-СоА-карбоксилази є біотин, активація СЖК відбувається за участі –SH-групи.

Ензими, що входять до складу комплексу синтази жирних кислот:

- ацилпереносний протеїн (АПП);
- ацетил-СоА-АПП-трансацетилаза;
- β -кетואцил-АПП-синтаза;
- малоніл-СоА-АПП-трансфераза;
- β -кетואцил-АПП-редуктаза;
- β -гідроксиацил-АПП-дегідратаза;

Синтез ВЖК із кількістю атомів 18 (C₁₈) із C₁₆ відбувається в ендоплазматичному ретикулумі клітини рослин у системі елонгації жирних кислот.

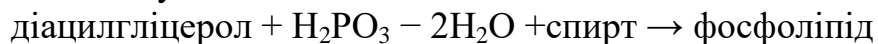
Синтез *ненасичених* ВЖК відбувається за дії ензиму *ацил-СоА-десатурази*, що каталізує реакції окиснення одинарного зв'язку (C-C) з утворенням одного, двох або трьох подвійних зв'язків у ненасичених ВЖК, Ацил-СоА-десатураза здійснює окиснення двох субстратів – насичених ВЖК із C₁₆-C₂₀ та NADPH/NADP.

Субстратом десатураз в ендоплазматичному ретикулумі є не ВЖК, а фосфоліпід – фосфатидилхолін

Для прикладу, десатурація фосфатидилхоліну за дії ацил-СоА-десатурази призводить до утворення поліненасиченої кислоти: фосфатилхолін, що містить олеїнову кислоту – C_{18:1} (Δ⁹) → десатураза → фосфатилхолін, що містить лінолеву кислоту, – C_{18:2} (Δ^{9,12}) → десатураза → фосфатилхолін, що містить лінолеву кислоту, – C_{18:3} (Δ^{9,12,15}).

Триацигліцероли синтезуються в олеосомах з гліцеролтрифосфату і ацил-СоА: джерелом першої сполуки є моносахариди дигідроксиацетонфосфату (ДГАР), який утворюється за дії ензиму *гліцеролфосфатдегідрогенази* у цитозолі клітини рослин, а другої – насичені ВЖК за дії ензимів *ацил-СоА-синтаз*. Фосфатидна кислота або діацилгліцеролфосфат може перетворюватися як на ТАГ так і на фосфоліпід рослин.

Фосфоліпід синтезуються на поверхні гладкого ендоплазматичного ретикулуму клітини рослин шляхом приєднання полярної частини молекули – «голови», тобто спирту, до діацилгліцеролу з утворенням фосфодієфірного зв'язку за схемою:



Як спирт використовується серин, етаноламін, гліцерол, гліцеролфосфат тощо.

Окиснення довголанцюгових ВЖК у рослинах відбувається у мітохондріях, хлороплатах, пероксисормах та гліюксисомах. Ацетил-СоА є однією з форм запасання енергії ця сполука окислюється до CO₂ у циклі трикарбонових кислот у *мітохондріях* клітини рослин. Іншою формою запасання енергії є ТАГ в олеосомах клітини, ланцюги залишків ВЖК яких мають високий ступінь окиснення.

β-окиснення насичених ВЖК у мітохондріях клітини рослин складається з таких стадій:

I. Стадія β -окиснення – послідовне відщеплення від –COOH-групи жирної кислоти двох атомів С (C_2) у вигляді ацетил-КоА, що відбувається у чотирьох ензиматичних реакціях – ацил-КоА-дегідрогеназна, еноіл-КоА-гідратазна, β -гідроксиацил-КоА-дегідрогеназна і тіолазна:

– дегідрогенізація ацил-СоА з виникненням подвійного зв'язку – продукт цієї реакції транс-еноіл-СоА за дії трьох ізоцимів ацил-СоА-дегідрогенази, кожен з яких виявляє специфічність до жирних кислот з ланцюгом певної довжини: один з ізоцимів діє на довголанцюгові жирні кислоти – ізоцим ДДЛАД (довголанцюговаацил-СоА-дегідрогеназа) – діє на ВЖК із $C_{12} - C_{18}$; другий – ізоцим СЛАД (середньоланцюговаацил-СоА-дегідрогеназа) – діє на ВЖК із $C_4 - C_{14}$; третій – ізоцим КЛАД – діє на коротколанцюгові жирні кислоти, що містять від 4 до 8 атомів вуглецю. Усі три ізоцими – це флавопротеїни, простетичною групою яких є FAD;

– гідратація транс-еноіл-СоА з утворенням β -гідроксиацил-СоА за дії еноіл-СоА-гідратази;

– дегідрогенізація β -гідроксиацил-СоА за дії β -гідроксиацил-СоА-дегідрогенази з утворенням β -кетואцил-СоА, акцептором електронів слугує NAD^+ ;

Реакція, яку каталізує β -гідроксиацил-СоА-дегідрогеназа, аналогічна до реакції, яку каталізує малатдегідрогеназа в циклі трикарбонових кислот

– конденсація β -кетואцил-СоА взаємодіє із ацетил-СоА з відщепленням двовуглецевого фрагменту у вигляді ацетил-СоА;

II. Стадія окиснення ацетильних груп молекул ацетил-КоА до CO_2 у циклі трикарбонових кислот, що також відбуваються у мітохондріальному матриксі.

Упродовж цих двох стадій окиснення жирних кислот утворюються відновні переносники електронів – $NADH$ і $FADH_2$, які передають \bar{e} в дихальний ланцюг мітохондрій рослин

III. Стадія перенесення \bar{e} у дихальному ланцюзі мітохондрій супроводжується процесом фосфорилування ADP та утворення ATP, акцептором \bar{e} є O_2 .

β -окиснення насичених жирних кислот у пероксисомах. У рослинах головним місцем β -окиснення жирних кислот є пероксисоми, цей процес відбувається впродовж чотирьох стадій:

– стадія дегідрогенізації;

– стадія приєднання молекули води до утвореного подвійного зв'язку;

– стадія окислення β -гідроксиацил-КоА до кетону;

– стадія тіолітичного розщеплення (тіолазна реакція).

Шляхи окислення жирних кислот у пероксисомах та мітохондріях мають відмінності

В окиснення ВЖК у пероксисомах та гліоксисомах клітин рослин акцепторами є NAD^+ і FAD , а активація цього процесу здійснюється за участі $-\text{SH}$ -групи коензиму А. Ці шляхи відрізняються за механізмом хімічних перетворень на першому етапі β -окислення. У пероксисомах за утворення подвійного зв'язку відповідає ензим ацил-КоА-оксидаза, яка переносить від субстрату на O_2 з утворенням H_2O_2 – сполука, яка є антиоксидантом та розщеплюється до H_2O і O_2 за наявності ензиму каталази. Існує також різна специфічність відповідних ензимів до ацил-КоА. Ензими пероксисом у рослин переважно окислюють ВЖК із дуже довгим вуглецевим ланцюгом.

β -окиснення насичених жирних кислот у гліоксисомах. Біологічна роль β -окислення в гліоксисомах полягає у використанні ліпідів у синтезі біомолекул. Так, під час проростання насіння запасні ТАГ розщеплюються з утворенням глюкози, сахарози та інших метаболітів. Вивільнені зі складу ТАГ жирні кислоти спочатку активуються з утворенням відповідних СоА-похідних, а потім окиснюються у гліоксисомах.

Ацетил-СоА, синтезований у процесі β -окиснення в пероксисомах та гліоксисомах рослин, використовується як попередник синтезу інших біомолекул

Гліоксисоми – тип мікротілець рослин, що локалізований у гліоксисомах, – містять ключові або алостеричні, ензими гліоксилатного циклу – малатсинтезу та ізоцитратліазу, а також ензими ацил-КоА-оксидазу, еноіл-КоА-гідратазу, гідроксиацил-КоА-дегідрогеназу та тіолазу, що каналізують β -окислення H_2O_2 гліоксисом до H_2O і O_2 .

β -Окиснення жирних кислот у рослинах найактивніше відбувається у гліоксисомах насіння, що проростає

Перетворення ТАГ до ВЖК (з яких у відповідних реакціях синтезуються інші біомолекули) у гліоксисомах рослин відбувається в процесі **гліоксилатного циклу** (ГЦ), в якому беруть участь ди- та трикарбонові кислоти (рис. 3.18).

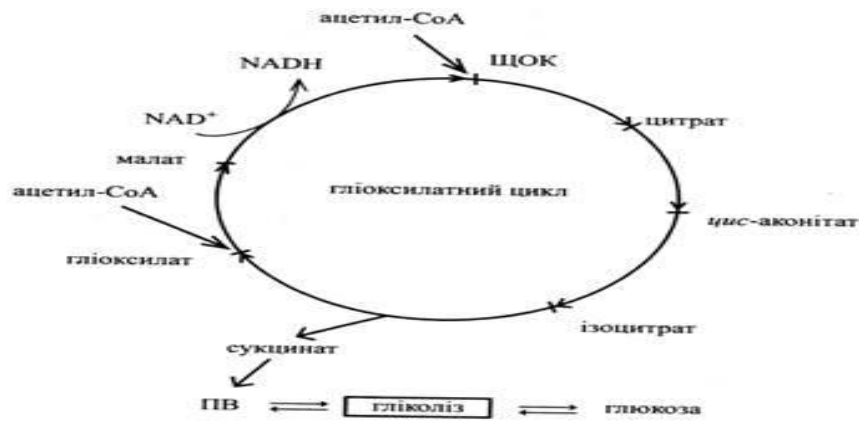


Рис. 3.18. Гліоксилатний цикл у рослинах

Як наведено на рисунку 3.18 ГЦ починається з реакції конденсації (поєднання) ацетил-СоА з оксалоацетатом, при чому за дії ензиму цитратсинтази утворюється цитрат, який надалі за дії ензиму аконітази перетворюється в ізоцитрат.

Реакції утворення цитрату та ізоцитрату – трикарбонових кислот – характерні також для циклу трикарбонових кислот або циклу Кребса

Наступні реакції характерні лише для ГЦ: ізоцитрат за дії ензиму ізоцитратліази розщеплюється на сукцинат і гліоксилат: сукцинату відповідних реакціях перетворюється на вуглевод піровиноградну кислоту (ПВ), а гліоксилат за дії ензиму малатсинтази (МС) конденсується з ацетил-СоА з утворенням малату, далі малат окиснюється до оксалоацетату, який може конденсуватися з іншою молекулою ацетил-СоА і запускати наступний оберт циклу. Остання реакція ГЦ, в результаті якої малат за дії ензиму малатдегідрогенази (МДГ), окиснюється до щавелевооцтової кислоти, – також характерна для ЦТК.

Чотири стадії ГЦ подібні до реакцій ЦТК, а дві реакції специфічні для цього циклу

Ненасичені ВЖК часто підлягають дії вільних радикалів – сполук, що містять неспарені \bar{e} , та є проміжними метаболічними сполуками у дихальному ланцюзі мітохондрій, у хлоропластах, гліоксисомах та пероксомах, а також в деяких ензиматичних реакціях, що каталізуються ензимами дегідрогеназами в процесі пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ).

Пероксидне окиснення – це процес, наслідком якого є регуляція проникності мембран та метаболічних процесів у

Реакції ПОЛ у клітинах рослин відбуваються у три стадії: ініціація вільнорадикальної реакції, продовження ланцюга (елонгації) та скорочення ланцюга: на першій стадії відбувається утворення вільних радикалів – супероксидного та гідроксильного. Рівень активації ПОЛ знижується під дією *антиоксидантів*, до яких належать глутатіон, токоферол, аскорбінова кислота, селеновмісні сполуки, глутатіонпероксидаза та ін.

Для β -окиснення ненасичених ВЖК необхідні ще два допоміжні ензими – ізомераза та редуктаза. Одним із кінцевих продуктів β -окиснення насичених ВЖК є сукциніл-КоА, який окиснюється в циклі Кребса. Описана вище послідовність реакцій окиснення характерна для насичених ВЖК, які містять між атомами С одинарний зв'язок (С–С). Проте, більшість ВЖК у складі ФЛ і АГ належать до *ненасичених*, тобто містять між атомами С подвійні зв'язки (С=С). Подвійні зв'язки між атомами вуглецю в ненасичених жирних кислотах мають цис-конфігурацію, тому вони не піддаються дії ензиму енол-СоА-гідратази, який каталізує приєднання молекули H_2O до транс-подвійного зв'язку у субстраті під час β -окиснення ВЖК у рослинах.

4.3.3. Метаболізм нуклеїнових кислот і протеїнів у рослинній сировині та генна регуляція

Шляхи синтезу *амінокислот* та *нуклеотидів* доцільно розглядати разом, оскільки ці класи біомолекул рослин містять N, який походить із спільних попередників, а також ці метаболічні шляхи мають спільні метаболіти. Крім того, певні амінокислоти чи їх частини є структурними компонентами пуринів та піримідинів, та, навпаки – частина пуринного кільця є компонентом амінокислот. Потреба в N є загальною особливістю синтезу амінокислот та нуклеотидів у рослинах, крім того, рослини досить ощадно використовують цей дефіцитний для них макроелемент.

Шляхи *розщеплення амінокислот* збігаються в головних метаболічних шляхах, зокрема, у циклі трикарбонових кислот (циклі Кребсу), характерною рисою яких є те, що кожна амінокислота втрачає $-NH_2$ -групу та перетворюється на α -кетокислоти, які є «вуглецевими скелетами» амінокислот. Альфа-кетокислоти окиснюються до CO_2 і H_2O або постачають три- та чотиривуглецеві структури для синтезу полігосахаридів. Рослини не використовують окиснення амінокислот для утворення енергії – роль головного її джерела відіграють вуглеводи, які утворюються з CO_2 і H_2O в процесі фотосинтезу. Вуглецеві скелети амінокислот перетворюються у циклі трикарбонових кислот у рослинах.

У деяких випадках реакції розщеплення амінокислот збігаються із стадіями розщеплення жирних кислот.

Існують дві особливості синтезу *нуклеотидів*: по-перше, ензими, задіяні у синтезі нуклеотидів *de novo*, локалізовані у мультиензимні комплекси, по-друге, внутрішньоклітинні пули нуклеотидів, крім АТР, становлять менше 1 % від загальної кількості нуклеотидів, необхідних для синтезу нуклеїнових кислот, тому їх синтез триває весь час, поки відбувається синтез нуклеїнових кислот. У процесі розщеплення нуклеотидів утворюється сечова кислота, а пуринові та піримідинові азотисті основи використовуються повторно шляхом реутилізації.

