

ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАНИЕ

# БИОХИМИЯ ДЛЯ ТЕХНОЛОГОВ

Часть 1

А. Л. Новокшанова

УЧЕБНИК и ПРАКТИКУМ  
2-е издание



УМО СПО рекомендует

**Юрайт**  
издательство  
biblio-online.ru



**А. Л. Новокшанова**

# **БИОХИМИЯ ДЛЯ ТЕХНОЛОГОВ Часть 1**

**УЧЕБНИК И ПРАКТИКУМ ДЛЯ СПО**

**2-е издание, исправленное**

*Рекомендовано Учебно-методическим отделом среднего профессионального образования в качестве учебника и практикума для студентов образовательных учреждений среднего профессионального образования*

**Книга доступна в электронной библиотечной системе  
[biblio-online.ru](http://biblio-online.ru)**

**Москва ■ Юрайт ■ 2018**

УДК 54(075.32)  
ББК 28.072я723  
Н74

**Автор:**

**Новокшанова Алла Львовна** — доцент, кандидат технических наук, доцент кафедры химии и физики технологического факультета Вологодской государственной молочнохозяйственной академии имени Н. В. Верещагина.

**Рецензенты:**

**Свириденко Ю. Я.** — доктор биологических наук, профессор, академик РАСХН, директор Всероссийского научно-исследовательского института маслоделия и сыроделия Российской академии сельскохозяйственных наук;

**Абдуллаева Л. В.** — кандидат технических наук, руководитель группы стандартизации Молочного союза России, ответственный секретарь ТК 470/МТК 532 «Молоко и продукты переработки молока», национальный секретарь Российского комитета Международной молочной федерации.

**Новокшанова, А. Л.**

Н74 Биохимия для технологов. В 2 ч. Часть 1 : учебник и практикум для СПО / А. Л. Новокшанова. — 2-е изд., испр. — М. : Издательство Юрайт, 2018. — 211 с. — (Серия : Профессиональное образование).

ISBN 978-5-534-10322-9 (ч. 1)

ISBN 978-5-534-10323-6

Современные достижения биохимии составляют основу любой пищевой технологии, поэтому специалисты по производству и переработке продуктов питания должны иметь целостное представление о процессах и явлениях, происходящих в природе, о компонентном составе живой клетки, роли белков, липидов, углеводов, нуклеиновых кислот и других биомолекул в функционировании организма. Главная цель учебника — сформировать у студентов твердые знания об особенностях и многообразии обмена веществ, о взаимосвязи метаболизма макромолекул на субстратном, энергетическом и генетическом уровнях, что позволит решать задачи, возникающие при выполнении профессиональных функций.

Соответствует актуальным требованиям Федерального государственного образовательного стандарта среднего профессионального образования и профессиональным требованиям.

Для студентов образовательных учреждений среднего профессионального образования, изучающих курс «Биохимия» по специальностям «Биотехнология», «Продукты питания из растительного сырья», «Технология продукции и организация общественного питания», «Стандартизация и метрология», «Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции» и другим смежным специальностям.

УДК 54(075.32)

ББК 28.072я723



Delphi Law Company

Все права защищены. Никакая часть данной книги не может быть воспроизведена в какой бы то ни было форме без письменного разрешения владельцев авторских прав. Правовую поддержку издательства обеспечивает юридическая компания «Дельфи».

ISBN 978-5-534-10322-9 (ч. 1)  
ISBN 978-5-534-10323-6

© Новокшанова А. Л., 2014  
© Новокшанова А. Л., 2016  
с изменениями  
© ООО «Издательство Юрайт», 2018

# Оглавление

Перечень принятых сокращений .....	5
Предисловие .....	7
<b>Глава 1. Определение и предмет исследования биохимии .....</b>	<b>10</b>
1.1. Предмет и задачи биохимии .....	10
1.2. История и современные тенденции развития биохимических исследований...	12
1.3. Методы практической биохимии .....	17
1.4. Практические примеры .....	25
<i>Задания для самостоятельной работы</i> .....	27
<b>Глава 2. Химический состав живых организмов .....</b>	<b>29</b>
2.1. Элементный состав живых организмов .....	29
2.2. Молекулярный состав живых организмов .....	31
2.2.1. Вода .....	32
2.2.2. Неорганические вещества .....	40
2.2.3. Органические вещества .....	41
2.3. Практический пример .....	41
<i>Задания для самостоятельной работы</i> .....	42
<b>Глава 3. Аминокислоты .....</b>	<b>46</b>
3.1. Классификация аминокислот .....	52
3.2. Физико-химические свойства аминокислот .....	54
3.3. Пептиды .....	59
3.4. Практические примеры .....	63
<i>Задания для самостоятельной работы</i> .....	64
<b>Глава 4. Белковые вещества .....</b>	<b>69</b>
4.1. Строение белковых молекул .....	70
4.1.1. Первичная структура .....	70
4.1.2. Вторичная структура .....	74
4.1.3. Третичная структура .....	78
4.1.4. Четвертичная структура .....	80
4.2. Физико-химические характеристики белков .....	81
4.2.1. Амфотерные и буферные свойства .....	81
4.2.2. Гидрофильные свойства .....	83
4.2.3. Способы осаждения белков .....	84
4.2.4. Коллоидные свойства .....	85
4.3. Номенклатура и классификация белков .....	87
4.4. Особенности белков молока .....	91
4.4.1. Казеины .....	92
4.4.2. Сывороточные белки .....	96
4.4.3. Белки оболочек жировых шариков .....	98
4.4.4. Минорные белки .....	99
4.5. Практические примеры .....	99
<i>Задания для самостоятельной работы</i> .....	101
<b>Глава 5. Нуклеиновые кислоты .....</b>	<b>107</b>
5.1. Состав нуклеиновых кислот .....	108
5.2. Структуры нуклеиновых кислот .....	109

5.2.1. Структурные звенья нуклеиновых кислот .....	110
5.2.2. Первичная структура нуклеиновых кислот .....	112
5.2.3. Вторичная структура ДНК .....	113
5.2.4. Третичная структура ДНК .....	116
5.3. Виды РНК .....	118
5.4. Практические примеры .....	121
<i>Задания для самостоятельной работы</i> .....	123
<b>Глава 6. Ферменты</b> .....	<b>126</b>
6.1. Строение ферментов .....	127
6.2. Кинетика ферментативных реакций .....	130
6.3. Механизм ферментативного действия .....	134
6.3.1. Механизм действия простых ферментов .....	134
6.3.2. Механизм действия сложных ферментов .....	135
6.4. Регуляция активности ферментов .....	139
6.5. Свойства ферментов .....	141
6.5.1. Специфичность ферментативного действия .....	142
6.5.2. Термоллабильность ферментов .....	142
6.5.3. Влияние рН среды на активность ферментов .....	144
6.5.4. Влияние посторонних веществ на активность ферментов .....	145
6.6. Имобилизованные ферменты .....	146
6.7. Номенклатура и классификация ферментов .....	147
6.7.1. Оксидоредуктазы .....	148
6.7.2. Трансферазы .....	155
6.7.3. Гидролазы .....	157
6.7.4. Лиазы .....	162
6.7.5. Изомеразы .....	163
6.7.6. Лигазы (синтетазы) .....	165
6.8. Практические примеры .....	166
<i>Задания для самостоятельной работы</i> .....	169
<b>Глава 7. Витамины</b> .....	<b>174</b>
7.1. Жирорастворимые витамины .....	176
7.2. Водорастворимые витамины .....	181
7.3. Витаминоподобные соединения .....	189
7.4. Содержание витаминов в молоке и молочных продуктах .....	192
7.5. Практические примеры .....	193
<i>Задания для самостоятельной работы</i> .....	194
<b>Глава 8. Гормоны</b> .....	<b>199</b>
8.1. Уровни гормональной регуляции .....	199
8.2. Классификация и механизм действия гормонов .....	200
8.3. Гормоны гипоталамуса .....	201
8.4. Гормоны гипофиза .....	201
8.5. Гормоны периферических желез .....	202
8.5.1. Щитовидная железа .....	202
8.5.2. Паращитовидные железы .....	203
8.5.3. Поджелудочная железа .....	203
8.5.4. Надпочечники .....	204
8.5.5. Половые железы .....	205
8.5.6. Гормоны желудочно-кишечного канала .....	206
8.6. Гормоноподобные соединения .....	206
8.7. Экзогенные гормоны .....	207
8.8. Практические примеры .....	208
<i>Задания для самостоятельной работы</i> .....	209

## Перечень принятых сокращений

АДГ	— антидиуретический гормон
АДФ	— аденозиндифосфат (аденозиндифосфорная кислота)
АКТГ	— адренокортикотропный гормон
АМФ	— аденозинмонофосфат (аденозинмонофосфорная кислота)
АО	— азотистые основания
АПБ	— ацилпереносящий белок
АТФ	— аденозинтрифосфат (аденозинтрифосфорная кислота)
АФК	— активные формы кислорода
ВЖК	— высшая жирная кислота
ВМС	— высокомолекулярные соединения
ВОЗ	— Всемирная организация здравоохранения
ГМО	— генетически модифицированные организмы
ГМП	— гликомакропептид
ДАГ	— диацилглицерид (диглицерид)
ДНК	— дезоксирибонуклеиновая кислота
ЖКК	— желудочно-кишечный канал
ИДЗ	— иоддефицитные заболевания
ИЭТ	— изоэлектрическая точка
КоА	— кофермент А
ЛП	— липопротеины
ЛПВН	— липопротеины высокой плотности
ЛПНП	— липопротеины низкой плотности
ЛПОНП	— липопротеины очень низкой плотности
МАГ	— моноацилглицерид (моноглицерид)
ММФ	— Международная молочная федерация
МНЖК	— моновенасыщенные жирные кислоты
НАД <sup>+</sup>	— никотинамидадениндинуклеотид
НАДФ	— никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НЖК	— низшая жирная кислота
НК	— нуклеиновая кислота
НП	— нуклеопротеин
ПВК	— пировиноградная кислота
ПОЛ	— пероксидное окисление липидов
ПНЖК	— полиненасыщенные высшие жирные кислоты
ПФЦ	— пентозофосфатный цикл
РНК	— рибонуклеиновая кислота
СЖК	— свободные жирные кислоты
СОД	— супероксиддисмутаза
ССЗ	— сердечно-сосудистые заболевания
T <sub>3</sub>	— трийодтиронин
T <sub>4</sub>	— тироксин (тетрайодтиронин)
ТАГ	— триацилглицерид (триглицерид)
ТПФ	— тиаминпирофосфат
УВТ	— ультравысокотемпературный

УМФ	— уридинмонофосфат
ФГА	— фосфоглицериновый альдегид
(3-ФГА)	
ФГК	— фосфоглицериновая кислота
ФМН	— флавиномононуклеотид
ФАД	— флавинадениндинуклеотид
цАМФ	— циклический аденозинмонофосфат
ЦМФ	— цитидинмонофосфат
ЦНС	— центральная нервная система
ЦПЭ	— цепь переноса электронов
ЦТК	— цикл трикарбоновых кислот
ЩУК	— щавелевоуксусная кислота
ЭПС	— эндоплазматическая цепь
ЭТЦ	— электронотранспортная цепь
$\bar{e}$	— электрон
$H^+$	— ион водорода (протон)
Нб	— гемоглобин
NANA	— N-ацетилнейраминовая кислота



## Предисловие

Биологическая химия — наука о качественном составе, количественном содержании и преобразованиях в жизненных процессах соединений, образующих живую материю.

Изначально находясь на стыке двух наук, сегодня биохимия все больше расширяет область научных интересов и постоянно наращивает свой потенциал, который служит фундаментальной базой для многих наук. Современная биохимия успешно интегрируется в такие области знания, как физиология, генетика, цитология, микробиология, медицина, молекулярная биология, нутрициология и др.

Реальность последних десятилетий отличается интенсивной химизацией сельского хозяйства, промышленности, быта и пищевых технологий. Возрастание антропогенных нагрузок, значительное вмешательство в природу, ускорение ритма жизни, стрессы, нарушения питания привели к тому, что, по данным ВОЗ, треть всех заболеваний человека являются алиментарно-зависимыми.

В связи с этим студентам, обучающимся по любому из профилей, которое связано с производством пищевых продуктов, при изучении биохимии крайне важно получить конкретные представления о компонентах живой клетки, их химическом строении, физических свойствах, функциях, а также о механизмах различного химического воздействия на живой организм.

Данный учебник отличается комплексным подходом к изучаемой дисциплине.

В теоретическом разделе (главы 1—14) излагается информация, соответствующая содержанию дисциплины «Биохимия». Для облегчения восприятия материалов текст сопровождается таблицами, схемами и иллюстрациями, а большинство описываемых процессов подтверждается уравнениями реакций.

Рассмотрение механизмов действия ферментов позволит студентам увидеть те же закономерности химических превращений веществ, с которыми они знакомились при изучении реакций в органической химии. Но знание биологического окисления, нуклеиновых кислот и их функционирования показывает совершенно другой, высочайший уровень упорядоченности живой материи на уровне биомолекул. Сведения о гормонах демонстрируют механизм тончайшей согласованности систем всего организма. Понимание закономерностей процессов метаболизма, приводящих к глубокой деструкции макромолекул (катаболизм) или к синтезу их из простейших соединений (анаболизм), позволяет проследить тесную взаимосвязь метаболизма макромолекул на субстратном, энергетическом и генетическом уровнях.



С целью реализации компетентностного подхода каждая теоретическая глава содержит практические примеры решения задач или использования знаний биохимии в технологическом процессе производства пищевых продуктов. Все теоретические главы включают задания для самостоятельной работы, в большинстве своем имеющие прямое отношение к технологии молока и других пищевых продуктов.

Раздел «Лабораторный практикум» непосредственно связан с основными теоретическими положениями, излагаемыми в лекциях, и направлен на то, чтобы максимально расширить научный кругозор студентов по изучаемому предмету. Опыт показывает, чем больше теоретических вопросов охватывает практикум, тем выше уровень усвоения материала. Поэтому обучающимся предлагается достаточно широкий спектр объектов и методов исследования.

В зависимости от темы занятия это могут быть образцы растительных или животных тканей, разные биологические жидкости. В зависимости от подхода к объекту исследования возможно статическое изучение качественного или количественного состава образцов и наблюдение за изменением этих показателей в динамическом развитии.

В практикуме студенты обучаются различной технике лабораторных работ: пробирочным, приборным, расчетным и другим умениям.

Пробирочные работы используются, как правило, в методах качественного анализа. Такие опыты можно проводить небольшими количествами реактивов без ущерба для наглядности. В то же время, операции с небольшими порциями веществ развивают такие навыки, как аккуратность, тщательность, осторожность, соблюдение чистоты, что, несомненно, пригодится в их последующей работе.

Важное место на практических занятиях отводится методам количественного анализа: титриметрическим, электрохимическим, оптическим и др. Овладение классическими химическими методами количественного анализа требует от студентов знания химизма процесса, умения готовить реактивы, рассчитывать концентрации, подбирать индикаторы и пр. Данные работы готовят студентов анализировать и идентифицировать самые разные химические соединения и биологические объекты, что, несомненно, важно для технологов пищевой промышленности.

В качестве инструментальных методов лабораторный практикум содержит примеры использования спектральных, оптических, электрохимических, хроматографических и других методов исследования. Прежде чем работать с приборами, необходимо знать их устройство, принцип работы, освоить инструкцию по эксплуатации.

Целый ряд лабораторных занятий можно проводить с элементами научного практикума, если анализировать различные объекты в разных условиях проведения опытов. К таким занятиям относятся работы к главам: «Химический состав живых организмов», «Аминокислоты», «Белковые вещества», «Ферменты», «Витамины», «Углеводы и их обмен» и др. В таких работах студенты учатся грамотно планировать и проводить эксперимент, а затем тщательно анализировать полученные данные.

Выполнение лабораторных работ не только способствует расширению представлений о роли эксперимента в биохимических исследованиях,

но и четко ориентирует на будущую профессиональную деятельность, а знание биохимии полезно любому грамотному специалисту, имеющему отношение к питанию населения.

Студент, изучивший дисциплину «Биохимия», должен освоить:

**трудовые действия**

- владения знаниями об особенностях и многообразии обмена веществ и нарушениях в метаболизме белков, липидов, углеводов и т.д.;
- правилами работы с биологическими объектами, химическими веществами и оборудованием биохимической лаборатории;

**необходимые умения**

- разъяснять смысл структурных формул биологически активных веществ;
- составлять уравнения химических реакций деструкции и синтеза различных биомолекул;

**необходимые знания**

- элементного и молекулярного состава живых организмов;
- особенностей строения, свойств и функций биомолекул и биополимеров;
- закономерностей и тесной взаимосвязи метаболизма белков, липидов, углеводов на субстратном, энергетическом и генетическом уровнях.

Автор выражает благодарность своим рецензентам: директору ГНУ ВНИИМС Россельхозакадемии, доктору биологических наук, профессору, академику РАСХН Ю. Я. Свириденко и руководителю группы стандартизации Молочного союза России, национальному секретарю Российского комитета Международной молочной федерации, кандидату технических наук Л. В. Абдуллаевой, сделавшим ценные пожелания при рассмотрении рукописи.

Автор признателен редактору издательства «Юрайт», кандидату физико-математических наук А. Н. Евсеевичевой за высококвалифицированную помощь в подготовке рукописи к печати.

Отдельная благодарность научному редактору журнала «Вопросы питания», старшему научному сотруднику лаборатории витаминов и минеральных веществ ФГБУ «НИИ питания» РАМН, кандидату биологических наук О. А. Вржесинской за консультирование по витаминизации пищевых продуктов.

Также автор считает своим долгом выразить слова благодарности самому известному российскому маслоделу — доктору технических наук, профессору, почетному академику Международной академии холода, лауреату премии Совета министров СССР и Государственной премии России Ф. А. Вышемирскому. Став моим научным руководителем более 20 лет назад, Франц Адамович продолжает оставаться вдохновляющим примером Ученого, Наставника, Человека.

# Глава 1

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ПРЕДМЕТ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОХИМИИ

---

В результате изучения материала данной главы студент должен:

**знать**

- основные признаки живой материи;
- этапы развития биохимии;
- деление биохимии с точки зрения подхода и объекта;
- важнейшие методы исследования, применяемые в биохимии;
- теоретические успехи и практические достижения биохимии;
- роль отечественных ученых в развитии биохимии;

**уметь**

- объяснять сущность методов, используемых в биохимических исследованиях;
- привести примеры достижений биохимии, используемых в народном хозяйстве и в частности — в пищевых технологиях;

**владеть**

- правилами техники безопасности, простейшими методами и приемами работы в биохимической лаборатории;
  - техникой работы с важнейшим оборудованием, используемым в биохимической лаборатории (весы лабораторные технические и аналитические, бюретки и микро-бюретки, бани водяные, рефрактометры, фотоэлектроколориметры и др.).
- 

### 1.1. Предмет и задачи биохимии

**Биохимия изучает качественный и количественный состав и динамические превращения соединений, образующих живые организмы.**

Из определения ясно, что биохимия охватывает широкую область научного познания. Живой мир чрезвычайно многообразен. По современным представлениям, на Земле насчитывается около 2 млн видов различных организмов. Все они представляют интерес как объекты исследования для биохимика. В силу такого большого многообразия и больших различий между видами биохимия дифференцировалась на разделы в зависимости от объекта исследования. В настоящее время выделяют биохимию человека, животных, растений, микроорганизмов и др.

С точки зрения химического состава и живые, и неживые объекты образованы атомами и молекулами. Но в живых организмах и маленькие, и большие молекулы, а также целые структуры непрерывно обновляются: распадаются и синтезируются вновь. Только живые организмы способны воспроизводить организмы, подобные своему, и обладают набором характерных признаков:

- высокий уровень структурной организации или высокая степень упорядоченности;
- способность к эффективному использованию и преобразованию различных видов энергии;
- постоянный обмен веществ с окружающей средой;
- самовоспроизведение и передача наследственных свойств.

Поэтому для биохимика недостаточно знать просто набор атомов и молекул, из которых построены организмы.

**Предметом исследования биохимии являются качественный и количественный химический состав живых организмов и превращения биологических молекул в процессе жизнедеятельности.**

В современной жизни биохимия — одна из самых бурно развивающихся областей знания. Эта относительно молодая наука широко интегрировалась со смежными дисциплинами, такими как биология, физиология, химия, медицина и др. Биохимия берет на вооружение самые новейшие методы исследования и достижения других наук и изучает свой предмет на разных уровнях.

*На уровне целостного организма* выполняются балансовые эксперименты по поступлению веществ и выведению их в виде продуктов распада. *На уровне отдельных органов и тканей* разработаны многочисленные методы исследования обмена веществ в тканевых срезах или биологических жидкостях (крови, слюне, молоке и др.). Много ценной информации о составе живых организмов и обмене веществ в них получено *на уровне клетки*. Современные методы позволяют использовать *субклеточные структуры* и *отдельные молекулы*. То есть в настоящее время это тончайшая область исследований — почти молекулярная биология.

Достижения биохимии находят применение в различных прикладных областях и народном хозяйстве в целом, создают прочную базу для решения многих частных проблем. Привлечение знаний биохимии успешно используется в повышении урожайности сельскохозяйственного производства, для увеличения рентабельности пищевой промышленности, получения новых препаратов фармацевтической отрасли. Современная медицина, здравоохранение, экология целиком опираются на биохимические разработки.

Например, исследования, выполненные ВОЗ, о влиянии питания на здоровье населения в качестве аргументов используют новейшие достижения биохимии. По данным этих материалов, около трети всех бюджетов здравоохранения европейских стран тратится на лечение алиментарно-зависимых заболеваний. Такие выводы сделаны на базе обширных эпидемиологических<sup>1</sup> исследований населения европейского региона.

В связи с этим на данном этапе развития общества для биохимии человека и биохимии питания выдвигаются следующие задачи.

<sup>1</sup> Эпидемиологическими называют исследования больших групп населения (несколько десятков тысяч), которые наблюдаются в течение нескольких лет на предмет взаимосвязи потребления какого-либо продукта (или компонента продукта) с частотой заболевания; такие исследования не позволяют судить о причинно-следственных связях, но позволяют оценить риски.

- Определение строения, физико-химических свойств и функций отдельных биологических молекул.
- Изучение механизмов синтеза и распада биологических молекул в организме.
- Исследование механизмов поступления различных веществ во внутреннюю среду организма и выведения продуктов распада из организма.
- Выявление взаимосвязей между отдельными компонентами продуктов и биохимическими показателями организма человека.
- Изучение механизмов преобразования, накопления и использования энергии в клетке.
- Определение механизмов передачи наследственных признаков и воспроизведения подобных себе организмов.
- Изучение влияния антропогенных, алиментарных и других внешних факторов на обмен веществ в организме.

## 1.2. История и современные тенденции развития биохимических исследований

Само название дисциплины «биохимия» говорит о соединении двух начал — биологии и химии. Каждая из этих наук имеет глубокие корни. Из дошедших до нас документов известно имя Алкмеона, который в VI в. до н. э. описал развитие цыпленка внутри яйца, нервы глаза и тонкие трубочки, соединяющие среднее ухо с глоткой. Следующие поколения анатомов упустили из виду эту информацию и заново открывали ее через две тысячи лет.

Гораздо большую известность получило имя Гиппократов, жившего спустя полтора века после Алкмеона. Основанная Гиппократом медицинская школа пережила его на столетия. В представлении Гиппократа организм сам имеет корректирующие устройства, позволяющие ему работать. Главное — не навреди. Содержи тело в чистоте, питайся простой и здоровой пищей, избегай излишеств.

Одним из самых знаменитых анатомов нашей эры стал Леонардо да Винчи (1452—1519), который делал рассечения животных и человека и, самое главное, умел их художественно иллюстрировать.

После открытия книгопечатания, в 1543 г. была опубликована книга бельгийского анатома Андреаса Везалия «О структуре человеческого тела». Она была проиллюстрирована учеником Тициана Яном Стивенсоном Ван-калкарсом. Хотя многие авторитеты того времени восприняли этот труд как еретический, книга демонстрировала не воображаемые, а реальные формы и устройство органов.

Примерно в то же время итальянский анатом Бартоломео Еустахио (1500—1574) вновь открыл узкие трубочки, ведущие от уха к горлу, описанные Алкмеоном, но известные теперь как евстахиевы трубы.

Многие термины, которыми мы пользуемся сейчас, имеют корни в анатомических исследованиях. В том, что сердце — насос, качающий кровь, греческие врачи были правы. Но поскольку в трупах артерии обычно пусты, эти сосуды были названы воздуховодами, что на греческий переводится как артерия.

И все-таки было доказано, что артерии, как и вены, проводят кровь. Английский врач Уильям Гарвей (1578—1657) провел уникальный эксперимент.

Зная, что кровь выходит из сердца через артерии и не может возвращаться обратно из-за сети односторонних клапанов, он перевязал артерию, и ее сторона, направленная к сердцу, переполнялась кровью. Если перевязывал вену, то кровью переполнялась сторона, направленная от сердца. Из этого следовал вывод, что поток крови не прекращается и движется в одном направлении. Далее он рассчитал количество крови, перекачиваемое сердцем, за единицу времени. Это было революционное исследование для того периода. Во-первых, Гарвей не ограничился только анатомическими подробностями в описании сосудов, связанных с сердцем, а использовал экспериментальный метод. Во-вторых, применил математические знания в области биологии. И в-третьих, сделал абсолютно грамотный вывод по результатам своего эксперимента, а в 1628 г. опубликовал книгу «О движениях сердца и крови».

Именно в эти годы итальянец Галилео Галилей (1564—1642) призывал к внедрению экспериментальных методов в науку. В развитии науки начался новый период. До того времени прогресс в области биологии и химии существовал, но находился, пожалуй, ближе к состоянию анабиоза.

Первый эксперимент на границе биологии и химии проведен фламандским химиком Яном Батистом ван Хельмонтом (1577—1644). Он взвесил почву и стал выращивать на ней дерево, которое поливал. За пять лет масса растения увеличилась на 74 кг, а масса почвы уменьшилась только на 60 г. На основании этого ван Хельмонт сделал вывод о том, что основным веществом для увеличения организма растения служила вода. Ирония судьбы заключалась в том, что именно ван Хельмонт открыл газ, который назвал «духом дерева». Как выяснилось позднее, этот газ — диоксид углерода, являлся основным веществом для синтеза различных структур растительных организмов. Но, несмотря на ошибочный вывод, эксперимент ван Хельмонта положил начало химии живых организмов, т.е. биохимии.

Большой вклад в развитие биохимии внесла физика, например эксперименты Галилея, которые он проводил с телескопом. Подобные приборы — микроскопы (от греч. «видеть малое») были разработаны для рассмотрения невидимого глазом.

Теперь удалось рассмотреть сосуды, которые, как предполагал Гарвей, соединяют артерии и вены. Эти сосуды называли *капиллярами* (от лат. «волосоподобный»). Английский ученый Роберт Гук (1635—1703) рассматривал в микроскоп растительные объекты. В 1665 г. он опубликовал книгу «Микрография» с собственными иллюстрациями. Именно Р. Гук впервые ввел термин «клетка».

Голландский торговец Антони ван Левенгук (1632—1723), для которого микроскопия была только увлечением, увидел в застойной воде из канавы мельчайшие существа, обладающие признаками жизни животных. За что они получили название *простейшие*, или *protozoa* (от греч. «первые животные»). А в 1663 г., благодаря усовершенствованию линз в своем микроскопе, Левенгук увидел существа еще более мелкие, чем простейшие. Эти объекты называли *бактериями*.

На протяжении XIX в. с помощью микроскопа были сделаны многие исследования в разных областях естественных наук. Они открыли огромные неизведанные ранее пласты информации в биологии и химии. Микроскоп, который есть теперь в каждом классе биологии обычной школы, позволил

за короткий промежуток времени сделать качественно новый прорыв в научном познании по сравнению с предыдущей эрой, длившейся тысячелетия. Но вопросы возникновения жизни, обмена веществ и энергии, передачи наследственных свойств и многие другие оставались открытыми.

Поразительно, как иногда научная мысль может соединить, казалось бы, несовместимые понятия. Например, интенсивное изучение разных газов приоткрыло тайну обмена веществ и энергии в живом организме.

Английский ботаник и химик Стефан Хейлз (1677—1761) в экспериментах с растениями установил, что  $\text{CO}_2$  вносит основной вклад в их питание. Почти столетие спустя другой английский химик Джозеф Пристли (1733—1804) открыл  $\text{O}_2$ , которым, как оказалось, легко дышится.

За этим было установлено, что растения увеличивают концентрацию  $\text{O}_2$  в воздухе. А голландский физиолог Жан Ингенхуз (1730—1799) доказал, что растения поглощают  $\text{CO}_2$  и выделяют  $\text{O}_2$  только на свету.

Изучая состав воздуха, Антуан Лоран Лавуазье (1743—1794) обнаружил в нем два основных газа,  $\text{O}_2$  и  $\text{N}_2$ , и выяснил, что  $\text{O}_2$  поддерживает горение. Горящую свечу он поместил под купол и наблюдал, что со временем пламя гаснет, а под куполом обнаруживается новый газ,  $\text{CO}_2$ .

Практически такой же результат происходит с животным организмом. Мышь, помещенная под купол, вдыхает  $\text{O}_2$  и выделяет  $\text{CO}_2$ . Когда содержание  $\text{O}_2$  становится минимальным, животное погибает.

Сопоставив эти эксперименты, Лавуазье сделал два важных вывода. Во-первых, дыхание — это своеобразная форма горения. И во-вторых, потребление кислорода сопровождается выделением тепла.

Тепло может совершать работу (вращать колесо, поднимать груз), и поэтому в 1807 г. английский физик Томас Янг (1773—1829) предложил для обозначения таких явлений использовать термин «энергия» (от греч. «работа, совершаемая изнутри»).

К вопросам образования энергии при окислении органических веществ вернулись лишь столетие спустя, когда стали известны структуры многих органических соединений. А вплотную к вопросам окисления веществ в живых организмах подошли только тогда, когда открыли катализаторы этих процессов — *ферменты*. На это еще ушло почти столетие.

В этот период в лабораторных условиях синтезированы многие органические вещества. Начало было положено немецким химиком Фридрихом Веллером (1800—1882). В 1828 г., исследуя различные цианиды, и в частности, нагревая цианат аммония, неожиданно для себя Веллер обнаружил мочевины — вещество органической природы.

Этот успех подтолкнул и других органиков. Французский химик Пьер Марселен Бертло (1827—1907) синтезировал ацетилен, бензол, метан, метанол, этанол из неорганических соединений. К середине XIX в. органический синтез активно развивался. Многие из полученных соединений были окрашенными и положили начало индустрии органических красителей.

Как это часто бывало, случайно выяснилось, что попадая на биологическую ткань, органические красители окрашивают ее неравномерно. Немецкий цитолог Вальтер Флеминг (1843—1905) обнаружил, что внутри ядра клетки есть участки, которые хорошо адсорбируют краситель и поэтому ярко выделяются на общем фоне. Он назвал этот материал *хроматином*.



Продолжая свои исследования, Флеминг заметил, что в процессе деления клетки из хроматина образовались короткие нитевидные тельца. Поэтому их и называли *хромосомами* (от греч. «окрашенные тела»).

Так органическая химия проникла в ядро клетки. А вскоре стала известна химия важнейших биологических молекул — нуклеиновых кислот, и это один из приоритетных объектов исследования биохимии.

Как самостоятельная дисциплина биохимия оформилась к середине XIX в., после издания в 1842—1846 гг. первых учебников. В этот период биохимия отделяется от физиологии и органической химии в отдельную науку, которая дифференцируется в зависимости от объекта и цели исследования. Разрабатываются новые методы биохимического анализа, и химический состав живой материи изучается на уровне организма, органов, тканей и клеток. Параллельно исследуются закономерности синтеза и распада соединений в живых организмах при разных условиях.

Основоположником отечественной биохимии справедливо считается физиолог Александр Яковлевич Данилевский (1838—1923), создавший первую в России физиолого-химическую школу и организовавший первые кафедры физиологической химии в университетах Казани, Харькова и Военно-медицинской академии Петербурга. Им проведены фундаментальные исследования в области биохимии белков, ферментов и пищеварения. Актуальность этих трудов сохраняется и в наше время. А. Я. Данилевским разработаны основы полипептидной теории строения белков, показана коллоидная природа ферментов, разработаны адсорбционные методы выделения ферментов, которые широко применяются в современной биохимии.

Современная биохимия сформировалась на рубеже XIX—XX вв. Это результат взаимодействия обширной области знаний целого ряда естественных наук: общей биологии, цитологии, гистологии, физиологии, органической, физической, коллоидной химии и др.

Успехи в развитии динамической биохимии связаны с работами известного физиолога Ивана Михайловича Сеченова (1829—1905) по химии дыхания и влиянии на эти процессы различных внешних факторов, включая питание. Он придавал большое значение изучению обмена веществ, о чем образно написал: «Проследить судьбу внешнего вещества при его странствовании по телу — значит описать всю историю жизни».

Исследования отечественного ученого-физиолога Ивана Петровича Павлова (1849—1936) были заслуженно оценены Нобелевским комитетом. В 1904 г. ему присуждена премия по физиологии и медицине «За труды по физиологии пищеварения, расширившие и изменившие понимание жизненно важных аспектов этого вопроса».

Химик и физиолог Марцеллий Вильгельмович Ненцкий (1848—1901) доказал химическое родство хлорофилла и гемоглобина. Большой вклад в развитие биохимии растений и теорию фотосинтеза сделан Клементом Аркадьевичем Тимирязевым (1843—1920). Биохимики Владимир Иванович Палладин (1859—1922) и Алексей Николаевич Бах (1857—1946) входят в число создателей современной теории биологического окисления.

А. Н. Бах совместно с Александром Ивановичем Опариным (1894—1980) являются основателями современной отечественной школы биохимии.

В 1935 г. ими был организован Институт биохимии АН СССР. Крупнейшими биохимиками нашей страны являются А. Н. Бах, Б. И. Збарский, А. В. Палладин, В. А. Энгельгардт, А. Н. Белозерский, А. И. Опарин, С. Е. Северин, А. А. Баев, А. С. Спирин и др.

На существенно новый путь биохимия вступила с реализацией проекта «Геном человека», который осуществляется совместными усилиями нескольких международных научно-исследовательских организаций. В настоящий момент около 99% ДНК человека секвенировано («прочитано»). Остались наиболее сложные участки — центральные и хвостовые фрагменты хромосом и др.

Данный проект — это колоссальный научный опыт исследования генетического материала. На базе этого опыта рождаются новые направления развития биохимии и прикладных областей. К ним относят геномику, биоинформатику, метаболомику и др.

*Геномика* призвана анализировать геном и выяснять взаимозависимости между экспрессией генов и функционированием клетки. Результаты таких исследований уже находят применение в медицине, а также распространяются на некоторые биотехнологии, в основном в области биотехнологии растений.

*Биоинформатика* занимается статистической обработкой данных, полученных при секвенировании геномов бактерий, растений и человека. Систематизация и анализ этой информации с применением алгоритмических методов позволит прогнозировать, например, структуры белков, анализировать количественные признаки в популяции и т.д.

*Протеомика* изучает протеом — совокупность всех белков организма. Гены, на которых синтезируются белки, постоянны и не зависят от типа клетки и ее возраста. Протеом же различен в разных клетках, разных тканях, изменяется с возрастом, зависит от внешних воздействий. Эти изменения изучаются на уровне генома.