Нуклеїнові кислоти – ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота) та РНК (рибонуклеїнова кислота) містять генетичну інформацію та генетичний код, завдяки чому в їх молекулах зберігається генетична інформація щодо амінокислотної послідовності протеїнів, а за посередництва ензимів вона непрямо впливає на синтез усіх компонентів клітини рослин.

Термін «збереження генетичної інформації» не відображає тієї складності метаболічних процесів, що відбувається при цьому у рослинах. Синтез молекул РНК у клітинах рослин відбувається на підставі інформації, яка зберігається в молекулах ДНК, тобто прояв зашифрованої в генах інформації полягає у синтезі РНК, зчитаної з ділянки ДНК. У клітинах рослин існують метаболічні, наслідком чого є пошкодження структури ДНК, проте, підтримання генетичної цілісності цієї молекули відбувається за участі репараційних процесів. Перебудова генетичної інформації у клітині відбувається завдяки процесам рекомбінації, проте, більшість метаболічних перебудов ДНК відіграє роль у підтриманні цілісності генома рослин, а також забезпечує процеси репарації та реплікації ДНК й розходження хромосом у ядрі клітин рослин. Також нуклеїнові кислоти та амінокислоти рослин є об'єктами біотехнологічного напрямку в агрономії.

Нижче описано головні принципи процесу передавання генетичної інформації у молекули *протеїнів*, які кінцевим продуктом більшості інформаційних шляхів у рослинах. Для життєдіяльності рослин щомиті необхідні тисячі протеїнів, які надходять до певних місць призначення в клітинах, а після здійснення певної біохімічної функції розщеплюються. Концентрація протеїнів у клітинах рослин визначається тонким балансуванням метаболічних процесів, кожен з яких підлягає *регуляції експресії генів* рослин.

Перед початком ознайомлення із наведеним нижче матеріалом посібника, зазначимо, що метаболічні шляхи, описані нижче, можуть здатися складними, проте їх складність зумовлена не стільки хімічними перетвореннями, які в багатьох випадках зрозумілі, скільки наявністю численних етапів та проміжних сполук. З метою розуміння цих шляхів, нижче описано загальні закономірності метаболічних перетворень, походження попередників та проміжних сполук, а також спільність типів реакцій.

Рослини здатні засвоювати Nв наступних формах:

- загальний атмосфернийN;
- амонійний N – N -NH₃;
- аміачний N – NH₄;
- нітратнийN – NO₃;
- нітритнийN – NO₂.

Відновлення N-NH₃до NO₃у клітинах рослин відбувається за допомогою ензимів *нітратредуктаз* – каталізують реакцію відновлення NH₄ до NO₃, а також *нітритредуктаз* – каталізують відновлення NO₃ до NO₂.

Пул біологічно доступного N підтримується завдяки його кругообігу у довкіллі

Рослинам потрібна велика кількість нітрогеновмісних сполук. З метою забезпечення цієї потреби необхідно вносити у ґрунт нітрогеновмісні добрива.

При сівозміні відбувається чередування посадки посівних та бобових культур, що забезпечує накопичення Nу ґрунті

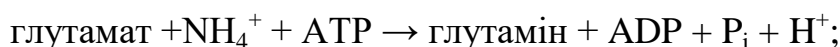
Крім того, у ґрунті існують ґрунтові бактерії, які перетворюютьN-NH₃ до NO₃ або NO₂ за дії ензимів нітрогеназного комплексу – *редуктазидинітрогеназ* та *денітрогеназ*.

Нітроген у формі NH₄⁺включається спочатку до складу амінокислот, а потім – інших N-вмісних полук, причому забезпечують таке надходження дві амінокислоти – *глутаматі глутамін*, які вступають в реакції трансамінування і є джерелом амінокислот для синтезу інших амінокислот. Пригадаймо, що саме ці дві амінокислоти відіграють провідну роль у процесі катаболізму – NH₂-груп амінокислот у клітинах рослин.

NH₄⁺ включається у біомолекули рослин через синтез глутамату і глутаміну

Шляхи перетворення *глутамату і глутаміну* відбуваються у наступних стадіях, необхідній рослинам для асиміляції NH₄⁺:

1. глутамат взаємодіє із NH₄⁺ за наявності АТР та дії ензиму *глутамінсинтетази*, що призводить до синтезу глутаміну за схемою:



2. глутамін взаємодіє із α -кетоглутаратом за наявності NADPH_2 та дії ензиму *глутаматсинтази*, що призводить до утворення глутамату та NADP^+ за схемою:



3. α -кетоглутарат та NH_4^+ за наявності NADPH та дії ензиму *глутаматдегідрогенази*, що призводить до утворення глутамату, NADP^+ і H_2O за схемою:



Ензим *глутаматсинтетаза* є головним регуляторним ензимом метаболізму N в рослинах.

6.3.1. Метаболізм амінокислот і нуклеотидів у рослинах

Джерелом *синтезу амінокислот* є проміжні метаболіти гліколізу, циклу трикарбонних кислот та глюконеогенезу (рис. 3.19), причому N потрапляє у ці шляхи, як наведено вище, з амінокислот глутамату та глутаміну.

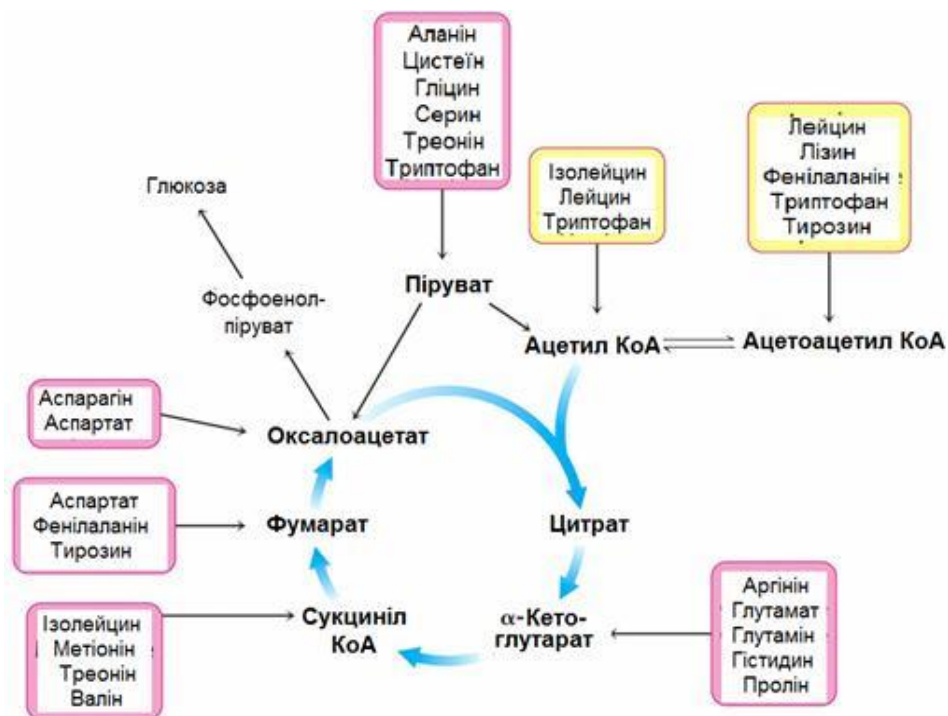


Рис. 3.19. Загальна схема розщеплення амінокислот у рослинах

З метою кращого розуміння шляхів синтезу амінокислот рослин, згрупуємо їх у групи залежно від попередника їх синтезу (табл. 3.13).

Таблиця 3.13 – Поділ амінокислот рослин на групи залежно від попередника їх синтезу

Попередник	Амінокислоти
Піруват та оксалоацетату	Аланін, валін, лейцин, ізолейцин, аспартат, аспарагін, метіонін, треонін, лізин
Фосфоенолпіруват та еритрозо-4-фосфат	Триптофан, фенілаланін, тирозин
Рибозо-5-фосфат	Гістидин
α -Кетоглутарат	Глутамат, глютамін, пролін, аргінін
3-Фосфогліцерат	Серин, гліцин, цистеїн

Так, з пірувату та оксалоацетату утворюються такі амінокислоти: *аланін, валін, лейцин та ізолейцин* – із пірувату, а *аспарагін, метіонін, лізин та треонін* – з оксалоацетату через аспартат. *Аланін та аспартат* утворюються шляхом трансамінування, відповідно, з пірувату та оксалоацетату за наявності глютамату. *Аспарагін* синтезується в реакції амідування аспартату, донором NH_4^+ є глютамін. На шляхах синтезу *валіну та ізолейцину* діють чотири ензими – ацетолактатсинтаза, ізомероредуктаза, дегідрогеназа дигідроксикислоти, валінаміотрансфераза: синтез валіну та ізолейцину починається з пірувату, який у випадку синтезу валіну поєднуються з іншою молекулою пірувату, а у випадку синтезу ізолейцину – з α -кетобутиратом.

З фосфоенолпірувату та еритрозо-4-фосфату утворюються ароматичні амінокислоти – *фенілаланін, тирозин, триптофан*, що відбувається при поступовому введенні подвійних зв'язків у молекули попередників, за яких спочатку синтезується шикимат, який упродовж трьох ензиматичних реакцій перетворюється на хоризмат – проміжний продукт метаболізму ароматичних амінокислот.

Хоризмат є першою точкою розгалуження синтетичного шляху у рослин, причому одна гілка призводить до утворення триптофану, інша – фенілаланіну та тирозину

З рибозо-5-фосфату утворюється *гістидин*, що відбувається за дії ензиму триптофансинтази за допомогою АТФ. Незвичним у цьому метаболічному шляху є використання АТФ як субстрату, а не високоенергетичної сполуки та вписується у шлях утворення пуринів – сполука 5-аміноімідазол-4-карбоксилрибонуклеотид – проміжний метаболіт синтезу пуринів (одного з компонентів нуклеотидів рослин).

Компонентами молекули АТФ є нуклеотид аденін, моносахарид (пентоза) – рибоза та три залишки фосфатної кислоти, причому останні в реакції утворення гістидину участі не беруть

З α -кетоглутарату утворюються *глутамат, глутамін, пролін* та *аргінін*: перші дві амінокислоти синтезуються в реакціях, описаних вище, *пролін* є циклічною похідною глутамату, який взаємодіє з -COOH-групою глутамату за наявності NADPH за допомогою АТФ, а *аргінін* утворюється з орнітину за наявності ензиму аргінази.

Із 3-фосфогліцерату утворюються *серин, гліцин* та *цистеїн*: синтез *серину* відбувається за дії ензимів NAD-дегідрогенази, тирозин аміотрансферази і фосфосеринфосфатази у відповідних реакціях, попередником *гліцину* є серин, який утворюється за дії ензиму серин-гідроксиметилтрансферази, *цистеїн* синтезується при перетворенні SO_4^{2-} на S за дії ензиму сульфатаденозинфосфатази.

Процес **розщеплення амінокислот** має характерну рису: оскільки кожна амінокислота містить аміногрупу (-NH₂), то ключовим етапом на шляху розщеплення амінокислот є відщеплення α -аміногрупи від вуглецевого скелету за дії ензимів *аміотрансфераз*, або *трансаміназ*, коензимом яких є ПЛР – похідне піридоксину, а вітамін В₆.

Унаслідок процесу трансамінування амінокислоти перетворюються на кетокислоти

Звернемо увагу, що справжнього дезамінування – відщеплення -NH₂-групи – у реакціях трансамінування не відбувається, оскільки дезамінування амінокислот супроводжується амінування α -кетоглутарату (рис. 3.20).

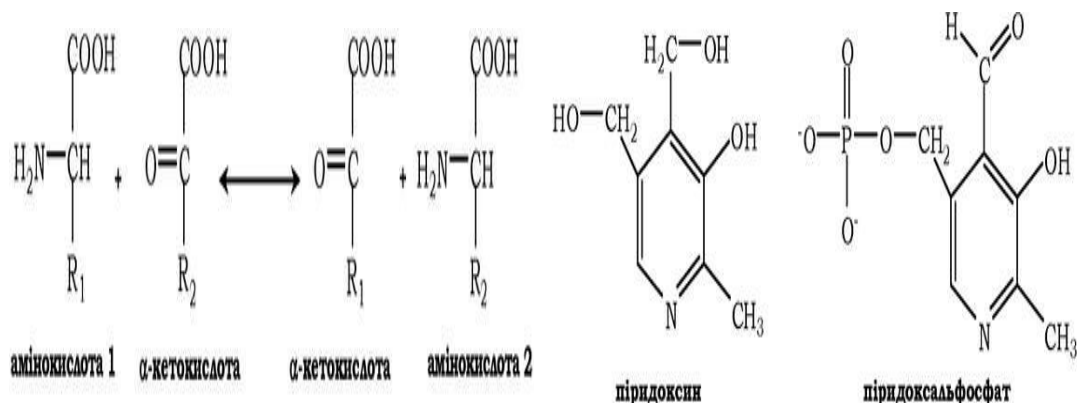


Рис. 3.20. Схема трансамінування амінокислот рослин за дії ензимів аміотрансфераз та їх коензим

Коензим ПЛР, бере участь не лише в реакціях трансамінування амінокислот, а й в реакціях їх дезамінування у рослинах, при цьому він функціонує як переносник -NH_2 -груп.

Відщеплені від амінокислот -NH_2 -групи накопичуються у формі глутамату або зазнають окисного дезамінування у хлоропластах або мітохондріях за дії ензиму *глутаматдегідрогенази*, коензимом якого є NAD^+ або NADP^+ (рис. 3.21).

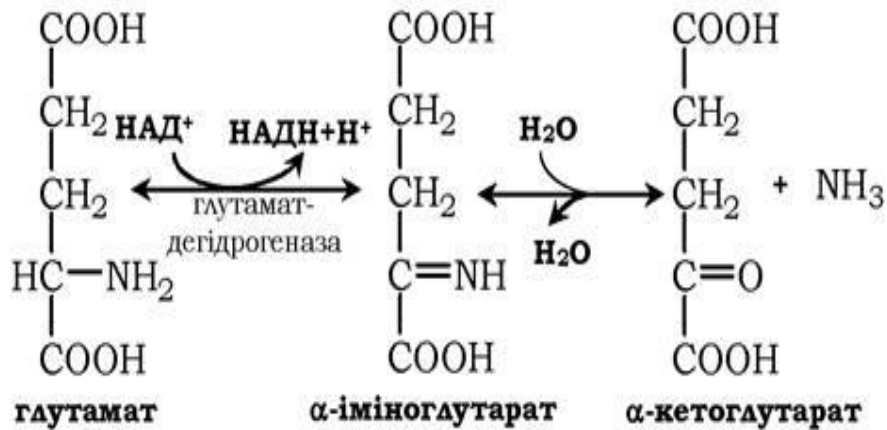


Рис. 3.21. Реакція відщеплення -NH_2 -групи від глутамату за дії ензиму глутаматдегідрогенази

Утворений у зазначеній реакції α -кетоглутарат вступає у цикл трикарбонових кислот або використовується для синтезу глюкози у рослинах, а NH_3 – взаємодіє із глутаматом за дії ензиму глутамінсинтетази, що призводить до утворення глутаміну рослин. Перетворення амінокислот рослин, які відбуваються за спільної дії аміотрансфераз та глутаматдегідрогенази, – *транздезамінування*.

На шляхах *розщеплення амінокислот* відбуваються певні хімічні перебудови, які заслуговують на особливу увагу. Перш ніж розпочати розглядання цих метаболічних шляхів, зазначимо класи ензиматичних реакцій та наведемо кофактори відповідних ензимів, а після цього – перетворення вуглецевих скелетів, що походять з амінокислот – шляхи розщеплення амінокислот.

Ми вище розглянули один важливий клас ензиматичних реакцій – реакції трансамінування, для перебігу яких необхідний коензимпіридоксальфосфат (ПЛР).

Інший тип реакцій, характерний для розщеплення амінокислот, – це реакції перенесення одновуглецевих груп, які здійснюються за участю трьох кофакторів:

- біотину;
- тетрагідрофолату;
- S-аденозилметіоніну.

Важливу роль у катаболізмі амінокислот відіграють деякі кофактори ензимів: біотин, тетрагідрофолат, S-аденозилметіонін

Ці кофактори забезпечують перенесення одновуглецевих груп із різним ступенем окиснення С: біотин переносить С у формі у CO_2 , тетрагідрофолат – у формі $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, та $-\text{COOH}$, а S-аденозилметіонін – у формі $-\text{CH}_3$.

CH_3 – найбільш відновлена, $-\text{CH}_2\text{OH}$ – проміжна, $-\text{COOH}$ – найбільш окиснена форма Карбону

На рис. 3.22 наведено структуру біотину, до складу якого входить атом S та валеріанова кислота $(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$.

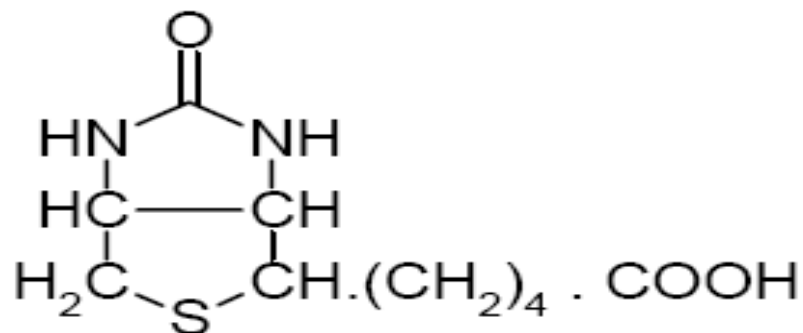


Рис. 3.22 Біотин

Компонентом тетрагідрофолату (Н4-фолату) є глутамат (рис. 3.23).

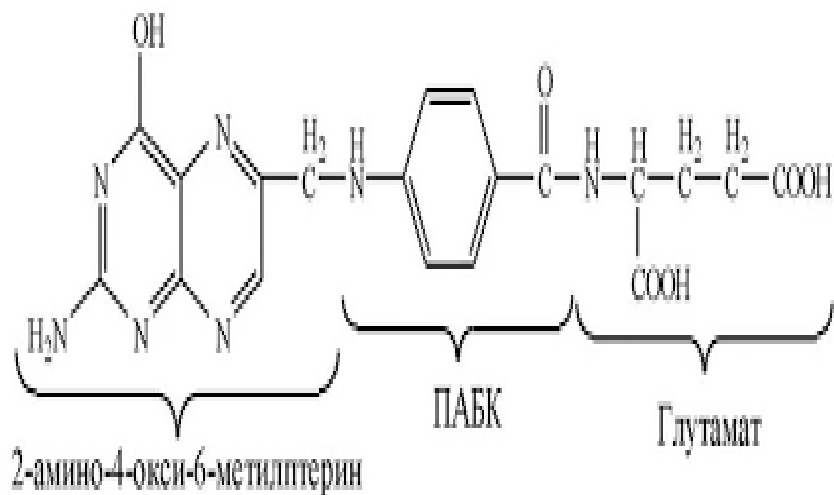


Рис. 3.23. Тетрагідрофолат

Хоча наведений кофактор здатний переносити $-\text{CH}_3$ -групу у складі амінокислот рослин, проте потенціал транспорту цього радикалу є

недостатнім для деяких синтетичних реакцій, тому кофактором для ензимів, що здійснюють перенесення -CH₃-груп, є S-аденозилметіонін.

S-аденозилметіонін утворюється з метіоніну за дії ензиму метіонінаденозилтрансферази (рис. 3.24).

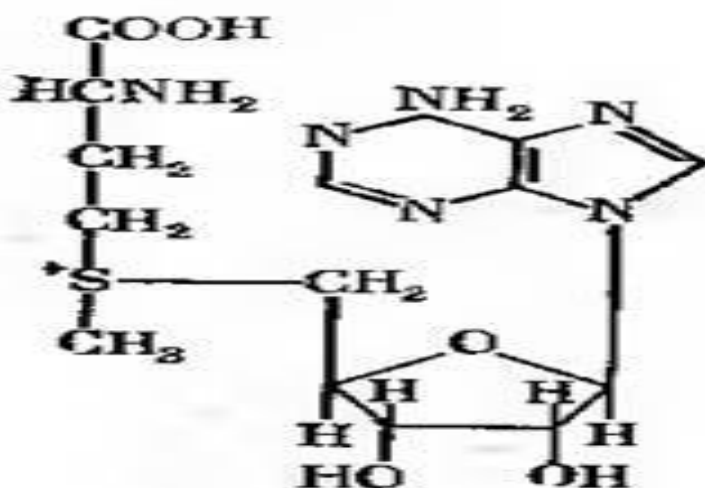


Рис. 3.24. S-аденозилметіонін

Шляхи розщеплення амінокислот призводять до втрати атомів N та утворення п'ятиключових продуктів метаболізму, що надходять у цикл трикарбонових кислот рослин.

У табл. 3.13 амінокислоти рослин поділено на групи залежно від продуктів їх розщеплення у рослинах.

Таблиця 3.13. Поділ амінокислот рослин на групи залежно від продуктів їх розщеплення у рослинах

<i>Амінокислоти</i>	<i>Продукт розщеплення амінокислот</i>
Аланін, триптофан, цистеїн, серин, гліцин, треонін	Піруват
Триптофан, лізин, фенілаланін, тирозин, лейцин, ізолейцин, треонін	Ацетил-СоА
Пролін, глутамат, глутамін, пролін, аргінін, гістидин	α-Кетоглутарат
Метіонін, ізолейцин, валін, треонін	Сукциніл-СоА
Аспарагін, аспаргат	Оксалоацетат

Фрагменти вуглецевих скелетів *аланіну, триптофану, цистеїну, серину, гліцину та треоніну* деградують з утворенням пірувату: *аланін* – в реакції трансамінування з α-кетоглутаратом, бічний ланцюг триптофану – після відщеплення перетворюється на аланін, а далі – піруват, *цистеїн* – у

два етапи: видалення атома S та трансамінування, *серин* – видалення $-NH_2$ -групи за дії ензимусериндегідратази, *гліцину* – двома шляхами: за дії ензиму серин-гідроксиметилтрансферази та ензиму сериндегідратази, *треоніну* – з гліцину за дії ензимутреоніндегідрогенази.

Фрагменти вуглецевих скелетів *триптофану*, *лізину*, *лейцину*, *ізолейцину*, *фенілаланіну*, *тирозину* та *треоніну* деградують з утворенням ацетил-КоА. Завершальні етапи катаболізму перших трьох нагадують етапи окиснення ВЖК. На особливу увагу заслуговують продукти розщеплення двох із семи зазначених амінокислот – триптофану та фенілаланіну: перший є попередником нікотинату (ніацину) – джерела утворення NAD і NADP, а також індоацетату, який бере участь у ростових процесах у рослин, а другий – містить дев'ять атомів С, чотири з яких перетворюються на фуарову кислоту, або фумарат, що перетворюється у сукцинат та бере участь у циклі трикарбонових кислот у рослинах.

Фрагменти вуглецевих скелетів *глутамату*, *глутаміну*, *гістидину*, *аргініну*, *гістидину* та *проліну* при їх розщепленні надходять до циклу трикарбонових кислот у вигляді α -кетоглутарату: глутамат перетворюється на α -кетоглутарату внаслідок трансамінування, а за дії ензиму глутамінази – перетворення глутаміну на глутамат, *аргінін* – зазнає трансамінування за дії аланінамінотрансферази, *гістидин* – за дії ензимів гістидинаміаціязи, імідазолонпропіонази та глутаматформімінотрансферази спочатку до глутамату, а далі – за дії ензиму глутаміатдегідрогенази, циклічна будова проліну – розривається з утворенням основ Шиффа та глутаміну, який за дії ензиму глутамінази перетворюється на глутамат, останній – внаслідок дезамінування або трансамінування – на α -кетоглутарату. Вуглецеві скелети *проліну*, *глутамату* та *глутаміну* складаються з п'яти атомів С, а у складі *аргініну* та *гістидину* п'ять атомів С з'єднані послідовно, а шостий – через атом N.

Фрагменти вуглецевих скелетів *валіну*, *метіоніну*, *ізолейцину* та *треоніну* призводять до утворення сукциніл-СоА (проміжного продукту циклу трикарбонових кислот): розщеплення *метіоніну*, *ізолейцину* та *валіну* є послідовним – спочатку утворюється пропіоніл-СоА – *валін* та *ізолейцин* перетворюються до пропіоніл-СоА внаслідок декількох складних процесів, деякі з етапів деградації *валіну* та *ізолейцину* подібні до етапів окиснення жирних кислот, *метіонін* – до гомоцистеїну, серину, α -кетобутирату у відповідних ензиматичних реакціях, а потім – до пропіоніл-СоА за участю ензиму дегідрогенази α -кетокислот, *треонін* спочатку перетворюється до α -кетобутирату, а останній за участі дегідрогенази α -кетокислот – до пропіоніл-СоА, який перетворюється при карбоксилюванні з утворенням метилмалоніл-СоА за участю метилмалоніл-КоА-мутази, коензимом цієї реакції є вітамін B_{12} .

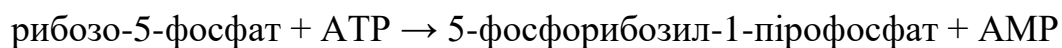
Фрагменти вуглецевих скелетів *аспарагіну* та *аспартату* надходять у цикл трикарбонових кислот у вигляді оксалоацетату: перетворення аспарагіну до аспартату відбувається гідролітично за участю ензиму аспарагінази, а аспартату – за участі ензиму аспартатамінотрансферази.

Ми ознайомилися з тим, як амінокислоти розщеплюються після втрати атомів N. Таке розщеплення відбувається під час перебігу таких найважливіших метаболічних реакцій у клітинах рослин, як реакції дегідрогенізації при відщепленні H^+ , декарбоксилювання – CO_2 , дезамінування та трансамінування – NH_2 .

Як і у випадку розщеплення вуглеводів та ліпідів, розщеплення амінокислот супроводжується утворенням відновних еквівалентів (NADH і $FADH_2$) – продуктів функціонування дихального циклу рослин.

Метаболізм нуклеотидів у рослинах. У відповідному підрозділі ми наголошували, що нуклеотиди є компонентами нуклеїнових кислот – ДНК і РНК, а також головними переносниками енергії хімічних зв'язків, що є головною функцією АТР і, частково, GTP, компонентами кофакторів NAD, FAD, FMN, S-аденозилметіоніну, ацетил-СоА, а деякі нуклеотиди, зокрема, АМР і GMP, задіяних у позаклітинній трансдукції рослин.

Зауважимо, що спільним метаболітом для синтезу амінокислот та нуклеотидів є *фосфорибозилпірофосфат* (ФРПР), що синтезується з рибозо-5-фосфату за дії ензиму рибозофосфат-пірофосфатази у пентозофосфатному циклі за схемою:



У рослинах існує два типи метаболічних шляхів **синтезу нуклеотидів**: синтез з попередників – амінокислот, рибозо-5-фосфату, CO_2 та NH_3 , а також в процесі реутилізації – повторного використання вільних азотистих основ, що утворюються при розщепленні нуклеїнових кислот рослин.

Синтез пуринових нуклеотидів починається лише з	3
фосфорибозилпірофосфату, а піримідинових –	3
фосфорибозилпірофосфату, аспартату та карбамоїлфосфату	

Пуринові нуклеотиди – АМР та GMP, містять азотисті пуринові основи аденін та гуанін, відповідно. Наведемо походження атомів N та C у складі пуринового кільця нуклеотидів рослин (рис.3.25).



Рис. 3.25. Походження атомів пуринового кільця нуклеотидів рослин

До ензимів рослин, що регулюють синтез пуринових нуклеотидів, належать рибозофосфат-пірофосфаткіназа, глутамін-фосфорибозилпірофосфат-амідотрансфераза, аденілілосукцинатсинтаза, аденілілосукцинатліаза.

Поширені у рослинах *піримідинові нуклеотиди* – СМР та УМР, містять піримідинові основи цитохін та урацил, відповідно. До ензимів, що регулюють синтез піримідинових нуклеотидів, належать аспартаттраснкарбомойлаза, дигідроортаза, кінази, цитидилатсинтаза. Розщеплення пуринових та піримідинових нуклеотидів рослин відбувається за дії ензимів нуклеотидази, рибонуклеотидредуктази, нуклеозид-дифосфаткінази, тимідилатсинтази тощо, що у кінцевому випадку призводить до утворення NH_4^+ . Унаслідок розщеплення нуклеотидів у клітинах рослин постійно утворюються вільні пуринові та піримідинові азотисті основи, які реутилізуються в реакції, які каталізує ензим аденозинфосфорибозилтрансфераза, у ході якої аденін взаємодіє з ФРПР з утворенням аденілового нуклеотиду за схемою:



Реутилізація інших азотистих основ здійснюється відповідним чином.