*Метаболомика* ставит задачей выяснение особенностей метаболизма человека во взаимосвязи с его геномом. Это позволит корректировать состояние здоровья, поможет уберечь организм от серьезных заболеваний, корректировать лекарственную терапию.

*Нутригеномика* исследует уникальные генетические особенности человека с целью создания индивидуальной модели питания, чтобы обеспечить оптимальное состояние здоровья. Эта область новейшей биохимии будет развиваться совместно с пищевыми технологиями, что позволит создавать биологически полноценные, полезные продукты с учетом генотипа человека.

С разработкой новейших методов исследования, таких как рентгеноструктурный анализ, электронная микроскопия, различные виды хроматографии, спектрофотометрии, метод меченых атомов, накоплен огромный банк данных, благодаря чему биохимия сделала невероятный скачок в своем развитии и гигантский прорыв в научном мире вообще.

В последние десятилетия биохимия находится на острие научного познания и служит практической и теоретической базой для биоорганической и бионеорганической химии, биофизики, молекулярной биологии, медицинской биохимии, биотехнологии и других областей науки.

### 1.3. Методы практической биохимии

Объектом биохимических исследований служат различные материалы, полученные от вирусов, бактерий, растений, животных и человека. Это могут быть биологические жидкости, субклеточные структуры, отдельные клетки, органы или ткани, а также продукты их жизнедеятельности.

С химической точки зрения все это — сложные объекты, представляющие собой различные полидисперсные системы. Во-первых, исследуемое вещество в биологических материалах, как правило, находится в связанном с другими соединениями состоянии и для его отделения следует применять специальные способы. Во-вторых, большинство биологических молекул разрушаются в присутствии растворителей, которые обычно используют в органической химии. Поэтому в биохимических исследованиях, даже таких, которые хорошо усовершенствованы, процесс пробоподготовки требует немалых усилий и знаний, а иногда и времени.

Образцы для исследования нежелательно хранить, а если это неизбежно, то обычно используют температуру 0—4°C или замораживание. Твердый материал (кусочки тканей и органов) измельчают до гомогенной массы вручную (в ступке с кварцевым песком), механическим способом (блендером) или одним из физических методов (ультразвуком, резким перепадом давления). Дальнейшая подготовка образца различается в зависимости от потребностей исследования. Это может быть разделение гомогената на фракции, экстрагирование определенного компонента, озоление и пр.

Число методов, применяемых в теоретической и прикладной биохимии, огромно. Существует несколько видов их классификации. Наиболее распространенный вариант подразделяет методы практической биохимии по различным физико-химическим характеристикам, положенным в основу метода исследования.

#### Методы объемно-весового анализа

Основаны на количественном определении объема или массы исследуемого вещества путем взвешивания (для сухих проб) или титрования (для растворов).

Методы объемно-весового анализа, основанные на титровании, подразделяют на четыре группы.

Разновидность метода	Раствор, используемый для титрования
Ацидометрические	Кислота
Алкалиметрические	Основание
Оксидометрические	Окислители
Осаждения	Соли тяжелых металлов

Количественное содержание сухого вещества определяют гравиметрическим методом. Навеску пробы растворяют, малорастворимый осадок промывают, высушивают или прокаливают до постоянной массы, а затем определяют ее величину.

По количеству пробы методы объемно-весового анализа различают:

- макрометоды — исследуется 40—50 мл раствора или около 500 мг сухого вещества;

- полумикрометоды — исследуется 1—10 мл раствора или от 10 до 100 мг сухого вещества;
- микрометоды — объем исследуемого раствора составляет несколько десятых долей миллилитра или несколько миллиграммов сухого вещества.

### Элементный анализ

Для неизвестного соединения определение его молекулярной формулы — первая ступень в выяснении строения и свойств. Если соединение удалось выделить в чистом виде, его молекулярную формулу можно определить методом сжигания (озоления). Для ускорения процесса и обеспечения полного сгорания используют различные катализаторы.

Если известна молекулярная масса вещества, то используя эмпирическую формулу, можно вывести и молекулярную формулу соединения.

Большой вклад в области элементного анализа и разработка первых аппаратов для этого метода были сделаны австрийским химиком и врачом Фрицем Преглем (1869—1930). В 1923 г. он был удостоен Нобелевской премии по химии «За изобретение метода микроанализа органических веществ».

В настоящее время на практике пользуются небольшими количествами исследуемых веществ (3—4 мг), а количества выделяющихся  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  определяются автоматически.

### Оптические методы

Эти методы отличаются специфичностью, точностью и высокой чувствительностью, так как позволяют определять содержание вещества в концентрации меньше 0,001 мг. К оптическим методам относят: адсорбционные, нефелометрические и турбидиметрические, люминесцентные, спектральные, поляриметрические.

*Адсорбционные методы* основаны на способности исследуемого вещества поглощать световую энергию. Интенсивность поглощения зависит от концентрации растворенного вещества. В зависимости от вида световой энергии различают фотометрию и спектрофотометрию. Это очень распространенные методы исследования в лабораторной практике.

*Нефелометрические и турбидиметрические методы* основаны на измерении светового потока в суспензиях и коллоидных растворах. В нефелометрических исследованиях измеряют интенсивность света, рассеянного взвешенными частицами. В турбидиметрических методах измеряют интенсивность света, прошедшего через анализируемый раствор. Эти методы просты в применении и используются в исследованиях растворов белков, витаминов и других веществ, например для определения содержания альбуминов и глобулинов в сыворотке крови.

*Люминесцентный анализ* основан на способности веществ сначала поглощать, а затем излучать световую энергию. Некоторые вещества обладают первичной люминесценцией (витамин А, амилоиды), некоторые — вторичной, то есть свойство возникает только после обработки флуорохромами. Метод обладает высокой чувствительностью, позволяя обнаруживать вещества в концентрации от 0,0001 до 1000 мкг.

*Поляриметрический анализ* основан на способности оптически активных веществ вращать плоскость поляризованного света. Оптически активными являются вещества, имеющие в молекуле хотя бы один асимметричный углеродный атом. Метод используется для определения сахаров в различных продуктах, например сгущенном молоке.

### Электрофорез

Это метод разделения соединений, способных к ионизации. Электрофорез широко применяется в исследовательской практике при изучении аминокислот, белков, нуклеиновых кислот. Наибольшее распространение получил электрофорез в поддерживающей среде, где роль носителя веществ играют бумага, ацетат-целлюлозная подложка или разного рода гели, например агаровый или полиакриламидный (ПААГ).

Перед проведением анализа исследуемые вещества растворяют в буферном растворе с таким значением pH, чтобы разделяемые частицы имели определенный заряд, и наносят на носитель. Края носителя приводят в контакт с источником электрического тока. В результате создания электрического поля заряженные частицы движутся в направлении противоположно заряженного электрода. Поскольку каждое индивидуальное соединение имеет определенную скорость перемещения в данных условиях электрофореза, то даже одинаково заряженные частицы можно отделить друг от друга.

Если разделяемые вещества не окрашены, по окончании электрофореза их проявляют подходящим красителем, например нингидрином. Носитель с видимыми зонами компонентов называют *электрофореграммой*. Необходимое вещество с носителя может быть изъято, экстрагировано и подвергнуто дальнейшим исследованиям.

В настоящее время метод электрофореза значительно усовершенствован. Наибольшими возможностями обладает разновидность капиллярного электрофореза. Для него необходима современная аппаратура. Разделение происходит в кварцевых капиллярах диаметром 25—100 мкм и длиной 0,2—1,0 м. Процесс протекает значительно быстрее, чем в случае традиционного электрофореза, а идентификация осуществляется непосредственно в капиллярах, преимущественно оптическими методами.

Методами электрофореза тщательно изучены белки молока и в настоящий момент пересмотрены представления об их классификации. Например, установлено, что считавшаяся ранее индивидуальной протеозо-пептонная фракция является фрагментом  $\beta$ -казеина.

### Хроматографические методы

Хроматография — это простой способ разделения сложных веществ. Впервые метод распределительной хроматографии применил русский ученый Михаил Семенович Цвет в 1903 г. Название метода происходит от двух греческих слов *chroma* — цвет и *grapho* — пишу.

Разделение смесей органических соединений методом хроматографии основано на различном распределении их компонентов между двумя фазами — неподвижной и подвижной (*элюентом*). Если разделяемые вещества имеют характерную окраску, то при хроматографии участки их адсорбции

будут видимые, а в случае бесцветных веществ неподвижную фазу обрабатывают специальными реактивами, дающими с исследуемыми веществами цветные комплексы.

Хроматографические методы подразделяются по физическим принципам на распределительные (разделение смеси между двумя растворителями), адсорбционные (разделение между растворителем и адсорбентом) и вытеснительные (вытеснение вещества, захваченного адсорбентом, другим веществом).

По используемой методике различают хроматографию колоночную, хроматографию на бумаге, тонкослойную, газовую, жидкостную, ионообменную, на молекулярных ситах или гелях (*гель-фильтрация*).

**Газовая хроматография.** В газовой хроматографии подвижной фазой является нерреакционноспособный газ, обычно азот или гелий. Неподвижной фазой может быть твердый адсорбент или пленка вязкой жидкости, отложенная на поверхности инертного твердого вещества или нанесенная на стенки тонкой капиллярной колонки. Часто колонка свернута в спираль, что значительно уменьшает занимаемую ею площадь и позволяет поместить колонку в небольшую камеру, чтобы поддерживать температуру, необходимую для максимально полного разделения образца за короткое время.

Анализируемый образец, как правило, растворяют в подходящем растворителе и с помощью шприца впрыскивают через резиновую перегородку в основании колонки прямо в поток газа.

Поскольку каждый компонент смеси обладает разным сродством к выбранному растворителю, то в разное время связывается и увлекается растворителем. Благодаря этому по мере движения через колонку исследуемая смесь разделяется на индивидуальные компоненты.

На выходе из колонки все компоненты появляются в разное время, проходят через детектор, который дает электронный сигнал и регистрирует его в виде пика на ленте самописца. Для каждого компонента характерен свой пик, а площадь, им образованная, характеризует количество образца. Обычно применяют пламенно-ионизационный детектор. Принцип его действия основан на том, что ионы, образующиеся при сгорании вещества, увеличивают электрическое сопротивление газа.

Все хроматографические методы находят широкое применение в пищевой промышленности. Они используются при оценке биологической безопасности пищевого сырья на отсутствие антибиотиков, пестицидов, консервантов, токсинов и других контаминантов. Хроматографический анализ применяют для идентификации как состава сырья, так и готовых продуктов, а также с целью выявления фальсифицированной продукции. Например, на рис. 1.1 приведена хроматограмма смеси  $\beta$ -лактоглобулина и  $\alpha$ -лактальбумина, используемая при оценке подлинности сывороточных белков молока<sup>1</sup>.

Аминокислотный состав белков молока и набор жирных кислот молочного жира и молочной продукции также исследованы методами хроматографии. В частности, при защите особых свойств вологодского масла уни-

---

<sup>1</sup> Методические указания по оценке подлинности и выявлению фальсификации молочной продукции : Методические указания МУ 4.1./4.2.2484—09. М. : Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.

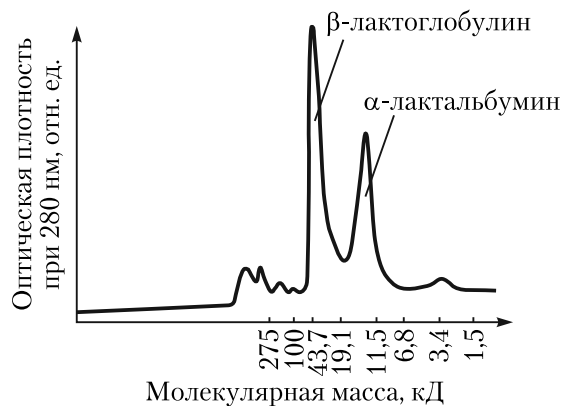


Рис. 1.1. Хроматограмма смеси β-лактоглобулина и α-лактальбумина<sup>1</sup>

кальность спектра его вкусоароматических соединений была доказана данными методами.

**Ионообменная хроматография.** В качестве стационарной фазы в колоночной хроматографии часто применяют ионообменные смолы с заряженными периферическими функциональными группами. Таким материалом обычно служат различные силикагели или полимеры, например стирола и дивинилбензола. Этим методом можно разделять любые соединения, если они содержат ионизированные молекулы или группы. Метод особенно эффективен для разделения сильнополярных веществ, к которым относятся аминокислоты, пептиды, азотистые основания, углеводы.

Выделяют две разновидности ионообменной хроматографии: *анионную* и *катионную*.

При анионной хроматографии на колонке задерживаются отрицательно заряженные частицы — анионы, поскольку неподвижная фаза имеет положительный заряд поверхности. Такие анионные матрицы (аниониты) содержат ионы аммония ( $-\text{NH}_3^+$ ) или триалкиламмонийные группы ( $-\text{NR}_3^+$ ).

При катионной разновидности, наоборот, задерживаются положительно заряженные группы и молекулы, поскольку неподвижная фаза имеет противоположный отрицательный заряд. Катионные матрицы (катиониты) создают сульфированием или фосфорилированием полимерной смолы, которая приобретает, соответственно, группы  $\text{SO}_3^-$  и  $\text{PO}_4^{3-}$ .

Подвижной фазой для данного метода разделения обычно служат водные растворы солей, кислот и оснований с определенным значением pH. Ионы  $\text{H}^+$ ,  $\text{OH}^-$ , кислотные остатки или катионы металлов до проведения анализа связаны с ионизированными группами полимера в качестве *противоионов*. Противоионами катионитов обычно являются  $\text{H}^+$  или  $\text{Na}^+$ , а противоионами анионитов —  $\text{OH}^-$  или  $\text{Cl}^-$ .

При разделении на колонке ионы анализируемого вещества конкурируют с противоионами подвижной фазы за ионизированные группы полимерной матрицы.

За последние годы ионообменная хроматография зарекомендовала себя не только в исследовательской практике, но и как промышленный метод выделения многих биомолекул. С помощью ионообменной хроматографии выделяют ценнейшие компоненты молока, такие как лактоферрин, гликомакропептид, α-лактальбумин, β-лактоглобулин и др.

<sup>1</sup> Для молекулярной массы использована единица дальтон — то же, что а.е.м.



**Афинная хроматография.** Метод афинной хроматографии также основан на сорбционных процессах, но отличается от других видов хроматографии особой избирательностью действия. Этот метод используют для разделения макромолекул, таких как полипептиды, белки, ферменты и пр. В молекулах этих соединений обычно есть определенные участки, способные образовывать комплексы с различными лигандами.

Зная эту особенность, нужные лиганды закрепляют на неподвижной матрице, а исследуемую смесь пропускают через колонку. В качестве неподвижной фазы обычно используют различные гели типа сефадекса, трисакрила и др. Подвижной фазой чаще всего являются буферные растворы: ацетатный или фосфатный.

При прохождении через колонку отделяемое вещество (целевой компонент) комплементарно связывается со специфичным по отношению к нему лигандом и задерживается неподвижной фазой, а другие компоненты смеси удаляются из колонки. Например, аминокислотные остатки Гис и Три комплементарно соединяются с иминодиацетатными группами.

В молекулах биополимеров комплексообразующие центры часто находятся не на поверхности, а в глубине структуры и недоступны для лиганда, закрепленного на матрице. Чтобы преодолеть эту трудность, лиганды пришивают к неподвижной фазе через дополнительный белок — *спейсер* (от англ. *spacer* — разделитель).

Снятие связанного компонента с матрицы осуществляют разными способами:

- внесение элюента с пониженным значением рН, что приводит к диссоциации отделяемого компонента от лиганда за счет протонирования активных групп и комплексообразующего центра;
- использование элюента, содержащего вещество, способное образовать с лигандом более устойчивый комплекс, чем целевой компонент (так называемый лигандный обмен);
- использование элюента, сочетающего в себе особенности двух предыдущих вариантов — и пониженное значение рН, и агент, образующий комплекс с лигандом.

Если изменять диапазон рН элюента или вводить в него некоторые ионы ( $\text{SCN}^-$ ,  $\text{CF}_3\text{COO}^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ ,  $\text{CCl}_3\text{OO}^-$ ), этим можно контролировать прочность соединения целевого компонента с лигандом.

Метод афинной хроматографии широко применяется не только в научных исследованиях, но и в промышленном производстве.

## Масс-спектрометрия

Этот метод позволяет определить молекулярную массу и формулу неизвестного соединения, а также используется для уточнения его структуры.

В основе метода лежат перевод вещества в ионизированное состояние и измерение массы образовавшегося иона. Для этих целей используют приборы — масс-спектрометры. Обязательным их элементом является ионизационная камера. Однако методы ионизации могут различаться. Обычно их классифицируют по фазе, в которой вещество находится перед ионизацией: газовая, жидкая, твердая. Наибольшее распространение получила электронная ионизация в газовой фазе, при которой молекулы анализируемого

вещества атакуются потоком электронов (электронный удар), приобретая при этом положительный заряд.

Из ионизационной камеры ионы выталкиваются в сильное магнитное поле, которое отклоняет заряженные частицы, сообщая им криволинейную траекторию. Поскольку после электронного удара заряд многих ионов равен плюс единица, то степень отклонения зависит только от массы иона. Изменяя силу магнитного поля, можно получить спектр масс.

### Спектроскопические методы исследования

Спектроскопия (от лат. *spectrum* — образ, представление и греч. *skopeo* — смотрю) основана на изучении спектров взаимодействия различных излучений с исследуемым веществом. Органические соединения поглощают электромагнитное излучение при определенных длинах волн. Сведения о длинах волн и интенсивности поглощения могут дать представление о структуре исследуемого соединения.

Спектроскопические методы подразделяют в зависимости от длины волны или частоты электромагнитного излучения на оптическую, микроволновую, рентгеновскую и другие виды спектроскопии. В каждой разновидности спектроскопии используются свои приборы для получения, регистрации и измерения спектров. В оптической спектроскопии выделяют две важнейшие разновидности: ультрафиолетовую и инфракрасную.

**Ультрафиолетовая спектроскопия** использует спектры в диапазоне длин волн от 10 до 400 нм, что соответствует разностям энергий между электронными уровнями молекул. Позволяет изучать атомы, ионы, молекулы, виды связей в них и пр. Молекулы, имеющие только  $\sigma$ -электроны, могут претерпевать электронные переходы только со связывающих  $\sigma$ - на разрыхляющие  $\sigma^*$ -орбитали. Для этого требуется очень высокая энергия, которую невозможно получить в большинстве УФ-спектрометров. Молекулы, в которых есть неподеленные пары электронов или  $\pi$ -электроны, не требуют большой энергии для возбуждения таких электронов.

В сопряженных молекулах расстояние между высшей  $\pi$ -орбиталью и низшей  $\pi^*$ -орбиталью сокращено, поэтому такие молекулы поглощают излучение более низкой энергии (т.е. с большей длиной волны). Например, максимум поглощения этена составляет около 190 нм, а 2,4,6-октатриена с тремя сопряженными двойными связями — 275 нм. Соединения, имеющие большое число сопряженных двойных связей, часто обладают поглощением в видимой области, поэтому окрашены, как, например, хлорофилл, фолиевая кислота или каротин.

УФ-спектрометрия использована, например, в разработке технологии обогащения казеина иодом. Сравнение ультрафиолетовых спектров поглощения казеина и иодказеина на графике (рис. 1.2) показывает, что максимум при длине волны 279–280 нм, типичный для ароматических аминокислот белков, сдвигается в случае иодказеина в более длинноволновую область. Появляющийся на длине волны 312 нм пик характеризует появление в цепочке белка диодтирозина<sup>1</sup>.

---

<sup>1</sup> Томчани О. В. Разработка технологий иодказеина и молочных продуктов, обогащенных иодированным белком : автореф. дис. ... канд. техн. наук. М., 2003.

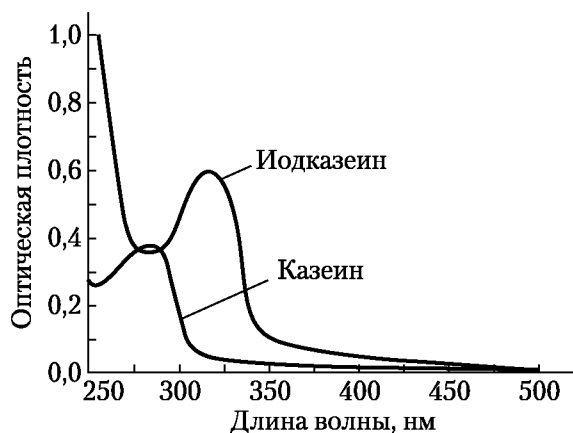


Рис. 1.2. Спектры поглощения казеина и иодказеина

**Инфракрасная спектроскопия.** Исследования проводятся в области длин волн более 730 нм, за красной границей видимого света. Свет с такими длинами волн не может провоцировать переход электронов с одного уровня на другой. Однако энергии такого света достаточно для перевода молекулы из основного колебательного состояния в более высокое. Такие колебания характерны для определенных связей или групп атомов, каждая из которых отличается поглощением в определенном интервале длин волн. Следовательно, ИК-спектроскопия позволяет идентифицировать различные сочетания атомов и функциональные группы, содержащиеся в исследуемом соединении.

ИК-спектры графически выглядят не как пики, а напоминают впадины (рис. 1.3), поскольку они описывают зависимость пропускания от частоты ( $\text{см}^{-1}$ ).

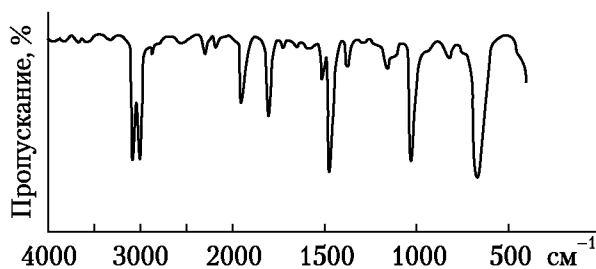


Рис. 1.3. Типичный инфракрасный спектр<sup>1</sup>

### Ядерный магнитный резонанс

Исследования этим методом основаны на использовании квантовых характеристик ядер атомов. Ядерные частицы — протоны и нейтроны обладают спиновыми свойствами, подобными тем, что характерны для электронов. Ядра с нечетным суммарным числом протонов и нейтронов обладают определенным магнитным моментом, что можно регистрировать в магнитном поле.

Помещенное в магнитное поле заряженное тело ведет себя как маленький магнит и может принять две ориентации: в направлении поля или против поля, которые имеют разную энергию. Для усиления эффекта образец вращают. При нормальных условиях большая часть ядер занимает низший

<sup>1</sup> Пентин Ю. А., Вилков Л. В. Физические методы исследования в химии. М. : Мир, 2006.

энергетический уровень. При облучении энергией она поглощается и вызывает переход ядер с одного уровня на другой, что регистрируется самописцем. Точная частота зависит от типа ядер ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  и т.д.), электронного окружения, в котором они находятся, и от силы магнитного поля.

В органической химии обычно используется резонанс на ядрах  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  ( $^{12}\text{C}$  имеет нулевой спин), так как водород и углерод есть в любых органических соединениях.

ЯМР-поглощение выражают как химический сдвиг ( $\delta$ ). Химические сдвиги зависят от электронного окружения ядра. Эффект считается экранирующим, если он уменьшает величину  $\delta$  ядра, и, наоборот, дезэкранирующим, если он увеличивает  $\delta$  ядра. Зная величины  $\delta$  для  $^{13}\text{C}$  в зависимости от наличия соседних групп атомов, можно устанавливать структуру органических соединений.

### Метод изотопных индикаторов

Изотопный метод (метод меченых атомов) был предложен в 1913 г. Дьердем Хевеши и Фридрихом Панетом и получил широкое развитие с появлением возможности получать стабильные изотопы. Метод основан на том, что химические свойства изотопов одного и того же атома практически одинаковы, т.е. меченый атом будет вступать во все характерные для него превращения. Однако обнаружить такой изотоп благодаря радиоактивной метке очень легко, используя счетчик Гейгера.

В биохимических исследованиях используют радиоактивные изотопы водорода ( $^2\text{H}$  и  $^3\text{H}$ ), углерода ( $^{13}\text{C}$  и  $^{14}\text{C}$ ), азота ( $^{15}\text{N}$ ), кислорода ( $^{18}\text{O}$ ), фосфора ( $^{32}\text{P}$ ), серы ( $^{35}\text{S}$ ), железа ( $^{59}\text{Fe}$ ), иода ( $^{131}\text{I}$ ) и др.

Благодаря изотопным методам получены новые сведения о строении химических соединений, выяснена связь между исходным веществом и образующимися из него молекулами, определена «судьба» атомов и групп атомов в процессах обмена веществ. Метод позволяет сохранить целостность организма, поэтому взаимосвязанные процессы обмена белков, липидов, углеводов, нуклеиновых кислот и других биологически важных соединений удалось исследовать не только в модельных системах на отдельных тканях или препаратах клеток, а на уровне целого организма.

Результаты, полученные данными методами, считаются основополагающими при определении путей метаболизма веществ и составлении современных схем обменных процессов.

## 1.4. Практические примеры

**I. Нахождение химической формулы вещества по массовым долям элементов.** При сжигании органического соединения весь содержащийся в нем углерод переходит в  $\text{CO}_2$ , а весь водород — в  $\text{H}_2\text{O}$ . Следовательно, определение количества  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$  показывает относительное содержание углерода и водорода в соединении.

Например, известно, что при сгорании 10 мг органического вещества, состоящего из C, H и, возможно, O, выделилось 23,8 мг  $\text{CO}_2$  и 12,15 мг  $\text{H}_2\text{O}$ . Используя эти данные, можно вывести эмпирическую формулу соединения.

Во-первых, зная содержание С и Н в  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ , необходимо рассчитать количество этих элементов в анализируемом веществе. Для этого следует вычислить молярные массы  $\text{CO}_2$  ( $M_1$ ) и  $\text{H}_2\text{O}$  ( $M_2$ ):

$$M_1 = 12 + 2 \cdot 16 = 44;$$

$$M_2 = 1 \cdot 2 + 16 = 18.$$

Далее, исходя из доли С в составе  $\text{CO}_2$ , рассчитать содержание С в образце: 12 г С находится в 44 г  $\text{CO}_2$ , следовательно,  $x$  мг С находится в 23,8 мг  $\text{CO}_2$ ;

$$x = \frac{12 \cdot 23,8}{44} = 6,49 \text{ (мг С)}.$$

Аналогично вычисляется содержание Н в образце: 2 г Н находится в 18 г  $\text{H}_2\text{O}$ , следовательно,  $x$  мг Н находится в 12,15 мг  $\text{H}_2\text{O}$ ;

$$x = \frac{2 \cdot 12,15}{18} = 1,35 \text{ (мг Н)}.$$

Если массу образца 10 мг принять за 100%, тогда относительное содержание в нем С и Н составит, соответственно:

$$\text{Содержание С} = \frac{6,49 \cdot 100}{10} = 64,9\%;$$

$$\text{Содержание Н} = \frac{1,35 \cdot 100}{10} = 13,5\%.$$

Поскольку единственным другим элементом в соединении является О, то его содержание составляет:  $100 - 64,9 - 13,5 = 21,6\%$ .

Для расчета эмпирической формулы необходимо соотношение масс элементов в веществе перевести в соотношение количеств атомов, разделив относительное содержание каждого элемента в соединении на атомную массу этого элемента:

$$\frac{64,9}{12} : \frac{13,5}{1} : \frac{21,6}{16}, \text{ т.е. } 5,4 : 13,5 : 1,35, \text{ или } 4 : 10 : 1.$$

Таким образом, эмпирическая формула анализируемого соединения  $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$ .

**II. Вычисление массовой доли элемента в сложном веществе по его формуле.** Например, требуется определить массовую долю азота в аминокислоте глицин.

Молекулярная формула глицина (см. табл. 3.1) —  $\text{C}_2\text{H}_5\text{O}_2\text{N}$ . Сначала вычисляют относительную молекулярную массу глицина  $M_{\text{глицин}}$  сложением относительных атомных масс ( $A$ ) каждого элемента — углерода ( $A_{\text{C}}$ ), водорода ( $A_{\text{H}}$ ), кислорода ( $A_{\text{O}}$ ) и азота ( $A_{\text{N}}$ ), с учетом числа атомов элемента в молекуле. Следовательно, относительная молекулярная масса для глицина рассчитывается по формуле:

$$M_{\text{глицин}} = 2A_{\text{C}} + 5A_{\text{H}} + 2A_{\text{O}} + A_{\text{N}};$$

$$M_{\text{глицин}} = 2 \cdot 12 + 5 \cdot 1 + 2 \cdot 16 + 14 = 75.$$

Масса всего соединения составляет 100%, тогда массовая доля азота  $W_N$  вычисляется из соотношения

$$W_N = \frac{A_N}{M_{\text{глицин}}} \cdot 100; \quad W_N = \frac{14}{75} \cdot 100 = 18,67\%.$$

Таким образом, массовая доля азота в аминокислоте глицин составляет 18,67%.

### **Задания для самостоятельной работы**

**I.** Среди возможных вариантов выберите единственное верное завершение фразы.

**1.** К оптическим методам исследования относятся:

- а) ионообменная хроматография;
- б) люминесцентный и поляриметрический анализы;
- в) инфракрасная спектроскопия;
- г) ультрафиолетовая спектроскопия;
- д) ядерный магнитный резонанс.

**2.** Поляриметрическим анализом разделяют:

- а) гидрофильные вещества;
- б) гидрофобные вещества;
- в) оптически активные вещества;
- г) амфотерные соединения;
- д) электронейтральные соединения.

**3.** Методом ионообменной хроматографии можно разделять вещества:

- а) содержащие ионизированные молекулы или группы;
- б) обладающие различной молекулярной массой;
- в) различающиеся растворимостью;
- г) различающиеся температурой кипения;
- д) обладающие амфотерными свойствами.

**4.** Ультрафиолетовая спектроскопия используется при исследовании:

- а) путей метаболизма соединений;
- б) только полярных соединений;
- в) соединений, не имеющих ионизированных групп;
- г) структуры соединения;
- д) атомных масс элементов.

**5.** Инфракрасная спектроскопия позволяет идентифицировать:

- а) молекулярную массу вещества;
- б) атомные массы элементов;
- в) элементный состав соединения;
- г) пути метаболизма соединений;
- д) различные сочетания атомов и функциональные группы.

**6.** Метод ядерного магнитного резонанса позволяет определять:

- а) молекулярную массу вещества;
- б) элементный состав соединения;
- в) пути метаболизма соединений;
- г) структуру органических соединений;
- д) температуры кипения органических соединений.

7. Методом меченых атомов определяют:

- а) заряд ядра;
- б) массу атома;
- в) элементный состав соединения;
- г) пути метаболизма соединений;
- д) различные сочетания атомов и функциональные группы.

II. Дайте аргументированный ответ, сопровождая его при необходимости расчетами и соответствующими превращениями.

1. При сжигании 10 мг органического соединения, состоящего из С, Н и, возможно, О, образовалось  $a$  мг  $\text{CO}_2$  и  $b$  мг  $\text{H}_2\text{O}$ . Рассчитайте эмпирическую формулу соединения.

Вариант	Масса, мг		Вариант	Масса, мг	
	$a$	$b$		$a$	$b$
1	14,67	6,03	6	31,42	12,6
2	13,75	11,25	7	22,77	9,27
3	22,0	12,0	8	23,58	6,39
4	27,5	22,5	9	33,84	6,93
5	29,33	18,0	10	19,98	8,19

2. Рассчитайте массовую долю азота в следующих соединениях.

Вариант	Соединение
1	N-ацетилглюкозамин (см. рис. 10.10)
2	Аминоспирт аминокэтанол (см. табл. 3.1)
3	Аминокислота серин (см. табл. 3.1)
4	Аминокислота орнитин (см. рис. 6.37)
5	Аминокислота гистидин (см. табл. 3.1)
6	Аминокислота аргинин (см. табл. 3.1)
7	Аминокислота аспарагин (см. табл. 3.1)
8	Аминокислота фенилаланин (см. табл. 3.1)
9	Аминокислота пролин (см. табл. 3.1)
10	Мочевина (см. рис. 6.37)

3. Определите процентное содержание фосфора в следующих соединениях.

Вариант	Соединение
1	Гл-1-фосфат (см. рис. 6.28)
2	3-ФГА (см. рис. 6.44)
3	3-ФГК (см. рис. 6.45)
4	$\alpha$ -Глицерофосфат (см. рис. 11.16)
5	2-Фосфоенол-ПВК (см. рис. 10.30)
6	Рибулозо-5-фосфат (см. рис. 10.34)
7	Аминокислота аминокэтанолфосфат (см. рис. 11.39)
8	АМФ (см. рис. 5.4)
9	Карбамилфосфат (см. рис. 12.16)
10	АДФ (см. рис. 5.4)



## Глава 2

# ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ

---

В результате изучения материала данной главы студент должен:

**знать**

- элементный состав живых организмов;
- характеристику основных классов биогенных химических соединений;
- каким образом подразделяют биогенные элементы по количественному содержанию в организме;

- роль и функции воды в организме;

- вещества, определяющие пищевую ценность продуктов;

**уметь**

- грамотно характеризовать свойства основных классов органических веществ на основе их химического строения;

- выявлять генетические связи между различными классами органических и неорганических соединений;

**владеть**

- терминами «микронутриенты», «макронутриенты», «пищевая ценность»;
  - простейшими методами исследования и постановкой эксперимента по изучению химического состава живых организмов.
- 

Структурной основой живой материи является клетка. Функционирование различных клеток достаточно хорошо изучено на разных уровнях: элементном, молекулярном и на уровне клеточных биокомплексов — органелл.

С помощью метода меченых атомов доказано, что атомы из одних молекул после ряда превращений включаются в состав других молекул. Обмениваются отдельные атомы и целые группы атомов. Сложнейшие структуры распадаются и тут же создаются заново. Например, кроветворные органы человека производят 80 000 000 эритроцитов каждую секунду. В состоянии равновесия такое же количество эритроцитов и разрушается. Этот колоссальный темп динамических процессов кажется еще более удивительным, если вспомнить, что эритроцит — не простая молекула, а сложная частица, имеющая собственную тонкую структуру [15].

Человек, как и другие гетеротрофы (от греч. *geteros* — другой, разный и *trophe* — пища), исключительно зависит от питания. Поэтому в курсе «Биохимия» по направлению подготовки «Продукты питания животного происхождения» большое значение уделяется не только составу живых организмов, но и составу компонентов пищи.

### 2.1. Элементный состав живых организмов

Всего в живых организмах открыто около 70 химических элементов. Более 40 из них присутствуют в составе любого организма, независимо от ви-

довой принадлежности и уровня организации. Такие химические элементы называют *биогенными*.

Прямой зависимости между распространением химических элементов в неорганической и органической природе нет, но определенные закономерности существуют.

Решающее значение в построении живой материи играют те элементы, которые доступны для биосферы. Они образуют растворимые в воде и газообразные соединения. К таким элементам относятся С, N, H, O, S, P.

Полагают, что С, N, H, O, S, P составляют вместе более 99% живого вещества благодаря наличию у них особых свойств. Во-первых, эти элементы, за исключением водорода, образуют кратные связи, что значительно увеличивает разнообразие возникающих соединений и их уникальные качества. Во-вторых, атомы этих элементов имеют достаточно малые размеры и, следовательно, образуют относительно плотные молекулы с минимальными межатомными расстояниями. В результате такие молекулы более устойчивы к действию внешних реагентов. Третья особенность касается в основном P, S и в некоторой степени N. С участием этих элементов образуются особые макроэргические связи, при расщеплении которых выделяется повышенное количество энергии.