На перший погляд може здатися, що лінійні ланцюги ДНК і РНК подібні, а різниця між ними стосується лише наявності у складі РНК групи $-\text{OH}$ у 2-положенні альдопентози та U замість T. Проте, важлива відмінність між цими біомолекулами рослин у тому, що ділянки одноланцюгових молекул РНК взаємодіють між собою, що визначає більший потенціал структурної різноманітності, ніж ДНК. Крім того, РНК бере участь як у збереженні та передаванні генетичної інформації, так й у процесі каталізу.

Структура із лінійним специфічними розташуванням нуклеотидів та їх з'єднань, унаслідок чого формується молекула ДНК, – має назву *матриця ДНК*. Кожен з двох ланцюгів дволанцюгової молекули ДНК є матрицею для іншого.

Синтез ДНК у клітині рослин здійснюється у три стадії:

– реплікація ДНК – точне копіювання молекул ДНК, що здійснюється за наступними правилами:

- репарація ДНК – відновлення пошкодженої ділянки ДНК;
- рекомбінація ДНК – специфічна перебудова ділянок ДНК.

Синтез ДНК здійснюють ензими ДНК-полімерази, а розщеплення – ензими нуклеаз, або ДНК-ази

Реплікація ДНК відбувається у точно визначений час клітинного циклу та складається з трьох фаз: ініціації, елонгації й термінації. Ензими нуклеази поділяються на два класи – екзонуклеази та ендонуклеази рослин: перші розщеплюють нуклеїнові кислоти шляхом видалення нуклеотидів у напрямі 5' → 3' або 3' → 5', другі – розщеплюють ланцюги ДНК у специфічних ділянках, поступово утворюючи менші молекули ДНК. У біотехнології рослин використовують специфічні ендонуклеази.

Збереження цілісності інформації, що міститься у ДНК забезпечується набором виправлення ушкоджень ДНК – системою *репарації* або відновлення. Найліпшим підходом, що відображає важливість процесу репарації ДНК, є дослідження невивиправлених ушкоджень її молекули. Успадковану або постійну зміну послідовностей нуклеотидів ДНК називають мутацією. До систем репарації ДНК ядра клітини рослин не належать:

- репарація шляхом вирізання основ;
- репарація шляхом вирізання нуклеотидів;
- пряма репарація.

Перебудова генетичної інформації усередині молекули ДНК передбачає різноманітні процеси, які мають спільну назву «*рекомбінація ДНК*» та події яких включають три метаболічні процеси:

- гомологічна генетична рекомбінація або загальна рекомбінація – обмін генетичним матеріалом між двома молекулами ДНК або сегментами однаєї молекули, які містять довгу ділянку майже ідентичної послідовності;
- сайт-специфічна генетична рекомбінація – обміни відбуваються лише у певній послідовності;
- ДНК-транспозиція – полягає у здатності коротких ділянок ДНК переміщатися з одного місця хромосоми в інше.

У нуклеотидних послідовностях ДНК закодована генетична інформація про первинні структури РНК та протеїнів.

Генетична інформація – це спадкова інформація, що міститься в послідовності нуклеотидних азотистих основ у ДНК або РНК клітини рослин

Синтез РНК у клітині рослин відбувається на підставі інформації, що зберігається в молекулі ДНК. Під час *транскрипції* ензимами перетворюють генетичну інформацію, закодowaną у сегментах ДНК, у ланцюг РНК, послідовність якого відповідає до одного з ланцюгів ДНК – таким чином синтезуються три головні види РНК:

– матрична (мРНК, або інформаційна) – містить послідовність амінокислот в одному або кількох поліпептидах, склад цієї послідовності точно визначає ген або група генів – ділянок хромосом ядра клітини рослин, яка кодує окремий поліпептидний ланцюг або молекулу РНК;

– транспортна РНК (тРНК) – зчитує інформацію, що міститься в мРНК, і переносить відповідні амінокислоти до поліпептидного ланцюга під час синтезу протеїнів;

– рибосомна РНК (рРНК) – є компонентом рибосом – комплексу, в якому здійснюється синтез протеїнів.

Процес транскрипції РНК – подібно процесу реплікації ДНК – складається з трьох фаз: ініціації, елонгації і термінації

У спеціалізованій літературі фазу ініціації при транскрипції ДНК розділяють ще на дві фази: зв'язування ДНК та ініціацію синтезу РНК клітини рослин. Спеціалізовані РНК мають регуляторні або каталітичні властивості, є попередниками наведених трьох видів РНК.

Якщо під час процесу реплікації ДНК – синтезу молекул ДНК, ідентичних із похідною ДНК – відбувається копіювання цілої хромосоми, то для процесу транскрипції РНК характерна більша вибірковість.

Синтез РНК здійснюють ензими РНК-полімерази, а розщеплення – ензими нуклеази, або РНК-ази

Експресія (прояв) генетичної інформації у клітині рослин обмежена утворенням генів, потрібних саме на відповідному метаболічному шляху, тому в будь-який момент життя клітини рослин зчитується інформація щодо лише певних генів або груп генів, а деякі ділянки ДНК не зчитуються. Зауважимо, що початок і кінець ділянок ДНК – генів, з яких зчитується інформація, а яка з ниток подвійної ДНК є матрицею РНК, визначають специфічні регуляторні послідовності самої молекули.

Нижче розглянемо, як відбуваються синтез РНК на матриці ДНК постсинтетичний процесинг РНК, а також спеціалізовані функції РНК, включно з їх каталітичною роллю.

Субстратами для РНК-ензимів рослин є інші молекули їх РНК

*Синтез РНК є ДНК-залежним, його виконують ензими РНК-полімерази та промоторах – специфічних послідовностях у молекулів ДНК, з якими зв'язуються ензими РНК-полімерази. Синтезовану молекулу РНК називають первинним транскриптом РНК, він містить послідовності одного гена рослин. Некодувальні ділянки, що переривають кодувальні послідовності траскрипту – інтрони, а ділянки, які кодують протеїни – екзони. Внаслідок процесу, що має назву сплайсингу (від англ. *splicing* – з'єднання) – нїтрони видаються з первинних транскриптів, а екзониз'єднуються з утворенням поліпептиду рослин. Синтез РНК на специфічних генах блокують протеїни – репресори.*

*Після синтезу частина молекул РНК зазнає пених модифікацій, або змін, які мають назву постсинтетичний процесинг РНК (від англ. *Processing* – переробляння).*

Під час постсинтетичного процесингу РНК клітини рослин відбуваються надзвичайні реакції, що стосуються метаболізму РНК

Таким чином, інформаційні шляхи рослинної клітини взаємоємопов'язані, азалежний від матриці ДНК синтез нуклеїнових кислот відбувається за стандартними принципами незалежно від природи матриці ДНК або продукту (РНК або ДНК).

Синтез протеїнів у рослинах відбувається у рибосомах їх клітини впродовж за активування протеїногених амінокислот. Для утворення поліпептиду з певною послідовністю амінокислот необхідні дві головні умови:

– активування -СООН-групи амінокислоти, що полегшує утворення пептидного зв'язку;

Пептидний зв'язок між амінокислотами утворюється за взаємодії -СО-групи однієї амінокислоти із -NH₂-групою іншої

– встановлення зв'язку між нової амінокислотою та інформацією у молекулі мРНК, що її кодує.

Обидві умови виконуються внаслідок приєднання амінокислот до тРНК завдяки енергії АТР за допомогою Mg²⁺-залежних ензимів аміноацил-тРНК-синтетаз (рис. 3.26).



Рис. 3.26. Активування амінокислот в процесі синтезу протеїнів рослин

Зв'язування протеїногенних амінокислот із тРНК відбувається у цитозолі, не у рибосомі клітини рослин. Кожній протеїногеній амінокислоті рослин відповідає *генетичний код* – набір генетичної інформації триплетного коду в ДНК або мРНК, що кодує амінокислотний склад протеїнів рослин.

*Процес регульованого мРНК синтезу протеїнів має назву **трансляції***

Порядок розташування амінокислот у поліпептидному ланцюзі визначають кодони мРНК, які складаються з триплету нуклеотидів (трьох залишків) та містять інформацію щодо окремої амінокислоти, – *кодони*, які відіграють ключову роль у процесі трансляції генетичної інформації – задають програму синтезу протеїнів. Молекули тРНК розпізнають кодони і активують амінокислоти у відповідне розташування. *Антикодоном* називають трьохосновну послідовність тРНК, яка відповідно зв'язується з кодоном у складі мРНК.

Одна амінокислота може кодуватися двома та більше кодонами, проте один кодон не може кодувати більше однієї амінокислоти

Кодон AUG є сигналом для початку, а триплети UAA, UAG або UGA – сигналами для закінчення процесу синтезу протеїнів у рибосомах клітини рослин.

Згортання і посттрансляційний процесинг відбувається за дії ензимів, які здійснюють реакції видалення $-NH_2$ -групи та приєднання функціональних груп до амінокислот.

Синтезовані протеїни рослин зазнають наступних модифікацій:

- амінокінцева і карбоксикінцева модифікація;
- втрата сигнальних послідовностей;
- модифікація окремих амінокислот;
- приєднання бічних вуглецевих ланцюгів;
- приєднання залишків терпену;

- додавання протетичних груп;
- утворення дисульфідних зв'язків.

Наука, що досліджує перебудови генотипів рослин на рівні рекомбінантних ДНК методами молекулярної біології і генетики, пов'язані з цілеспрямованим конструюванням не існуючих сполучень генів рослин – генна інженерія рослин. Методи генної інженерії дозволяють переносити генетичну інформацію з одного генопиту в інший. У результаті вбудовування у генотип відсутнього гена можна змусити клітину рослин синтезувати протеїни, які вони раніше не утворювала. Генна інженерія рослин принципово відрізняється від класичної селекції рослин. Прояв домінуючої або рецесивної ознаки генів відображає іншу характеристику генів ДНК – його здатність проявлятися у фенотипі. Елементарною одиницею фенотипу є фені.

*Сукупність видимих ознак у рослині, ступінь прояву генотипу, – **фенотип** рослин*

Ознаки поділяються на якісні та кількісні: перші є олігогенними та контролюються одними або кількома генами, а другі – полігенними та регулюються сумарним впливом багатьох генів ДНК. Відстані між генами мають назву аллелей: один з аллелей визначає розвиток домінуючого, інший – рецесивного стану ознаки.

***Ознака** – це умовне позначення одиниці біохімічної дискретності рослини, які поділяються на якісні та кількісні*

Гени, розташовані в однакових ділянках ДНК однакових хромосом ядра клітини рослин, мають назву алельні гени, вони мають такі типи взаємодії: повне домінування, неповне домінування, кодомінування, алельне виключення. Важливим фактором біоінженерії є створення посухо-, зимо- та холодостійких сортів та гібридів сільськогосподарської культури. З генетичної точки зору, стійкість є домінуючою та полігенною ознакою.

Методами класичної селекції рослин не можна схрещувати неспоріднені види, не можна ззовні керувати процесом рекомбінації рослин, не можна передбачати, яким буде потомство

Можливості генної інженерії рослин наступні:

- можна виділяти молекули для схрещування при розрізанні ДНК на фрагменти за дії ензимів рестриктаз;
- можна керувати процесом рекомбінації у пробірці;

– можна передбачати результат, оскільки відбираються сорти, лінії та гібриди з однієї ДНК (молекулярне клонування). До методів трансформації ДНК належать: введення ДНК у протопласти клітин, електропорація клітин, мікроін'єкції ДНК у клітини тощо.

ПРАКТИЧНИЙ БАЗИС

Практична робота № 3. Методики кількісної біохімічної оцінки інтенсивності перебігу метаболічних процесів у рослинній сировині

Завдання 9. Техніка оцінки швидкості перебігу азотного метаболізму за активністю ензиму аланінамінотрансферази у рослинній сировині

Нагадаємо, що ензими є каталізаторами як процесів синтезу, так й розщеплення біомолекул, тому визначають вміст субстратів або продуктів дії відповідного ензиму. Так, одним із шляхів перетворення важливого для рослин мінерального елементу – макроелементу Нітрогену є азотний метаболізм. Ключовими ензимами якого є ензими амінотрансферази – аланінамінотрансфераза, аспартатамінотрансфераза та тирозинамінотрансфераза, кофактором яких є піридоксальфосфат. Нижче наведемо методику оцінки активності першого ензиму – аланінамінотрансферази (АлАТ) – методику Райтмана-Френкеля. *Принцип* методу базується на вимірюванні оптичної густини 2,4-дінітрофенілгідразонів оксоглутарової та піровиноградної кислоти у лужному середовищі, при цьому ця ензиматична реакція відбувається за наступною схемою (рис. 3.27).

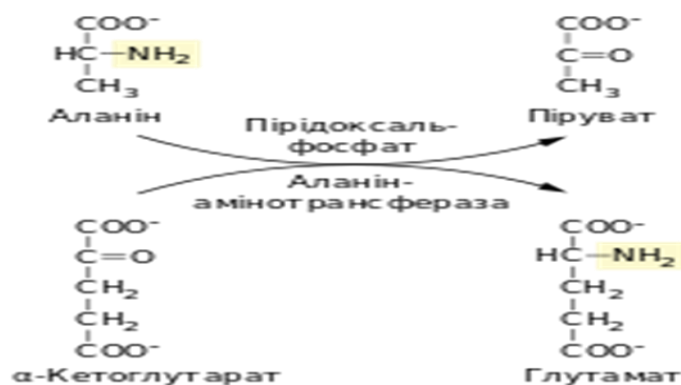


Рис. 3.27. Реакція трансамінування амінокислот рослин за дії аланінамінотрансферази

Хімічні реактиви для методики:

- 1) субстратно-буферний розчин:
 - 0,1 М розчин калій-нітрій фосфатного буферу, рН 7,3;
 - 0,1 М розчин L-аланіну;

- 2 мМ розчин 2-оксоглутарової кислоти;
- 2) стоп-реагент – 1 мМ розчин 2,4-днітрофенілгідразину;
- 3) стандартний реагент – 2 мМ розчин пірвіноградної кислоти;
- 4) 0,4 Н розчин натрію гідроксиду.

Технологічні етапи проведення цієї методики наступні:

1) *визначення концентрації протеїнів (див. «Завдання 7»)* та фіксація результатів;

2) *проведення кольорової реакції* – з протеїнового розчину, отриманого розчиненням 2 – 5 мл 0,1 Н NaOH, відбирають 0,1 мл фільтрату та додають 0,5 мл субстратного розчину, витримують на водяній лазні на протязі 30 хв. за температури 30°C, охолоджують та вносять по 0,5 мл 2,4-днітрофенілгідразину, після чого витримують на протязі 20 хв за кімнатної температури. Вносять по 5,0 мл 0,4 Н розчину натрію гідроксиду та залишають на 10 хв для розвитку забарвлення та колориметрують на ФЕЦі при довжині хвилі 540 нм (*дослідні зразки*). Вимірюють концентрацію протеїнів у дослідних зразках відносно контрольних зразків на ФЕЦі при довжині хвилі 540 нм.

Контрольні зразки готують наступним чином: у дві пробірки відбирають по 0,5 мл субстратного розчину, витримують на водяній лазні на протязі 30 хв. за температури 30°C, охолоджують та вносять по 0,5 мл 2,4-днітрофенілгідразину, після чого витримують на протязі 20 хв за кімнатної температури. Вносять по 5,0 мл 0,4 Н розчину натрію гідроксиду та залишають на 10 хв для розвитку забарвлення та колориметрують на ФЕЦі при довжині хвилі 540 нм;

5) *розрахунок вмісту пірвіноградної кислоти здійснюють за показниками концентрації стандартних зразків із використанням формули для розрахунку.*

Згідно показань ФЕКу будують калібрувальний графік на міліметровому папері. Активність ензиму АлАТ оцінюють за вмістом пірвіноградної кислоти за формулою: А, мкМ ПВК / (год • мг протеїну).

Завдання 10. Техніка оцінки швидкості перебігу фотосинтезу за вмістом фотосинтетичних пігментів у рослинній сировині

Активність фотосинтетичних процесів, що здійснюються в організмі рослин, є результатом метаболічних реакцій між відповідними пігментами – ліпідоподібними сполуками, до яких належать, зокрема, хлорофіли та каротиноїди рослинної сировини, тому для оцінки перебігу фотосинтетичних процесів визначають вміст останніх у зелених частинах рослинної сировини. Нижче наведено методику визначення сумарного вмісту хлорофілів, *принцип* якої полягає у хімічній реакції хлоропластів рослинної сировини, виділених під час екстракції рослинного матеріалу у етиловому спирті, із реактивом

Хімічні реактиви для методики:

– 80 % етиловий спирт;

– реактив Гетері, компонентами якого є: 1 % розчин купруму сульфату ($\text{CuSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) – 28,5 мл, 2% розчин калію бихромату ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) – 50 мл, 7 % розчин амоніакової води (NH_4OH) – 10 мл, а також дистильована вода 11,5 мл.

Технологічні етапи проведення цієї методики наступні:

1) *екстракція рослинного матеріалу* – на технохімічних терезах зважують зелену частину рослинного матеріалу у кількості 0,25 г, попередньо облунивши ваги за масою тари для зважування, перенести зважений матеріал у порцелянову ступку із товпчиком, внести на кінчику металевого шпателью хімічно чисту крейду – для попередження окиснення фотосинтетичних пігментів, після чого внести за допомогою піпетки 3 мл 80 % етилового спирту та механічно подрібнити рослинний матеріал у ємкості за допомогою товпчика. Перелити масу в суху хімічну пробірку із використанням скляної лійки. Промити порцелянову ступку шляхом додавання 3 мл етанолу та внести у пробірку із рослинним гомогенатом. Довести об'єм розчину у пробірці до 15-20 мл (дослідні зразки). Вимірюють концентрацію дослідних зразків відносно контрольних на ФЕЦі при довжині хвилі 650 нм. Контрольний зразок містить лише етанол у вищенаведеній концентрації;

2) *розрахунок вмісту хлорофілів здійснюють за показниками концентрації стандартних зразків, після чого використовують формулу для розрахунку.* В якості стандарту для визначення вмісту хлорофілів у дослідних зразках використовують розчин Гетері, з якого готують стандартні розчини за умов розчинення у дистильованій з концентраціями у діапазоні 0,085-7,65 мг/дм³. Вміст хлорофілів у зразку розраховують за формулою: $C_{\text{хлор, мг/100 г тканини}} = (A \cdot V \cdot 100) / (V_1 \cdot m \times 1000)$, де A – концентрація хлорофілів за калібрувальною кривою, мг/дм³; V – загальний об'єм витяжки, мл; V_1 – об'єм витяжки, взятої на аналіз, мл.

**ЗАВДАННЯ ДО САМОСТІЙНОГО ОПРАЦЮВАННЯ
МАТЕРІАЛУ
КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ**

1. Способи агротехнологічного виробництва рослинної сировини.
2. Критерії первинного генезу забезпечення життєдіяльності та продуктивності рослин.
3. Критерії вторинного генезу забезпечення життєдіяльності та продуктивності рослин.
4. Молекулярні структурні компоненти рослин.
5. Рівні молекулярної структурної організації забезпечення життєдіяльності організму рослин.
5. Типи хімічних взаємодій між структурними компонентами клітини рослин та типи класів хімічних реакцій, що забезпечують формування пулу хімічних сполук у рослинах.
7. Які органели належать до двомембранних?
8. Механізми регуляції метаболізму у рослинах на рівні клітин.
9. Які механізми регуляції метаболізму у рослинах на позаклітинному рівні.
10. Загальна характеристика стресу рослин.
11. Поняття якості рослинної продукції.
12. Технологічні етапи кількісної біохімічної оцінки забезпеченості рослинної сировини хімічними сполуками.
13. Лабораторне оснащення, необхідне для проведення для визначення вмісту хімічних показників у рослинній сировині.
14. Принципи методів розділення та осадження хімічних складових рослинного матеріалу.
15. Технологічні етапи отримання рослинного препарату для аналізу рослинної сировини
16. Типи концентрації розчинів хімічних реактивів для аналізу якості ролинної сировини.
23. Складовими яких біомолекул рослин є макроелементи?
24. До складу яких ензимів входить Кобальт?
25. Які сполуки є представниками альдогексозу у рослинах?
26. Які органічні кислоти належать до дикарбонових?
26. Які типи хімічних сполук рослин входять до складу аглікону у глікозидах?
28. Яке значення фосфорильованих цукрів рослин?
29. Із залишків яких моносахаридів складається рафіноза рослин?
30. З яких хімічних компонентів складається крохмаль рослин?
26. Які вищі жирні кислоти рослин належать до насичених?
27. Яка кількість атомів Карбону притаманна вищим жирним кислотам рослин?
29. З яких компонентів складаються рослинні олії?

30. За якими показниками визначають якість олій в процесі їх зберігання?
31. Які типи гліколіпідів належать рослинам?
32. Які нітрогеновмісні спирти є компонентами фосфоліпідів рослин
33. Які класи фосфоліпаз існують у рослинах ?
34. Яку хімічну будову має ліпідорозчинна сполука – фотосинтетичний пігмент хлорофіл?
35. В яких органелах клітини рослин утворюються протеїногенні амінокислоти?
36. На чому базуються реакції трансамінування у рослинах?
37. Що таке аміни та аміди рослин?
38. Які амінокислоти є компонентами три пептиду глутатіону у рослинах?
39. Які типи простих протеїнів існують у рослинах?
40. Що таке простетичні групи протеїнів рослин?
44. Які азотисті основи є компонентами рибонуклеїнових кислот рослин ?
45. Які функції належать нуклеотидам рослин, крім структурної?
46. В якій органелі клітини рослин містяться хромосоми?
46. Які класи хімічних сполук належать до сполук вторинного походження у рослинах?
47. Яка кислота є компонентом ціаногенних глікозидів у рослинах?
48. За якою схемою відбувається утворення цитокінінів у рослинах?
49. Яка класична схема механізму передавання сигналів фітогормонів?
50. Які системи беруть участь у регуляції метаболізму рослин?
51. Що таке нефосфорильовані нуклеотиди?
52. До яких метаболічних шляхів належить гліюксилатний цикл у рослинах?
53. Які процеси перетворення енергії у рослинах є біоенергетичними?
54. У чому полягає суть ендотермічних реакцій у рослинах?
55. Які сполуки містять відповідну кількість енергії у рослин?
56. Які типи ензимів АТР-аз беруть участь в активному транспорті у рослинах ?
57. До якого типу ензимів належать ензими, що беруть участь у транспорті міжмітохондріями та цитоплазмою клітин рослин?
58. Що таке інтрони хромосомах ядра рослин ?
59. Яке місце локалізації у клітині рослин займають рецепторні протеїни, що беруть участь у міжклітинній регуляції?
60. Що таке каталіз у рослинах?
61. Які види специфічності притаманні ензімам рослин?
62. З яких структур складаються ензими рослин?
63. Які групи та їх представники належать до кофакторів ензимів рослин?
64. Які класи ензимів існують у рослинах?
65. Які мультиензимні комплекси належать рослинам?
66. За якими біохімічними механізмами регулюється активність ензимів рослин?

67. Які ключові ензими характерні для азотного, вуглеводного та ліпідного метаболізму рослин?
68. Які основні принципи сучасної класифікації та номенклатури ензимів рослин?
69. Які стадії фотосинтезу виявлені у рослинах?
70. Як взаємопов'язані фотосинтез та дихання рослин?
71. Які компоненти складають будова хлоропластів рослин?
72. Які компоненти складають фотосистеми при передаванні електронів від H_2O до NADPH усередині подвійної мембрани у мембрани тилакоїду хлоропластів рослин?
73. Яку реакцію здійснює АТР-аза рослин?
74. Які існують стадії, ензими, реакції та особливості циклу Кальвіна в ході реакцій асиміляції вуглецю у стромі хлоропластів рослин ?
75. В якому місці клітини рослин відбувається процес фотодихання?
76. Які реакції та ензими окисного фотосинтетичного циклу вуглецю належать рослин із C_4 -типом фотосинтезу?
77. Які ензими та коензими входять до складу піруватдегідрогеназного комплексу у мітохондріях рослин?
78. Які компоненти беруть участь у будові мітохондрій рослин?
79. Які реакції та особливості здійснення стадій циклу Кребса відбувається у мітохондріях рослин ?
80. Які сполуки беруть участь в перенесенні електронів у дихальному ланцюзі мітохондрій рослин?
81. Які реакції відбуваються у циклі Кальвіна у рослинах ?
82. В яких стадіях здійснюється гліколіз у рослинах?
83. Які стадії окиснення фосфогексоз притаманні пентозофосфатному шляху рослин?
84. В яких органелах рослин відбувається синтез ліпідів?
85. Які ензими, що входять до складу комплексу синтази жирних кислот у рослинах?
86. Які стадії β -окиснення жирних кислот у пероксисомах рослин?
87. Яке значення має гліоксилатний цикл у рослинах та які його стадії?
88. Які два допоміжні ензими необхідні для β -окиснення ненасичених ВЖК у рослинах ?
89. Чому амінокислоти та нуклеотиди доцільно вивчати разом?
90. У яких формах існує Нітроген у рослинах?
91. Через які амінокислоти включається Аміак у рослині?
92. Які попередники амінокислот існують у рослинах?
93. Що таке хоризмат та які проміжні сполуки утворюються у цьому шляху у рослинах?
94. Яка характерна особливість розщеплення амінокислот у рослинах?

95. Які кофактори беруть участь у реакціях перенесення одновуглецевих груп при розщепленні амінокислот у рослинах?
96. З яких компонентів складається молекула коензимутетрагідрофоліату рослин?
97. Які етапи синтезу нуклеотидів існують у рослинах?
98. В яких стадіях відбувається синтез ДНК у клітині рослин?
99. Які види рибонуклеїнових кислот існують у рослинах?
100. У чому суть генної інженерії рослин?

ПРИКЛАДИ КОНТРОЛЬНИХ ТЕСТІВ

1. Вкажіть метод біохімічного аналізу рослинної сировини, що дозволяє виділити клітинні фракції з рослинного препарату:
- а) цитофотометрія;
 - б) мікроскопія;
 - в) центрифугування;
 - г) хроматографія.
2. Яку наву мають хімічні сполуки рослин, що знижують гіперутворення Оксигену:
- а) відновники;
 - б) антиоксиданти;
 - в) макроерги;
 - г) окисники ?
3. Який вуглевод належить до полісахаридів рослин:
- а) клітковина;
 - б) арабіноза;
 - в) маноза;
 - г) трегалоза;
 - д) дезоксирибонуклеїнова кислота ?
4. Установіть відповідність (запишіть пари – букву і цифру):
дисахарид властивості: 1) редукуючи; 2) нередукуючі
- а) мальтоза;
 - б) сахароза;
 - в) целобіоза;
 - г) трегалоза;
 - д) рамноза.
5. До компоненту якого вуглеводу рослин входить фруктоза:
- а) глюкози;
 - б) арабінози;
 - в) сахарози;
 - г) пірувату ?
6. Виберіть найважливішу, з наведених, біохімічну роль вуглеводів рослин:
- а) фітогормональна;

- б) каталітична;
- в) геннорегуляторна;
- г) енергетична

7. Оберіть правильну відповідність:

А. Кетопетоза	а) маноза
Б. Кетогексоза	б) фруктоза
В. Альдопентоза	в) ксилоза
Г. Альдогексоза	г) діоксиацетон

8. Яке біохімічне значення має розщеплення глюкози у рослинах:

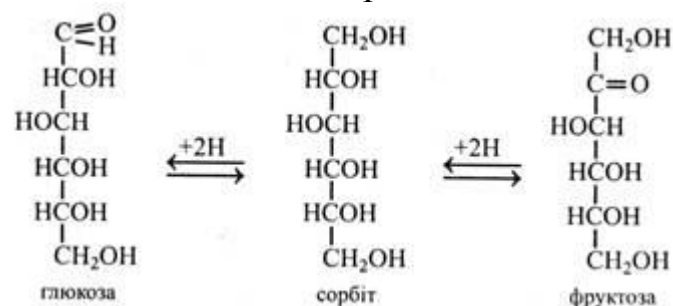
- а) синтезується АТФ – донор енергії у біологічних процесах рослин;
- б) проміжні продукти розщеплення цього моноцукру використовуються в реакціях анаболізму рослин;
- в) розщеплення глюкози у рослинах може відбуватися як в аеробних, так і анаеробних умовах, а, отже, є джерелом АТФ для рослинних клітин у різних фізіологічних умовах;
- г) аеробний розпад глюкози у рослинах відбувається лише за участі макроергічних (збагачених на енергію) сполук ?

9. Внесіть потрібне значення:

«При окисненні моноцукрів утворюють органічні кислоти, що містять одну, дві та групи карбоксильні (COOH) групи:

- а) монокарбонові (оцтова, пропіонова, гліоксилова, гліколева, піровиноградна),
- б) _____ (щавелева, яблучна, фумарова, янтарна, винна, щавелевооцтова);
- в) трикарбонові (лимонна, ізолимонна, аконітова, щавелевоянтарна, α-кетоглутарова».