Каркас всех биомолекул образован *углеродом*. Число соединений этого элемента насчитывает миллионы. Из углерода строятся и длинные цепи, и разветвленные структуры, и циклы. При этом в отдельных связях могут создаваться сопряженные электронные системы с повышенной активностью, которые очень реакционноспособны в различных биологических структурах.

Атомы *водорода* также не инертные элементы в органических молекулах. Они могут перемещаться в виде протонов ( $H^+$ ) от одного соединения к другому, изменяя его свойства. Могут отдавать электроны в электроно-транспортных цепях (ЭТЦ), где образуется энергия (см. параграф 9.3 и рис. 9.8). Наконец, атомы водорода участвуют в образовании водородных связей.

**Водородные связи образуются атомом водорода и более электроотрицательным элементом.**

Электроотрицательность — это сила, с которой атом притягивает к себе электроны, участвующие в образовании связи. Большей электроотрицательностью, чем водород, обладают С, O, N, S и другие элементы, как показано в табл. 2.1.

Электроотрицательности H и C близки и в органических соединениях не играют решающей роли в смещении электронной плотности, поэтому связь, образованную этими элементами, обычно считают неполярной.

Таблица 2.1

**Электроотрицательность некоторых элементов**

Элемент (Э)	F	O	Cl	N	S	C	H
Электроотрицательность	4,0	3,5	3,0	3,0	2,6	2,5	2,2
Полярность связи С—Э	Уменьшается						→

Водородные связи могут возникать как между отдельными молекулами, так и в пределах одного соединения. Внутримолекулярные водородные связи особенно характерны для крупных структур, биополимеров, например белков, нуклеиновых кислот и т.д. И внутри-, и межмолекулярные водородные связи принято обозначать тремя точками:



Энергия водородной связи (16–20 кДж/моль) почти в 20 раз меньше углерод-углеродной  $\sigma$ -связи (347 кДж/моль), поэтому водородная связь разрушается при незначительных изменениях внешнего окружения (температура, pH, ионная сила раствора и др.). Однако число водородных связей в биомолекулах может быть огромно, поэтому их влияние на структуры и свойства органических соединений не просто ощутимо, а очень значительно.

Также прослеживается ряд взаимосвязей между биологической ролью элементов и строением атома и, следовательно, их местом в периодической системе Менделеева.

Органический мир построен главным образом из сравнительно легких элементов. Как правило, с увеличением атомных масс элементов в пределах одной подгруппы токсичность элементов возрастает, а их содержание в биомассе снижается. Например, Zn необходим для функционирования некоторых биомолекул, а Cd и Hg — это яды живого организма.

Элементы, широко распространенные в неорганическом мире, такие как Si, Al, Fe, содержатся в живых организмах в микроколичествах. Видимо, это можно объяснить тем, что они не образуют растворимых в воде соединений, а весь биомир обязательно включает воду.

По количественному содержанию в организме все биогенные элементы делят на две группы: *макро-* и *микроэлементы*. Концентрация макроэлементов в организме превышает 0,001%. В эту категорию помимо C, N, H, O, S, P относят Ca, P, Mg, K, Na, Cl. Содержание микроэлементов в организме человека составляет 0,001–0,000001%. В группу микроэлементов входят Fe, Zn, Cu, Mn, Se, Cr, Mo, Co, Si, F, I.

## 2.2. Молекулярный состав живых организмов

Химические элементы, входящие в состав живых организмов, а также биогенные элементы, поступающие с продуктами, напитками и водой, задерживаются в организме человека в виде специфических соединений. По природе вещества эти соединения можно разделить на три группы: *вода*, *органические* и *неорганические вещества*. В количественном соотношении их содержание показано на рис. 2.1.

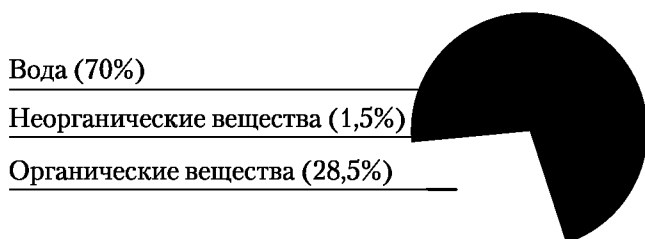


Рис. 2.1. Содержание воды, органических и неорганических веществ в животном организме

### 2.2.1. Вода

С точки зрения живого организма вода обладает абсолютно уникальными свойствами. Отличие свойств воды проявляется и в сравнении со свойствами других гидридов элементов VI группы таблицы Менделеева ( $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2\text{Se}$ ,  $\text{H}_2\text{Te}$ ).

Например, температуры кипения этих элементов возрастают с увеличением массы атома элемента и составляют для  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{H}_2\text{Se}$ ,  $\text{H}_2\text{Te}$   $-60^\circ\text{C}$ ,  $-41^\circ\text{C}$  и  $-2^\circ\text{C}$  соответственно. Температура кипения воды  $100^\circ\text{C}$  явно выбивается из этой зависимости. Вода ведет себя по-своему и в других отношениях. Она обладает высоким значением диэлектрической проницаемости, благодаря чему многие растворенные в ней соединения находятся в ионизированном состоянии. Это очень важно для живой природы, потому что ионизированные молекулы реагируют активнее и в клетках всегда поддерживается определенное значение ионной силы раствора.

Существуют и другие примечательные особенности. Плотность воды уменьшается в интервале  $0-4^\circ\text{C}$ , а потом снова увеличивается. При затвердевании вода расширяется, в то время как большинство веществ при этом сжимается. В обычных жидкостях молекулы хаотично движутся, а данные рентгеноструктурного анализа воды показывают, что она имеет признаки упорядоченной структуры.

Многие свойства воды объясняются ее строением, которое обусловлено строением атомов О и Н. Атомы Н имеют по одному электрону на  $s$ -орбитали. Электронная конфигурация О —  $1s^2 2s^2 2p^4$ , т.е. на внешнем электронном слое у него находится 6 электронов (рис. 2.2).

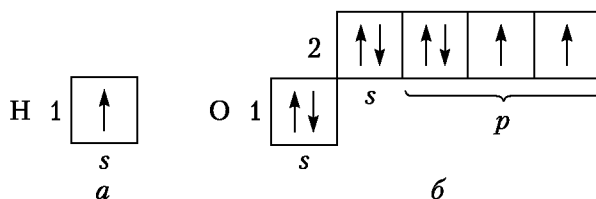


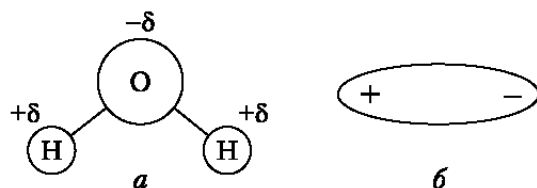
Рис. 2.2. Электроннографические конфигурации атомов:

*a* — водород; *б* — кислород

Их электронные облака гибридизированы в виде  $sp^3$ -орбиталей, которые направлены к углам тетраэдра, если атом О расположен в центре этого тетраэдра. В молекуле воды две орбитали с неспаренными электронами образуют две  $\sigma$ -связи с атомами Н.

Неиспользованные  $2p$ - и  $2s$ -электроны атома О создают дополнительный избыток электричества на кислороде, что влияет на угол между связями. Он равен не  $90^\circ$  и не  $180^\circ$ , а  $104,5^\circ$ . В результате молекула воды становится сильно полярной со значительным дипольным моментом, т.е. имеет как положительный, так и отрицательный заряд и существует в виде диполя, что упрощенно показывают, как на рис. 2.3.

Обе связи О—Н в молекуле полярны. На том конце, где находится атом Н, имеется избыток заряда «+», а в районе атома О — избыток заряда «-». В таком случае между атомами Н и О из соседних молекул воды возникает притяжение — *водородные связи*. При этом каждый атом О окружен четырьмя атомами Н. Два из них соединены  $\sigma$ -связями, образованными этим атомом О в собственной молекуле воды, а два атома водорода электростатиче-

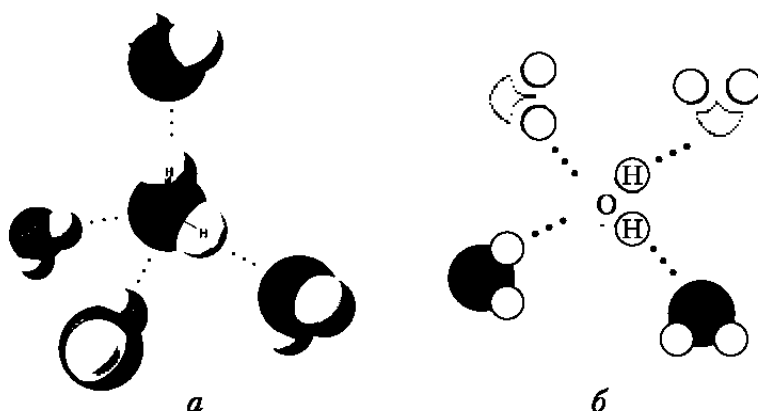


**Рис. 2.3. Схематичное изображение молекулы воды:**

*а* — структурное; *б* — в виде диполя

ски притягиваются из окружающих молекул воды. Длина  $\sigma$ -связи меньше длины водородной связи, поэтому тетраэдр, образованный атомом О в молекуле воды, имеет неправильную форму.

Таким образом, молекулы воды образуют структуру с чередующимися атомами Н и О, которая имеет не плоскостное, а объемное строение (рис. 2.4, *а*). Однако на практике чаще всего изображают проекцию этой структуры на плоскость, что выглядит, как показано на рис. 2.4, *б*. При этом водородные связи между молекулами воды показаны тремя точками, как это принято.



**Рис. 2.4. Расположение молекул воды:**

*а* — пространственное; *б* — плоскостное

Такая упорядоченная структура характерна не только для замерзшей, но и для жидкой воды и объясняет многие особенности ее поведения. Например, из курса физики известно, что с уменьшением давления насыщенный пар переходит в ненасыщенный. А водяной пар при снижении давления конденсируется. Ведь для того чтобы пар стал ненасыщенным, расстояния между молекулами должны увеличиться. Но между диполями воды существует притяжение. Для разрушения этих притяжений необходима энергия, которая и извлекается из запасов внутренней энергии пара. Это приводит к снижению температуры пара и его конденсации.

Многие свойства воды проявляются в связи с тем, что ее молекулы обладают одновременно функцией донора и акцептора  $H^+$ . Неиспользованные электроны атома О — акцепторы  $H^+$ , а группы атомов, содержащие атом Н, связанный с электроотрицательным элементом, — доноры  $H^+$ . Способность воды проводить электрический ток обусловлена именно этой особенностью. Хотя вода очень слабый электролит, поскольку в диссоциированном состоянии находится лишь  $10^{-7}$  ее молекул на 1 л воды. Установлено, что в замерзшей воде диссоциировано еще меньше молекул —  $10^{-10}$ , т.е. носителей электрических зарядов  $H^+$  и  $OH^-$  в 1000 раз меньше. Однако электропроводность льда только в три раза меньше электропроводности воды, а не в 1000, как следовало ожидать.

Объяснить это можно большей упорядоченностью структуры льда, чем воды. В любой жидкости, даже такой упорядоченной, как вода, молекулы меняют пространственную ориентацию, причем очень быстро — по данным А. Тепела, каждую пикосекунду ( $10^{-12}$  с). Значит, межмолекулярные связи периодически рвутся. Замерзшей воде соответствует кристаллическая структура, в которой водородные связи более стабильны, поэтому  $H^+$  передаются от одной молекулы к другой, как в эстафете. Схематично передачу  $H^+$  по цепочке молекул воды можно изобразить, как показано на рис. 2.5.

Между ионом  $H^+$ , оказавшимся в области молекулы воды, возникает с ней водородная связь, которая переходит в ковалентную, а  $H^+$ , принадле-

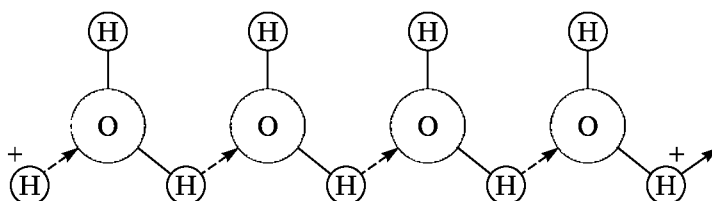


Рис. 2.5. Перемещение  $H^+$  в слое воды (по Л. Н. Николаеву)

жавший данной молекуле воды, аналогичным образом входит в структуру соседней молекулы воды, т.е. развивается цепной механизм передачи  $H^+$ . Он завершается отрывом  $H^+$  на другом конце структуры воды. Фактически это не простое движение отдельного  $H^+$  в слое воды, а передача  $H^+$  от одной молекулы воды к другой. Причем скорость движения  $H^+$  или его подвижность в замерзшей воде выше, чем в жидкой. То есть, как это ни парадоксально, лед ускоряет многие реакции.

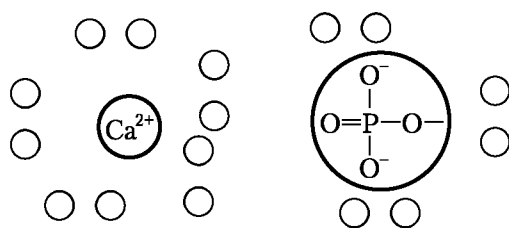
### Вода в биологических и пищевых системах

В живой природе вода всегда находится в смеси с другими молекулами. В зависимости от природы погруженных в воду молекул возникают разные взаимодействия.

С **гидрофильными веществами** (от греч. *hydor* — вода и *philia* — любовь) молекулы воды образуют **ион-дипольные** и **диполь-дипольные** взаимодействия. И в том и другом случае получаются структуры, отличные от структуры чистой воды.

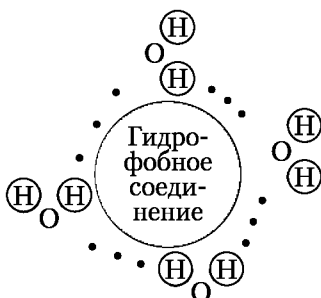
В ион-дипольных взаимодействиях результат зависит от силы электрического поля, образуемого ионом. Ионы, обладающие сильным электрическим полем, ориентируют вокруг себя по 4—6 молекул воды. То есть упорядоченность молекул воды вблизи иона становится больше, чем в чистой воде. Такую гидратацию называют **положительной гидратацией**. Она характерна для  $Na^+$ ,  $Li^+$ ,  $Ca^+$  и др. Ионы с небольшим электрическим полем обладают **отрицательной гидратацией**, так как упорядоченность молекул воды вблизи таких ионов меньше, чем в чистой воде (рис. 2.6). Она характерна для  $K^+$ ,  $Cl^-$ ,  $I^-$  и др.

Диполь-дипольные взаимодействия менее прочные, чем ион-дипольные, но ориентация водородных связей, образованных различными полярными группами ( $HO-$ ,  $=C=O$  и др.), иная, чем в чистой воде. Кроме того, подвижность молекул воды, соединенных диполь-дипольными контактами, уменьшается. Такая вода становится связанной с молекулами вещества.



**Рис. 2.6. Уплотнение и разряжение молекул воды вокруг ионов**

**Гидрофобные вещества** (от греч. *phobos* — боязнь, страх), попадая в воду, также меняют ориентацию ее молекул. По определению, гидрофобные молекулы имеют чуждую воде природу. Поэтому, оказавшись в водной среде, они пытаются «спрятаться», уменьшая поверхность соприкосновения с водой. Это возможно только с образованием шарообразных форм, которые имеют минимальную поверхность. Молекулы воды при этом образуют своеобразную сетку вокруг гидрофобного элемента, включая его в водную среду. Однако ориентация молекул воды относительно произвольная и не отличается регулярностью (рис. 2.7).



**Рис. 2.7. Ориентация молекул воды на поверхности гидрофобного вещества**

Экстремальный случай упорядочения воды в присутствии гидрофобных соединений — образование *клатратов* (от лат. *clatratus* — защищенный решеткой), которые возникают только при близких к 0°C температурах. В клатратах молекулы воды реализуют все свои водородные связи, формируя своеобразный кристалл, внутри которого заключены неполярные молекулы<sup>1</sup>.

Неполярные группировки обнаруживаются практически во всех белках, хотя в целом эти соединения проявляют гидрофильные свойства. Гидрофобные молекулы содержатся в большинстве пищевых продуктов. Поэтому клатратные структуры имеют определенное значение и в живой природе, и в пищевых технологиях.

В биологических системах, и пищевых в частности, присутствуют различные биополимеры: белки, гомо- и гетероолигосахариды, НК. Между водой и их молекулами возникают все описанные типы взаимодействий. Сила этих контактов ослабляется по мере удаления от поверхности растворенного вещества. Поэтому по отношению к погруженному в воду веществу ее подразделяют на *свободную* и *связанную*. Особенности этих разновидностей воды показаны в табл. 2.2.

<sup>1</sup> Финкельштейн А. В. Введение в физику белка. Курс лекций 1999—2000 гг. URL: [http://phys.protres.ru/lectures/protein\\_physics/l05.html](http://phys.protres.ru/lectures/protein_physics/l05.html)



Различия свободной и связанной воды

Вода	
свободная	связанная
<ul style="list-style-type: none"><li>• Образует структурированную систему за счет дипольного момента, при этом возникают взаимодействия:<ul style="list-style-type: none"><li>— ион-дипольные;</li><li>— диполь-дипольные.</li></ul></li><li>• В поле действия ионов вода образует гидрофильную оболочку, при этом структура самой воды разрушается (положительная или отрицательная гидратация).</li><li>• Не имеет непосредственных контактов с поверхностью неводного компонента.</li><li>• Замерзает при температурах, близких к 0°С.</li><li>• Может быть удалена выпариванием, высушиванием, при механическом воздействии</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Образуется за счет водородных связей:<ul style="list-style-type: none"><li>— с неводным компонентом;</li><li>— между другими молекулами воды.</li></ul></li><li>• На 1 молекулу НК приходится 1 000 000 молекул воды, на 1 молекулу белка — 40 000, на 1 молекулу липида — 1500.</li><li>• Перемещается вместе с неводным компонентом в процессе диффузии, осаждения, при определении вязкости.</li><li>• Не может служить растворителем при добавлении веществ.</li><li>• Не замерзает при –40°С и ниже.</li><li>• Не удаляется выпариванием, высушиванием, при механическом воздействии</li></ul>

Связанная вода, которая находится в непосредственном контакте с неводным компонентом, наиболее прочно удерживается им водородными связями, и образует *мономолекулярный слой (монослой)*. К молекулам воды монослоя диполь-дипольными контактами присоединяются молекулы окружающей воды и образуют *диффузный слой (мультислой)* связанной воды. В целом оба слоя — мономолекулярный и диффузный формируют *гидратную* или *гидрофильную* оболочку на поверхности растворенных частиц (рис. 2.8).

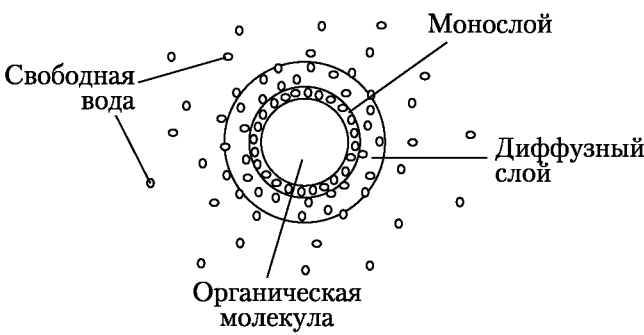


Рис. 2.8. Формирование гидрофильной оболочки

Структура монослоя подобна структуре льда, так как максимально упорядочена. Прочность взаимодействий в диффузном слое несколько меньше, чем в монослое, поэтому и упорядоченность не такая высокая, но свойства диффузного слоя существенно отличаются от свойств свободной воды.

Активность воды

В пищевых продуктах содержание воды оказывает большое влияние на их качество в хранении. Давно замечено, что с уменьшением содержания влаги в продукте срок его хранения удлиняется. Известный с древности способ заготовки фруктов, ягод, рыбы, мяса, сыров впрок — высушивание.

Однако различные продукты с одинаковым содержанием влаги хранятся по-разному. Наиболее точно зависимость качества продукта в хранении характеризуется не общим содержанием влаги, а *показателем активности воды*  $a_w$  (от англ. *wateractivity*).

Национальный стандарт<sup>1</sup> дает следующее определение.

**Активность воды — отношение парциального давления водяного пара над пищевыми продуктами к парциальному давлению водяного пара над чистой водой при той же самой температуре.**

Количественно активность воды вычисляется отношением

$$a_w = \frac{p}{p_0} \quad \text{или} \quad a_w = \frac{\text{РОВ}}{100},$$

где  $p$  — парциальное давление водяного пара над пищевым продуктом;  $p_0$  — парциальное давление водяного пара над чистой водой; РОВ — равновесная относительная влажность атмосферы, контактирующей с пищевым продуктом.

Таким образом, активность воды определяется долей воды в продукте способной к реакции. Из уравнения ясно, что  $a_w$  — безразмерная величина. Она не может быть больше единицы. Для абсолютно безводного продукта  $a_w$  равна 0,0, а для чистой воды, не содержащей солей, — 1,0.

По данным А. Тепела, А. П. Нечаева и соавторов, пищевые продукты по величине  $a_w$  можно разделить на три группы, как показано в табл. 2.3: с высокой влажностью ( $a_w = 1,0 \div 0,9$ ), с промежуточной влажностью ( $a_w = 0,9 \div 0,6$ ) и с низкой влажностью ( $a_w = 0,6 \div 0,0$ ).

Таблица 2.3

**Относительное содержание и активность воды в продуктах [22]**

Степень влажности	Продукт	Массовая доля воды, %	Активность воды ( $a_w$ )
Высокая	Молоко	87	0,99
	Творог	79	0,99
	Сгущенное молоко	75	0,98
	Сычужный сыр	36–55	0,94–0,98
	Фрукты	90–95	0,97
	Яйца	70–80	0,97
	Мясо	60–70	0,97
	Хлеб	40–50	0,95
Промежуточная	Молоко сгущенное с сахаром	27	0,83
	Джем	30	0,82
	Мука	16–19	0,80
	Мед	10–15	0,75
	Карамель	7–8	0,65
	Печенье	6–9	0,60

<sup>1</sup> ГОСТ Р ИСО 21807—2012. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Определение активности воды. М., 2013. URL: <http://www.cntd.ru/assets/files/upload/071113/21807-2012.pdf> (дата обращения: 27.05.2014).

Степень влажности	Продукт	Массовая доля воды, %	Активность воды ( $a_w$ )
Низкая	Шоколад	5–7	0,40
	Масло сливочное	16	0,29
	Сухое обезжиренное молоко	4,5	0,20
	Сухое обезжиренное молоко	3,0	0,10
	Сахар	0,0–0,15	0,1
	Сухое обезжиренное молоко	1,5	0,015

Графическая зависимость  $a_w$  от содержания влаги в продукте называется *изотермой сорбции*. Изотермы получают двумя способами: добавлением воды в ранее высушенные образцы (ресорбция) или, наоборот, высушиванием образцов (десорбция). Изотермы сорбции, полученные для всего диапазона влажности продукта, не очень показательны. Наибольшее значение имеет информация в области с низким содержанием влаги, где можно определить границы протекания биохимических процессов (рис. 2.9).

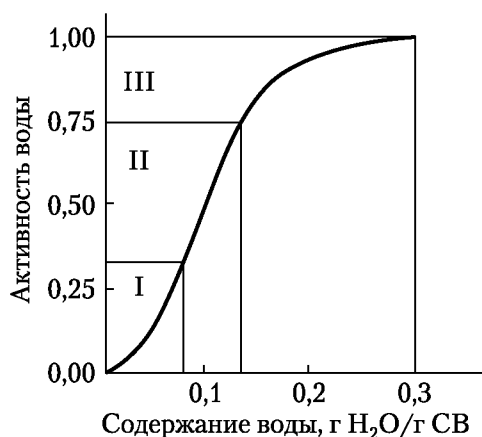


Рис. 2.9. Изотерма сорбции влаги в продукте

Из рис. 2.9 следует, что с увеличением влажности продукта наблюдается рост  $a_w$ . Для наглядности обычно выделяют несколько областей, ограничиваемых  $a_w$ . Область I, максимальное значение  $a_w$  в которой составляет 0,3, соответствует монослою связанной воды. Область II соответствует диффузному слою, значение  $a_w$  в котором находится в пределах 0,3–0,75. Эти кривые полезны при установлении сроков и условий хранения пищевых продуктов, для оценки гигроскопичности продукта, для характеристики процессов выпаривания, а также для описания различных процессов, зависящих от содержания влаги в продукте.

Из-за своей сильной полярности молекулы воды вмешиваются во все протекающие в водной среде реакции, активно взаимодействуют с другими молекулами. От величины  $a_w$  зависят такие технологические процессы, как окисление жиров, гидролиз белков, разрушение витаминов, жизнедеятельность микроорганизмов.

Рядом авторов установлено, что на границе моно- и диффузного слоя возможна только окислительная порча жира. Все другие процессы протекают при большей  $a_w$  и требуют свободных молекул воды, которых нет в мо-

носное связанной влаги. В модельных системах и отдельных пищевых продуктах показано, что ферментативные процессы могут протекать при значениях  $a_w$ , соответствующих диффузному слою. К таким процессам относятся гидролиз жира, АТФ и гл-6-фосфата.

Выяснено, что для микробиологических процессов необходимо наличие либо свободной, либо менее структурированной воды, чем влага монослоя. То есть преимущественное большинство бактериальных процессов протекает в продуктах с высокой влажностью и  $a_w$ , равной 0,9—1,0. Однако некоторые микроорганизмы могут развиваться в продуктах с промежуточной влажностью и вызывать их порчу. Главным образом, это дрожжи, нижним пределом  $a_w$  для которых является 0,62, плесени — с нижним пределом  $a_w$ , равным 0,6, и в меньшей степени бактерии, рост которых ингибируется при  $a_w$ , равном 0,75.

Таким образом, снижение  $a_w$  до значения 0,6 служит эффективным приемом повышения стойкости продуктов в хранении.

### Содержание и функции воды в живом организме

Чтобы организмы сохраняли свою жизнеспособность, им, наоборот, нужны высокие значения  $a_w$  и наличие свободной воды, а значит, и в целом высокое содержание воды. Вот почему на долю воды приходится около 70% массы клетки. Общая тенденция такая: в молодых, растущих организмах, обмен веществ у которых отличается большой активностью, содержание воды выше, чем в возрастных.

Содержание воды в биологических жидкостях (кровь, лимфа, слюна) еще выше — до 90—99%. Всю воду, содержащуюся в организме человека, принято делить на внутриклеточную (2/3) и внеклеточную (1/3). Например, у человека массой 70 кг общий объем воды составляет 42 л, из них доля внутриклеточной воды — 28 л, а внеклеточной — 14 л.

В организме человека вода выполняет ряд функций:

- *структурная (пластическая)* — вода участвует в формировании структур отдельных биомолекул и целых надмолекулярных комплексов;
- *обменная* — вода не просто растворитель и среда для протекания реакций, она непосредственно участвует в обмене веществ, например в реакциях гидратации, дегидратации, гидролиза и др.;
- *транспортная* — благодаря большой подвижности и низкой вязкости вода переносит различные вещества, выводит из организма продукты распада;
- *регуляторная* — вода участвует в регуляции температуры тела, поскольку обладает высокой теплопроводностью и значительным поглощением тепла при испарении.

Подсчитано, что в среднем человек теряет за сутки 2,6 л воды. Большая часть, до 6/7 этого объема, восполняется с пищей — *экзогенная* вода. Оставшаяся 1/7 часть является *эндогенной*, т.е. образуется при окислении веществ.

Обмен воды регулируется ЦНС и гормонами гипофиза: диуретическим и антидиуретическим (вазопрессин), а также рядом ионов. Катион  $\text{Na}^+$  накапливает воду в клетках и тканях,  $\text{K}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  — наоборот, выводят.

2.2.2. Неорганические вещества

Неорганические вещества, или минеральные соединения, к которым относятся соли, основания, кислоты, составляют лишь 1,0—1,5% общей массы животного организма.

Минеральные вещества в тканях и клетках организма человека находятся как в свободном, так и в связанном состоянии. Например, в костной, хрящевой ткани и дентине они представлены прочными нерастворимыми солями угольной, ортофосфорной и других кислот. Многие металлы соединяются с различными органическими молекулами и находятся в организме в виде комплексных ионов. Комплексообразование иона с органическими молекулами или другими ионами сопровождается глубоким изменением свойств иона, и прежде всего его каталитической активности.

Многие элементы входят в состав биоорганических соединений. Например, железо — компонент гемоглобина, миоглобина, цитохромов и других ферментов. Фосфор — один из структурных компонентов нуклеиновых кислот, фосфолипидов, макроэргических соединений и др. Сера есть в составе некоторых аминокислот и большинстве белков, а также в активных центрах ряда ферментов. Иод — компонент гормонов щитовидной железы.

В различных биологических жидкостях (табл. 2.4) — крови, лимфе, пищеварительных соках многие минеральные вещества находятся в свободном состоянии или в ионизированной форме.

Минеральный состав внутриклеточной жидкости строго поддерживается на одном уровне, даже если при этом приходится поглощать химические элементы из других тканей, например костной.

В целом организм стремится сохранять электронейтральность, чтобы суммы положительных и отрицательных зарядов ионов были равны. Для соблюдения этого равновесия в организме не хватает некоторого количества неорганических анионов. Этот недостаток отрицательных зарядов

Таблица 2.4

Концентрация основных ионов, органических кислот и белков  
в клеточном содержимом и внеклеточных жидкостях (по А. Е. Строеву)

Элемент	Содержание внутри клетки, %	Содержание вне клетки, %	
		плазма	межклеточная жидкость
Катионы			
Na <sup>+</sup>	7,5	92,7	94,0
K <sup>+</sup>	75,0	3,0	2,7
Ca <sup>2+</sup>	2,5	3,0	2,0
Mg <sup>2+</sup>	15,0	1,3	1,3
Анионы			
Cl <sup>-</sup>	7,5	69,0	76,0
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	5,0	17,0	19,0
PO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	50,0	1,4	1,4
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	10,0	0,6	0,7
Органические кислоты	2,5	2,0	2,0
Белки	25,0	10,0	0,6

компенсируют анионы органических кислот, аминокислот, белков и нуклеиновых кислот.

Минеральные вещества и микроэлементы относят к *микронутриентам*. Это пищевые вещества, которые содержатся в пище в очень малых количествах — миллиграммах или микрограммах. Они не являются источниками энергии, но участвуют в усвоении пищи, регуляции функций, осуществлении процессов роста, адаптации и развития организма<sup>1</sup>.

### 2.2.3. Органические вещества

Второй по численности вид соединений — органические вещества. По структуре их можно условно разделить на *мономеры* и *полимеры*. Мономерами являются соединения, традиционно изучаемые в курсе органической химии: спирты (оксисоединения), альдегиды и кетоны (оксосоединения), карбоновые кислоты, простые и сложные эфиры, амины, гетероциклы.

Момеры дают множество производных: оксиальдегиды, оксикетоны, аминокислоты и др. Из них и построены различные биологически важные соединения, как низкомолекулярные, например витамины, так и высокомолекулярные — биополимеры (табл. 2.5).

Таблица 2.5

Примеры биополимеров и их мономерных звеньев

Мономер	Биополимер
Моносахарид (полиоксиальдегид)	Полисахариды
Аминокислота	Белки
Нуклеотид	Нуклеиновые кислоты

Все многообразие живого мира построено из нескольких небольших молекул. К ним относят 20 аминокислот, пять азотистых оснований, сахар, глицерин, жирную кислоту и холин. Эти молекулы универсальны. Они служат строительными блоками для организмов любых видов.

На долю органических веществ в тканях животного организма приходится в среднем 28,5% общей массы.

Белки, жиры и углеводы, а также воду относят к *макронутриентам* — пищи. Эти вещества необходимы человеку в количествах, измеряемых граммами, обеспечивают пластические, энергетические и иные потребности организма. Они определяют *пищевую ценность* продуктов.

Именно органические вещества и их превращения в живой материи являются предметом изучения биохимии.

## 2.3. Практический пример

*Вычисление массовой доли соединения в сложном веществе по его формуле.* Например, требуется определить массовую долю фосфорной кислоты в  $\alpha$ -глицерофосфате.

<sup>1</sup> Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации : Методические рекомендации МР 2.3.1.2432—08 : утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом РФ Г. Г. Онищенко. 2008.

Молекулярная формула  $\alpha$ -глицерофосфата (см. рис. 11.16) —  $C_3H_9O_6P$ . Сначала вычисляют относительную молекулярную массу  $\alpha$ -глицерофосфата ( $M_{\alpha\text{-глицерофосфат}}$ ) сложением относительных атомных масс ( $A$ ) каждого элемента — углерода ( $A_C$ ), водорода ( $A_H$ ), кислорода ( $A_O$ ) и фосфора ( $A_P$ ), с учетом числа атомов элемента в молекуле. Следовательно, относительная молекулярная масса для  $\alpha$ -глицерофосфата рассчитывается по формуле

$$M_{\alpha\text{-глицерофосфат}} = 3A_C + 9A_H + 6A_O + A_P;$$

$$M_{\text{глицерин}} = 3 \cdot 12 + 9 \cdot 1 + 6 \cdot 16 + 31 = 172.$$

Аналогично следует определить относительную молекулярную массу остатка фосфорной кислоты. Именно остатка, поскольку при образовании связи между глицерином и фосфорной кислотой удалялась молекула воды. Условно примем, что для ее образования атом водорода использовался из  $H_3PO_4$ , а OH-группа — из молекулы глицерина, тогда относительная молекулярная масса остатка фосфорной кислоты ( $M_{\text{остатка фосфорной кислоты}}$ ) рассчитывается по формуле

$$M_{\text{остатка фосфорной кислоты}} = A_P + 4A_O + 2A_H;$$

$$M_{\text{остатка фосфорной кислоты}} = 31 + 4 \cdot 16 + 2 \cdot 1 = 97.$$

Масса всего  $\alpha$ -глицерофосфата составляет 100%, тогда массовая доля остатка фосфорной кислоты ( $W_{\text{остатка фосфорной кислоты}}$ ) вычисляется из соотношения

$$W_{\text{остатка фосфорной кислоты}} = \frac{M_{\text{остатка фосфорной кислоты}}}{M_{\alpha\text{-глицерофосфат}}} \cdot 100;$$

$$W_{\text{остатка фосфорной кислоты}} = \frac{97}{182} \cdot 100 = 53,3\%.$$

Таким образом, массовая доля остатка фосфорной кислоты в  $\alpha$ -глицерофосфате составляет 53,3%.

### Задания для самостоятельной работы

I. Среди возможных вариантов выберите единственное верное завершение фразы.

1. Количество органических веществ в животных организмах в среднем составляет примерно:

- а) 1,5%;
- б) 10%;
- в) 15%;
- г) 20%;
- д) 30%.

2. Среднее содержание неорганических веществ в животных организмах составляет:

- а) 0,01%;
- б) 0,15%;
- в) 1,5%;
- г) 10,0%;
- д) 15,0%.

**3. К макроэлементам не относится:**

- а) кальций;
- б) калий;
- в) хлор;
- г) натрий;
- д) железо.