10. Який тип хімічної реакції наведено нижче ?



11. Який хімічний реактив використовують для якісного визначення глюкози у рослинах:

- а) NH_4NO_3 ;
- б) $\text{Cu}(\text{OH})_2$;
- в) AgNO_3 ;
- г) KCl ?

12. Які типи ліпідів рослин складаються із залишків спирту та вищих жирних кислот:

- а) гліколіпіди;
- б) сульфоліпіди;
- в) прості ліпіди;
- г) похідні ліпідів ?

13. За дії якого типу ензимів відбувається утворення вільних жирних кислот у рослинах:

- а) гліколіпіди;
- б) сульфоліпіди;
- в) прості ліпіди;
- г) похідні ліпідів ?

14. За якого типу реакції відбувається розщеплення жирних кислот у рослинах:

- а) декарбоксілювання;
- б) α -окиснення;
- в) γ -окиснення;
- г) відновлення ?

15. Яке найважливіше біохімічне значення триацилгліцеролів рослин:

- а) механічне;
- б) гідролітичне;
- в) енергетичний резерв клітин;
- г) участь у вільно радикальному окисненні насичених жирних кислот ?

16. Якими сполуками, за хімічною природою, є воски рослин:

- а) діацилгліцерилами;
- б) естерами вищих жирних кислот і монооксиспиртів із довгим розгалуженим ланцюгом;
- в) фітостеролами;
- г) естерами вищих жирних кислот і монооксиспиртів із короткою лінійною послідовністю вуглеводнів ?

17. Який показник характеризує якість рослинних олій:

- а) лужне число;
- б) йодне число;
- в) температура плавлення;
- г) гідролітичне число ?

18. Яка амінокислота містить ароматичне кільце:

- а) аланін;
- б) гліцин;
- в) триптофан;
- г) метіонін ?

19. Яка амінокислота є сульфуровмісною:

- а) гліцин;

б) метіонін;

в) валін;

г) аспарагінова кислота ?

20. Яким за хімічним складом є трипептид глутатіон рослин:

а) γ -глутаміл-серин-цистеїн;

б) γ -глутаміл-цистеїл-гліцин;

в) гліцин-цистеїл-аланін;

г) гліцин-глутаміл-цистеїн ?

21. Чим визначається харчова цінність протеїнів рослин:

а) послідовністю поєднання амінокислот між собою;

б) наявністю заряду молекул протеїну;

в) молекулярною масою;

г) ступенем розчинення у спирті ?

22. Підберіть до кожної з наведених нижче амінокислот функціональні групи:

1) аргінін; 2) цистеїн; 3) аспарагін; 4) тирозин

а) карбоксильна;

б) гідроксильна;

в) гуанідинова;

г) тіольна.

23. Підберіть до кожної з наведених нижче амінокислот функціональні групи:

1) лізин; 2) цистеїн; 3) глютамін; 4) треонін

а) карбоксильна;

б) гідроксильна;

в) гуанідинова;

г) тіольна.

24. Який амін утворює амінокислота серин у рослинах:

а) етаноламін;

б) метиламін;

в) агматин;

г) фенілетиленамін ?

25. Яка нітрогеновмісна сполука рослин здатна вступати в біуретову реакцію:

а) дипептид;

б) усі амінокислоти;

в) протеїногенні амінокислоти;

г) протеїни ?

26. Який УФ-спектр світла приладу необхідно встановити для визначення вмісту протеїнів у рослинах спектрофотометично:

а) 280 нм;

б) 400 нм;

в) 670 нм;

г) 750 нм ?

27. До складу якої сполуки входить ДНК у рослинах:

а) дезоксирибофураноза;

б) рамноза;

в) фруктофураноза;

г) галактопіраноза ?

28. Який синонім 2-аміно-6-оксопурину рослин:

а) ксантин;

б) гіпоксантин;

в) аденін;

г) гуанін ?

28. Який тип РНК не потрапляє з ядра до цитоплазми клітин рослин:

а) тРНК;

б) іРНК;

в) рРНК;

г) мХРНК ?

30. Чим визначається специфічність тРНК рослин:

а) акцепторною ділянкою;

б) антикодоновою петлею;

в) залишком гістидину;

г) активним центром нуклеїнової кислоти ?

31. Функціональні групи яких фенольних сполук рослин представлені $-\text{CH}=\text{CH}-\text{OH}$:

а) гідроксикоричних кислот;

б) феллоцтових кислот;

в) гідроксикоричних альдегідів;

г) гідроксикоричних спиртів ?

32. Яка сполука належить до сполукфітогормональної дії у рослинах:

а) гідроксикоричних кислот;

б) феллоцтових кислот;

в) гідроксикоричних альдегідів;

г) гідроксикоричних спиртів ?

33. Яке визначення характеризує поняття «метаболізм рослин»:

а) сукупність послідовних, координованих та односпрямованих хімічних процесів – синтезу і розщеплення біомолекул у рослинах ;

б) реакції окиснювального декарбоксилювання органічних кислот у рослинах – пірувату;

в) сукупність послідовних, координованих та протилежних хімічних процесів – синтезу і розщеплення біомолекул у рослинах;

г) процеси не ензиматичного окиснення та відновлення хімічних сполук у рослинах ?34. Який тип послідовних хімічних реакцій притаманний гліюксилатному циклу рослин:

- а) лінійний;
- б) спіральний;
- в) циклічний;
- г) розгалужений ?

35. Яка сполука є компонентом FAD у рослинах:

- а) піримідин;
- б) аденін;
- в) ізоалоксазин;
- г) рибітол ?

36. Які з перелічених сполук задіяна у світловій фазі фотосинтезу та:

- а) окислюється комплексом ФС I за нециклічного транспорту електронів;
- б) є кінцевим продуктом реакцій у ФС I за циклічного транспорту електронів;
- в) характерна для усіх переносників електрон-транспортного ланцюга;
- г) є первинним акцептором електронів у ФС II;
- д) є переносником електронів у ФС I ?

37. Який з перелічених процесів фотодихання рослин призводить до зниження продуктивності рослин, а який, навпаки, оптимізує інтенсивність хімічних процесів у рослинах:

- а) синтез амінокислот серину і гліцину;
- б) поглинання O_2 із виділенням CO_2 ;
- в) фіксування NH_3 ;
- г) відщеплення однією з десяти молекул рибулозо-1,5-бісфосфату;
- д) відновлення NADH.

38. Чим визначається характер кривої швидкості ензиматичних реакцій від рН у рослинах визначається:

- а) концентрацією ензиму;
- б) концентрацією субстрату;
- в) іонізацією функціональних гру активного центру ензимів;
- г) низькою температурою ?

39. Скільки значним є шифр ензимів рослин:

- а) шестизначний;
- б) однозначний;
- в) чотиризначний;
- г) п'ятизначний ?

40. На що вказує клас ензиму рослин:

- а) на тип коензиму;
- б) на конформацію ензиму;
- в) на структуру активного центру ензиму;

г) на тип хімічної реакції, що каталізується за дії ензимів ?

41. Від чого залежить швидкість ензиматичної реакції у рослинах:

- а) від молекулярної маси;
- б) від маси субстрату;
- в) від біохімічної гетерогенності субстрату;
- г) від концентрації ензиму ?

42. Які реакції каталізують ензими кінази у рослинах:

- а) транспорт атомів усередині клітини;
- б) утворення С-О-зв'язку;
- в) перенесення фосфатної групи;
- г) розвив С-С -зв'язку ?

43. Що характерне для перетворення пірувату у фосфоенолпіруват у рослинах:

- а) здійснюється в реакціях карбоксилювання;
- б) відбувається у мітохондріях;
- в) має місце у цитозолі;
- г) потребує затрат АТР і GTP ?

44. Утворенням якої сполуки закінчується підготовча стадія гліколізу:

- а) 2-фосфогліцерату;
- б) фруктозо-6-фосфату;
- в) форсфоенолпірувату;
- г) двох тріоз ?

45. Який коензим притаманний α -кетоглутаратдегідрогеназному комплексу рослин:

- а) FAD;
- б) сукциніл-СоА;
- в) FMN;
- г) NADH ?

46. Який ензим бере участь у реакції конденсації (поєднання) ацетил-СоА та оксалоацетату у рослинах:

- а) піруваткарбоксилаза;
- б) ацетил-СоА-карбоксилаза;
- в) фумараза;
- г) цитратсинтаза ?

47. Яку біохімічну роль виконує цикл Кребса у рослинах:

- а) специфічного шляху окиснення амінокислот і ліпідів у рослинах;
- б) загального шляху катаболізу у рослинах;
- в) специфічного шляху окиснення вуглеводів у рослинах;
- г) шляху окиснення нуклеїнових кислот у рослинах ?

48. На якому етапі перетворення відбувається реакція дегідрування в циклі Кребса у рослинах:

- а) цитрату до *цис*-аконітату;

- б) цитрату до ізоцитрату;
 - в) окиснення α -кетоглутарату;
 - г) фумарату до малату ?
49. Перебіг якої реакції циклу трикарбонових кислот рослин Кребса відбувається за участі гуанозинтрифосфату (GTP):
- а) цитрату до цис-аконітат;
 - б) сукциніл-СоА до сукцинату;
 - в) сукцинату до фумарату;
 - г) малату до оцалоацетату ?
50. Яка сполука є кінцевим продуктом окисного декарбоксилювання пірувату у клітинах рослин за аеробних умов у рослинах:
- а) цитрат;
 - б) α -кетоглутарат;
 - в) малат;
 - г) ацетил-СоА ?
51. Який коензим рослин прискорює реакцію перетворення малату до оксалоацетату за дії малатдегідрогенази:
- а) FMN;
 - б) FAF;
 - в) коензим А;
 - г) NAD^+ ?
52. Який ензим каталізує реакцію синтезу КоА-естерів жирних кислот у рослинах:
- а) ацил-СоА-синтетаза;
 - б) ацетилтрансфераза;
 - в) ацил-СоА-дегідрогеназа;
 - г) тіокіназа жирних кислот ?
53. Яка сполука є продуктом першої реакції β -окиснення жирних кислот у рослинах:
- а) еноїл-СоА;
 - б) ацетил-СоА;
 - в) ацетоацетат;
 - г) сукциніл-СоА ?
54. Який процес є основним шляхом катаболізму жирних кислот у рослинах:
- а) відновлення;
 - б) декарбоксилювання;
 - в) активації жирних кислот;
 - г) β -окиснення ?
55. Який нуклеотид є донором відновлювальних еквівалентів у реакціях біосинтезу жирних кислот є:
- а) FADH_2 ;
 - б) NADPH_2 ;

- в) NADH;
- г) FMN;
- д) CoQH₂ ?

56. Яка сполука є похідною фітостеринів:

- а) малоніл-CoA;
- б) CO₂;
- в) гліцин;
- г) глуманін;
- д) ацетил-CoA ?

57. Який коензим є компонентом α -кетоглутаратдегідрогеназного комплексу:

- а) FMN;
- б) сукциніл-CoA;
- в) FAD;
- г) NADH;
- д) глутатіон ?

58. Які сполуки входять до складу складних протеїнів:

- а) альбуміни, глобуліни;
- б) гліцерофосфати, стеарати;
- в) ліпопротеїди, нуклеопротеди;
- г) дипептидази, проламіни ?

59. Яка сполука є коензимом ензимів амінотрансфераз:

- а) тіамін;
- б) α -кетоглутарат;
- в) піридоксальфосфат;
- г) тіамінпірофосфат;
- д) сукцинат ?

60. Які фрагменти геному рослин є кодуючими:

- а) термінатор;
- б) міжгенна ділянка;
- в) інтрони;
- г) екзони;
- д) оператор ?

ПРИКЛАДИ КОНТРОЛЬНИХ ЗАВДАНЬ

1. Надати назви лабораторного оснащення, наведеного на рисунку 1.



Рис. 1 Лабораторне оснащення

2. Надати назви лабораторного посуду, наведеного на рисунку 2.

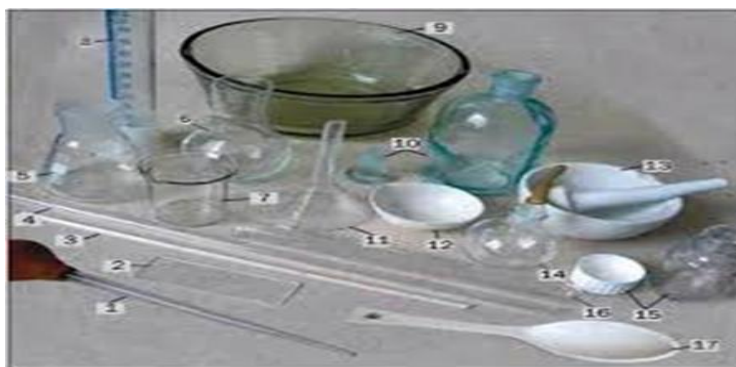


Рис. 2. Лабораторний посуд

3. Назвіть частину оптичного приладу фотоелектроколориметру, наведеної на рисунку 3.

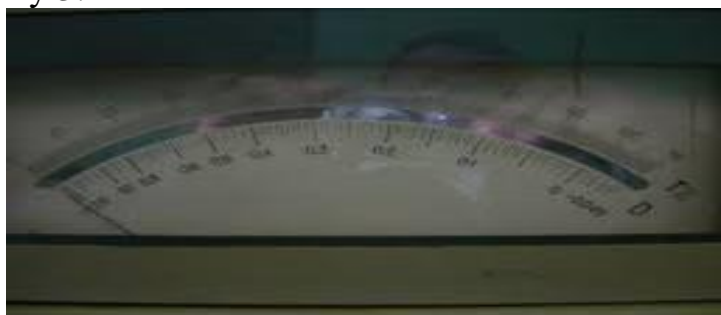


Рис. 3. Частина оптичного приладу фотоелектроколориметру

4. Опишіть послідовність приготування 30 мл 0,27 Н розчину нітрату натрію для аналізу.