**4. В число микроэлементов не входит:**

- а) хром;
- б) марганец;
- в) молибден;
- г) магний;
- д) иод.

**5. Общее содержание воды в живых организмах:**

- а) не превышает 50% массы;
- б) достигает 70% и более;
- в) зависит от температуры окружающей среды;
- г) определяется минеральным составом организма;
- д) зависит от количества связанной воды.

**6. Водородные связи образуются между атомами водорода и:**

- а) биогенными элементами;
- б) гидрофильными соединениями;
- в) гидрофобными соединениями;
- г) более электроотрицательными элементами;
- д) органическими молекулами.

**7. Одна молекула воды может образовать:**

- а) только одну водородную связь;
- б) не более двух водородных связей;
- в) четыре водородные связи;
- г) пять водородных связей;
- д) шесть водородных связей.

**8. Вода мономолекулярного слоя:**

- а) служит растворителем и замерзает при температуре, близкой к 0°C;
- б) не является растворителем и замерзает при температуре значительно ниже 0°C;
- в) служит растворителем органических и минеральных веществ;
- г) выполняет транспортную функцию;
- д) удаляется при высушивании и вымораживании.

**9. Наибольшей упорядоченностью обладает вода:**

- а) в цитоплазме клеток;
- б) в гидрофобных областях биополимеров;
- в) свободная вода;
- г) диффузного слоя;
- д) мономолекулярного слоя.

**10. Связанная вода:**

- а) не может служить растворителем при добавлении веществ;
- б) не имеет непосредственных контактов с поверхностью неводного компонента;



- в) замерзает при температурах, близких к  $0^{\circ}\text{C}$ ;
- г) может быть удалена выпариванием, высушиванием, при механическом воздействии;
- д) образуется только при положительной гидратации.

**11.** Активность воды в продуктах с высокой влажностью составляет:

- а) 100—90;
- б) 10—9,0;
- в) 1,0—0,9;
- г) 0,1—0,09;
- д) 0,01—0,009.

**12.** К продуктам с высокой влажностью относятся:

- а) хлеб и яйца;
- б) молоко сгущенное с сахаром;
- в) джем;
- г) мед;
- д) масло сливочное.

**13.** В группу продуктов с низкой влажностью входит:

- а) мука;
- б) молоко сгущенное с сахаром;
- в) сычужный сыр;
- г) мед;
- д) масло сливочное.

**14.** Накапливанию воды в клетках и тканях способствует:

- а)  $\text{Ca}^{2+}$ ;
- б)  $\text{Na}^{+}$ ;
- в)  $\text{K}^{+}$ ;
- г)  $\text{Mg}^{2+}$ ;
- д)  $\text{Mn}^{2+}$ .

**15.** Пищевую ценность продуктов определяют:

- а) только белки;
- б) белки, жиры и углеводы;
- в) витаминно-минеральный состав;
- г) белки и витамины;
- д) только витамины.

**II.** Дайте аргументированный ответ, сопровождая его при необходимости расчетами и соответствующими превращениями.

**1.** Какие химические элементы называют биогенными? Какие общие свойства характерны для них? Как подразделяют биогенные элементы по количественному содержанию в организме? Приведите примеры.

**2.** Почему вода играет исключительно важную роль в жизнедеятельности организма? Какие функции она выполняет в организме? Что такое экзогенная и эндогенная вода?

**3.** Дайте определение водородной связи. Какое значение водородные связи имеют для формирования и функционирования органических молекул, биополимеров, клеточных органелл?

**4. Покажите образование водородных связей между молекулами.**

Вариант	Молекулы	Вариант	Молекулы
1	Воды и этанола	6	Этанола и глицерина
2	Этанола	7	Воды и глюкозы
3	Воды и уксусной кислоты	8	Воды и муравьиной кислоты
4	Уксусной кислоты	9	Воды и муравьиного альдегида
5	Воды и глицерина	10	Воды и ацетона

**5. Охарактеризуйте вещества гидрофобные и гидрофильные. Приведите примеры гидрофобных и гидрофильных молекул.**

**6. Дайте характеристику понятий «свободная» и «связанная вода». Опишите функции этих разновидностей воды в организме. Используются ли в технологической практике производства пищевых продуктов эти разновидности? Докажите конкретными примерами.**

**7. Охарактеризуйте понятие «активность воды» ( $a_w$ ). Как она определяется? Существует ли взаимосвязь между активностью воды и водой свободной и связанной? Какое значение имеет активность воды в пищевых технологиях? Докажите конкретными примерами.**

**8. Какие соединения относятся к неорганическим и органическим веществам живой природы? Какая доля массы приходится на количество неорганических и органических веществ в живых организмах?**

**9. Дисахарид сахара может служить хорошим субстратом для развития многих микроорганизмов, которые вызывают порчу продуктов. Однако сахара часто используется как консервант для многих важных групп продуктов, таких как молочные, хлебобулочные, кондитерские изделия, фруктовая продукция, безалкогольные напитки. Как можно объяснить консервирующий эффект сахарозы с учетом биохимических процессов, протекающих в продуктах?**

**10. Вычислите массовую долю соединения А в веществе В.**

Вариант	Соединение А	Вещество В
1	Аденин (см. табл. 5.1)	АМФ (см. рис. 5.4)
2	Аминоэтанол (см. рис. 11.39)	Аминоэтанолфосфат (см. рис. 11.39)
3	Гли (см. табл. 3.1)	Глутатион (см. рис. 3.22)
4	Гис (см. табл. 3.1)	Карнозин (см. рис. 3.23)
5	Асп (см. табл. 3.1)	Аспартам (см. рис. 3.24)
6	Дезоксирибоза (см. рис. 5.2)	Дезоксиаденозин (см. табл. 5.2)
7	Рибоза (см. рис. 5.2)	Уридин (см. табл. 5.2)
8	Рибитол (см. рис. 7.11)	Витамин В <sub>2</sub> (см. рис. 7.11)
9	Урацил (см. табл. 5.1)	Уридин (см. табл. 5.2)
10	Гуанин (см. табл. 5.1)	Гуанозин (см. табл. 5.2)

## Глава 3

# АМИНОКИСЛОТЫ

---

В результате изучения материала данной главы студент должен:

**знать**

- названия и графические формулы 20 протеиногенных аминокислот;
- способы классификации протеиногенных аминокислот по структуре, физико-химической активности и значимости для организма;
- особенности химических свойств аминокислот по карбоксильной и аминогруппе, а также по радикалу;
- общие и специфические качественные реакции на аминокислоты и методы их обнаружения;
- способы названий пептидов;

**уметь**

- объяснить механизм образования биполярных ионов, амфотерные, буферные и оптические свойства аминокислот;
- составлять уравнения реакций декарбоксилирования, дезаминирования, переаминирования, образования пептидов;
- провести эксперимент по разделению смеси аминокислот методом хроматографии на бумаге, а также выполнить ряд качественных реакций на аминокислоты;
- формулировать выводы, полученные на основе результатов опытов;

**владеть**

- теоретическими знаниями к практическим работам, знать ход проведения опытов.
- 

Всего известно более 200 аминокислот. Бóльшая часть из них встречается редко, в отдельных видах белков. Такие аминокислоты называют *минорными*. Лишь 20 аминокислот есть в составе любого белка. Такие аминокислоты называют *протеиногенными*<sup>1</sup>. У этих аминокислот есть несколько общих признаков: одинаковый скелет, положение аминогруппы, сходство физико-химических свойств.

**Аминокислоты — это бифункциональные соединения. Они сочетают в себе свойства аминов, содержащих аминогруппу, и свойства карбоновых кислот, содержащих карбоксильную группу.**

Все протеиногенные аминокислоты можно представить одной общей формулой (рис. 3.1). Подмечено, что  $\text{NH}_2$ -группа принадлежит  $\alpha$ -углеродному атому, поэтому аминокислоты, входящие в состав белков, часто называют  *$\alpha$ -аминокислоты*<sup>2</sup>. Различаются аминокислоты только строением органической группы R, как очевидно из табл. 3.1.

---

<sup>1</sup> Другое название белков — протеины, от греч. *protos* — первый, главный.

<sup>2</sup>  $\alpha$ -Углеродным называют атом, расположенный рядом с главной функциональной группой.

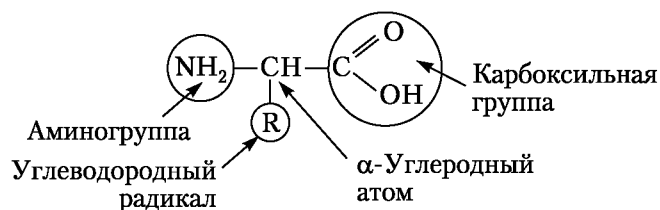
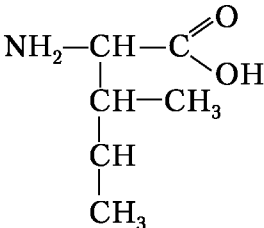
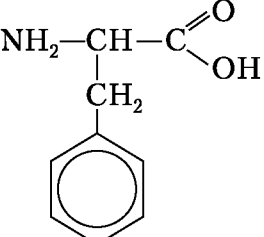
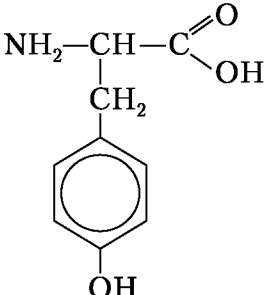
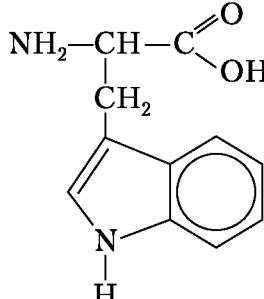
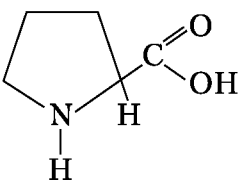
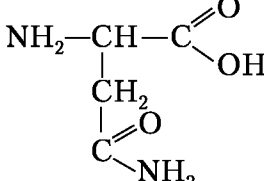
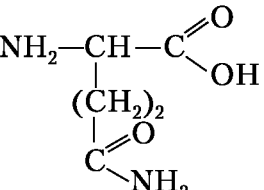


Рис. 3.1. Общая формула α-аминокислоты

Таблица 3.1

### Протеиногенные аминокислоты

Амино-кислота	Сокращенные названия			Формула
	трехбуквенное		одно-буквенное	
	русское	международное		
Глицин	Гли	Gly	G	$\text{NH}_2\text{—CH}_2\text{—C}\begin{smallmatrix} \text{=O} \\ \text{OH} \end{smallmatrix}$
Аланин	Ала	Ala	A	$\text{NH}_2\text{—CH}\begin{smallmatrix} \text{=O} \\ \text{OH} \end{smallmatrix}\text{—CH}_3$
Серин	Сер	Ser	S	$\text{NH}_2\text{—CH}\begin{smallmatrix} \text{=O} \\ \text{OH} \end{smallmatrix}\text{—CH}_2\text{—OH}$
Цистеин	Цис	Cys	C	$\text{NH}_2\text{—CH}\begin{smallmatrix} \text{=O} \\ \text{OH} \end{smallmatrix}\text{—CH}_2\text{—SH}$
Треонин	Тре	Thr	T	$\text{NH}_2\text{—CH}\begin{smallmatrix} \text{=O} \\ \text{OH} \end{smallmatrix}\text{—CH}\begin{smallmatrix} \text{HO} \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$
Метионин	Мет	Met	M	$\text{NH}_2\text{—CH}\begin{smallmatrix} \text{=O} \\ \text{OH} \end{smallmatrix}\text{—(CH}_2\text{)}_2\text{—S—CH}_3$
Валин	Вал	Val	V	$\text{NH}_2\text{—CH}\begin{smallmatrix} \text{=O} \\ \text{OH} \end{smallmatrix}\text{—CH}\begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$
Лейцин	Лей	Leu	L	$\text{NH}_2\text{—CH}\begin{smallmatrix} \text{=O} \\ \text{OH} \end{smallmatrix}\text{—CH}_2\text{—CH}\begin{smallmatrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{smallmatrix}$

Амино-кислота	Сокращенные названия			Формула
	трехбуквенное		одно-буквенное	
	русское	между-народное		
Изолейцин	Иле	Ile	I	
Фенилаланин	Фен	Phe	F	
Тирозин	Тир	Tyr	Y	
Триптофан	Три	Trp	W	
Пролин	Про	Pro	P	
Аспарагин	Асн	Asn	N	
Глутамин	Глн	Gln	Q	

Амино-кислота	Сокращенные названия			Формула
	трехбуквенное		одно-буквенное	
	русское	между-народное		
Аспарагино-вая кислота	Асп	Asp	D	
Глутаминовая кислота	Глу	Glu	E	
Лизин	Лиз	Lys	K	
Аргинин	Арг	Arg	R	
Гистидин	Гис	His	H	

Исключение составляет аминокислота пролин, которая фактически является не аминок-, а иминокислотой.

Любую аминокислоту можно назвать в соответствии с систематической номенклатурой IUPAC, но, как правило, пользуются исторически сложившимися названиями, которые зачастую связаны с источником, из которого впервые была выделена аминокислота.

Аспарагиновую кислоту в 1806 г. получили из сока спаржа (спаржа), глутаминовую кислоту — из клейковины пшеницы (от лат. *gluten* — клей). Цистеин выделили в 1810 г. из камней мочевого пузыря (от греч. *kýstis* — пузырь). Тирозин (от греч. *tyros* — сыр) был обнаружен в казеине, основном белке сыра. Триптофан открыт при гидролизе белков трипсином. Аргинин впервые получен в виде соли серебра (лат. *argentum* — серебро). Глицин так назван за сладкий вкус (греч. *glycys* — сладкий). Лейцин — одна из самых распространенных аминокислот в яичном белке, назван от греч. *leukós* —

белый. Лизин получил название благодаря хорошей растворимости в воде (от греч. *lysis* — растворение, разрушение, распад). Гистидин выделен из белков шелкового волокна (от греч. *histos* — ткань). Серин тоже содержится в шелке (лат. *sericus* — шелковый).

В названии некоторых аминокислот отражены особенности их строения. Например, пролин — сокращенное название от международного обозначения пирролидин-2-карбоновой кислоты. Валин имеет структурное сходство с валериановой кислотой, а треонин — с моносахаридом треозой.

У преимущественного большинства аминокислот проявляются *оптические свойства*, поскольку  $\alpha$ -углеродный атом является асимметричным<sup>1</sup>. В таком случае у аминокислоты есть два изомера — *L*- и *D*- (рис. 3.2). Они различаются положением  $\text{NH}_2$ -группы по отношению к углеводородной цепочке: в *D*-формах  $\text{NH}_2$ -группа расположена справа, у *L*-изомеров — слева.

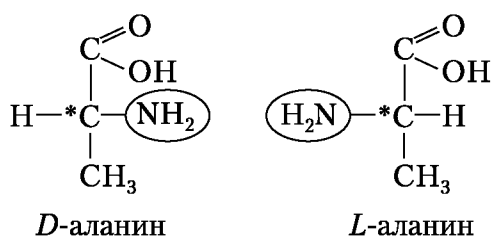


Рис. 3.2. Пример оптических изомеров

В природных белках обнаруживают только *L*-формы аминокислот, что часто подчеркивают в названии. *D*-изомеры аминокислот встречаются крайне редко (в белках клеточных стенок микроорганизмов, в антибиотиках).

*Нестандартные (минорные)* аминокислоты, как правило, являются производными стандартных (протеиногенных) аминокислот (оксипролин, оксилизин) или имеют специфическое строение. Нестандартные аминокислоты могут входить в состав белков или пептидов, выполнять регуляторную или метаболическую функцию.

Например, нестандартной «двадцать первой» аминокислотой является селеноцистеин (рис. 3.3). Отличается от обычного цистеина тем, что вмес-

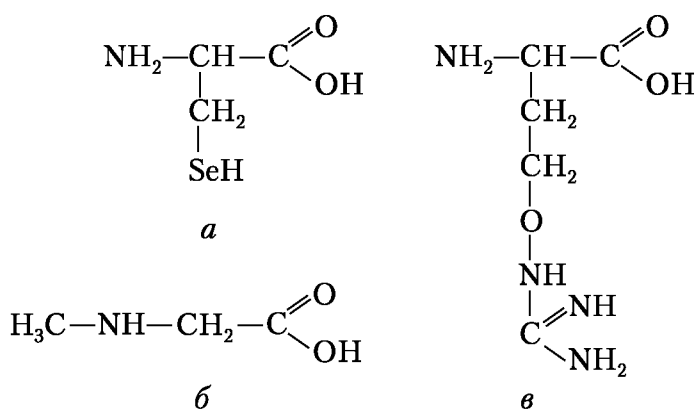


Рис. 3.3. Нестандартные аминокислоты:

*a* — селеноцистеин; *б* — саркозин; *в* — канаванин

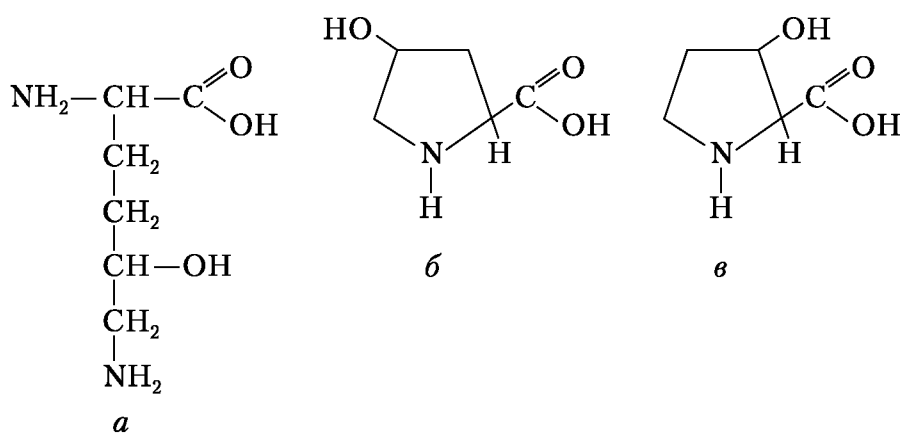
<sup>1</sup> Оптической активностью обладают вещества, в молекуле которых имеется хотя бы один асимметричный углеродный атом (его помечают звездочкой). У такого атома углерода все четыре заместителя различны. Оптически активные вещества вращают плоскость поляризованного света. Свойство используется для качественного и количественного определения концентрации оптически активных веществ поляризиметрическим методом.

то атома серы содержит атом селена. Селеноцистеин (см. табл. 14.8) является обязательным компонентом нескольких важных ферментов в организме животных, включая человека.

У микроорганизмов и растений встречаются аминокислоты, не участвующие в образовании белков, но используемые как источники азота в период роста и развития. Для многих низших организмов характерно образование нетрадиционных аминокислот со свойствами антибиотиков, действующих по принципу конкурентных ингибиторов. Метилированное производное глицина — саркозин входит в состав актиномицина — антибиотика бактериального происхождения. У человека саркозин образуется при распаде креатина, который участвует в энергетическом обмене в нервной и мышечной ткани.

В некоторых случаях непротеиногенные аминокислоты выполняют роль ингибиторов и у высших организмов. Например, канаванин благодаря структурному сходству с Арг действует как его антагонист, проникает сквозь мембраны клеток и встраивается в белковые молекулы вместо Арг.

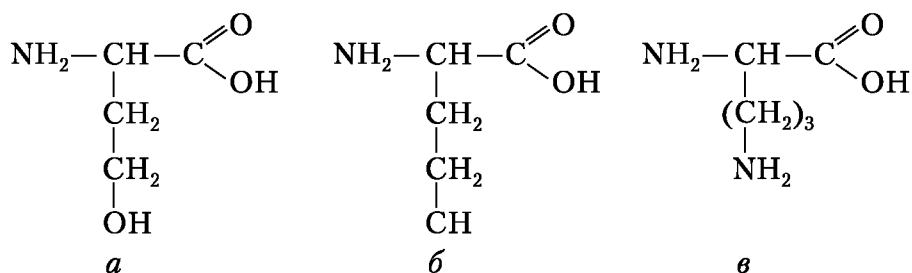
Оксиаминокислоты (рис. 3.4) входят в состав коллагена и эластина — белков соединительной ткани, сухожилий, хрящей, связок, кожи. Отличаются от стандартных Лиз и Про дополнительными ОН-группами, которые придают повышенную гидрофильность данным белкам. В результате коллаген и эластин становятся действительно эластичными, упругими и обладают другими характерными для них свойствами.



**Рис. 3.4. Оксипроизводные аминокислот:**

*а* — 5-оксилизин; *б* — 4-оксипролин; *в* — 3-оксипролин

Ряд нестандартных аминокислот образуется как промежуточные соединения в процессах обновления белков. В числе таких примеров можно назвать гомосерин, гомоцистеин, орнитин и др. (рис. 3.5).



**Рис. 3.5. Нестандартные аминокислоты — промежуточные метаболиты:**

*а* — гомосерин; *б* — гомоцистеин; *в* — орнитин



Модифицированные аминокислотные остатки есть в составе гистонов: О-фосфосерин, моно-, ди- и три-ε-N-метиллизин, ε-N-ацетиллизин, а также метилированные производные Арг. Фосфорилированные Сер и Тре входят в состав белков молока.

3.1. Классификация аминокислот

По мере открытия аминокислот, изучения их структуры и свойств пришлось систематизировать эти знания. В настоящее время существует несколько способов классификации аминокислот в зависимости от выбранного параметра оценки.

Если основным критерием является строение аминокислоты, то такой способ систематизации называют *структурной классификацией* (табл. 3.2). С позиций структуры все аминокислоты делят на несколько групп.

Таблица 3.2

Классификация аминокислот по структуре

Представители	Примеры
<i>Ациклические незамещенные</i>	Глицин, аланин, валин, лейцин, изолейцин
<i>Ациклические замещенные:</i>	
спиртоаминокислоты	Серин, треонин
тиоаминокислоты	Цистеин, метионин
карбоксиаминокислоты	Аспарагиновая, глутаминовая
диаминокислоты	Лизин, аргинин
<i>Циклические:</i>	
ароматические	Фенилаланин, тирозин
гетероциклические	Триптофан, гистидин
иминокислоты	Пролин

Величина и форма радикалов аминокислот в дальнейшем определяют рельеф поверхности белковых молекул. Кроме этого от строения радикалов зависят функциональные свойства белков — растворимость, эластичность, активность и др.

Оценивая физико-химические свойства аминокислот по *электрохимической классификации* (табл. 3.3), их подразделяют на три группы.

У нейтральных аминокислот по одной NH<sub>2</sub>- и COOH-группе. У кислых аминокислот — две COOH-группы. В основных аминокислотах NH<sub>2</sub>-групп больше, чем других функциональных групп.

Таблица 3.3

Электрохимическая классификация аминокислот по физико-химическим свойствам

Представители	Примеры
Нейтральные	Глицин, аланин, серин, цистеин, цистин, треонин, метионин, валин, лейцин, изолейцин, фенилаланин, тирозин, триптофан, пролин, оксипролин
Кислые	Аспарагиновая, глутаминовая
Основные	Лизин, аргинин, гистидин

Сравнительный анализ различных природных белков показывает, что в большинстве из них кислые аминокислоты преобладают над основными.

Существует еще *физиологическая* или *биологическая классификация*, в соответствии с которой все аминокислоты делят на заменимые и незаменимые с точки зрения их значимости для организма (табл. 3.4).

Таблица 3.4

**Классификация аминокислот по биологической значимости**

Представители	Примеры
Заменимые	Глицин, аланин, серин, цистеин, тирозин, пролин, оксипролин, аспарагиновая, глутаминовая, аргинин, гистидин
Незаменимые	Треонин, метионин, валин, лейцин, изолейцин, фенилаланин, триптофан, лизин

Две аминокислоты, Арг и Гис, считаются частично заменимыми, поскольку их синтез в организме человека протекает довольно медленно. Однако для взрослых недостаток этих аминокислот в рационе обычно не вызывает серьезных последствий, в то время как для детей может привести к нарушению обмена белков.

*Заменимые* аминокислоты синтезируются в организме, поэтому дефицита в них не бывает. Источником заменимых аминокислот служат продукты углеводного обмена — ПВК,  $\alpha$ -кетоглутаровая и фумаровая кислоты, а также  $\text{NH}_3$ . Восстановительным аминированием ПВК и  $\alpha$ -кетоглутаровой кислот образуются Ала и Глу. Прямым аминированием фумаровой кислоты получается Асп. Остальные аминокислоты возникают путем переаминирования.

*Незаменимые* аминокислоты, как следует из названия, нельзя ничем заменить, поскольку они не синтезируются в организме млекопитающих и обязательно должны поступать с продуктами.

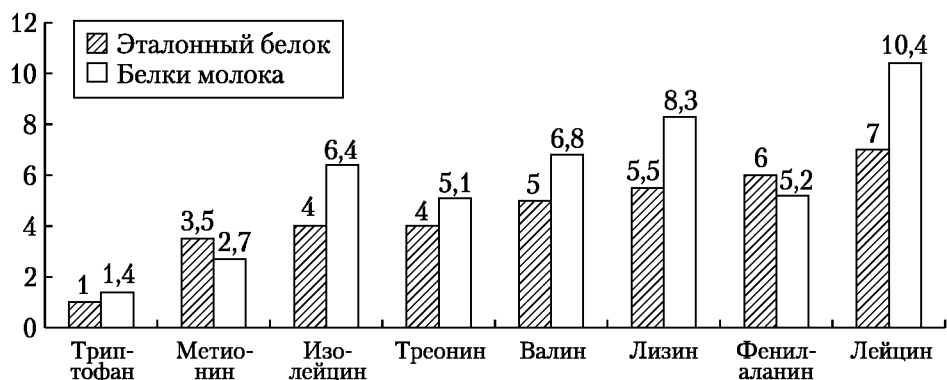
Белки, содержащие весь набор незаменимых аминокислот, считаются *биологически полноценными*. К ним относят белки животного происхождения, которые содержатся в яйце, молоке, рыбе, мясе. Белки растительного происхождения, содержащиеся в таких продуктах, как орехи, злаки, бобы и пр., не включают все незаменимые аминокислоты, поэтому не относятся к биологически полноценным белкам.

По решению ФАО и ВОЗ за эталон белка с точки зрения аминокислотного состава приняты белки яйца. В них содержится весь набор незаменимых аминокислот в оптимальном для организма человека соотношении. Наибольшее сходство в этом отношении с белками яйца имеют белки молока (рис. 3.6).

Из рис. 3.6 следует, что только две аминокислоты — Фен и Мет содержатся в молоке в меньшем количестве, чем в эталонном белке. Но и этот недостаток может быть компенсирован родственными аминокислотами. Потребность в Мет может быть удовлетворена другой серосодержащей аминокислотой Цис, а потребность в Фен — ее производной Тир. Содержание Цис и Тир составляет соответственно 0,9 и 5,3 г в 100 г белков молока.

Аминокислоты, содержание которых в продукте меньше содержания в эталонном белке, называются *лимитирующими*.

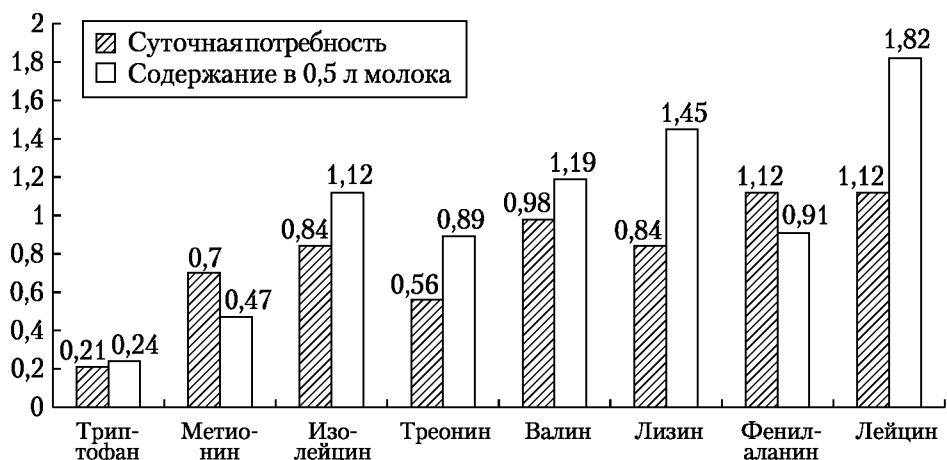
В настоящее время установлена суточная физиологическая потребность в незаменимых аминокислотах для человека и подсчитано, что она может



**Рис. 3.6. Содержание незаменимых аминокислот в эталонном белке и общем белке молока по рекомендациям ВОЗ, г/100 г белка [25]**

во многом покрываться за счет молока и молочных продуктов. Например, для взрослого человека с массой тела 70 кг суточная потребность в незаменимых аминокислотах показана на рис. 3.7.

Известно, что в детском возрасте и особенно в возрасте до 1 года требуется большее количество питательных веществ и незаменимых аминокислот, в частности, на единицу массы тела по сравнению с организмом взрослого человека. Это вызвано тем, что в растущих организмах происходит синтез новых тканей. Именно поэтому для детей и особенно детей первого года жизни актуальна разработка специализированных продуктов питания.



**Рис. 3.7. Количество незаменимых аминокислот, г [26]**

### 3.2. Физико-химические свойства аминокислот

Особенности строения аминокислотных молекул обуславливают ряд их уникальных свойств. Форма, в которой аминокислоты представлены в табл. 3.1, существует только в теории. В реальной действительности аминокислоты в клетке, биологической жидкости, живом природном материале всегда находятся в воде или хотя бы соприкасаются с водной средой — раствором.

В растворе  $\text{COOH}$ -группы диссоциируют, а  $\text{NH}_2$ -группы принимают на себя протоны ( $\text{H}^+$ ), благодаря свободной паре электронов на атоме азота (рис. 3.8). В результате молекулы аминокислот переходят в ионизированную форму, которая иначе называется *биполярный ион*, или *zwitter-* (от нем. *zwitter* — гибрид, гермафродит) *ион*.

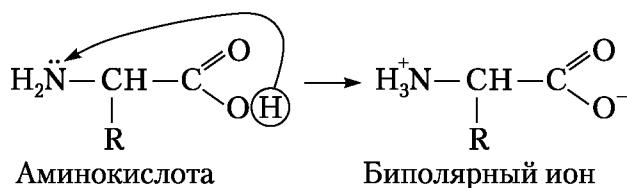


Рис. 3.8. Образование биполярного иона

В зависимости от условий окружающей среды аминокислота может лишиться одного из своих зарядов.

Например, при подкислении среды (добавлении  $\text{H}^+$ ) диссоциация  $\text{CO}-\text{OH}$ -групп будет подавляться и часть аминокислотных остатков перейдет в форму катиона (рис. 3.9).

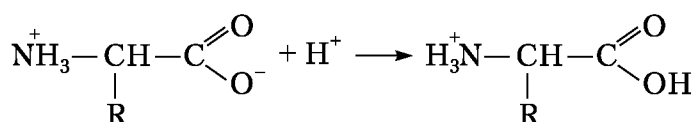


Рис. 3.9. Титрование аминокислоты кислотой

Состояние, когда концентрации катионов и биполярных ионов становятся равными, характеризуют *константой диссоциации  $\text{COOH}$ -группы*, а численно выражают показателем  $\text{pK}_1$ .

В щелочной среде (при добавлении  $\text{OH}^-$ ) погашаются положительные заряды на ионизированной  $\text{NH}_2$ -группе, и аминокислота становится анионом (рис. 3.10).

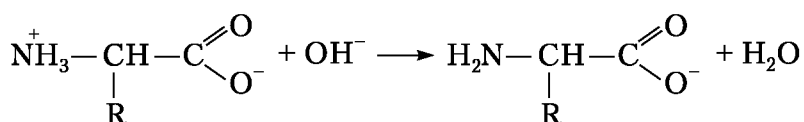


Рис. 3.10. Титрование аминокислоты основанием

В этом случае также наступает состояние равновесия между биполярными ионами и анионами аминокислоты, характеризующееся *константой диссоциации  $\text{NH}_2$ -группы* и выражаемое численно  $\text{pK}_2$ .

Графически переход ионизированных форм аминокислот от положительно заряженных (катионов) к отрицательно заряженным (анионам) показывают с помощью кривых титрования. Пример кривой титрования условной аминокислоты показан на рис. 3.11.

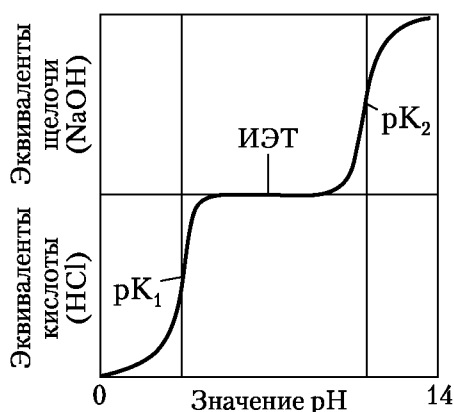


Рис. 3.11. Кривая титрования аминокислоты

В интервале между точками перехода от  $pK_1$  до  $pK_2$  все аминокислоты находятся в состоянии биполярного иона и, в зависимости от строения радикала, могут иметь определенный заряд.

В зоне, расположенной левее от значения  $pK_1$ , диссоциация  $COOH$ -групп полностью подавлена и аминокислоты находятся в виде катионов. В зоне, расположенной справа от значения  $pK_2$ , полностью подавлена ионизация  $NH_2$ -групп, поэтому аминокислоты существуют как анионы.

При определенном значении  $pH$  среды, разном для каждой аминокислоты, наступает состояние, когда число отрицательных и положительных зарядов становится равным, т.е. суммарный заряд молекулы будет нулевым. Такое состояние называют *изоэлектрической точкой (ИЭТ)*.

Численно изоэлектрическая точка характеризуется показателем  $pI$ , который рассчитывается как среднее арифметическое  $pK_1$  и  $pK_2$  для *нейтральных аминокислот*:

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2}.$$

Для кислых и основных аминокислот при расчете изоэлектрической точки следует принимать во внимание значения *констант диссоциации  $COOH$ - и  $NH_2$ -групп боковых радикалов* и соответствующие им значения  $pK_3$ . Поэтому показатель  $pI$  для *кислых аминокислот* рассчитывается по формуле

$$pI = \frac{pK_1 + pK_3}{2}.$$

Значение  $pI$  для *основных аминокислот* вычисляется следующим образом:

$$pI = \frac{pK_2 + pK_3}{2}.$$

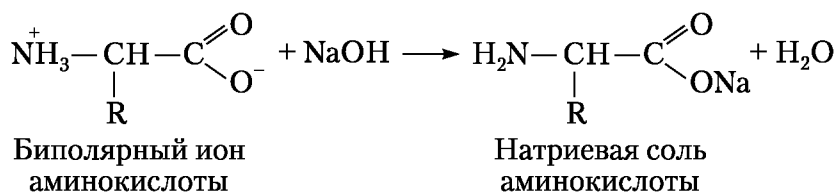
Радикалы глицина, аланина, валина, лейцина, изолейцина, фенилаланина и триптофана неполярны. Поэтому в нейтральной среде суммарный заряд этих аминокислот равен нулю.