5. Внесіть необхідні дані у таблиці, використовуючи відповідний теоретичний матеріал:

Таблиця 1. Класифікація моносахаридів у рослинах

<i>Альдози</i>	<i>Кетози</i>
<i>Тріози – три атоми Карбону</i>	
Гліцеральдегід	Дигідроксиацетон
<i>Тетрози – чотири атоми Карбону</i>	
Еритроза, треоза	?
<i>Пентози – п'ять атомів Карбону</i>	
Рибоза, дезоксирибоза, арабіноза, ксилоза	Рибулоза, ксилулоза
<i>Гексози – шість атомів Карбону</i>	
?	Фруктоза, тагалоза

Таблиця 2. Мінеральні сполуки у складі біомолекул, а також ензимів або їх простетичних груп у рослинах

<i>Макроелементи</i>	<i>Біомолекули</i>
Нітроген, або Азот (N)	Протеїни, амінокислоти, нуклеїнові кислоти, азотисті основи, алкалоїди, глікозиди ціаногенні, індоліл-3-оцтова кислота, біотин, фолієва кислота, тіамін, S-метилметіонін тощо
?	Складні протеїни, нуклеїнові кислоти та їхні компоненти нуклеотиди, фосфогліцерінова кислота, рибулозобіфосфат, фосфогліцеріновий альдегід тощо
Сульфур або Сірка (S)	?
Магній (Mg)	Магнієвмісні протеїни
Кальцій (Ca)	Кальцієвмісні протеїни
Калій (K) і Натрій (Na)	Ензими типу K-Na-АТРази

<i>Мікроелементи</i>	<i>Ензими</i>
Ферум (Fe^{2+} , Fe^{3+})	Пероксидаза, каталаза, цитохромоксидаза, супероксиддисмутаза, сукцинатдегідрогеназа, протокатехит-3,4-діоксигеназа, ліпооксигеназа
Кобальт (Co^{2+} , Co^{3+})	Метилкобальт-СоА-мутаза
Купрум (Cu^{2+})	Аскорбатоксидаза, галактооксидаза, поліфенолоксидаза, катехолоксидаза, тирозиназа, цитохром-с-оксидаза, супероксиддисмутаза
?	Ксантинооксидаза, нітратредуктаза, альдегідоксидаза

Манган (Mn^{2+} , Mn^{3+} , Mn^{4+})	Аукинооксидази, РНК-полімераза II, еноїл-СоА-дисмутаза, нітратредуктаза, гідроксиламіноредуктаза, ізоцитратдегідрогеназа, піруваткарбоксилаза, глутамінсинтетаза
Селен (Se^{2+} , Se^{4+} , Se^{6+})	Селенометіонінредуктаза, глутатіонпероксидаза, тіодоксинредуктаза
?	Супероксиддисмутаза, рибонуклеотидредуктаза, дезоксирибонуклеаза, метиласпартатмутаза, метіонінсинтетаза, глутаматдегідрогеназа

Таблиця 3. Деякі ензими дегідрогенази, коензимами яких є нуклеотиди

<i>Ензим</i>	<i>Коензим</i>
Ізоцитратдегідрогеназа	NAD^+
α -Кетоглутаратдегідрогеназа	NAD^+
Малатдегідрогеназа	NAD^+
Глутаматдегідрогеназа	?
Гліцеральдегід-3-дегідрогеназа	NAD^+
Сукцинатдегідрогеназа	FAD
Ацил-СоА-дегідрогеназа	?
Дигідроліпоїлдегідрогеназа	FAD
Гліцерол-3-фосфатдегідрогеназа	FAD
NADH-дегідрогеназа (комплекс I)	FMN
Гліколатоксидаза	?

Таблиця 4. Назва та компоненти фотосистем при передаванні електронів від H_2O до NADPH усередині подвійної мембрани у мембрани тилакоїду хлоропластів рослин

<i>Назва фотосистеми</i>	<i>Компоненти фотосистеми</i>
ФС II - активується світлом P 680	?
Комплекс цитохромів	?
ФС I – активується світлом P700	?

Таблиця 5. Стадії, ензими, реакції та особливості циклу Кальвіна в ході реакцій асиміляції вуглецю у стромі хлоропластів рослин

<i>Стадія</i>	<i>Ензими</i>	<i>Особливості</i>
I. Конденсація рибулозо-1,5-бісфосфату із CO_2 з утворенням 3-фосфогліцерату	?	Реакція характерна для рослин із C_3 -метаболізм, або C_3 -типом фотосинтезу

(містить 3 C)		
II. Перетворення 3-фосфогліцерату на гліцеральдегід-3-фосфат	?	Відновлення NADPH → NADP ⁺ та розщеплення ATP → ADP + Pi; додаткові продукти циклу – сахароза у цитозолі та крохмаль у стромі хлоропластів
III. Регенерація трибулозо-1,5-бісфосфату та тріозофосфатів	?	Розщеплення ATP → ADP + Pi для відновлення трибулозо-1,5-бісфосфату до CO ₂ ; додаткові продукти – фосфорильовані моносахариди: тріози, тетрози, пентози та гексози

Таблиця 6. Склад піруватдегідрогеназного комплексу у мітохондріях рослин

<i>Ензими</i>	<i>Коензими</i>	<i>Кофактори</i>	<i>Біохімічне значення ензиматичної реакції</i>
E ₁ -піруватдегідрогеназа	Тіамінпірофосфат (ТПП)	?	декарбоксілювання пірувату з утворенням TPP та його окиснення до ацетил-СоА
E ₂ -дигідроліпоїлацетилтрансфераза	коензим А (CoA-SH)	?	перенесення ацетильної групи на коензим А з утворенням ацетил-СоА
E ₃ -дигідроліпоїлдегідрогеназа	флавінаденіндинуклеотид (FAD) та нікотинамідаденіндинуклеотид (NAD)	?	регенерація (відновлення) дисульфідної (окисненої) форми ліпоату, причому вивільнені електрони на FAD, а потім – на NAD ⁺

Таблиця 7. Поділ амінокислот рослин на групи залежно від попередника їх синтезу

Попередник	Амінокислоти
Піруват та оксалоацетату	Аланін, валін, лейцин, ізолейцин, аспартат, аспарагін, метіонін, треонін, лізин
Фосфоенолпіруват та еритрозо-4-фосфат	Триптофан, фенілаланін, тирозин
Рибозо-5-фосфат	Гістидин
α-Кетоглутарат	Глутамат, глутамін, пролін, аргінін
3-Фосфогліцерат	Серин, гліцин, цистеїн

ДОДАТКИ ДОДАТОК А

Завдання 1. Ознайомлення із лабораторним оснащенням навчальної лабораторії з біохімічного аналізу рослин

Лабораторія з аналізу якості рослинної сировиничасто оснащена:

– *лабораторними столами* – лабораторне оснащення із полицями для лабораторного посуду, методичних вказівок з практикуму ита засобів для письма, що необхідно для проведення біохімічних досліджень рослинних об'єктів та фіксації результатів щодо їх якості;

– *витяжною шафою* – лабораторне оснащення для вентиляування повітря лабораторії у випадку роботи із концентрованими реактивами при виділенні парів останніх, яке оснащено сифонами із фільтрами, вивіденими із лабораторії на повітря (рис.1). Так, під час проведення стадії озолення рослинного матеріалу – знешкодження за дії H_2SO_4 й температури органічної частини рослинного матеріалу – виділяються пари цієї кислоти;



Рис.1. Витяжна шафа із сифоном системи кондиціонування повітря лабораторії

– *раковиною* – лабораторне оснащення для миття компонентів навчальної лабораторії, що забезпечене полицею з ємкістю для дистильованію води, оскільки усі етапи хімічного аналізу здійснюються із використанням останньої.

До лабораторного оснащення також належать:

– *водяні лазні* із термометрами для підігріву хімічних розчинів в ємкостях (рис. 2);



а)



б)



в)

Рис. 2. Різновиди водяної лазні: (а) у пробірках об'ємом 10 мл; б) у колбах в) у пробірках об'ємом 10 мл, б,в)

– *термостати* із термометрами для висушування рослинного матеріалу, а також некалібрувального лабораторного посуду (рис. 4);



Рис. 4. Термостат

– *дистилятори* для хімічного очищення водопровідної води з отриманням дистильованої води (рис. 5);



Рис. 5. Дистилятор

– *камера фітотрону* для вегетаційного позакореневого (гідро- та аеропоніка) та ґрунтового вирощування рослин (рис. 6).



Рис. 6. Камера фітотрону

– *чаша Петрі* для пророщування насіння при визначенні енергії проростання або схожості сортів або ліній рослин (рис. 7).



Рис. 7. Чаша Петрі

Фітотрони та чаші Петрі належать до додаткового оснащення, яке використовується для вирощування рослин в вегетаційних умовах, безпосередньо при біохімічному аналізі рослин не використовуються.

Завдання 2. Ознайомлення із лабораторним посудом навчальної лабораторії з біохімічного аналізу рослин

Лабораторний посуд призначається для приготування хімічних реактивів та безпосереднього проведення відповідних хімічних реакцій, до нього належать:

- піпетки та дозатори піпеточні (рис.8);

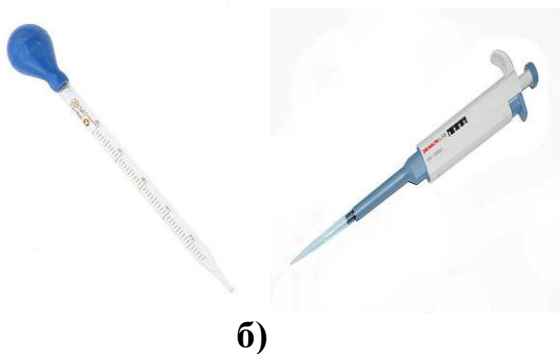


Рис. 8. Піпетки (а) та дозатори (б)

Піпетки є скляними лабораторним посудом, об'єм яких, мл: 0,05; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0, вони є на повний та неповний злив розчинів хімічних реактивів: у першому випадку об'єм градуйований на верхній частині тулусу, у другому – на нижній. При використанні піпеток застосовують гумові груші задля заповнення хімічними розчинами. Дозатори мають механічно регульований або встановлений об'єм розчинів хімічних реактивів, який відбирається шляхом застосування змінних канюль;

- мікробюретки на штативі (рис. 9);

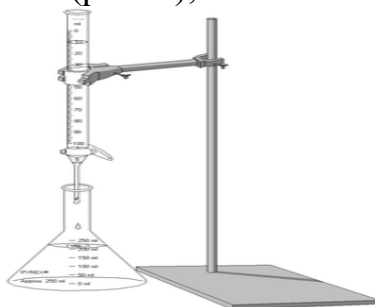


Рис. 9. Мікробюретка для титрування

Мікробюретки за формою подібні до піпеток, але є відмінність – мають більший об'єм (від 25 до 200 мл), наприкінці тубусу на звуженій його частині мають гвинт або скляний шар для крапельного регулювання, застосовують для титрування – об'ємного методу зміни рН середовища розчинів;

– штативи для зберігання хімічних пробірок та піпеток (рис. 10);



Рис. 10. Штатив для пробірок (а) та піпеток (б)

– бюкси, епіндорфи та кристалізатори (рис. 11).



Рис. 11. Бюкси (а,б), епіндорфи (в), кристалізатори (г)

Бюкси металеві призначені для висушування рослинного матеріалу у термостаті та його наступного зберігання, бюкси скляні – для берігання сухих хімічних реактивів, епіндорфи – для розчинів хімічних реактивів у невеликому об'ємі при зберіганні їх у холодильній камері, кристалізатори – для висушування та зберігання сухих хімічних реактивів;

– пробірки (рис. 12);

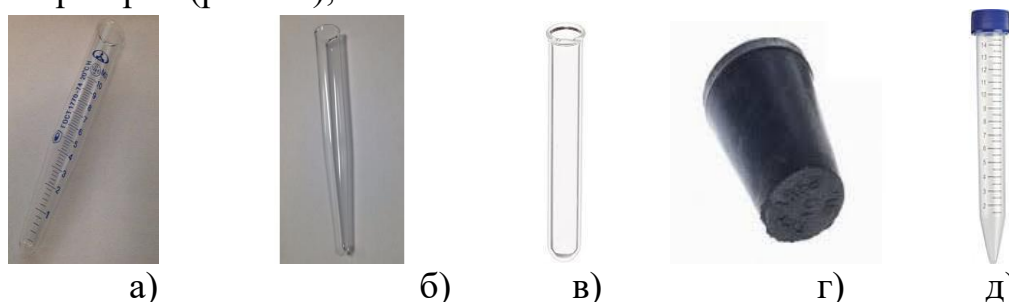


Рис. 12. Пробірки: скляні градуйовані (а) та неградуйовані (б,в), корки (г), корки пластикові (д)

– циліндри, стакани та колби (рис.13).

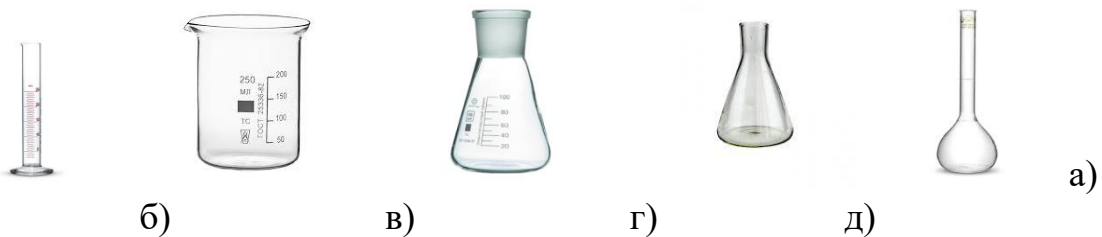


Рис.13. Циліндри (а), стакани (б), колби (в, г, д)

– *лійки* для фільтрування через паперовий фільтри із певним розміром пор, а також *дільні лійки* для отримання та відокремлення окремих фракції згідно методик, зокрема, ліпідної фракції (рис. 14);

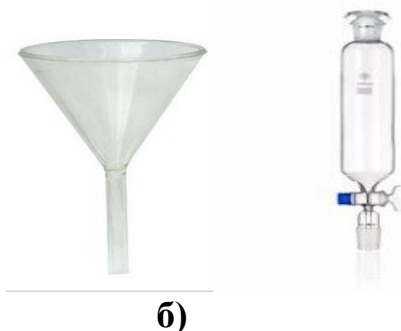


Рис. 14. Лійка для фільтрування (а) та дільна лійка (б)

– *крапельниці скляні* для (рис. 15);



Рис. 15. Крапельниця скляна

– *ступки та стовпчики* для здійснення механічного руйнування клітин рослинного матеріалу (рис. 16);



Рис. 16. Ступка з товпчиком

– *бутілі з корками* для зберігання хімічних реактивів та їх розчинів (рис.17).



Рис.17. Бутилі з корками

– *шпателі* для відбирання сухих хімічних реактивів, *скляні палички* для перемішування розчинів хімічних реактивів у відповідних ємкостях, *пінцети* для перенесення (рис.18) тощо.