Радикалы остальных аминокислот полярны в некоторой степени из-за присутствия различных функциональных групп —  $OH$ —,  $SH$ —,  $NH_2$ —,  $COOH$ —. В дальнейшем эти группы определяют многие свойства белков. Большое количество полярных групп придает белку устойчивую ионизированную форму и способствует хорошей растворимости.  $SH$ -группы способствуют стабилизации третичной структуры белков. Спиртовые гидроксилы способны связывать небелковые компоненты. Именно через  $OH$ -группы серина присоединяются фосфорные остатки в казеине.

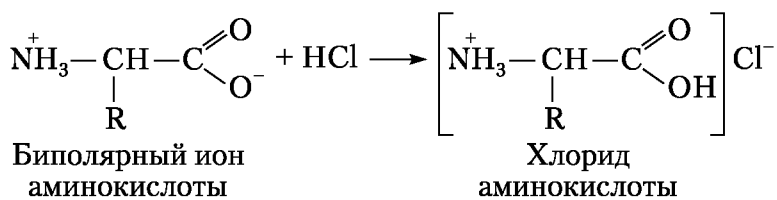
Благодаря наличию в одной молекуле противоположных по своим химическим свойствам групп —  $NH_2$ — и  $COOH$ —, аминокислоты обладают двойственным характером. Во-первых, проявляют свойства кислот: диссоциируют, образуют соли с основаниями (рис. 3.12).

Во-вторых, нейтрализуют кислоты с образованием солей (рис. 3.13).

Эти примеры свидетельствуют о типичном *амфотерном* характере аминокислот.



**Рис. 3.12. Аминокислота проявляет свойства кислоты**

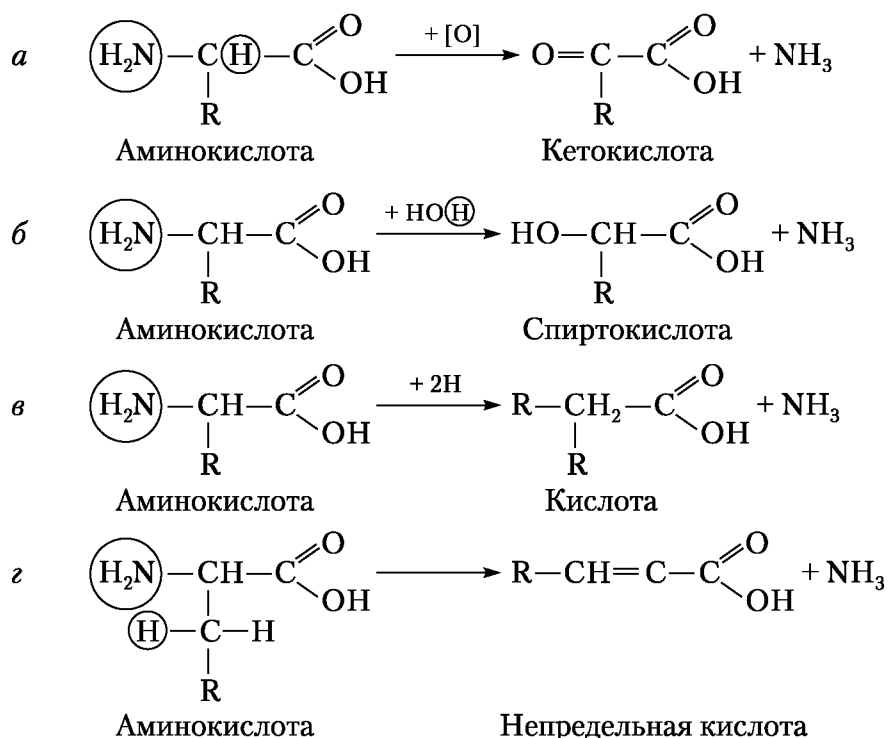


**Рис. 3.13. Аминокислота проявляет свойства основания**

Обе функциональные группы аминокислот — и карбоксильная, и аминогруппа — могут давать свойственные им реакции: образование сложных эфиров, амидов, ангидридов и др., которые традиционно рассматриваются в курсе «Органическая химия». Такие реакции встречаются и в живой природе, но в большей степени характерны для различных лабораторных и промышленных синтезов. Однако для любого живого организма характерны реакции разрушения или переноса  $\text{NH}_2$ -группы и разрушения  $\text{COOH}$ -группы.

**Деструкция  $\text{NH}_2$ -группы называется дезаминирование, сопровождается выделением  $\text{NH}_3$  и может протекать разными путями.**

*Окислительное дезаминирование* — наиболее распространенный вариант. Преобладает у животных, растений и аэробов. При этом аминокислота преобразуется в кетокислоту (оксокислоту).



**Рис. 3.14. Виды дезаминирования аминокислот:**

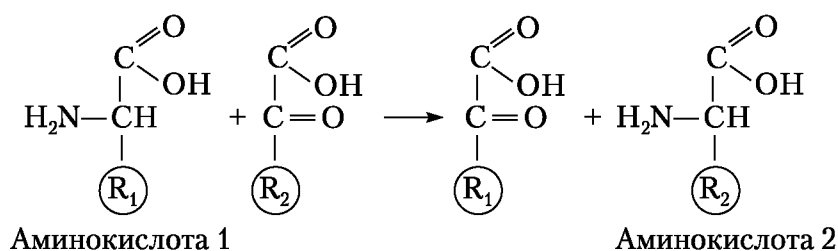
*а* — окислительное; *б* — гидролитическое; *в* — восстановительное; *г* — внутримолекулярное

*Гидролитическое дезаминирование* происходит при участии воды с образованием спиртокислоты (оксикислоты).

*Восстановительное дезаминирование* возможно в присутствии атомов водорода или в бескислородной среде.

*Внутримолекулярное дезаминирование*, как очевидно из рис. 3.14, реализуется за счет возможностей самой аминокислоты, с образованием двойной связи в радикале.

Важное значение имеют также реакции *переаминирования* — обмен  $\text{NH}_2$ -группы с аминокислоты на карбонильный атом кетокислоты. Иными словами, аминокислота и кетокислота обмениваются своими радикалами (рис. 3.15). Благодаря реакциям переаминирования синтезируются заменимые аминокислоты.

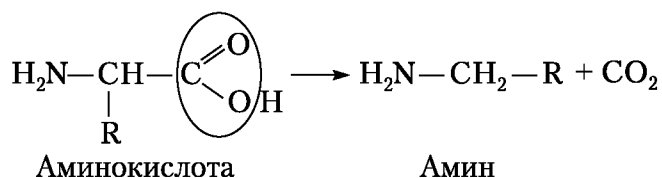


**Рис. 3.15. Схема реакции переаминирования**

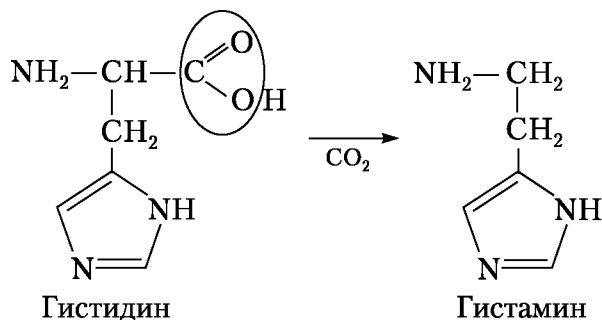
Это лишь схемы процессов, которые могут протекать как в лаборатории, так и в природных условиях, но источники кислорода, водорода и воды при этом существенно различаются.

**Разрушение COOH-группы называется декарбоксилирование. Одним из продуктов реакции всегда является CO<sub>2</sub>.**

Такие реакции очень распространены в природе. В результате декарбоксилирования образуются различные биогенные амины (рис. 3.16). Например, при декарбоксилировании Гис образуется гистамин (рис. 3.17), участвующий в аллергических реакциях.



**Рис. 3.16. Схема декарбоксилирования аминокислоты**



**Рис. 3.17. Образование гистамина**

Кадаверин (рис. 3.18) получил такое название, потому что впервые был обнаружен при разложении трупов (от лат. *cadaver* — труп). Содержится также в продуктах распада белков.

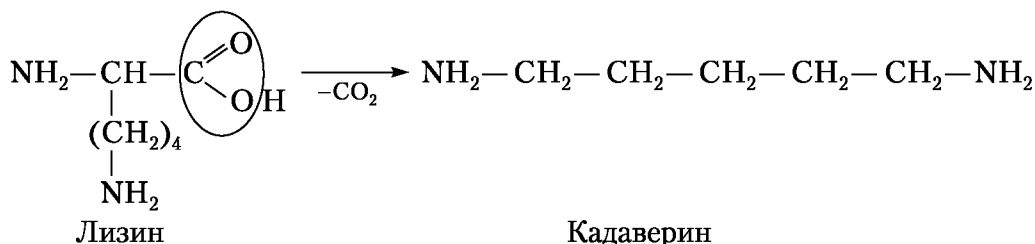


Рис. 3.18. Декарбоксилирование лизина

Примеры реакций дезаминирования, переаминирования и декарбоксилирования есть и в различных пищевых производствах. Они особенно важны при использовании ферментов, бактериальных культур или изготовлении продуктов с длительным технологическим циклом. Например, созревание сыров всегда сопровождается образованием аминов, которые способствуют формированию характерной ароматической композиции каждого вида сыра. В целом в мягких сырах обнаружено больше аминов, чем в твердых. Присутствуют и биогенные амины, такие как тирамин, триптамин, кадаверин, гистидин.

### 3.3. Пептиды

В живой материи аминокислоты находятся как в свободной форме, так и связанном друг с другом виде. Связывание происходит между  $\text{COOH}$ -группой одной аминокислоты и  $\text{NH}_2$ -группой другой аминокислоты, а образованную связь называют *пептидной*. Формально образование пептидной связи можно представить схемой (рис. 3.19).

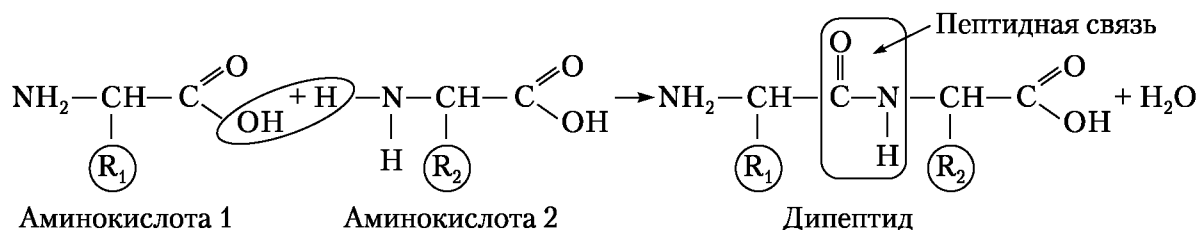


Рис. 3.19. Образование дипептида

В лабораторных условиях это осуществляется более сложно. Чтобы аминокислоты соединились в нужном порядке, функциональные группы, не подлежащие соединению, защищают (химически связывают). Или, наоборот, активируют те функциональные группы, которые должны прореагировать. Наибольшее распространение приобрел метод, предложенный Р. Меррифилдом. В этом методе С-концевую аминокислоту пептида  $\text{COOH}$ -группой фиксируют на полимере, а к свободной и  $\text{NH}_2$ -группе присоединяют вторую с конца аминокислоту. Таким образом сборка полипептида осуществляется «задом наперед» — от последней аминокислоты к первой.

Эксклюзивность методики заключается еще и в удалении примесей. В любом химическом синтезе есть вещества, не вступившие в реакцию, какие-либо побочные продукты. Традиционный способ предусматривает от-



деление продукта реакции от примесей после проведения каждой стадии. В случае с белками, когда нужно синтезировать сотни пептидных связей, такой способ нельзя назвать прогрессивным. По идее Меррифилда, С-концевая аминокислота закрепляется на твердом носителе до полного окончания синтеза всего полипептида и помещается в специальный реактор (колонку). Следующая аминокислота вводится в избыточном количестве, чтобы взаимодействие произошло максимально полно. Когда пептидная связь образована, в колонку подается подходящий растворитель и смывает побочные продукты. Затем присоединяют третью аминокислоту и т.д.

«За предложенную методологию химического синтеза на твердых матрицах» Р. Б. Меррифилд был удостоен Нобелевской премии по химии в 1984 г.

В живой природе пептидная связь образуется благодаря сложному ферментативному механизму, суть которого излагается в гл. 13.

Пептиды классифицируют по числу аминокислотных остатков в их составе (табл. 3.5).

Таблица 3.5

Классификация пептидов

Число аминокислотных остатков	Разновидности
Два	Дипептид
Три	Трипептид
Четыре	Тетрапептид
До 10	Олигопептид
До 100	Полипептид
Более 100	Макропептид (белок)

Крайняя слева аминокислота содержит свободную NH<sub>2</sub>-группу, поэтому ее называют *Н-концевой*, а крайняя справа аминокислота сохранила свою COOH-группу, поэтому такую аминокислоту называют *С-концевой* (рис. 3.20). При этом Н-концевая аминокислота считается первой, следующая за ней — второй, и т.д., а С-концевая аминокислота — последняя.

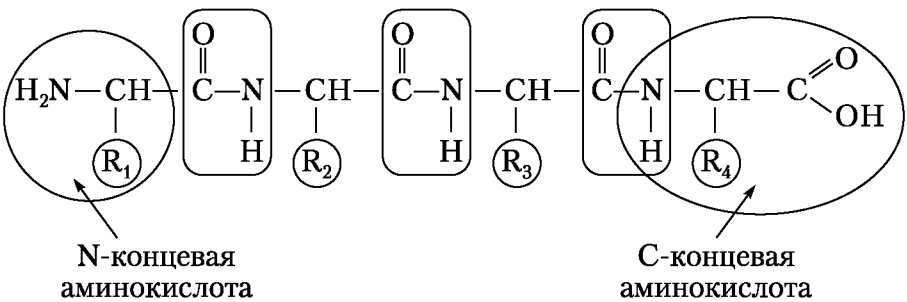


Рис. 3.20. Схема строения пептида (рамками выделены пептидные связи)

Название пептида образуют из названия аминокислот, входящих в его состав. При этом возможны три варианта.

В первом случае аминокислоты обозначают сокращенными названиями, но Н-концевую аминокислоту — дополнительным символом Н, а С-концевую — дополнительным символом ОН. Например, тетрапептид, представленный на рис. 3.21, будет называться Н-Мет-Фен-Тре-Арг-ОН.

Во втором случае в названии подчеркивают, что все аминокислоты, за исключением последней, находятся в форме ацилов. Поэтому в названии

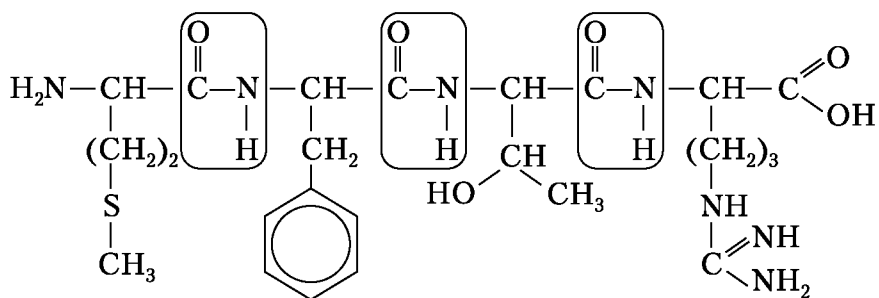


Рис. 3.21. Пример тетрапептида

Способы его названия: а) Н-Мет-Фен-Тре-Арг-ОН; б) метионил-фенилаланил-треонил-аргинин; в) MFTR

ях этих аминокислот окончания заменяются на суффикс *-ил*, а название С-концевой аминокислоты остается без изменений. Аспарагиновая и глутаминовая кислоты и их амиды имеют одинаковые корни. Чтобы отличать ацильные названия этих соединений, принято остатки Асп и Глу обозначать соответственно аспарагил и глутамил, а остатки Асн и Глн — аспарагинил и глутаминил.

Для названия длинных аминокислотных последовательностей применяют *третий способ*: используют однобуквенные обозначения аминокислот. Таким образом, метионил-фенилаланил-треонил-аргинин будет назван как MFTR (рис. 3.21, в).

В названии пептида указывают все особенности его построения. Например, глутатион — это трипептид, образованный глутаминовой кислотой, Цис и Гли. Но глутаминовая кислота образует пептидную связь своей  $\gamma$ -карбоксильной группой, наиболее удаленной от  $\text{NH}_2$ -группы. Это подчеркивают в названии —  $\gamma$ -глутамилцистеилглицин (рис. 3.22).

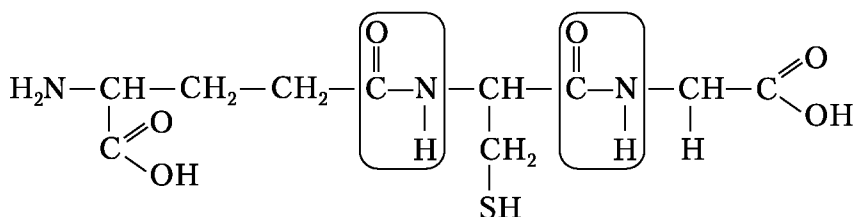


Рис. 3.22. Строение глутатиона

Многие пептиды выполняют определенные функции в организме. Причем биологические свойства пептидов обусловлены набором аминокислот, входящих в их состав. Например, глутатион — это биологически активный пептид. Благодаря своей активной SH-группе в остатке Цис он участвует в окислительно-восстановительных реакциях типа гидрирования-дегидрирования, поддерживая внутреннее равновесие организма в ответ на различные антропогенные нагрузки окружающей среды.

Существуют и другие примеры пептидов, играющих важную роль в обмене веществ в клетке. Например, карнозин ( $\beta$ -аланилгистидин), участвующий в сокращении мышц (рис. 3.23).

Известный заменитель сахара аспартам (нутрасвит, сладекс) — дипептид. Он образован из аспарагиновой кислоты и метилового эфира фенилаланина (рис. 3.24) и слаще сахара в 160—200 раз.

Нанопептидами являются гормоны задней доли гипофиза окситоцин и вазопрессин (см. рис. 4.2).

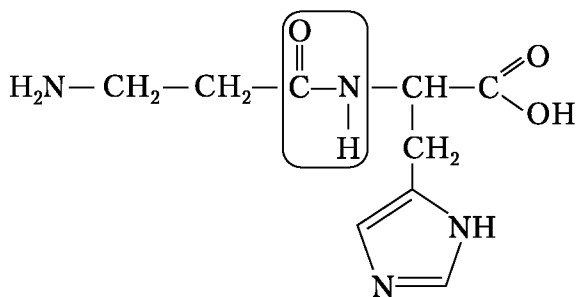


Рис. 3.23. Дипептид карнозин

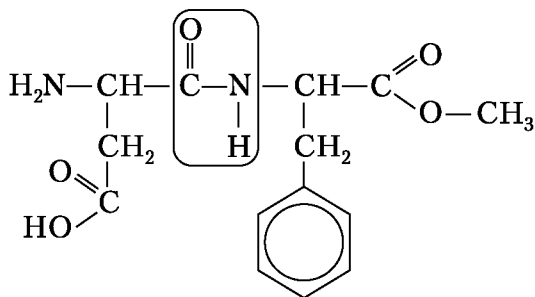


Рис. 3.24. Структура аспартама

От наличия функциональных групп в структуре пептида зависят его физико-химические свойства: степень ионизации, растворимость и др., которые используются в различных методах выделения и идентификации пептидов. Например, изоэлектрическую точку (pI) пептидов приблизительно можно рассчитать как среднее арифметическое констант диссоциации (pK) концевых аминокислот и боковых ионизированных радикалов:

$$pI = \frac{pK_1 + (pK_3^1 + pK_3^2 + \dots + pK_3^n) + pK_2}{n + 2}.$$

### Биологически активные пептиды молока

Биоактивные пептидные последовательности пищевых белков обнаружены сравнительно недавно. Установлено, что пептиды, содержащиеся в пищевых белках, могут оказывать каталитическое или регуляторное действие на организм человека подобно пептидным регуляторам эндогенного происхождения. Эти сведения значительно изменили представления о роли белков в продуктах питания.

Например, с молоком выделяется пептид длиной 53 аминокислотных остатка — эпидермальный фактор роста, который ингибирует секрецию желудочного сока, стабилен к действию кислоты и относительно резистентен к трипсину. Таким образом, этот пептид, присутствующий в молоке, может служить важным фактором, обеспечивающим нормальное созревание кишечника новорожденного<sup>1</sup>.

Биоактивные пептиды молока можно разделить на две группы, представленные в табл. 3.6.

Таблица 3.6

#### Особенности биологически активных пептидов молока

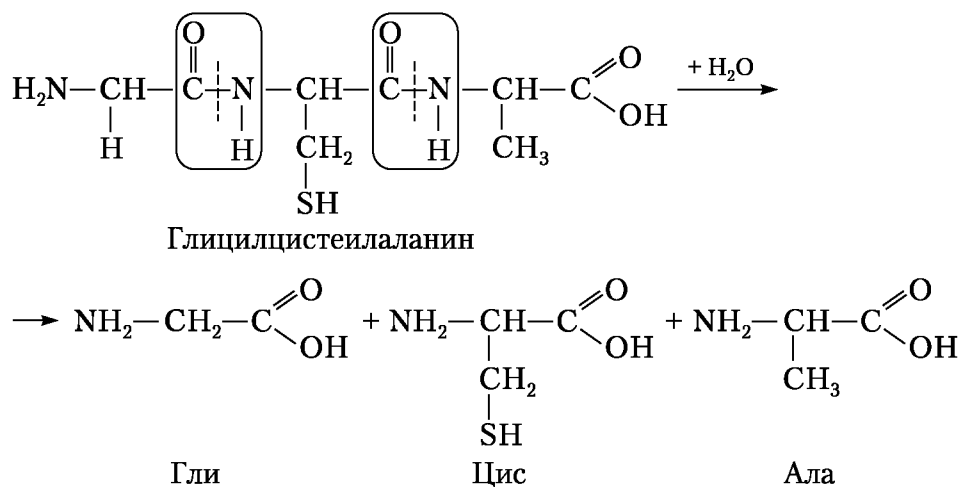
Происхождение	Функции
Нативные — секретируются с молоком в свободном виде в составе иммуноглобулинов	Антибактериальные. Факторы роста. Иммунопротекторные
Эндогенные — образуются при переваривании молочных белков, так как входят в их состав	Опиоидные. Гипотензивные. Антитромботические. Связывающие минералы. Иммунопротекторные

<sup>1</sup> Каримова Ш. Ф., Султанов Р. Г., Зиямутдинова З. К. Некоторые биохимические параметры молока : учеб. пособие. Ташкент : Ташкентский педиатрический медицинский институт, 2000.

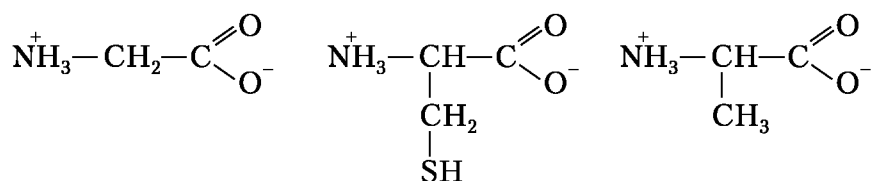
### 3.4. Практические примеры

**I. Гидролиз пептидов** проводят для исследования аминокислотного состава, получения свободных аминокислот или в других целях. При полном гидролизе, его также называют тотальным, разрушаются все пептидные связи. Для ускорения процесса его проводят в присутствии кислоты или щелочи. В результате смесь содержит определенные производные аминокислот. Чтобы определить, какие производные аминокислот образуются, необходимо выполнить следующие действия.

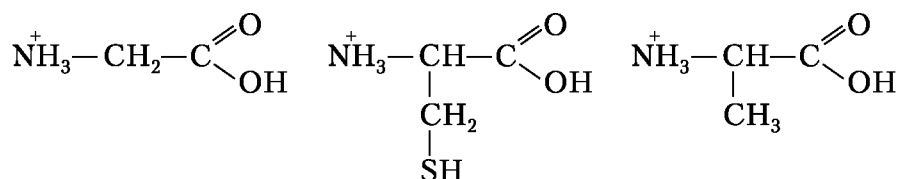
**1.** Написать схему гидролиза пептида. Например, при гидролизе трипептида образуются три аминокислоты:



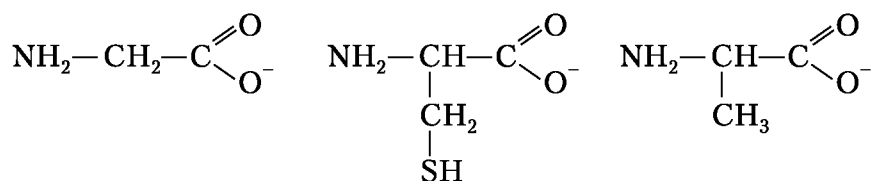
**2.** Представить аминокислоты в ионизированной форме, поскольку процесс проходит в водной среде:



**3.** Учесть реакцию среды, в которой протекал гидролиз. В кислой среде, при добавлении  $\text{H}^+$ , диссоциация  $\text{COOH}$ -групп подавлена, поэтому аминокислоты присутствуют в форме катионов:



При проведении гидролиза в присутствии щелочи прекращается ионизация  $\text{NH}_2$ -групп и аминокислоты находятся в виде анионов:



Эта информация полезна для дальнейшего разделения аминокислот, например, методом электрофореза.

**II. Разделение аминокислот методом электрофореза** — широко распространенный способ их идентификации. Чтобы применить его на практике, следует правильно подобрать буферную смесь для разделения. Значение рН буферной смеси должно быть таким, чтобы отдельные аминокислоты или ряд аминокислот находились в ионизированной форме. Для этого необходимо использовать справочные данные о значениях отрицательных десятичных логарифмов констант диссоциации для  $\text{NH}_2$ - и  $\text{COOH}$ -групп —  $\text{pK}_1$ ,  $\text{pK}_2$  и  $\text{pK}_3$  (см. приложение 1) и рассчитать значение  $\text{pI}$ , при котором аминокислота не имеет заряда. Например, для нейтральной аминокислоты Гли значение ИЭТ будет равно

$$\text{pI} = \frac{\text{pK}_1 + \text{pK}_2}{2} = \frac{2,34 + 9,60}{2} = 5,97.$$

Если использовать буферную смесь со значением, близким к  $\text{pH} = 5,97$ , то Гли во время электрофореза останется на старте и не будет перемещаться ни к катоду, ни к аноду.

В более кислой среде, например при  $\text{pH} = 2,5$ , диссоциация  $\text{COOH}$ -групп подавляется и аминокислота приобретает заряд «+», следовательно, начнется ее движение в сторону отрицательно заряженного электрода.

В более щелочной, чем значение  $\text{pI}$ , среде, например при  $\text{pH} = 10,5$  останутся ионизированными только  $\text{COOH}$ -группы, поэтому Гли будет перемещаться в сторону положительно заряженного электрода.

### **Задания для самостоятельной работы**

**I.** Среди возможных вариантов выберите единственное верное завершение фразы.

**1.** Характерная особенность протеиногенных аминокислот:

- а) способность к диссоциации и солеобразованию;
- б) существование в двух изомерных формах — *L*- и *D*-;
- в) гидрофобные свойства радикала;
- г) полярность радикала;
- д)  $\alpha$ -положение аминогруппы.

**2.** Аминокислотой не является:

- а) пролин;
- б) гистидин;
- в) холин;
- г) лизин;
- д) гистидин.

**3.** Незаменимой аминокислотой является:

- а) валин;
- б) тирозин;
- в) глутамин;
- г) глутаминовая кислота;
- д) глицин.

**4.** Атом углерода является асимметричным, если он имеет:

- а) водородную связь;
- б) кратную связь;
- в) четыре разных заместителя;

г) два одинаковых заместителя;

д) четыре атома водорода.

**5. К ароматическим аминокислотам относится:**

а) Иле;

б) Тре;

в) Тир;

г) Три;

д) Глн.

**6. Лизин, аргинин и гистидин относятся к группе:**

а) незаменимых аминокислот;

б) нейтральных аминокислот;

в) основных аминокислот;

г) кислых аминокислот;

д) ароматических аминокислот.

**7. К числу аминокислот с незамещенными углеводородными радикалами относятся:**

а) Вал, Ала, Иле;

б) Вал, Тре, Лей;

в) Иле, Тир, Асп;

г) Асп, Асн, Арг;

д) Глу, Глн, Гли.

**8. К оксиаминокислотам относятся:**

а) Фен и Тир;

б) Глу и Гли;

в) Асп и Асн;

г) Сер и Тре;

д) Лей и Иле.

**9. Сульфгидрильная группа содержится у аминокислоты:**

а) Сер;

б) Цис;

в) Тре;

г) Тир;

д) Про.

**10. Гетероциклическими аминокислотами являются:**

а) Сер и Тре;

б) Цис и Гис;

в) Тре и Три;

г) Тир и Три;

д) Три и Гис.

**11. Асп и Глу классифицируются как:**

а) моноаминокарбоновые кислоты;

б) моноаминодикарбоновые кислоты;

в) диаминокарбоновые кислоты;

г) ароматические аминокислоты;

д) оксизамещенные аминокислоты.

**12. В результате декарбоксилирования Лиз образуется:**

а) диамин;

б) амин;

- в) карбоновая кислота;
- г) моноаминокарбоновая кислота;
- д) ароматический амин.

**13.** Изоэлектрическая точка нейтральных аминокислот определяется:

- а) константой диссоциации функциональных групп радикала;
- б) константами диссоциации карбоксильной и аминогруппы;
- в) константой диссоциации только карбоксильной группы;
- г) константой диссоциации только аминогруппы;
- д) константами диссоциации функциональных групп радикала, карбоксильной и аминогруппы.

**14.** При окислительном дезаминировании аминокислот образуются:

- а) амины;
- б) карбоновые кислоты;
- в) оксокислоты;
- г) оксикислоты;
- д) пептиды.

**15.** Гидролитическое дезаминирование аминокислот сопровождается образованием:

- а) спиртокислот;
- б) кетокислот;
- в) карбоновых кислот;
- г) аминов;
- д) амидов кислот.

**16.** При переаминировании происходит:

- а) перенос  $\text{NH}_2$ -группы из  $\alpha$ -положения в  $\beta$ -положение;
- б) обмен  $\text{NH}_2$ -группы с аминокислоты на карбонильный атом кетокислоты;

- в) перемещение  $\text{NH}_2$ -группы в радикал;
- г) разрушение  $\text{NH}_2$ -группы;
- д) алкилирование  $\text{NH}_2$ -группы.

**17.** При добавлении  $\text{HCl}$  к раствору Гли и Ала будет:

- а) образовываться пептидная связь;
- б) протекать реакция дезаминирования;
- в) подавляться диссоциация  $\text{COOH}$ -групп;
- г) подавляться ионизация  $\text{NH}_2$ -групп;
- д) подавляться диссоциация функциональных групп радикала.

**18.** Азотнортутный реактив используют для обнаружения:

- а) серосодержащих аминокислот;
- б) нейтральных аминокислот;
- в) незаменимых аминокислот;
- г) ароматических аминокислот;
- д) любых аминокислот.

**19.** В изоэлектрической точке аминокислота:

- а) является катионом;
- б) является анионом;
- в) переходит в форму амина;
- г) подвергается дезаминированию;
- д) подвергается декарбоксилированию.

**20.** pH буферного раствора, используемого в методе электрофореза, меньше изоэлектрической точки аминокислоты. При этом аминокислота:

- а) остается на старте;
- б) будет двигаться к аноду;
- в) будет двигаться к катоду;
- г) переходит в форму амина;
- д) подвергается деструкции.

**21.** Первой аминокислотой в пептиде считается:

- а) С-концевая;
- б) N-концевая;
- в) с наибольшим радикалом;
- г) с ионизированной функциональной группой;
- д) крайняя справа.

**22.** Количество трипептидов, образованных из двух разных аминокислот, равняется:

- а) 2;
- б) 3;
- в) 4;
- г) 5;
- д) 6.

**23.** Укажите реакцию, которая используется для количественного определения аминокислот:

- а) реакция Пиотровского;
- б) реакция Фоля;
- в) реакция формольного титрования;
- г) реакция Миллона;
- д) ксантопротеиновая реакция.

**II.** Дайте аргументированный ответ, сопровождая его при необходимости расчетами и соответствующими превращениями.

**1.** Приведите три примера ациклических незамещенных аминокислот. Напишите уравнения реакций их внутримолекулярного дезаминирования, назовите полученные продукты.

**2.** Объясните, почему большинство аминокислот обладает оптическими свойствами. Используя графические формулы, покажите характерные признаки оптических изомеров на примере ациклических замещенных окси-(спирто-)аминокислот. Сколько асимметричных центров имеет каждая из этих аминокислот?

**3.** Напишите графические формулы аминодикарбоновых кислот и реакции их дезаминирования. Получите все возможные продукты и назовите их.

**4.** Покажите образование цвиттериона для следующих аминокислот: а) Про; б) Гис; в) Глу; г) Асн; д) Лиз; е) Вал; ж) Цис; з) Мет; и) Тир; к) Три.

**5.** Заменимые аминокислоты образуются в результате реакции переаминирования. Получите этим способом аминокислоты: а) Ала; б) Асн; в) Тир; г) Асп; д) Глу; е) Гли; ж) Сер; з) Цис; и) Глн; к) Арг.

Назовите исходные соединения и продукты реакции.

**6.** Постройте трипептид из любых аминокислот и назовите его разными способами.



7. Напишите реакции образования амидов Асп и Глу. Назовите полученные соединения и покажите образование их биполярных ионов.

8. Покажите схему гидролиза: а) аспартама (см. рис. 3.24); б) глутатиона (см. рис. 3.22); в) карнозина (см. рис. 3.23) в кислой и щелочной среде.

9. Зная значения отрицательных десятичных логарифмов констант диссоциации для  $\text{NH}_2$ - и  $\text{COOH}$ -групп аминокислот, рассчитайте значение рН, при котором аминокислота будет находиться в состоянии изоэлектрической точки: а) Три; б) Гис; в) Асп; г) Глу; д) Лиз; е) Сер; ж) Цис; з) Мет; и) Тир; к) Про.

10. Используя информацию о кривых титрования аминокислот и данные таблицы, укажите интервал, в котором аминокислота будет находиться в форме биполярного иона: а) Ала; б) Фен; в) Тир; г) Гис; д) Про; е) Лей; ж) Иле; з) Тре; и) Три; к) Гли.

11. Определите, в каком направлении будут двигаться аминокислоты при использовании электрофореза на бумаге или останутся на старте в заданных значениях рН.

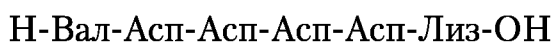
Условия (рН)	Варианты									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Вал, Гис	Про, Лиз	Фен, Глу	Тир, Асп	Сер, Арг	Мет, Глн	Ала, Арг	Лей, Цис	Иле, Асн	Три, Гли
рН 1,5										
рН 6,7										
рН 11,5										

12. Рассчитайте значение рI для пептидов и определите направление их движения при разделении методом электрофореза при значении рН 2,0; 6,8 и 11,0.

Вариант	Пептид
1	Лейцилглутамилтирозиласпарагин
2	Глицилметионилизолейцилпролин
3	Аспарагинилтирозилфенилаланиллизин
4	Треонилтирозиларгинилглутамин
5	Изолейциласпарагинилметионилсерин
6	Глутаминиласпарагилметионилтриптофан
7	Пролилфенилаланиллейцилгистидин
8	Тирозилизолейциласпарагилглутамин
9	Пролилвалилметионилцистеин
10	Цистеилаланилглутамиласпарагин

13. Из  $\alpha$ - и  $\beta$ -казеина молока выделены низкомолекулярные пептиды, обладающие иммуномоделирующим действием: Тир-Глу и Тир-Глу-Глу. Напишите графические формулы этих пептидов.

14. Ингибитором трипсина является гексапептид:



Напишите его графическую формулу и рассчитайте значение изоэлектрической точки.

## Глава 4

# БЕЛКОВЫЕ ВЕЩЕСТВА

---

В результате изучения материала данной главы студент должен:

**знать**

- определение, характерные признаки, роль белков в организме, их элементный состав;
- принцип построения полипептидной цепи, особенности пептидной связи;
- разновидности вторичной структуры белков;
- третичную структуру белков и связи, стабилизирующие эту структуру;
- четвертичную структуру белков и связи, стабилизирующие эту структуру;
- физико-химические свойства белковых молекул (амфотерные, буферные, гидрофильные, коллоидные);
- классификации белков: по форме молекулы; по химической структуре; по функциональной активности;
- критерии полноценности белков;

**уметь**

- графически изображать первичную, вторичную, третичную и четвертичную структуры белков;
- объяснить физико-химические свойства белков и привести примеры использования этих свойств в технологических процессах;

**владеть**

- простейшими методами открытия и идентификации белков;
  - способами количественного определения белка в пищевых продуктах и методами оценки биологической полноценности белков.
- 

Белковые вещества, или коротко *белки*, иначе называют *протеины*, от греческого *protos* — первый, главный. Действительно, все проявления жизни, любые формы живой материи, так или иначе, связаны с белками. Это отмечал еще Ф. Энгельс в своей работе «Анти-Дюринг»: «Жизнь есть способ существования белковых тел...» Удивительно, что такое меткое определение было дано в 1878 г., когда и природа белковых веществ, и их свойства во многом оставались загадкой для химиков-биологов.

Все попытки выяснить особенности строения, физико-химические свойства, функции белков долгое время были неудачными, поскольку традиционные способы выделения белковых веществ в чистом виде — перегонка, экстрагирование и др. — приводили к потере природных, нативных<sup>1</sup> свойств белков. Являясь частью живой материи, белки, как и все живое, потребовали особых, щадящих, тонких методов и способов выделения.

---

<sup>1</sup> Нативный (от лат. *nativus* — врожденный) в биологии — находящийся в природном состоянии, не модифицированный, сохранивший структуру, присущую ему в живой клетке.

Первое, что удалось узнать с помощью озоления, — это элементный состав белков (табл. 4.1).

Таблица 4.1

Элементный состав белков

Элемент	Содержание, % от сухой массы	Элемент	Содержание, % от сухой массы
C	51–55	H	6–7
O	21–23	S	0,3–2,5
N	15–18	Fe, Cu, Zn, Mg	0,0001–0,3

Элементный состав белков стал подтверждением работ А. Н. Данилевского по гидролизу белков. Его исследования обнаруживали в нативных белках совсем немного свободных  $\text{NH}_2$ - и  $\text{COOH}$ -групп, в то время как в белках, подвергавшихся гидролизу, наблюдалось постепенное увеличение числа этих групп, причем всегда в соотношении 1:1. При добавлении к белку щелочи и  $\text{CuSO}_4$  развивалось фиолетовое окрашивание, как с биуретом. Все это свидетельствовало о присутствии в белках большого числа пептидных связей, очевидно, соединяющих между собой аминокислотные остатки. Так было выяснено, что *структурными единицами белков являются аминокислоты*.

Может показаться просто невероятным, как всего лишь из 20 протеиногенных аминокислот создано все многообразие живой природы, которое насчитывает по современным представлениям от  $10^{10}$  до  $10^{12}$  различных белков. Чтобы поверить в это, стоит разобраться в устройстве белковых молекул.

### 4.1. Строение белковых молекул

В настоящее время белковые молекулы изучены достаточно хорошо. На основе имеющихся данных сформулировано современное определение белков.

**Белки — это высокомолекулярные органические соединения, построенные из аминокислот, соединенных пептидными связями, и имеющие большую молекулярную массу и сложную структурную организацию.**

Исходя из методических соображений, в строении белковых молекул выделяют несколько уровней организации: *первичный, вторичный, третичный и четвертичный*.

#### 4.1.1. Первичная структура

Формирование белковых молекул начинается с соединения аминокислот друг с другом. Это первый уровень или первичная структура белка.

**Первичная структура белка — это полипептидная цепь, в которой аминокислоты соединены пептидными связями.**

Установление первичной структуры белка требует выполнения нескольких операций в определенной последовательности, которые перечислены в табл. 4.2.

## Алгоритм действий при определении первичной структуры белка

Выполняемая операция	Цель и сущность превращения
Разрыв S—S-мостиков (если они есть)	Разворачивание полипептидной цепи. Осуществляют окислением S—S-мостиков надмуравьиной кислотой до SO <sub>3</sub> H-групп, которые не разрушаются при дальнейшем анализе
Частичный гидролиз полипептидных цепей	Укорачивание аминокислотных последовательностей, что облегчает их дальнейшую расшифровку. Осуществляют селективным ферментативным гидролизом (трипсином или химотрипсином) или химическими агентами (бромцианом, 2,4-динитрофторбензолом и др.)
Фракционирование полученных пептидов	Отделение полученных полипептидных цепей друг от друга. Осуществляют методом электрофореза
Расшифровка аминокислотной последовательности в коротких пептидах	Определение первичной структуры в отдельных полипептидных цепях. Осуществляют масс-спектрометрическим методом или с использованием секвенатора
Установление первичной структуры белка	Воссоздание первичной структуры белка на основании полученных данных

В настоящее время определение аминокислотных последовательностей в пептидах и белках практически полностью автоматизировано. Это результат огромного труда отдельных ученых и многих научных коллективов, благодаря которым стало возможным использование приборов и аппаратов в сложном процессе расшифровки первичной структуры белка.

Первым белком, аминокислотную последовательность которого удалось выяснить, стал инсулин, а первооткрывателем — английский биохимик Фредерик Сенгер (1918—2013). Он проделал эту работу фактически вручную. Выделял белок в чистом виде, фрагментировал его на несколько пептидов, которые разделял с помощью хроматографии, а затем идентифицировал состав и последовательность каждого пептида. Постепенно соединяя отдельные короткие фрагменты, Сенгер прочел последовательность из 54 аминокислотных остатков. На эту работу ушло восемь лет, но она послужила основой для разработки современных методов определения первичной структуры белка. И в наши дни для расшифровки последовательности аминокислот пошагово выполняют те же операции, которые осуществлял Ф. Сенгер.

Наиболее длительным и трудоемким является непосредственно этап расшифровки и восстановления аминокислотной последовательности. Для решения этой задачи существует несколько подходов: анализ концевых групп и метод перекрывающихся пептидов.

При **анализе концевых групп** пользуются разными методиками.

Одна из них подразумевает использование ферментов амино- и карбоксипептидаз (см. рис. 6.35). В этом случае от исследуемого пептида последовательно отщепляют N- или C-концевую аминокислоту, в зависимости от вида используемого фермента, и направляют ее на идентификацию. Оставшийся пептид снова подвергают действию той же пептидазы. Так повторяют до тех пор, пока весь пептид не разделят на отдельные аминокислоты.

В другом случае концевые аминокислоты отделяют без участия ферментов, а с помощью химических реагентов. Как, например, это было предложено

в 1951 г. Ф. Сенгером. Он связывал N-концевую аминокислоту *2,4-динитрофторбензолом*, а затем гидролизировал пептид. Только N-концевая аминокислота в этом случае находится в виде производного 2,4-динитрофторбензола. Широкое применение нашел разработанный шведским биохимиком П. Эдманом метод связывания N-концевых аминокислот *фенилтиоизоцианатом*. Японский химик-органик и биохимик С. Акабори использовал *гидразин* для определения аминокислотной последовательности в белках с C-конца пептида.

Многократное последовательное повторение анализа с использованием ферментов или химических реагентов дает в итоге последовательность во всем белке. В наше время этими способами определяют первичную структуру в пептидах длиной в несколько десятков аминокислот.

При определении аминокислотной последовательности **методом перекрывающихся пептидов** предварительно применяют два различных варианта гидролиза пептидов: расщепление химическими реагентами и действие протеолитических ферментов. Каждый протеолитический фермент специфичен по отношению к определенной пептидной связи. *Место его действия принято обозначать тем аминокислотным остатком, которому принадлежит карбонильная группа*. Например, *пепсин* и *химотрипсин* расщепляют связи, образованные Фен, Тир и Три, а *трипсин* — Арг и Лиз. Некоторые химические реагенты также избирательно действуют на пептидные связи. Бромциан (CNBr) гидролизует связи Мет-Ала и Мет-Тир.

Полученные пептиды разделяют и очищают, устанавливают в них последовательность аминокислот. А затем из полученных фрагментов восстанавливают общую аминокислотную последовательность, примерно так, как из обрывков слов можно восстановить фразу.

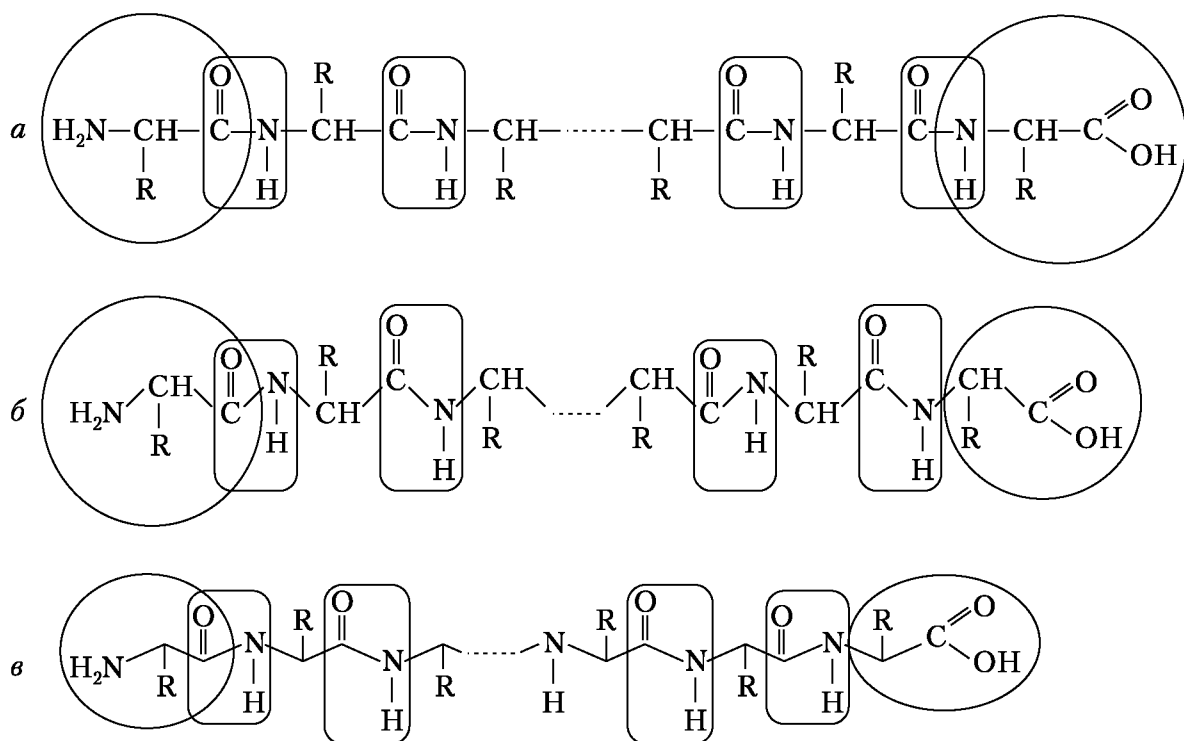
Схематичное изображение первичной структуры такое же, как у полипептида, но если учесть, что валентные углы между атомами не равны  $90^\circ$ , то становится ясно, что это ритмично изогнутая в пространстве цепь аминокислотных остатков (рис. 4.1).

Электронное строение, энергия, длина, валентные углы как самой пептидной, так и прилегающих к ней связей хорошо изучены. Опираясь на эти знания, можно описать ряд особенностей пептидной связи (табл. 4.3).

По своей природе пептидная связь является ковалентной, т.е. одной из самых прочных, что обеспечивает высокую стабильность первичной структуры. Это своего рода защитное свойство. Ведь в природных условиях соединение аминокислот в полипептидную цепь происходит не хаотично, а по матрице генетического кода. Другими словами, первичная структура — последовательность аминокислот, подаренная нам природой. Каждый белок обладает характерными для него свойствами только до тех пор, пока сохраняется индивидуальное для него чередование аминокислот.

Например, структуры нанопептидов *окситоцина* и *вазопрессина* различаются двумя аминокислотами (рис. 4.2). При этом окситоцин ускоряет сокращения гладких мышц, а вазопрессин является антидиуретическим гормоном, так как регулирует водный баланс организма и осмотическое давление крови. Однако оба гормона принимают участие в регуляции секреции молока.

Стоит заменить хотя бы одну аминокислоту среди десятков или даже сотен в полипептидной цепи, как белок утрачивает свои функции или приобретает другие свойства.



**Рис. 4.1. Способы изображения первичной структуры белка:**

$a$  — прямолинейный;  $b$  — изогнутый;  $v$  — упрощенный изогнутый (не указываются атомы C в цепи); прямоугольниками выделены пептидные связи, окружностями — N- и C-концевые аминокислоты

**Таблица 4.3**

### Особенности пептидной связи

Свойство	Характеристика
Компланарность	Атомы (C, O, N и H), образующие пептидную связь, лежат в одной плоскости, а радикалы аминокислотных остатков — под углом $109^\circ$ к этой плоскости
Способность существовать в двух изомерных формах — кето- и енольной	$  \begin{array}{ccc}  \begin{array}{c} O \\    \\ -C-N- \\   \\ H \end{array} & \rightleftharpoons & \begin{array}{c} OH \\   \\ -C=N- \end{array} \\  \text{кето-форма} & & \text{енол-форма}  \end{array}  $
Возможность образовывать водородные связи (выделены тремя точками)	$  \begin{array}{c}  H-O \cdots \begin{array}{ c } \hline O \\    \\ -C-N- \\   \\ H \cdots O-H \\ \hline  \end{array}  \end{array}  $
Транс-положение заместителей по отношению к C—N-связи	$  \begin{array}{c}  \begin{array}{ c } \hline O \\    \\ -CH-C-N- \\   \quad   \\ R \quad H \end{array} \\  \text{Ⓡ}  \end{array}  $

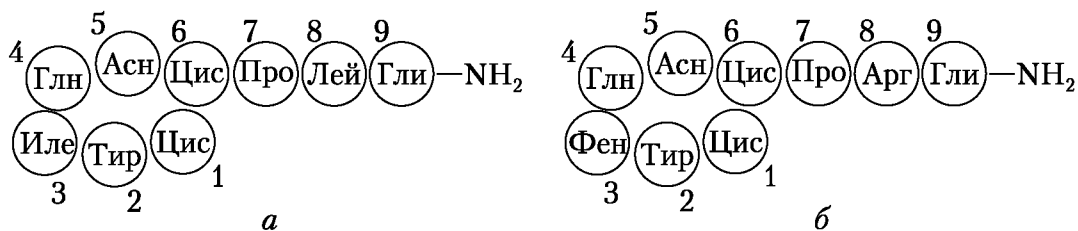


Рис. 4.2. Биогенные нанопептиды, выполняют гормональную функцию:

*a* — окситоцин; *б* — вазопрессин

Например, с возрастом в результате генетической мутации у человека может синтезироваться белок аполипопротеин с измененной первичной структурой. В норме 61-й аминокислотой является Арг, 109-й — Глу, а 112-й — Цис. Между положительно заряженным радикалом Арг и отрицательной ионизированной группой Глу возникает солевой мостик, придающий определенную форму этому белку, что способствует связыванию ЛПВП, в чем и заключается его функция. В мутированном белке происходит всего лишь одна замена. Вместо 112-го Цис встраивается Арг. Теперь солевой мостик образуется между близко расположенными Глу<sub>109</sub> и Арг<sub>112</sub>, но одновременно утрачивается сродство к ЛПВП и аполипопротеин начинает транспортировать ЛПОНП, что способствует развитию атеросклероза в организме человека.

Можно привести пример с пищевым белком, который также наглядно демонстрирует, как измененная первичная структура влияет на его физико-химические и технологические свойства. В белках молока выделяют несколько фракций. Фракцией, обеспечивающей стабильность молочных белков в растворенном состоянии, является к-казеин. В его структуре обнаружено два генетических варианта: *A* и *B*, различающиеся лишь одной аминокислотой из 169 в позиции 148. В модификации к-казеина *B* — это Ала, в модификации к-казеина *A* — Асп. Замена только одной аминокислоты сказывается на технологических свойствах казеина. Поскольку радикал Асп имеет заряд, то *A*-модификация к-казеина дольше находится в ионизированном состоянии и хуже осаждается. И наоборот, нейтральный Ала<sub>148</sub> в модификации *B* способствует уменьшению общего заряда к-казеина, а значит, и его гидратации. Поэтому наличие к-казеина *B* обуславливает лучшую способность молока к свертыванию за счет уменьшения времени образования сгустка, получения сгустка большей плотности и прочности и, как следствие, снижение потерь белка, вызванное его отходом в сыворотку. Это имеет очень существенное значение в производстве таких молочных продуктов, как сыр и творог [26].

В производстве пищевых продуктов, как правило, не требуется полностью сохранять нативные свойства белков. Многие технологические приемы направлены на разрушение первичной структуры белков до пептидов и отдельных аминокислот. Это придает получаемому продукту новые физико-химические, органолептические свойства и облегчает процесс переваривания белков, которые усваиваются только после гидролиза до аминокислот.

#### 4.1.2. Вторичная структура

**Вторичная структура** — это способ укладки полипептидной цепи в упорядоченную структуру благодаря образованию водородных связей между пептидными группами одной цепи или смежных цепей.

Различают две разновидности вторичной структуры:  $\alpha$  и  $\beta$ .

Другое название  $\alpha$ -формы — *спираль* или *винтовая лестница*. Витки спирали удерживаются относительно друг друга с помощью водородных связей между пептидными группами одной цепи. Эта форма вторичной структуры хорошо изучена американским химиком Лайнусом Полингом (1901—1994), лауреатом Нобелевской премии по химии 1954 г. «За исследование природы химической связи и ее применение для определения структуры соединений». Установлено, что  $\alpha$ -форма очень совершенна, имеет ось симметрии. В одном витке спирали укладывается 3,6 аминокислотных остатка. Водородные связи возникают между каждым первым и четвертым аминокислотным остатком. Следовательно, каждый виток удерживается одной водородной связью. Угол наклона витка к оси спирали равен  $26^\circ$ . Шаг спирали  $h$  составляет 0,54 нм (рис. 4.3).

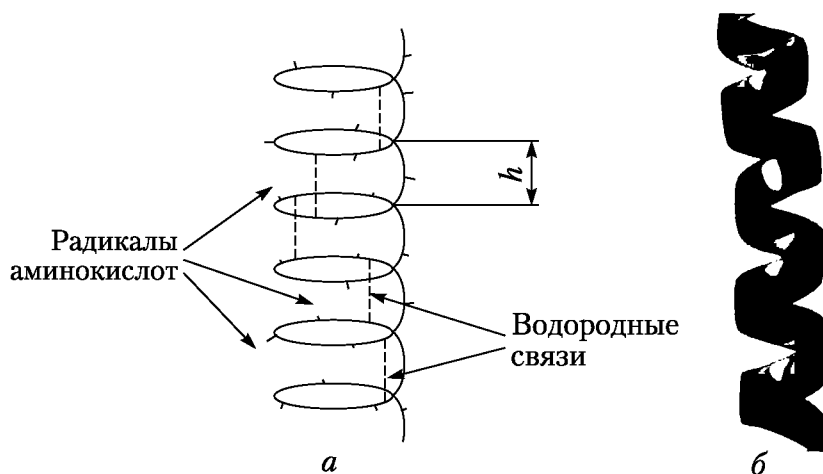


Рис. 4.3. Способы изображения  $\alpha$ -структуры белка:

*a* — детальный; *б* — упрощенный

Другая разновидность вторичной структуры —  $\beta$ -форма, иначе называемая *сложенный лист* или *слоисто-складчатая* структура. В отличие от  $\alpha$ -формы, водородные связи в  $\beta$ -структуре образуются между пептидными группами расположенных бок о бок полипептидных нитей. Расстояние между соседними полипептидными связями составляет 0,7 нм. Такая форма вторичной структуры возникает между цепями слабой изогнутости. При этом цепи могут быть *параллельными*, если их начала и концы расположены в одном направлении (рис. 4.4), и *антипараллельными*, если N-концевая аминокислота одной цепи соответствует C-концевой аминокислоте другой цепи (рис. 4.5).

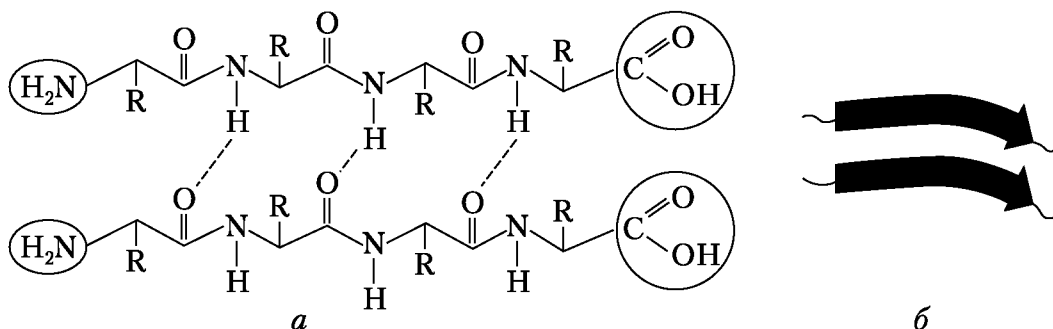
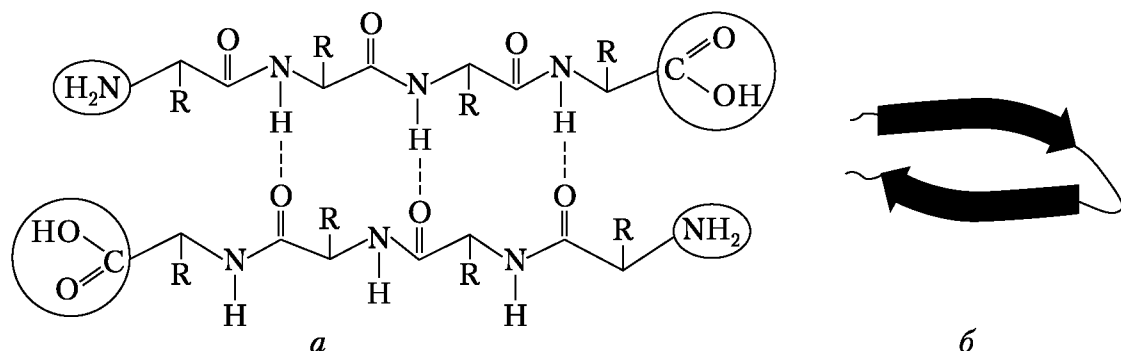


Рис. 4.4. Способы изображения параллельных цепей:

*a* — с детализацией; *б* — упрощенный





**Рис. 4.5. Способы изображения антипараллельных цепей:**

*a* — с детализацией; *б* — упрощенный

Упрощенные варианты изображения вторичных структур используются при описании следующих уровней организации молекулы белка. Если модели белков изображаются цветными, то стало общепринятым использовать спектр радуги, *начиная с синего, для N-конца полипептидной цепи, и завершая красным, на C-конце полипептида.*

Интересно, что в природных белках обе разновидности вторичной структуры могут обнаруживаться в пределах одной полипептидной цепи. Однако есть белки, построенные исключительно из  $\alpha$ - или  $\beta$ -форм, как показано на рис. 4.6. Например, белок мышц миозин спирализован практически на 100%.

Как очевидно из рис. 4.6, определенная часть полипептидных цепей не имеет упорядоченной структуры. Например, петли, за счет которых образуются повороты  $\alpha$ - или  $\beta$ -структур, практически всегда находятся снаружи белковой молекулы. Пептидные группы этих петель не задействованы в образовании контактов между  $\alpha$ -спиралями или  $\beta$ -слоями.

При изменении окружающих условий  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры могут переходить друг в друга, как показано на рис. 4.7.

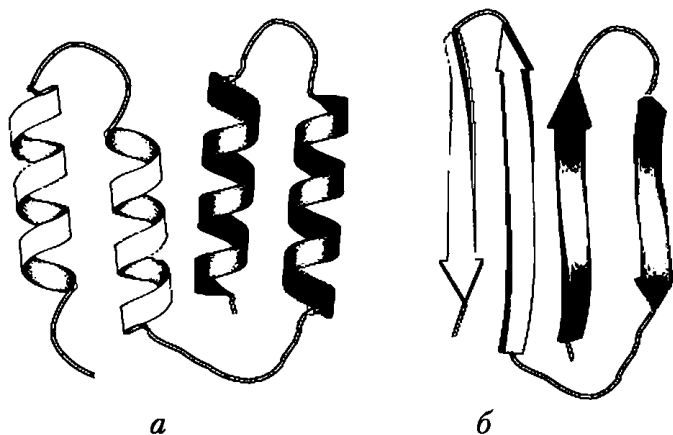
Однако спонтанный, незапланированный переход одной разновидности вторичной структуры в другую может привести к нежелательным последствиям. Например, новое поколение заболеваний — *прионовые инфекции* связаны с внезапным переходом  $\alpha$ -формы белка в  $\beta$ -форму. При этом спирализованные белки, преобразуясь в слоистые структуры, склеиваются



**Рис. 4.6. Примеры полипептидных цепей, содержащих<sup>1</sup>:**

*a* —  $\alpha$ -структуры; *б* —  $\beta$ -структуры; *в* —  $\alpha$ - и  $\beta$ -структуры

<sup>1</sup> Финкельштейн А. В. Введение в физику белка. Курс лекций 1999–2000 гг. URL: [http://phys.protres.ru/lectures/protein\\_physics/105.html](http://phys.protres.ru/lectures/protein_physics/105.html)



**Рис. 4.7. Переход  $\alpha$ -формы вторичной структуры в  $\beta$ -форму:**  
*a* —  $\alpha$ -спирали; *б* —  $\beta$ -слои

и образуют длинные волокна — амилоиды. Как правило, такие изменения наблюдаются в мозговом веществе. Между видоизмененными волокнами мозгового вещества образуются пустоты, которые препятствуют передаче нервных импульсов, и регуляция обмена веществ в организме нарушается. В первую очередь это сказывается на двигательной функции. У сельскохозяйственных животных такие проявления называют «коровье бешенство», «почесуха» у овец, у человека — болезнь «куру» или «веселящее слабоумие». Расстройство нервной и двигательной функций при болезнях Паркинсона и Альцгеймера в последнее время также связывают с прионами. Прионы получили такое название от англ. *protein infection* — заразные белки. Начиная со Средних веков и в более поздние времена человечество научилось побеждать инфекции, вызываемые бактериями. В XX в. медицина сражалась с вирусами — более мелкими организмами, чем бактериальная клетка. В XXI в. борьба биологов, химиков, медиков будет направлена также и на прионы — особые белковые молекулы.

Сейчас уже известно, что свойства прионов во многом отличаются от свойств других белков. Прионы не разрушаются при высоких температурах, например, они выдерживают автоклавирование при 132°C в течение 20 минут. Именно поэтому современная медицина переходит на одноразовый стоматологический и хирургический инструмент.

Прионы не разрушаются ферментами пищеварительного канала. Поэтому сельскохозяйственная продукция, которая может стать источником прионовой инфекции, должна проходить строгий ветеринарный контроль. Больные животные подлежат уничтожению, а органы и ткани животных и продукты их переработки запрещены для использования в составе биологически активных добавок к пище<sup>1</sup>.

### Надвторичные структуры

**Надвторичные структуры — это особые участки в белковых молекулах, которые отличаются структурной и функциональной специфичностью.**

<sup>1</sup> О безопасности пищевых продуктов : Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011.

Иначе их называют *домены* или *доменные области* (от лат. *dominium* — владение, вотчина). Как правило, они возникают при взаимодействии радикалов аминокислот между собой. При этом наблюдается особая поляризация или, наоборот, гидрофобный участок, куда будут адсорбироваться ионы металлов, какого-либо органического соединения или другого белка. В зависимости от дальнейших превращений доменные области проявляют каталитические, структурообразующие или иные функции.

Пространственные разновидности надвторичных структур весьма разнообразны. Например, различные сочетания  $\alpha$ - и  $\beta$ -форм (по Ю. Б. Филипповичу) представлены на рис. 4.8.

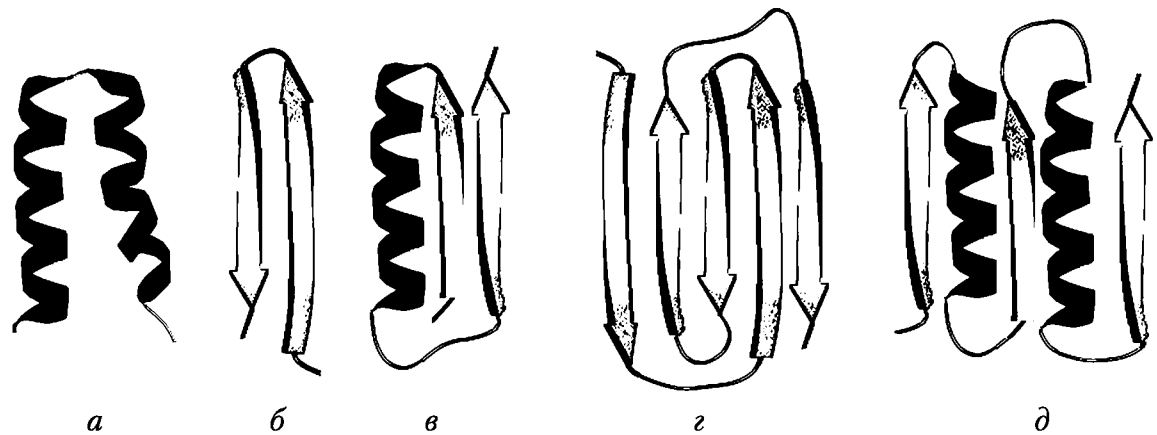


Рис. 4.8. Типы доменов:

*a* —  $\alpha$ '-спираль; *б* —  $\beta$ '-сэндвич; *в* —  $\beta$ -баррель (от англ. *barrel* — бочка);  
*г* — «греческий ключ»; *д* — «греческий орнамент»

#### 4.1.3. Третичная структура

**Третичная структура** — это способ упаковки скрученных или сложенных цепей в упорядоченную структуру.

Она стабилизируется сильными и слабыми взаимодействиями между радикалами аминокислот (рис. 4.9).

*Водородные* связи формируются между радикалами аминокислот, имеющими электроотрицательные атомы (O, N).

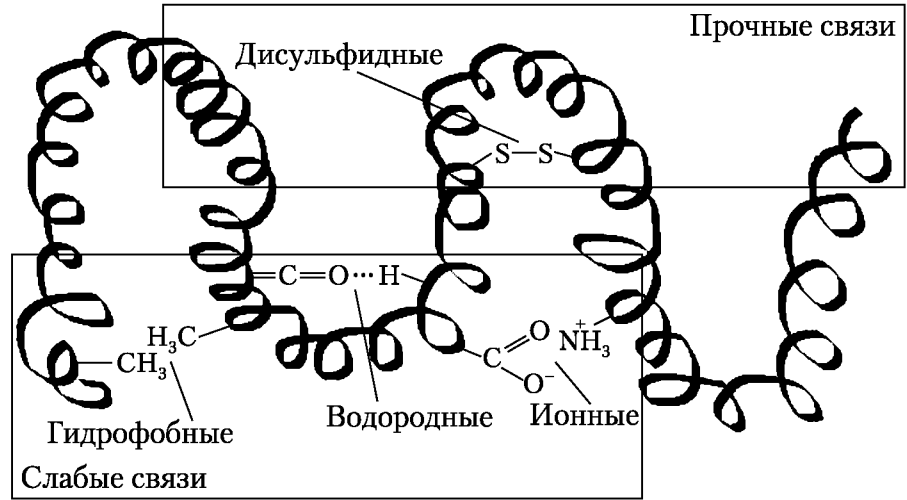


Рис. 4.9. Виды связей в третичной структуре

*Гидрофобные* взаимодействия (ван-дер-ваальсовы силы) образуются между ароматическими аминокислотами и аминокислотами, имеющими неполярные радикалы.

*Ионные* связи (солевые мостики) по существу являются электростатическими контактами ионизированных групп.

*Дисульфидные* связи или цистеиновые мостики образуются при окислении остатков цистеина в молекулу цистина.

Слабые связи легко разрываются от различных внешних воздействий. Поэтому при действии разного рода излучений, растворителей, тепла, изменении pH третичная структура может разрушаться.

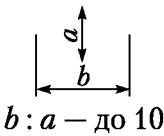
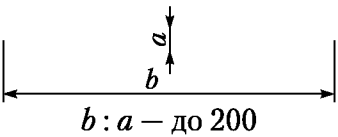
Гораздо в большей степени стабилизируют третичную структуру и придают форму белковым молекулам дисульфидные связи. Однако прочных контактов в третичной структуре очень мало. Например, в молекулах химотрипсина и инсулина по две дисульфидные связи. В молекуле  $\alpha$ -лактальбумина четыре S—S-мостика, но их энергии недостаточно, чтобы выдерживать высокие температуры. Поэтому сывороточные белки молока, в состав которых входит  $\alpha$ -лактальбумин, легко теряют исходную форму и выпадают в осадок при нагревании.

Глубина изменений белковых структур под влиянием внешних воздействий различна. Если изменения касаются отдельной области и белок в целом сохраняет свои свойства, такие перемены называют *конформационными*. Если изменения касаются всей молекулы и это отражается на функциональной активности данного белка, такой процесс называют *денатурацией*. Она может быть *обратимой*, когда свойства белка восстанавливаются после устранения факторов, вызвавших денатурацию, и *необратимой* — в противном случае.

По форме третичной структуры белки делят на *глобулярные* и *фибриллярные* (табл. 4.4). Для этого существует количественная характеристика — коэффициент асимметрии.

Таблица 4.4

Деление белковых молекул по форме

Белки	Характеристика	Коэффициент асимметрии	Примеры
Глобулярные	Характерна сложная пространственная трехмерная структура. Имеют <i>гидрофобное</i> ядро и <i>гидрофильную</i> поверхность. Как правило, полностью растворимы в воде, поэтому находятся внутри организма (клетки) и выполняют каталитические, регуляторные и другие активные функции	 $b : a$ — до 10	Альбумины, глобулины, гистоны, гемоглобин
Фибриллярные	Характерна линейная структура. Плохо растворимы в воде, обычно в их состав входит большое количество гидрофобных аминокислот. Имеют сродство к воде, но полностью в ней не растворяются, поэтому служат строительным материалом для кожи, мышц, ногтей, волос, шерсти и т.д.	 $b : a$ — до 200	Коллаген, эластин, кератин, миозин

*Коэффициент асимметрии — отношение продольного размера молекулы белка ( $b$ ) к поперечному ( $a$ ).*

Есть белки, формирование молекул которых завершается образованием третичной структуры, например миоглобин, связывающий  $O_2$  в глубине тканей. Третичную структуру имеет лизоцим — калитически активный белок, обладающий антибактериальной активностью.