Рис. 18. Шпателі (а) та скляні палички (б)

Лабораторне оснащення та прилади використовуються для визначення концентрації показників якості рослин, що досліджуються – хімічних сполук та активності ензимів у рослинах – із використанням відповідних приладів.

ДОДАТОК Б

Технологія приготування розчинів хімічних реактивів для біохімічної оцінки продуктивності рослинної сировини

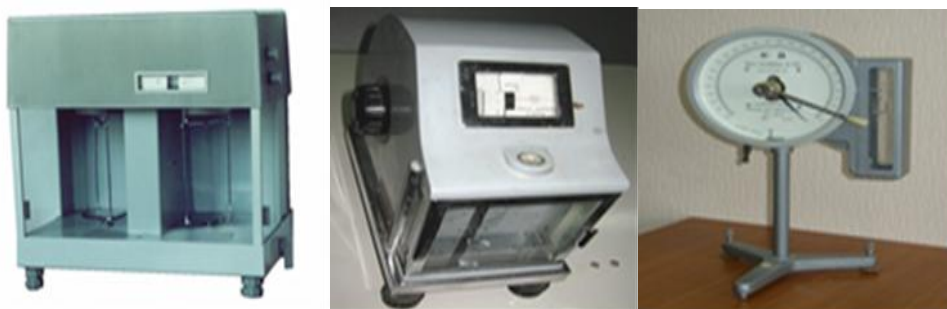
2.1. Техніка приготування розчинів хімічних реактивів з наважок сухих реагентів

Наведемо основні технологічні етапи приготування розчинів хімічних реактивів для біохімічного аналізу рослин:

1) підбір хімічних препаратів до аналізу.

Відмічають чіткість напису назв хімічних препаратів на ємкостях, строк їх придатності до використання, тип хімічної чистоти. Хімічні реактиви виробляються неоднакової хімічної чистоти: хімічно чисті (х.ч.), чисті для аналізу (ч.), технічні (т.), особливої чистоти (о.ч.), спектрально чисті (с.ч.). Для кожної категорії існує гранично допустима частка домішок;

б) зважування хімічних реагентів на лабораторних терезах – аналітичних, технохімічних та торсійних (рис. 19).



а)

б)

в)

Рис. 19. Приклад аналітичних – а, технохімічних – б та торсійних – в терезів

1) зважування хімічних реагентів на лабораторних терезах – аналітичних, технохімічних та торсійних.

У табл. 1 наведено послідовність зважування хімічних препаратів на двочашових та одночашових лабораторних терезах.

Табл. 1 – Послідовність зважування хімічних реагентів на терезах

<i>Двочашових</i>	<i>Одночашових</i>
<ul style="list-style-type: none"> – увімнути прилад у мережу; – підібрати набори рівноважок та відкрити дверцята приладу; – за допомогою пінцету взяти відповідну за масою рівноважку на встановити на ліву чашу приладу, після чого закрити дверцята; – врегулювати рівноваги терезів; – за допомогою пінцету взяти ємкість – хімічно чистий скляний бюкс або хімічний стакан – та встановити її на праву чашу приладу; – за допомогою пінцету відібрати хімічний реактив та обережно його внести у попередньо врівноважену за масою ємкість, після чого дверцята зачинити; – згідно вихідної маси зваженого хімічного реактиву, що вказується на на табло приладу шляхом відповідного відхилення його стрілки, врегулювати масу останньої 	<ul style="list-style-type: none"> – увімкнути прилад у мережу; – знімають захисний апарат приладу; – за допомогою пінцету взяти ємкість – хімічно чистий скляний бюкс або хімічний стакан (в залежності від потрібної маси наважки хімічного препарату) – та встановити її на чашу приладу; – встановити масу ємкості для зважування на «нуль», тобто обнулити; – за допомогою пінцету відібрати невелику кількість хімічного реактиву та обережно внести останній у врівноважену за масою ємкість, після чого дверцята зачинити; – встановити масу наважки та, за потребою, внести за допомогою металевого пінцету в ємкість для зважування необхідну кількість хімічного препарату

Наважки хімічних реагентів, зважені на лабораторних терезах, використовуються для приготування розчинів необхідних реактивів заданої у методиці з біохімічного аналізу концентрації:

– відсоткової (%) – кількість сухого хімічного реактиву, у грамах, розчинена у 100 мл розчинника;

– нормальної (Н, н) – кількість молей сухого хімічного реактиву за молекулярною масою, у грамах, розчинена у 1000 мл розчинника;

– молярної (М) – кількість молей розчиненого хімічного реактиву за молекулярною масою, у мк-екв;

2) розчинення наважки у певній кількості розчинника:

– дистильованої води;

– спирту (етилового, метилового, бутилового, пропілового, ізопропілового, гептанового);

– хлороформу;

– естеру.

Зважену наважку хімічного реактиву спочатку розчиняють у невеликій кількості розчинника, послідовно доводячи загальний об'єм шляхом додавання залишку розчинника (рис. 20).

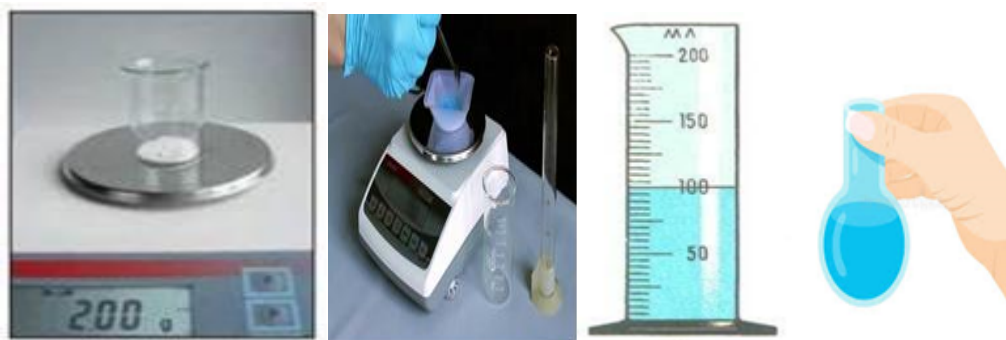


Рис. 20. Етапи розчинення сухої наважки хімічного реактиву

Для прискорення розчинення деяких реактивів, їх розчини у термостатичних ємкостях прогривають на водяній лазні або електромагнітній мішалці з підігрівом, але не на відкритому полум'ї, також користуйтеся пробіркотримачем під час нагрівання розчинів у пробірці та уважно стежте за тим, щоб отвір пробірки був спрямований від вашого обличчя, бо рідина внаслідок перегрівання може виплеснутися з пробірки, та не заглядайте в пробірку, в якій нагрівається рідина.

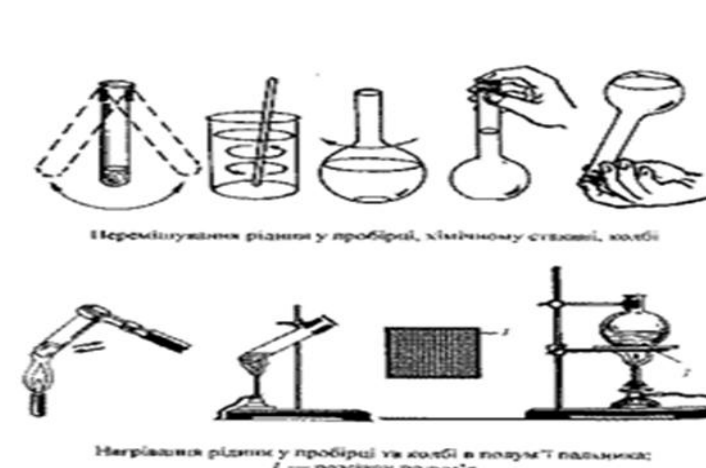


Рис. 21. Способи розчинення важкорозчинного наважки сухого хімічного реактиву

У випадку приготування багатокомпонентного реактиву кожен хімічний реактив розчиняти в окремій ємкості, після чого поєднувати отримані хімічні розчини у відповідній пропорції з урахуванням концентрації.

2.2. Техніка приготування розчинів хімічних реактивів з стандартних фіксаналів

Стандартні фіксанали використовуються для:

1) побудування калібрувального графіку при розрахунку вмісту хімічних сполук у рослинному матеріалі. Приклади стандартів, що використовуються для розрахунку вмісту деяких хімічних сполук у рослинному матеріалі, наведено у табл. 2.

Таблиця 2. Приклади стандартів, що використовуються для розрахунку вмісту деяких хімічних сполук у рослинному матеріалі

<i>Показник</i>	<i>Стандарт</i>
<i>Мінеральних сполук</i>	
Вміст Нітрогену	Амонію сульфат
Вміст Фосфору	Амонію молібдат
Вміст Калію	Калію сульфат
<i>Органічних сполук</i>	
Вміст глюкози	Глюкоза
Вміст загальних ліпідів	Трипальміноолеїнова кислота
Вміст аскорбінової кислоти	Аскорбінова кислота
Вміст фенольних сполук	Хлорогенова кислота
Активність алаанінамінотрансферази	Піровиноградна кислота
Вміст хлорофілів	Розчин Гетері
Вміст ізоцитрату	Ізоцитрат натрію

Калібрувальний графік виготовляють шляхом розчинення наважки стандарту у діапазоні відповідних концентрацій, згідно методик аналізу;

2) калібрування лабораторних приладів, тобто врегулювання режиму функціонування лабораторних приладів з метою чіткості вимірювання показників, що досліджуються. Наведемо приклад калібрування рН-метру із використання стандарт-титрів, або фіксаналів, що являють собою запаяні ємкості із точно зваженою наважкою солей, кислот або лугів, як у сухому, так й у розчиненому стані Концентрація може виражатися у: мг-екв, мкг-екв, г-екв, %, М тощо. Їх використання полягає у точному розведенні вмісту їх ємкостей у відповідній (згідно інструкції щодо їх використання) кількості розчинника. Кожна запаяна ампула хімічного реактиву має два кінця:

Наведемо приклад приготування калібрувальних розчинів для рН-метрів (рис. 22):



а)



б)

Рис. 22. рН-метри

– відбирають шість запаяних ампул, заповнених солями, що складають набір стандарт-титрів для рН-метрії (рис. 23) та точно розчиняють їх вміст у колбах об'ємом 1 дм³;



Рис. 23. Стандарт-фіканали для рН-метрії

– за допомогою кийку розбирають ампули стандарт-титрів, тримаючи за цього ампули понад лійкою колби, розбивають ампули. При цьому хімічний реактив частково опиняється на стінках лійки, після чого його змивають у колбу через лійку, промиваючи поступово ампулу та стінки лійки. Розчин у колбах перемішують та доводять об'єм колби до мітки, закривають колби та залишають їх на добу у темряві для встановлення сталого значення рН. Таким чином, отримують шість колб об'ємом 1000 мл, в кожній з яких має місце певний рН: 1,86; 3,68; 4,01; 6,86; 9,18; 12,45. Отримані розчини використовують для калібрування рН-метру.

Технологічні операції щодо приготування розчинів кислот та лугів відповідних фіксаналів здійснюють подібним способом згідно інструк

БІБЛІОГРАФІЧНИЙ ОПИС

1. Іншина Н. М. Основи молекулярної біології: навч. посібник / Сумський державний університет, 2019. 120 с.
2. Дмитрієв О. П., Ковбасенко Р. В., Авдєєва Л. В. Сигнальні системи рослин та формування стійкості проти біотичного стресу: навч. посібник / Київ: ФОП Фенікс, 2015. 191 с.
3. Хацевич О. М. Біонеорганічна хімія: навч. посібник / Івано-Франківськ: ДВНЗ Прикарпатський нац. ун-т ім. В. Стефаника, 2022. 121 с.
5. Господаренко Г., Карнаух О. Мікроелементи і добрива в живленні рослин: навч. посібник / Чернівці: Рута, 2020. 348 с.
6. Коваленко О. А. Стрес та адаптація рослин: консп. лекц. / Миколаїв: «Університетська книга», 2020. 70 с.
7. Приседський Ю. Г., Лихолат Ю. В. Адаптація рослин до антропогенних чинників: підруч. / Вінниця: ТОВ «Нілан-ЛТД», 2017. 98 с.
8. Хелд Г. В. Біохімія рослин: підручник / Київ: Наукова думка, 2014. 471 с.
9. Кобилецька М. С. Терек О. І. Біохімія рослин: навч. посібник / Львів: ЛНУ ім. І. Франка, 2017. 269 с.
10. Gleason F. Plant Biochemistry / F. Gleason, R. Chollet. – Jones & Bartlett Publishers, 2012. 248 p.
11. Ніколайчук В. І., Белчгазі В. Й. Фізіологія і біохімія рослин: підручник / Ужгород: Вид-во Ужгород. нац. ун-ту, 2018. 192 с.
12. Оканенко О. А., Косик О. І., Таран Н. Ю. Гліколіпіди рослин: навч. посібник / Київ: Лігвіт, 2009. 111 с.
13. Самойленко Т. Б. Основи метаболізму рослин: навч. посібник / Миколаїв: МДА, 2009. 194 с.
14. Джамєєв В. Ю. Механізм рецепції та внутрішньоклітинного сигналіngu: навч. посіб. / Харків: ХНУ ім. В. Н. Каразіна, 2013. 207 с.
15. Ситник К. М. Гормональний комплекс рослин і грибів: навч. посіб. / Київ: Академперіодика, 2003. 186 с.
16. Злобін Ю. А. Курс фізіології і біохімії рослин: підручник. / Суми: ВТД «Університетська книга», 2015. 464 с.
18. Buchanan B. Biochemistry and molecular biology of plants / B. Buchanan, W. Gruissem. – 2 th edition, American society of plant biologists, 2018. 1280 p.
19. Кучеренко М. Є., Бабенюк Ю. Д. Сучасні методи біохімічних досліджень: навч. посібник / Київ: Фітосоціоцентр, 2001. 424 с.
20. Хиля О. В. Практикум з хімії вуглеводів: [навч. посіб.] / Київ: Видавничо-поліграфічний центр, 2009. 40 с.
21. Шупранова Л. В., Більчук В. С. Сучасні методи біохімічного аналізу рослин: навч. посібник / Дніпропетровський національний університет імені О. Гончара: ДНУ, 2011. 79 с.

Навчальне видання

**БІОХІМІЧНІ ОСНОВИ ФОРМУВАННЯ
ПРОДУКТИВНОСТІ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ**

Навчальний посібник

**Чечуй Олена Федорівна
Міленко Ольга Григорівна
Крикунова Валентина Юхимівна**

[Навчальний посібник]