Во многих белках обнаруживается следующий уровень организации — четвертичная структура.

#### 4.1.4. Четвертичная структура

**Четвертичная структура — это объединение двух и более белков с третичной структурой в одну большую молекулу.**

В четвертичной структуре сохраняется глобулярная или фибриллярная форма третичной структуры (рис. 4.10).

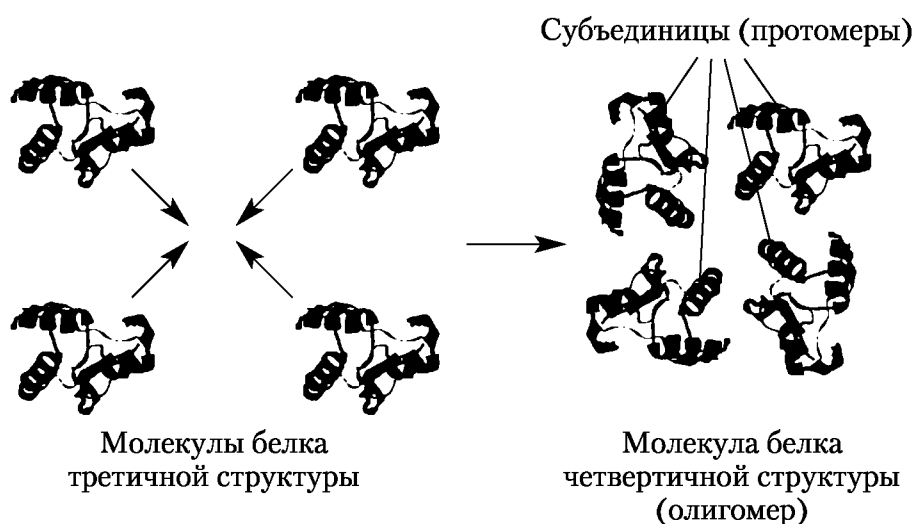


Рис. 4.10. Схема образования белка четвертичной структуры

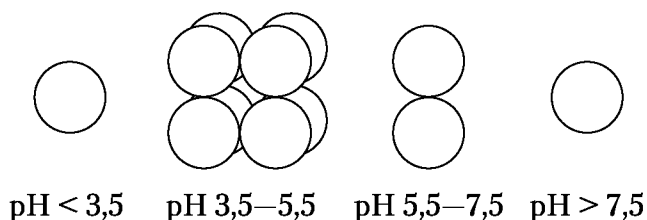
В природных белках, как правило, четное число субъединиц — от двух до нескольких десятков.

*Гомоолигомерные белки* содержат одинаковые субъединицы. Примером может служить  $\beta$ -лактоглобулин сывороточных белков молока. В *гетероолигомерных* белках субъединицы разные. Например, *гемоглобин* — гетеротетрамер. Он состоит из четырех субъединиц, две из которых находятся в  $\alpha$ -форме и две в  $\beta$ -форме. *РНК-полимераза* образована субъединицами трех видов —  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\sigma$ . *Фибриноген* плазмы крови содержит по две субъединицы трех типов, поэтому его гетеромолекулярная формула обозначается  $\alpha_2\beta_2\gamma_2$ . Причем греческие буквы в олигомерах служат для обозначения полипептидных цепей данного белка, поэтому  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепи гемоглобина не имеют ничего общего с  $\alpha$ - и  $\beta$ -цепями в РНК-полимеразе или фибриногене.

Соединение отдельных протомеров происходит благодаря контактам между полярными группами на поверхности. В основном это *водородные* и *ионные* взаимодействия. Поскольку эти типы связей не являются прочными, они могут обратимо разрушаться и восстанавливаться. В результате возможно некоторое смещение субъединиц относительно друг друга, т.е. белковая молекула не является абсолютно жесткой структурой.

Изменение внешних условий (рН среды, ионной силы раствора, температуры и пр.) может быть настолько сильным, что большинство связей, стабилизирующих четвертичную структуру, разрушается и белок диссоциирует на отдельные белки третичной структуры. Это всегда сопровождается изменением его активности в большую или меньшую сторону.

Например, четвертичная структура белка молока  $\beta$ -лактоглобулина зависит от показателя рН. В свежем белке этот белок представлен молекулой из двух субъединиц, при подкислении среды агрегирует до октамера, а при рН меньше 3,5 или больше 7,5 диссоциирует до мономеров, т.е. утрачивает четвертичную структуру (рис. 4.11).



**Рис. 4.11. Влияние реакции среды на четвертичную структуру  $\beta$ -лактоглобулина молока (по А. Тепелу)**

## 4.2. Физико-химические характеристики белков

### 4.2.1. Амфотерные и буферные свойства

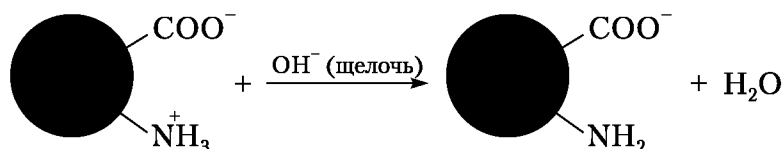
**Амфотерные и буферные свойства белков обусловлены наличием в их молекулах большого числа ионизированных  $\text{NH}_2^-$  и  $\text{COOH}^-$  групп.**

При подкислении среды диссоциация  $\text{COOH}^-$  групп подавляется (рис. 4.12). Белки в данном случае проявляют свойства оснований.



**Рис. 4.12. Нейтрализация кислоты в присутствии белка**

С появлением в среде гидроксильных ионов белки действуют как кислоты (рис. 4.13).



**Рис. 4.13. Нейтрализация щелочи в присутствии белка**

Амфотерный характер лежит в основе буферных свойств белков, т.е. позволяет их растворам сохранять неизменную реакцию среды. Для любой живой клетки это имеет огромное значение, потому что сложные взаимосвязанные превращения обмена веществ могут протекать в узком диапазоне рН.

Ионизированные функциональные группы на поверхности белковых молекул формируют определенный электрический заряд. Если в составе

белков преобладают кислые аминокислоты — аспарагиновая и глутаминовая, то суммарный заряд частицы белка будет отрицательным. Такие белки называют *кислыми*. И наоборот, если в большинстве своем это основные аминокислоты, такие как лизин, аргинин, гистидин, то суммарный заряд белковой молекулы будет положительным, а белок называют *основным*. Схематично белковую частицу в таких случаях можно представить как *поликатион* или *полианион* (рис. 4.14).

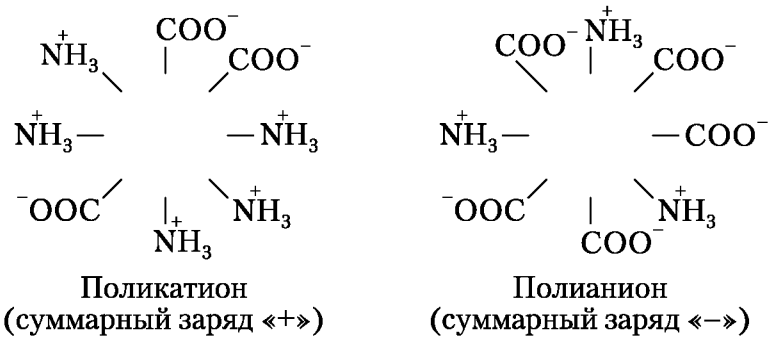


Рис. 4.14. Ионизированный белок

Например, белки молока — *казеин*, *альбумин*, *глобулин* относятся к кислым, а белки *гистоны*, *протамины* — основные.

При определенном значении pH среды (для каждого белка неодинаковое) количество ионизированных карбоксильных и аминогрупп уравнивается и белковая молекула становится электронейтральной (рис. 4.15), т.е. находится в ИЭТ.

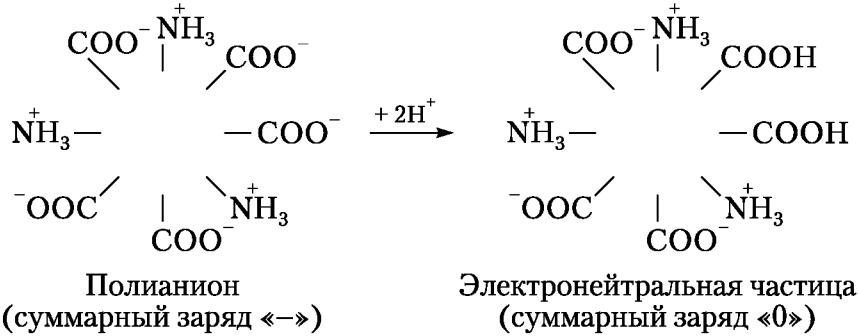


Рис. 4.15. Нейтрализация заряда белка при подкислении среды

Для каждого белка существует свое индивидуальное значение изоэлектрической точки. Но в целом зависимость следующая. Изоэлектрическая точка кислых белков находится в кислой среде, при значении меньше pH 7, для основных — в щелочной при значении больше pH 7. Для нейтральных белков изоэлектрическая точка находится в нейтральной среде или в близком к pH 7 значении.

В изоэлектрической точке лишённые заряда белковые частицы не отталкиваются друг от друга, склонны агрегировать и выпадать в осадок. Эта особенность используется при изучении белков или в производстве различных пищевых продуктов. Наиболее яркий пример — отделение белков молока от водной фазы в производстве творога и сыра. В этом случае ИЭТ казеина (pH 4,7), основного белка молока, достигается при сквашивании молока молочнокислой микрофлорой. Такой процесс осаждения казеина называют *кислотная коагуляция*.

В избытке кислоты диссоциация  $\text{COOH}$ -групп настолько подавлена, что происходит смена заряда белковой молекулы — *перезарядка* (рис. 4.16) и осадок белка может раствориться.

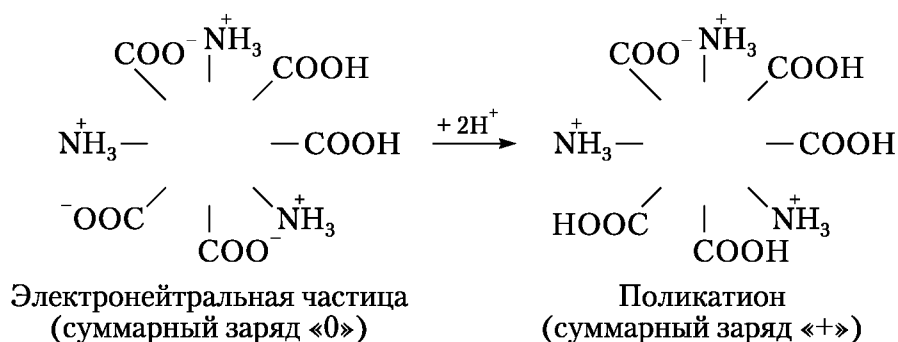


Рис. 4.16. Перезарядка белковой молекулы

#### 4.2.2. Гидрофильные свойства

##### Гидрофильные свойства — способность связывать воду.

Гидрофильность означает, что все белки имеют сродство к воде, а многие очень хорошо растворимы в воде.

Это объясняется:

- во-первых, наличием *одноименного электрического заряда* на поверхности молекулы белка;
- во-вторых, возникновением *гидратной (гидрофильной) оболочки*.

Одноименный заряд препятствует сближению белковых молекул. В соответствии с законами электростатики одноименно заряженные частицы отталкиваются друг от друга. А вследствие этого не образуют большие агрегаты и не выпадают в осадок под действием собственной массы.

Вокруг ионизированных групп на поверхности частицы белка ориентируются молекулы воды (диполи), образуя своеобразную «рубашку», которую и называют *гидратная (гидрофильная оболочка)* или *связанная вода*. Очень схематично в виде проекции на плоскость ее можно изобразить, как показано на рис. 4.17.

В действительности гидрофильная оболочка устроена гораздо сложнее. В ней выделяют структурированный *монослой* и менее структурированный *диффузный слой*, которые возникают в результате различного рода контактов между молекулами воды и органическими соединениями (см. подпараграф 2.2.1).

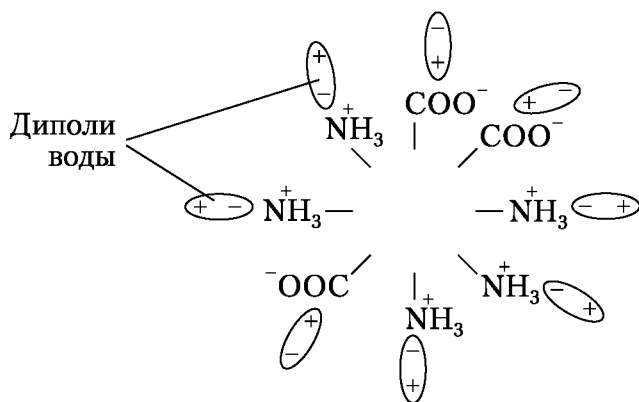


Рис. 4.17. Гидратированный белок



Одетые в водную «рубашку» белковые молекулы приобретают большее сродство к воде, после чего срабатывает правило: «подобное растворяется в подобном».

Не все белки полностью растворяются в воде. Белки покровных тканей, мышц, капиллярных стенок и т.д. считаются не растворимыми, благодаря чему они могут выполнять свойственные им функции. Однако гидрофильные свойства присущи и этим белкам. В естественных условиях они также связывают воду и обладают гидрофильной оболочкой.

Связанную воду невозможно удалить высушиванием, вымораживанием, прессованием, поскольку она соединяется с белковой частицей не путем простой диффузии, а с помощью электростатических взаимодействий.

Таким образом, до тех пор, пока частицы белков обладают этими двумя факторами: *зарядом* и *гидратной оболочкой*, белки находятся в растворимом состоянии. В природных условиях клетка с помощью разнообразных механизмов поддерживает растворимое состояние белков. Однако в различных лабораторных, научных исследованиях или в производстве пищевых продуктов белки часто нужно выделить из раствора. Для этого существует несколько способов.

#### 4.2.3. Способы осаждения белков

**1. Высаливание.** Как следует из названия, в этом случае используются соли. Это должны быть *концентрированные* соли щелочных металлов, а также аммония и магния. При добавлении таких солей, *во-первых*, удаляются гидрофильные оболочки с белковых частиц за счет гидратации самой соли. *Во-вторых*, происходит снятие электрического заряда с белковых молекул благодаря адсорбции противоположно заряженных ионов. В результате частицы белка агрегируют и выпадают в осадок. Но такое осаждение называют *обратимым*, поскольку макромолекулы белков сохраняют свои первоначальные свойства и не подвергаются денатурации, так как действие данных солей затрагивает не саму белковую молекулу, а лишь ее водное окружение. Если осадок, полученный этим способом, промыть дистиллированной водой или очистить методом диализа, белки снова растворятся.

Метод высаливания позволяет также фракционировать или получать белки в кристаллическом виде. Разделение белков на фракции основано на том, что каждый индивидуальный белок разделяемой смеси осаждается из нее при определенной концентрации той или иной соли, в то время как другие белки при данной концентрации соли остаются в растворе. При дальнейшем насыщении солью выпадает следующий индивидуальный белок и, таким образом, последовательно наращивая содержание соли в реакционной среде, можно один за другим выделить относительно чистые индивидуальные белки. Таким способом получают, например, гормональные и ферментные препараты. Добавление солей Са, К, Na и Mg допускается в производстве многих пищевых продуктов, так как может повысить пищевую ценность, потребительские свойства и улучшить технологический процесс.

**2. Добавление тяжелых металлов.** В этом случае даже разбавленные растворы солей тяжелых металлов (Ag, Cd, Hg, Pb и др.) приводят к *необратимой* денатурации. Ионы тяжелых металлов взаимодействуют с реакционноспособными аминокислотными радикалами белковой молекулы. В результате об-

разуются прочные комплексные соединения и молекулы белков лишаются одноименного заряда. Кроме этого тяжелые металлы, очевидно, глубоко изменяют вторичную, третичную и четвертичную структуры макромолекул белка.

Благодаря свойству белков необратимо связываться с тяжелыми металлами их используют в медицинской и ветеринарной практике как противоядие при отравлении солями ртути, меди, свинца, а также для выделения белков или для освобождения растворов и биологических жидкостей от белков.

Интересно, что в избытке таких солей осадки растворяются, на основании чего можно сделать ошибочное заключение о том, что осаждение было обратимым. В действительности из-за связывания катионов металлов происходит перезарядка белкового комплекса, подобно той, что показана на рис. 4.14. В результате в раствор переходит комплекс измененного белка с металлом.

Например, в молочной промышленности избыток ионов кальция в молоке может привести к тому, что формируется непрочный сгусток и увеличивается отход белков в сыворотку. В целом это ведет к повышению расхода сырья в производстве творога и сыра.

**3. Действие органических растворителей.** В органических растворителях, таких как спирт, ацетон, эфир и др., белки не растворяются и выпадают в осадок. Действие спирта, ацетона и других органических растворителей сводится к дегидратации белковых молекул, что ведет к понижению устойчивости их в растворе. В зависимости от природы белка для его осаждения требуются различные концентрации органических растворителей.

Результат воздействия органических растворителей на белки может носить как *обратимый*, так и *необратимый* характер в зависимости от продолжительности их контакта. При быстром отделении осадка денатурация не успевает произойти и белок опять может растворяться, т.е. осаждение обратимо. Длительный контакт с органическими растворителями приводит к необратимому осаждению белков.

**4. Нагревание.** Белки могут как «обрастать» гидрофильной оболочкой — гидратироваться, так и терять ее — дегидратироваться. При этом температурное воздействие имеет большое значение, поскольку, с физико-химической точки зрения, гидратация белковых молекул — экзотермический процесс. Для гидратации-дегидратации, как и для любого обратимого процесса справедлив принцип Ле Шателье. В данном случае для того, чтобы протекала прямая реакция гидратации, из системы необходимо отводить тепло. Иначе процессы приходят в равновесие, а затем начинает преобладать обратная реакция. Поэтому нагревание белковых растворов практически всегда сопровождается выпадением белков в осадок.

Для преимущественного большинства белков пороговой является температура 40°C. Подогрев до таких температур приводит к *обратимому* осаждению белков, т.е. после охлаждения осадка он снова может растворяться. Нагревание до 70°C и выше, как правило, сопровождается *необратимой* денатурацией белков. Но есть и исключения, например прионы, о которых упоминалось ранее.

#### 4.2.4. Коллоидные свойства

Коллоидные (от греч. *kola* — клей и *edos* — вид, *букв.* клеевидные) свойства белков обусловлены размером и массой их молекул. Как известно, раз-

мер растворенных частиц в коллоидных системах колеблется от 1 до 100 нм. Величина белковых молекул находится именно в таких пределах.

Растворы белков являются коллоидами только по своим свойствам. По существу — это истинные растворы, так как растворенной частицей в них является отдельная белковая молекула, т.е. это *раствор высокомолекулярного соединения* (ВМС) или *молекулярный коллоид*.

Для получения растворов молекулярных коллоидов достаточно привести сухое вещество в контакт с подходящим растворителем, например к желатину добавить воду. При этом благодаря ионизации полярных групп на поверхности молекул возникает заряд и образуется гидрофильная оболочка.

Белок сначала набухает, увеличивается по массе и размерам, а затем растворяется. При этом раствор ВМС возникает самопроизвольно, без стабилизатора<sup>1</sup>. Различия свойств растворов ВМС и коллоидов показаны в табл. 4.5.

Таблица 4.5

Сходство и различия ВМС и истинных коллоидов

Показатель	ВМС	Коллоиды
Образование	Самопроизвольное	Несамопроизвольное
Термодинамическая устойчивость	Устойчивы	Неустойчивы
Обратимость	Обратимые	Необратимые
Гетерогенность	Гомогенные	Гетерогенные
Размеры частиц, м	10 <sup>-9</sup> —10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-9</sup> —10 <sup>-7</sup>
Оптические свойства	Светорассеяние	Светорассеяние
Диффузия	Медленная	Медленная

Из-за большого размера молекул белков они не могут проникать сквозь полупроницаемую мембрану. Природными полупроницаемыми мембранами являются стенки животных и растительных клеток. Эта особенность используется для разделения и очистки растворов белков методом *диализа*.

**Диализ (от греч. *dialysis* — разложение, отделение) — это удаление низкомолекулярных примесей из коллоидных систем и растворов ВМС путем диффузии через полупроницаемую мембрану.**

Метод применяется в исследовательской практике, медицине, фармацевтических, косметических и других технологиях. В производстве пищевых продуктов диализ и его разновидности используют для выработки детских и специализированных продуктов для придания им функциональных свойств. Усовершенствованный за счет действия электрического поля метод называют *электродиализом*. Законы диализа применяют в современных методах — *ультрафильтрации* и *обратного осмоса*, для чего используют мембраны высокой прочности из нецеллюлозных материалов с калиброванными порами и продавливают растворы белков через мембраны сжатым газом или центробежной силой.

Растворы белков, как и коллоидные растворы, называют *золи* (от лат. *solutio* — раствор). Растворитель в них называют *дисперсионной средой*, а растворенные частицы — *дисперсной фазой*.

<sup>1</sup> В коллоидных растворах заряд на поверхности частиц (мицелл) образуется за счет адсорбции ионов из раствора.

При утрате гидрофильной оболочки и заряда между молекулами белков возникают контакты, в результате чего белки *агрегируют* (слипаются, склеиваются, от лат. *aggregare* — присоединять), образуют коллоидный сгусток (сетку) и выпадают в осадок.

Коллоидные осадки называют *гели* (от лат. *gelo* — застываю). В пищевой промышленности как синоним термина «гели» используют термин «*студни*». Они образуются под влиянием различных внешних факторов (высаливание, изменение pH, нагревание), которые приводят к удалению гидрофильной оболочки и заряда с молекул белка. Гели не обладают текучестью, упруги, пластичны, способны сохранять форму, обладают определенной механической прочностью (рис. 4.18).

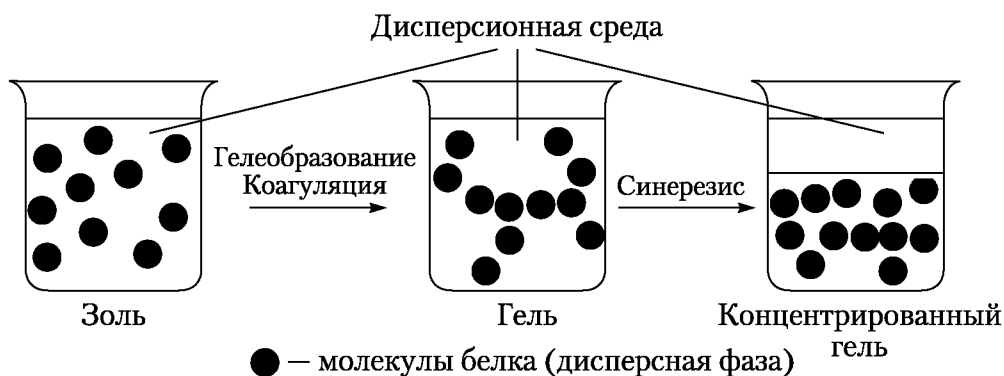


Рис. 4.18. Изменение коллоидного состояния

При изменении коллоидного состояния протекают следующие процессы:

- *гелеобразование* — образование коллоидного осадка, может быть обратимым;
- *коагуляция* — необратимое осаждение белка;
- *синерезис* — выделение дисперсионной среды при уплотнении геля.

Явления гелеобразования, коагуляции и синерезиса — важнейшие процессы в производстве кисломолочных продуктов, творога и сыра. Например, в производстве творога и сыра одна из задач технолога — максимально отделить белки от водной фазы молока, т.е. перевести их из растворенного состояния (золь) в гель. Для этого используют приемы, которые приводят к снятию гидрофильной оболочки и заряда с молекул белков и описаны выше. Во-первых, уменьшают заряд и переводят казеин в состояние ИЭТ путем подкисления среды в результате жизнедеятельности молочнокислых микроорганизмов (кислотная коагуляция). Во-вторых, используют высаливание, при котором по технологии допускается добавление  $\text{CaCl}_2$ . И наконец, нагревание, что еще больше способствует уплотнению сгустка и синерезису.

Коллоидные свойства белков имеют важное значение для живых организмов вообще, в различных биохимических исследованиях и пищевых технологиях. Например, цитоплазма представляет собой гель, образованный в основном молекулами белков. Клейковина, выделенная из пшеничного теста, простокваша — это гидратированные гели.

### 4.3. Номенклатура и классификация белков

Обычно за белком закрепляется название, связанное с источником, из которого он впервые был выделен. Например, *казеин* — основной белок молока — получил название от лат. *caseus* — сыр, поскольку готовят сыр из

молока сельскохозяйственных животных. Белок яйца называют *авидин* (от лат. *avis* — птица).

В силу огромного многообразия белков их очень сложно систематизировать по единой схеме. Поэтому общей для всех белков номенклатуры и классификации в настоящее время не создано.

В зависимости от того, что выбрано за параметр классификации, белки подразделяют по форме молекулы, по особенностям строения, по химической природе и функциональной активности. При этом одни и те же белки встречаются в разных вариантах классификации.

Раньше всего появилась классификация белков по форме молекулы (см. табл. 4.4).

Сделана попытка классифицировать белки по соотношению  $\alpha$ - и  $\beta$ -форм (табл. 4.6).

Таблица 4.6

**Классификация белков по особенностям вторичной структуры**

Форма белка	Особенности строения	Пример
$\alpha$	Содержат $\alpha$ -спирали в количестве не менее 60% всей полипептидной цепи	Миоглобин
$\beta$	Содержат только $\beta$ -формы, как правило, в виде не менее двух антипараллельных цепей	Химотрипсин
$\alpha+\beta$	Содержат $\alpha$ - и $\beta$ -формы в одной полипептидной цепи, при этом один домен образован $\alpha$ -спиралями, другой — $\beta$ -формами	Инсулин, рибонуклеаза, $\beta$ -лактоглобулин
$\alpha/\beta$	Содержат чередующиеся $\alpha$ - и $\beta$ -формы; домены собраны из $\alpha$ - и $\beta$ -форм	Карбоксипептидазы

В одной клетке содержится от 30 000 до 50 000 разных белковых молекул. С выяснением их свойств и по мере открытия новых белковых молекул список белков по функциональной активности постоянно пополняется (табл. 4.7).

Таблица 4.7

**Примеры функционально активных белков**

Функция	Пример
Структурная	Гистоны в составе ДНК участвуют в формировании третичной структуры молекул ДНК эукариот. Коллаген, эластин, кератин составляют основу связочного аппарата (хрящей и сухожилий), костной ткани
Каталитическая	Белки-ферменты
Защитная	Имуноглобулины — связывают чужеродные соединения (бактерии, токсины, вирусы). Белки системы свертывания крови (фибриноген, тромбин) препятствуют потере крови. Кератин, коллаген (белки покровных тканей), протеогликаны (белки слизистых оболочек) преграждают проникновение инфекции в организм

Функция	Пример
Транспортная	Мембранные белки клеток переносят отдельные молекулы (глюкоза, аминокислоты) и ионы ( $K^+/Na^+$ -АТФаза). Альбумины крови переносят ВЖК и билирубин, гемоглобин транспортирует $O_2$ , трансферритин переносит $Fe^{3+}$ . В молоке $\beta$ -лактоглобулин переносит ретинол
Регуляторная	Гормоны участвуют в поддержании внутренней среды организма. Белки, регулирующие активность других белков: <ul style="list-style-type: none"><li>• кальмодулин влияет на активность некоторых белков-ферментов;</li><li>• регуляторные белки, участвующие в биосинтезе белка</li></ul>
Рецепторная	Белки-рецепторы (мембранные и цитоплазматические) связываются с гормонами и сигнальными пептидами (нейромедиаторами)
Запасная и пищевая	Альбумин и глобулин крови служат некоторым резервом аминокислот в организме. Альбумин яйца, казеин молока и другие основные пищевые белки
Сократительная и двигательная	Актин и миозин мышечной ткани участвуют в мышечном сокращении

Большое распространение получила классификация белков по химической природе. В этом случае белки, в первую очередь, делят на *простые (неконъюгированные)* и *сложные (конъюгированные)*.

Простые белки состоят только из аминокислот и различаются растворимостью и биологическими функциями (табл. 4.8).

Таблица 4.8

Примеры простых белков

Белки	Физико-химические свойства. Биологическая роль
Альбумины	Молекулярная масса 15–70 тыс. дальтон; ИЭТ 4,6–4,7. Кислые, так как содержат много Глу; размер молекул маленький, поэтому сильно гидратированы и хорошо растворимы в воде. Биологически полноценны; обладают неспецифической адсорбцией — связывают и переносят как полярные, так и неполярные соединения
Глобулины	Молекулярная масса более 100 тыс. дальтон; ИЭТ 6,0–7,3. Нейтральные и слабокислые; из-за большого размера молекул слабо гидратированы и не растворимы в воде, но растворимы в солевых растворах. Биологически полноценны; выполняют транспортные функции, поскольку обладают неспецифической адсорбцией, часть глобулинов имеет специфическую адсорбцию; защитные функции (антитела)
Гистоны	Молекулярная масса 5–37 тыс. дальтон; ИЭТ 10–11. Белки основного характера, так как содержат до 20–30% Лиз, Арг, Гис; благодаря маленьким размерам сильно гидратированы и хорошо растворимы в воде. Биологически полноценны; участвуют в формировании третичной структуры ДНК
Протамины	Молекулярная масса до 10 тыс. дальтон; ИЭТ 10–12. Белки основного характера, так как содержат до 50–80% Лиз, Арг; благодаря маленьким размерам сильно гидратированы и хорошо растворимы в воде. Биологически полноценны

Белки	Физико-химические свойства. Биологическая роль
Склеропротеины (протеноиды)	Фибриллярные; не растворимы в воде, солевых растворах, разбавленных кислотах, щелочах; плохо или совсем не гидролизуются ферментами пищеварительного канала человека. Биологически неполноценны
В том числе коллагены	Молекулярная масса 300 тыс. дальтон. Нейтральные; длительное кипячение превращает в растворимый в воде желатин. Самый распространенный белок организма человека (от 25 до 33% общего количества белка, примерно 6% массы тела). Структурные белки соединительной ткани, сухожилий, хрящей, костей, связок, кожи. Треть аминокислот приходится на Гли, 21% — Про и его производные, 11% — Ала
эластины	Молекулярная масса 100 тыс. дальтон. Нейтральные; не растворимы в воде даже после кипячения. Структурные белки эластичных тканей, связок, сухожилий, артерий, вен; частично расщепляются в пищеварительном канале человека эластазой
кератины	Молекулярная масса 2 млн дальтон. Кислые; в четвертичной структуре содержат по 30—40 полипептидных цепей; не растворимы в воде, но набухают и «салятся» в горячей воде из-за разрушения третичной и четвертичной структур; не расщепляются в пищеварительном канале человека.

\* 1 дальтон — то же, что а.е.м., применяется для измерения массы молекул, вирусов, клеток и их структур (хромосом, рибосом, митохондрий и др.). Название дано в честь английского физика и химика Дж. Дальтона (1766—1844).

Сложные белки состоят из белкового и небелкового компонентов. В названиях сложных белков отражаются природа или свойства небелковой части (табл. 4.9).

Таблица 4.9

Классификация сложных белков

Белки	Примеры
Хромопротеины	Окрашенные белки: • гемоглобин и миоглобин животных и человека содержат в качестве небелкового компонента гем; • меланопротеины животных и человека придают окраску коже, волосам, шерсти, перьям; небелковый компонент образован на основе разных соединений, например является производным Тир; • хлорофилл растений — зеленый пигмент, участвующий в фотосинтезе; в качестве небелкового компонента содержит порфиновое производное
Нуклеопротеины	Дезоксирибонуклеопротеины (ДРНП) и рибонуклеопротеины (РНП) в составе хроматина, вирусов, рибосом. Небелковый компонент — НК (ДНК и РНК)
Липопротеины	Преобладает белковый компонент; соединение белковой и небелковой частей осуществляется двумя видами взаимодействий — гидрофобными (между радикалами высших жирных кислот и аминокислот) и гидрофильными (между полярными группами фосфолипидов и аминокислот). Компоненты клеточных мембран; липопротеины крови — транспортные белки

Белки	Примеры
Протеолипиды	Преобладает липидный компонент; белковая и липидная части соединяются так же, как и у липопротеинов. Оболочки нервных клеток
Гликопротеины	Преобладает белковый компонент; соединение белковой и небелковой частей осуществляется за счет гликозиламидных связей (между ОН-группами углеводов и NH <sub>2</sub> -группами белков) или гликозидных связей (между ОН-группами углеводов и ОН-группами белков). Рецепторы, $\gamma$ -глобулины, $\kappa$ -казеин
Протеогликаны	Преобладает углеводный компонент, представленный уроновыми кислотами или аминасахаридами. Муцины. Гиалуроновая кислота и хондроитинсульфат в составе соединительной и хрящевой ткани соответственно
Фосфопротеины	Остатки фосфорной кислоты соединяются сложноэфирной связью с ОН-группами Сер и Тре. Казеин молока, вителлин желтка яйца, овальбумин белка яйца
Металлопротеины	Ионы железа соединяются с белковой частью координационными связями. Ферритин, железосерные белки, алкогольдегидрогеназа, $\alpha$ -лактальбумин молока

#### 4.4. Особенности белков молока

Молочные белки были выделены в чистом виде в 1880-х гг. Основным белком считался казеин. Менее значимыми считались белки, которые удалось обнаружить в сыворотке, которые так и называли — сывороточные.

Технологический подход позволил выявить основное различие физико-химических свойств этих белков. Казеин проявляет чувствительность к действию кислот и сычужного фермента, а сывороточные белки — нет.

Внедрение метода электрофореза в дальнейших исследованиях выявило неоднородность казеина. Именно при электрофоретическом исследовании в 1939 г. в казеине были обнаружены три фракции. Их назвали греческими буквами  $\alpha$ ,  $\beta$  и  $\gamma$ , в соответствии со скоростью перемещения в электрическом поле.

В более поздних исследованиях идентичным фракциям молочных белков присваивались разные названия, что только усложнило их номенклатуру.

Использование современных методов исследования с высокими разрешающими способностями позволило глубоко детализировать белки молока и пересмотреть их классификацию. Одно из самых уважаемых современных изданий по физике и химии молока предлагает следующую классификацию и номенклатуру (табл. 4.10) [26].

Таким образом, в соответствии с современными представлениями, в молоке выделяют четыре основных класса белков. Греческие буквы по-прежнему обозначают разные фракции. Индекс *s* в  $\alpha$ -фракции казеина введен от англ. *sensitive* — чувствительный, имея в виду чувствительность к Са. Цифры 1 и 2 обозначают номера этих фракций.

Исследование аминокислотных последовательностей белков молока позволило установить, что только  $\alpha_{s1}$ - и  $\alpha_{s2}$ -казеины,  $\beta$ -казеин,  $\kappa$ -казеин,  $\alpha$ -лактальбумин,  $\beta$ -лактоглобулин, альбумин сыворотки крови и иммуно-



## Виды белков молока

Белок	Фракции
Казеины	$\alpha_{s1}$ -казеин; $\alpha_{s2}$ -казеин; $\beta$ -казеин; $\kappa$ -казеин
Сывороточные белки	$\beta$ -лактоглобулин; $\alpha$ -лактальбумин; альбумин сыворотки крови; иммуноглобулин (Ig)
Белки оболочек жировых шариков	Муцин; ксантиноксидаза; бутирофилин; адипофилин; PASIII; PAS 6/7; FAPP
Минорные белки	Сывороточный трансферритин; лактоферрин; $\beta_2$ -микроглобулин; фибронектин; церуплазмин; трипсинингибитор; кининоген; белок, связывающий фолат; белок, связывающий витамин B <sub>12</sub>

глобулин синтезируются как отдельные белковые молекулы. Выделяемые ранее в отдельную фракцию  $\gamma$ -казеин и протеозопептоны являются фрагментами, отщепляемыми от  $\beta$ -казеина.

Секвенированием аминокислотных последовательностей белков молока и нуклеотидных последовательностей в НК обнаружены различные генетические варианты казеина и сывороточных белков. При этом установлены некоторые зависимости между первичной структурой данных белков и их технологическими свойствами (см. следующий подпараграф).

## 4.4.1. Казеины

Общее содержание казеина в молоке 2,6—3,2%. Это составляет 78—82% от всех белков молока.

На долю фракции  **$\alpha_{s1}$ -казеина** приходится 38% общей массы казеина. Полипептидная цепь  $\alpha_{s1}$ -казеина состоит из 199 аминокислот, из них 25 — остатки Глу и 7 — остатки Асп, поэтому в целом молекула имеет отрицательный заряд. Однако заряды расположены не равномерно. Полярная область сосредоточена в центре первичной структуры, с 45-го по 89-й аминокислотный остаток, а гидрофобные участки — в начале и конце полипептидной цепи, с 1-й по 44-ю и с 90-й по 199-ю аминокислоты.

Полярный фрагмент содержит почти все остатки Сер, которые своими спиртовыми гидроксилами связаны с фосфорными остатками. Гидрофобность N- и C-концевых участков  $\alpha_{s1}$ -казеина во многом обусловлена Про.

Эта фракция казеина очень чувствительна к наличию ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и выпадает в осадок, если его концентрация достигает 7 ммоль/л [26].

Фракция  **$\alpha_{s2}$ -казеина** образована из 207 аминокислот, две из них — Цис. Известные генетические варианты (А, В, С и D) различаются количеством присоединенных остатков фосфорной кислоты. В целом эта фракция так же чувствительна к  $\text{Ca}^{2+}$ , как и  $\alpha_{s1}$ -казеин.

Фракция  **$\beta$ -казеина** образована из 209 аминокислот. Особенность  $\beta$ -казеина — высокое содержание Про, который расположен на участке от 44-й до 209-й аминокислоты. В результате этот сегмент обладает большой гидрофобностью, а N-концевой участок от 1-й до 43-й аминокислоты, наоборот, гидрофильный.

После секрекции  $\beta$ -казеин может частично расщепляться *плазмином* (см. Нативные протеиназы в подпараграфе 6.7.3). В зависимости от гидролизующей связи образуются разные фрагменты: с 18-й по 209-ю, с 27-й по

209-ю или со 106-й по 209-ю. Их содержание составляет 3% от массы  $\beta$ -казеина. Несмотря на гидролиз они остаются в составе казеиновых частиц и выпадают в осадок вместе с другими фракциями казеина либо под действием *сычужного фермента*, либо в результате *кислотной коагуляции* при pH 4,6.

N-концевые участки с 1-й по 17-ю и с 1-й по 28-ю очень полярны, благодаря чему обладают большой гидрофильностью и остаются в растворимой форме в водной фазе молока — сыворотке даже после внесения кислоты или сычужного фермента. В этих пептидах нет ароматических аминокислот, что можно использовать при разработке продуктов для больных фенилкетонурией.

Фракция **к-казеина** по химической природе относится к *гликопротеинам*, так как содержит углеводные компоненты, представленные галактозой, N-ацетилгалактозамином, N-ацетилглюкозамином и N-ацетилнейраминовой кислотой (NANA, сиаловая кислота).

Общая длина полипептидной цепи к-казеина составляет 169 аминокислот. В ней выделяют N-концевую гидрофобную часть с 1-й по 105-ю аминокислоту и С-концевой гидрофильный участок со 106-й по 169-ю аминокислоту. Они отделяются друг от друга сычужным ферментом, который расщепляет связь, образованную  $\text{Фен}_{105} - \text{Мет}_{106}$ . Гидрофобную часть называют *пара-к-казеин*, а гидрофильную — *гликомакропептид* (ГМП) или *казеинмакропептид* (КМП). ГМП — очень точное название, поскольку углеводный компонент связан именно с этой частью. Углеводы соединяются с ОН-группами Тре в позициях 131, 133, 135 и 142 и с Сер в позиции 141 [26].

Количество углеводного компонента не является постоянной величиной и может меняться в зависимости от породы коров, стадии лактации и других факторов. Однако установлено, что от содержания углеводной части зависят некоторые технологические характеристики к-казеина:

- повышенное содержание углеводов увеличивает заряд и гидрофильные свойства всей молекулы к-казеина, что улучшает термоустойчивость казеина в целом;
- сычужный фермент наиболее активен в отношении к-казеина, не содержащего углеводной части.

Для технологов особый интерес представляет четвертичная структура основного молочного белка — *казеина*. По мере изучения аминокислотного и фракционного состава этого белка установлено, что это *гетероолигомер*. По химической природе — *фосфопротеин*, в котором фосфорные остатки соединяются с полипептидной цепью через ОН-группы Сер и Тре (рис. 4.19).

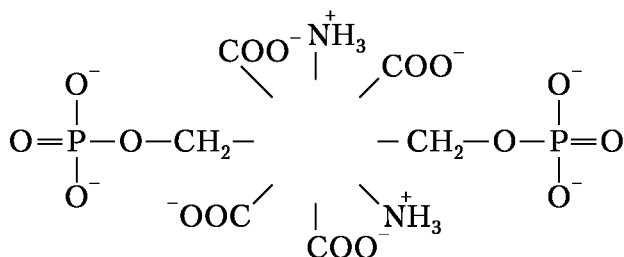


Рис. 4.19. Остатки фосфорной кислоты на поверхности казеинового протомера

Каждая из отдельных фракций казеина имеет:

- гидрофобные участки, склонные к ассоциации благодаря ван-дер-ваальсовым силам;
- гидрофильные фрагменты, способствующие образованию электростатических контактов между полипептидными цепями.

Все это располагает к объединению отдельных протомерных единиц в четвертичную структуру.

К тому же фосфорные группы, способные связывать ионы  $\text{Ca}^{2+}$ , могут образовывать *фосфорно-кальцевые мостики*, соединяющие одну полипептидную цепь с другой, как например на рис. 4.20.

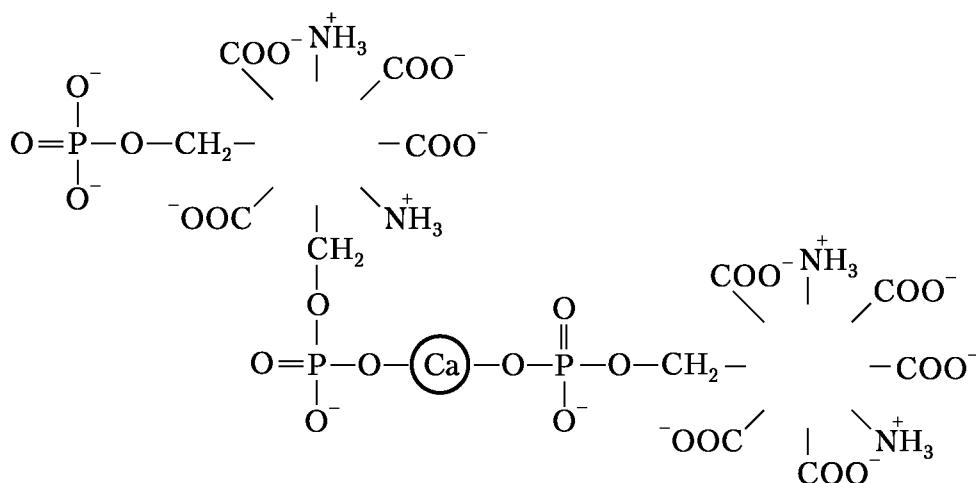


Рис. 4.20. Фосфорно-кальцевый мостик между двумя протомерами казеина

Правда, вопрос присоединения  $\text{Ca}^{2+}$  и структуры кальций-фосфорных мостиков все еще остается дискуссионным. По некоторым данным, такие мостики образуются из комплексных соединений кальция, фосфора, магния и лимонной кислоты, которые находятся в коллоидной форме в водной фазе молока. Есть мнение, что связующим звеном между отдельными полипептидными цепями служит коллоидный фосфат кальция с молекулярной формулой  $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$ . Поэтому схематично соединение нескольких протомеров казеина можно изобразить, как показано на рис. 4.21.

Обычно строение казеиновых олигомеров еще больше упрощают, указывая только атомы Ca между субъединицами (рис. 4.22).

Однако с точки зрения классического взгляда на четвертичную структуру белка *казеин представляет собой надмолекулярный комплекс*, по-

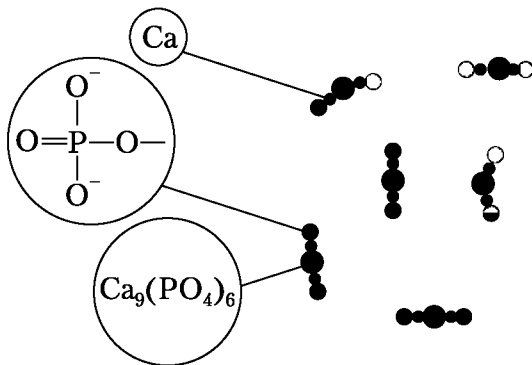


Рис. 4.21. Схема казеинового олигомера

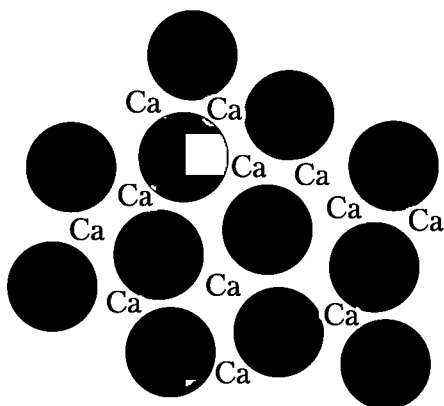


Рис. 4.22. Соединение казеиновых протомеров при участии Ca

сколько роль протомеров (субъединиц) в мультимерах (мицеллах) казеина выполняют объединения белков уже с четвертичной структурой.

Каждый казеиновый мультимер может содержать от 100 до 300 000 молекул казеина. При этом соотношение  $\alpha_{s1}:\alpha_{s2}:\beta:\kappa$ -казеина относительно постоянно и составляет в среднем 3:0,8:3:1.

Каждая отдельная субъединица уже представляет собой молекулу четвертичной структуры, так как образована разными молекулами казеиновых белков. Это могут быть сочетания  $\alpha_{s1}$ - и  $\beta$ -казеина,  $\alpha_{s1}$ - и  $\kappa$ -казеина,  $\beta$ - и  $\beta$ -казеина.

В современном понимании поверхность казеиновых мультимеров сформирована субмицеллами, в которых преобладает  $\kappa$ -казеин, как показано на рис. 4.23. С-Концевая часть его молекулы выступает наружу и придает отрицательный заряд всей глобуле, что препятствует агрегации казеиновых мультимеров и обуславливает их устойчивость в растворимой форме.

При такой организации четвертичной структуры молекулы казеина являются очень пористыми и, находясь в растворе, включают больше половины своей массы воды. По данным А. Тепела, 1 г казеина занимает объем 4,4 см<sup>3</sup> и на него приходится 3,7 г воды.

С технологической точки зрения это очень важная особенность, которую необходимо учитывать в производстве продуктов на основе казеина, при восстановлении молока, изготовлении творога, сыра, сухих молочных консервов и т.д.

Строение казеинового мультимера во многом объясняет ценность молочных белков для состояния пищеварительного канала и биохимии пищеваре-

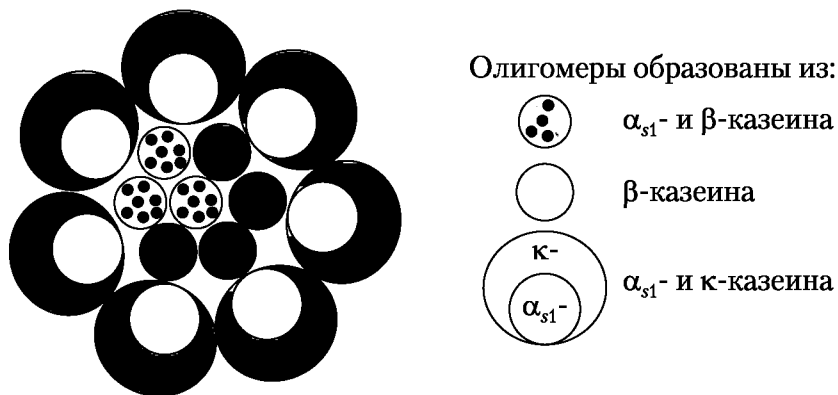


Рис. 4.23. Схема казеиновой частицы (мультимера) (по А. Тепелу)

ния. Во-первых, в хорошо гидратированную пористую структуру казеина облегчен доступ ферментов. Во-вторых, поскольку на поверхность казеиновых частиц выступает углеводный компонент  $\kappa$ -казеина, в составе которого есть NANA (см. рис. 10.11), этим во многом объясняется лечебный эффект применения молочных продуктов при заживлении язв желудка и кишечника.

#### 4.4.2. Сывороточные белки

Остаются в молочной сыворотке после отделения казеина действием сычужного фермента или подкислением до pH 4,6 при температуре 20°C. На их долю приходится от 15 до 22% общей массы белков молока.

Ценность сывороточных белков заключается в их уникальном аминокислотном составе, который лучше сбалансирован, чем у казеина. Внедрение современных мембранных методов в последние годы значительно увеличило объемы переработки сыворотки и получения индивидуальных сывороточных белков. Это позволило глубоко изучить их функциональные свойства.

Сывороточные белки имеют глобулярную форму. В целом содержат незначительные количества Про, но больше Цис, между остатками которого образованы S—S-мостики, что делает молекулы этих белков более компактными по сравнению с казеином.

Основной сывороточный белок —  **$\beta$ -лактоглобулин**. В молоке его содержание составляет 3,5 г/л, а в общем объеме сывороточных белков — 50%.

Молекула  $\beta$ -лактоглобулина образована из 162 аминокислотных остатков. Во вторичной структуре выделяют 10—15%  $\alpha$ -форм и 43% —  $\beta$ -слоев. Остальная часть полипептидной цепи не имеет характерной вторичной структуры. При образовании третичной структуры возникает несколько S—S-мостиков и одна SH-связь остается свободной. Четвертичная структура  $\beta$ -лактоглобулина зависит от реакции окружающей среды (см. рис. 4.11). В изоэлектрическое состояние  $\beta$ -лактоглобулин переходит при pH 5,2.

Температурная денатурация приводит к разворачиванию глобулы и соединению свободной HS-группы с молекулой  $\kappa$ -казеина. Это приводит к двум последствиям, важным в технологическом плане:

- уменьшается доступность  $\kappa$ -казеина для сычужного фермента;
- снижается термоустойчивость молока.

Биологическая роль  $\beta$ -лактоглобулина заключается в способности связывать небольшие гидрофобные молекулы, защищая их от разрушения. В частности, именно таким образом предотвращается окисление витамина А в молоке.

Содержание  **$\alpha$ -лактальбумина** в молоке составляет около 1 г/л, это примерно 3,5% всех белков и 20% сывороточных белков. В полипептидной цепи  $\alpha$ -лактальбумина 123 аминокислотных остатка, из них восемь Цис, между которыми образованы S—S-связи. Также  $\alpha$ -лактальбумин отличается самым высоким содержанием незаменимой аминокислоты Три — 6,6% среди всех пищевых белков. Форма молекулы  $\alpha$ -лактальбумина округлая, 26% структуры составляют  $\alpha$ -спирали, 14% —  $\beta$ -слои, оставшаяся часть неупорядочена [26].

По химической природе  $\alpha$ -лактальбумин является сложным белком — металлопротеином, так как карбоксильные группы Асп связывают кальций. Это повышает его термоустойчивость, и денатурация наступает при 72°C.

Биологическое назначение этого белка — участие в синтезе лактозы (см. параграф 10.8 и рис. 10.52).

К числу сывороточных белков относится **альбумин сыворотки крови**, который действительно переходит в молоко из крови, а не является продуктом синтеза клеток молочной железы — лактоцитов. По числу аминокислотных остатков (582 аминокислоты) это самый крупный сывороточный белок. Третичная структура стабилизирована 17 S—S-связями. Остаток Цис<sub>34</sub> содержит свободную HS-группу. На данный момент считается, что альбумин сыворотки крови выполняет транспортную функцию, связывает металлы и жирные кислоты. Тем самым, видимо, обогащает молоко минералами, поступающими из крови, и способствует образованию ТАГ в процессе синтеза молока.

Однако при хранении и переработке молока связывание жирных кислот альбумином сыворотки крови, вероятно, может способствовать липолизу, поскольку СЖК являются сильными ингибиторами липаз.

**Иммуноглобулины** получили свое название по признаку функциональной активности — за способность инициировать процессы иммунной защиты организма. Иммуноглобулины содержатся в крови, слюне, молоке. При попадании в организм антигенов — чужеродных соединений (бактерий, токсинов, вирусов) нейтрализуют их, образуя комплексы: иммуноглобулин-антиген.

Наибольшим содержанием иммуноглобулинов отличается молозиво. В первые часы после рождения теленка их содержание достигает 100 г/л молозива, но быстро снижается, достигая 0,6—1,0 г/л в обычном молоке [24, 26]. Высокое содержание иммуноглобулинов в молоке обеспечивает новорожденным пассивный иммунитет, пока не сформируется иммунная система.

По химической природе иммуноглобулины — это сложные белки. Непroteinовый компонент представлен *N*-ацетилглюкозамином, *N*-ацетилгалактозамином, *N*-ацетилнейрамином, *D*-галактозой, *D*-маннозой и *L*-фруктозой (см. рис. 10.10 и 10.11).

В молоке обнаружено несколько классов иммуноглобулинов: IgA, IgG и IgM. Структура их хорошо изучена. Все они состоят из нескольких полипептидных цепей разного аминокислотного состава. Больше всего различаются начальные (N-концевые) последовательности, которые отвечают за связывание антигена и поэтому должны обладать особой специфичностью по отношению к нему.

У некоторых иммуноглобулинов полипептидные цепи соединяются с помощью минорных белков гликопротеиновой природы. Их называют свободными секреторными компонентами (FSC — *free secretory component*), поскольку они обнаруживаются не только в структуре иммуноглобулинов, но и в свободном виде в концентрации 50—100 мг/л [26].

Иммуноглобулины не выдерживают высоких температур. Их денатурация начинается при 70°C, а после УВТ-обработки в течение 4 с при 138°C иммуноглобулины полностью теряют свою активность.

Чтобы сохранить функциональные свойства иммуноглобулинов, их выделяют классическим способом высаливания при полунасыщении (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (см. Лабораторный практикум. Осаждение и фракционирование белков при комнатной температуре нейтральными солями) или по более

прогрессивной технологии — методами афинной и гельфильтрационной хроматографии.

В чистом виде выделены иммуноглобулины, обладающие активностью по отношению к ротавирусу, кариесогенным бактериям, *Escherichiacoli* и некоторым другим [20]. Это увеличивает интерес к иммуноглобулинам, которые можно использовать как нативные добавки к пищевым продуктам для сокращения вирусных и бактериальных инфекций и повышения пассивного иммунитета.

В плане аминокислотного состава ценность сывороточных белков больше, чем у казеина (рис. 4.24). Эта особенность широко используется в производстве продуктов специального назначения: для диетического, детского, спортивного питания и др.

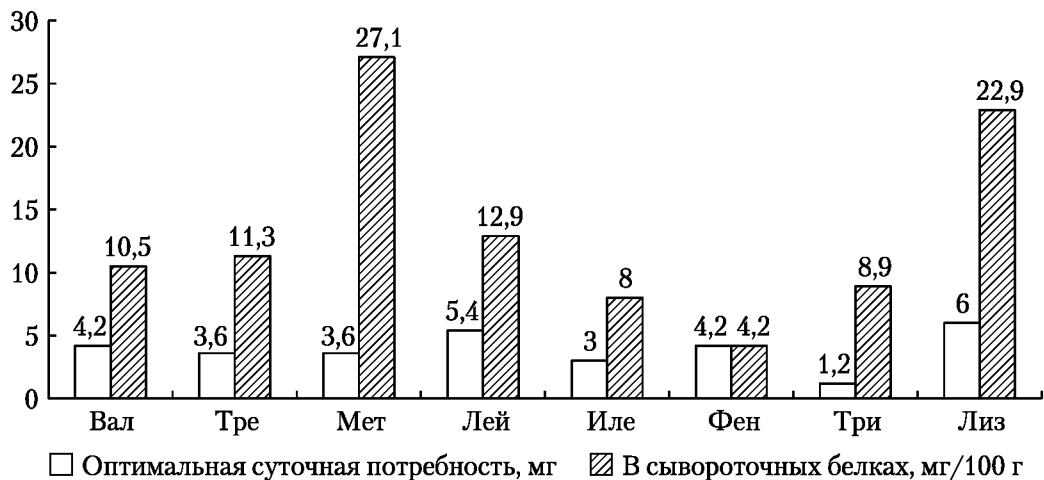


Рис. 4.24. Содержание незаменимых аминокислот в сывороточных белках в сравнении с оптимальной суточной потребностью в них для человека

4.4.3. Белки оболочек жировых шариков

На долю этих белков приходится 1% всех белков молока. По составу и свойствам они существенно отличаются от казеина и сывороточных белков. С помощью электрофореза в белках оболочек жировых шариков удалось выделить 40 компонентов. Большая часть из них находится в следовых количествах. Значительный удельный вес и функциональное значение имеют белки: муцин, ксантиноксидаза, бутирофилин, адипофилин, PASIII, PAS 6/7 и FAPP.

**Муцины.** Имеют большую молекулярную массу (1—10 млн дальтон) и четвертичную структуру, в которой отдельные субъединицы соединяются преимущественно нековалентными связями, но имеются и дисульфидные мостики.

По химической природе — это *протеогликаны*. Углеводный компонент составляет значительную долю и располагается на поверхности олигомеров. Это усиливает их гидрофильные свойства, а также защищает полипептидные цепи от воздействия протеиназ.

Муцины, как и другие белки оболочек жировых шариков, привлекают внимание благодаря своим антимикробным и антиинфекционным свойствам. По-видимому, с разработкой рентабельных методов их выделения муцины можно будет использовать как нативную БАД в производстве функциональных продуктов питания.

*Ксантиноксидаза* — сложный белок, обладающий каталитической активностью (см. рис. 6.26). Составляет 20% всех белков оболочек жировых шариков и связывает практически весь Мо, обнаруживаемый в молоке.

*Бутирофиллин* — также *гликопротеин*, но с ярко выраженными гидрофобными свойствами, благодаря которым легко соединяется с фосфолипидами.

*PASIII (periodic acid schiff)*, *PAS 6/7* и *FAPP* — белки, связывающие жирные кислоты.

#### 4.4.4. Минорные белки

*Сывороточный трансферритин* связывает незначительное количество железа.

*Лактоферрин* относится к гликопротеинам. Углеводная часть представлена фруктозой, галактозой, маннозой, *N*-ацетилгалактозамином и NANA. Этот белок связывает значительную часть железа молока.

Лактоферрин входит в состав антибактериальной системы молока. Антимикробное действие проявляется в дестабилизации оболочек бактерий и в связывании железа, которое становится недоступным для бактерий. Бактериостатическая активность сохраняется и в пищеварительном канале. Также лактоферрин проявляет иммунопротекторные свойства, способствуя образованию лимфоцитов и фагоцитов.

Биологическая ценность лактоферрина настолько значительна, что несмотря на относительно низкое его содержание в молоке, существует промышленный способ получения лактоферрина. Его вводят в состав детских молочных продуктов, продуктов специального назначения, используют в производстве косметических средств.

Белки, связывающие витамины: *белок, связывающий фолат* (витамин  $B_9$ ), и *белок, связывающий витамин  $B_{12}$* , также относят к компонентам антибактериальной системы молока. Их эффект в этом плане подобен лактоферрину. Связывая витамины, они делают их недоступными для нежелательной микрофлоры, т.е. тормозят ее развитие.

### 4.5. Практические примеры

**I. Взаимодействие между радикалами аминокислот влияет на формирование третичной структуры белков.** Имея информацию о последовательности аминокислот в белковой молекуле, можно предположить, какие виды контактов между аминокислотными остатками возникнут при сворачивании полипептидной цепи после образования вторичной структуры. Для наглядности можно изобразить схему известного фрагмента полипептида и воспользоваться информацией о классификации аминокислот (см. табл. 3.2 и 3.3).

Например, известна полипептидная последовательность:

Про-Цис-Лиз-Лей-Гли-Арг-Глу-Арг-Гли-Гис-Цис-Тир.

В данном фрагменте есть *нейтральные аминокислоты*: Про, Гли, Лей, радикалы которых не полярны. Между ними возможно образование гидрофобных контактов, обусловленное ван-дер-ваальсовыми силами взаимодействия.



Между радикалами *кислых* (Глу) и *основных* (Арг) аминокислот возможно образование электростатических взаимодействий или солевых мостиков. Также ОН-группа Тир может оказать некоторое влияние на возникновение полярных контактов между аминокислотными остатками.

В данном пептиде есть остатки цистеина, поэтому при подходящих условиях возможно их окисление и образование S—S-связей.

Следовательно, в формировании третичной структуры белка при участии данного фрагмента могут возникнуть контакты двух типов: слабые (ван-дер-ваальсовы силы и солевые мостики) и прочные (дисульфидные) связи.

**II. Определение первичной структуры пептида методом перекрывающихся последовательностей.** Установлено, что при частичном гидролизе пептида образовались фрагменты:

- а) Гли-Арг-Гли-Арг-Сер;
- б) Фен-Гли-Лей-Гли-Арг;
- в) Арг-Сер-Глу-Три.

Для определения первичной структуры всего пептида необходимо найти в отдельных обрывках одинаковые последовательности и расположить их одну под другой:

Фен-Гли-Лей-Гли-Арг Гли-Арг-Гли-Арг-Сер Арг-Сер-Глу-Три
---

Таким образом восстанавливается первоначальная аминокислотная последовательность анализируемого пептида:

Фен-Гли-Лей-Гли-Арг-Гли-Арг-Сер-Глу-Три
---

**III. Использование принципов диализа** в производстве молока и молочных продуктов основано на том, что с физико-химической точки зрения молоко представляет собой полидисперсную систему. В результате высокомолекулярные и низкомолекулярные компоненты могут быть отделены друг от друга с помощью мембран различной проницаемости. Эти технологии получили название *мембранных методов* разделения. Обычно для повышения производительности процессов применяют давление, поэтому и технологии в целом называют *баромембранными*.

В отличие от фильтрования, когда часть отделяемых веществ находится в твердой фазе, при мембранном разделении образуются два раствора. Раствор, обогащенный высокомолекулярными компонентами, называют концентрат (ретентат от англ. *retention* — сохранение, задержание), а раствор, насыщенный низкомолекулярными соединениями, — фильтрат (пермеат, от англ. *permeate* — проходить, проникать).

Мембраны изготавливают из различных инертных полимерных материалов: ацетата целлюлозы, полиамидов, полисульфона, соединений фтора и т.д. В зависимости от характера мембраны и условий разделения в баромембранных процессах (табл. 4.11) выделяют: микрофильтрацию, ультрафильтрацию, нанофильтрацию и обратный осмос.

Молочные белки, получаемые в баромембранных процессах, не только сохраняют свои полезные свойства, но и концентрируют их. При этом тех-

**Баромембранные процессы и их применение в молочной промышленности [30]**

Процесс	Задерживаемые частицы (размер), мкм	Применение
Микро-фльтрация	Бактерии, споры, жировые шарики (0,05–10,0)	Вследствие удаления бактерий и спор эффективно: в производстве молока с длительным сроком хранения, сухого молока и сухой сыворотки, при подготовке молока для производства сыра, при обработке рассола для посолки сыров. Для разделения казеина и сывороточных белков, которые сохраняют свое нативное состояние, поскольку не подвергались температурной, ферментативной или бактериальной обработке
Ультра-фльтрация	Жировые шарики, белок, небелковые азотистые соединения (0,005–0,1)	Концентрирование молока в сыроделии позволяет исключить нормализацию сухим молоком или другими белковыми добавками, увеличивает выход сыра в сравнении с традиционным способом. Получение концентрата сывороточных белков из сыворотки (творожной, подсырной, казеиновой) или пермеата (от микрофльтрации). Декальцинирование пермеата в производстве лактозы
Нано-фльтрация	Лактоза, небелковые азотистые соединения, отдельные минеральные вещества (0,001–0,005)	В производстве частично деминерализованной (уровень деминерализации достигает 30%) концентрированной молочной сыворотки, которая в дальнейшем направляется на сушку, получение лактозы или дальнейшую деминерализацию электродиализом
Обратный осмос	Минеральные вещества (менее 0,001)	Предварительное концентрирование молока, сыворотки, пермеата в производстве сгущенных и сухих молочных продуктов сокращает объем выпариваемой влаги и экономические расходы

нологические качества часто улучшаются. Например, казеиновый концентрат, полученный микрофльтрацией, обладает способностью к гидратации, а также хорошими эмульгирующими свойствами. Это применяют в разных пищевых технологиях: производстве мясных изделий, сыров, каш, пудингов, десертов и многих других продуктов.

**Задания для самостоятельной работы**

**I.** Среди возможных вариантов выберите единственное верное завершение фразы.

**1.** При гидролизе белков:

- а) образуются пептидные связи;
- б) уменьшается количество свободных  $\text{COOH}$ -групп;
- в) уменьшается количество свободных  $\text{NH}_2$ -групп;
- г) увеличивается количество свободных  $\text{COOH}$ - и  $\text{NH}_2$ -групп;
- д) выделяется углекислый газ.

**2.** Вторичная структура белковых молекул стабилизируется благодаря:

- а) ионным связям;
- б) пептидным связям;

- в) водородным связям;
- г) электростатическим контактам;
- д) гидрофобным взаимодействиям.

**3.** Слоисто-складчатая структура белков может быть сформирована:

- а) параллельными и антипараллельными полипептидными цепями;
- б) разными протомерами;
- в) только гидрофобными полипептидными цепями;
- г) только одинаковыми полипептидными цепями;
- д) полипептидными цепями, образованными только из полярных аминокислот.

**4.** Гидрофильные свойства белков обусловлены:

- а) большой молекулярной массой молекул;
- б) сложной структурной организацией молекул;
- в) присутствием большого числа свободных  $\text{COOH}$ - и  $\text{NH}_2$ -групп;
- г) возможностью образовывать водородные связи;
- д) сильной гидратацией молекул.

**5.** В изоэлектрической точке молекулы белков:

- а) имеют максимальную гидрофильную оболочку;
- б) имеют максимальный одноименный заряд;
- в) подвергаются гидролизу;
- г) электронейтральны и легко агрегируют;
- д) лучше всего растворяются.

**6.** Буферные свойства белков обусловлены:

- а) большой молекулярной массой молекул;
- б) наличием гидрофобных зон в молекулах белков;
- в) присутствием большого числа свободных  $\text{COOH}$ - и  $\text{NH}_2$ -групп;
- г) возможностью образовывать водородные связи;
- д) сильной гидратацией молекул.

**7.** В белках, изоэлектрическая точка которых находится в щелочной среде, преобладают:

- а) минорные аминокислоты;
- б) нейтральные аминокислоты;
- в) кислые аминокислоты;
- г) основные аминокислоты;
- д) незаменимые аминокислоты.

**8.** Разбавленные растворы солей тяжелых металлов:

- а) улучшают растворимость белков;
- б) необратимо осаждают белки;
- в) обратимо осаждают белки;
- г) используют для отщепления С-концевой аминокислоты в молекуле белка;
- д) используют для отщепления N-концевой аминокислоты в молекуле белка.

**9.** В фосфопротеинах остатки фосфорной кислоты соединяются с белковой частью:

- а) сложноэфирной связью с  $\text{COOH}$ -группами Асп и Глу;
- б) сложноэфирной связью с  $\text{OH}$ -группами Сер и Тре;
- в) фосфоамидной связью с  $\text{NH}_2$ -группами Лиз и Арг;

- г) эфирной связью с радикалами Ала и Вал;
- д) сложноэфирной связью с ОН-группой Тир.

**10. Казеин — это:**

- а) минорный белок молока;
- б) фосфопротеин молока;
- в) компонент иммуноглобулинов молока;
- г) компонент лактоглобулинов молока;
- д) биологически не полноценный белок.

**11. Денатурация сывороточных белков происходит при нагревании молока до 70°C и выше. Это результат:**

- а) гидролиза пептидных связей;
- б) разрыва дисульфидных связей и разворачивания полипептидной цепи;
- в) отщепления N-концевой аминокислоты;
- г) отщепления C-концевой аминокислоты;
- д) изменения ИЭТ белка.

**12. Третичная структура белковых молекул формируется без участия**

- а) ионных связей;
- б) пептидных связей;
- в) водородных связей;
- г) электростатических контактов;
- д) гидрофобных взаимодействий.

**13. Иммуноглобулины молока — компоненты:**

- а) казеина;
- б) сывороточных белков;
- в) альбумина сыворотки крови;
- г) белков оболочек жировых шариков;
- д) минорных белков.

**14. Коллоидные свойства белков обусловлены:**

- а) их аминокислотным составом;
- б) высокой молекулярной массой и большим размером молекул;
- в) их термолабильностью;
- г) пептидными связями;
- д) наличием надвторичных структур.

**15. В составе белков молока не обнаружена аминокислота:**

- а) оксипролин;
- б) оксизин;
- в) валин;
- г) треонин;
- д) тирозин.

**16. Белки гистоны:**

- а) содержат не менее 30% основных аминокислот;
- б) входят в состав кератина;
- в) содержат до 90% аргинина;
- г) не растворимы в воде;
- д) относятся к хромопротеинам.

**17. Миоглобин и цитохромы — представители:**

- а) хромопротеинов;
- б) нуклеопротеинов;

- в) фосфопротеинов;
- г) гликопротеинов;
- д) липопротеинов.

**18.** Критерием при оценке биологической полноценности белков служит:

- а) первичная структура;
- б) вторичная структура;
- в) третичная структура;
- г) четвертичная структура;
- д) аминокислотный состав.

**19.** Сывороточные белки молока:

- а) образуют гель под действием реннина;
- б) образуют коллоидный осадок в присутствии ионов кальция;
- в) не участвуют в образовании сычужного сгустка, так как не чувствительны к сычужному ферменту;
- г) не чувствительны к нагреванию и выдерживают температуру до 140°C;
- д) выпадают в осадок при достижении изоэлектрической точки, которой соответствует рН 4,6.

**20.** Белок  $\alpha$ -лактальбумин:

- а) необходим для синтеза молочного сахара;
- б) синтезируется не в лактоцитах, а поступает в молоко из крови;
- в) чувствителен к действию сычужного фермента;
- г) не содержит S—S-связей;
- д) транспортирует липиды.

**21.** При денатурации  $\beta$ -лактоглобулина:

- а) происходит связывание ионов кальция;
- б) возрастает гидратация его молекулы;
- в) образуются дисульфидные связи;
- г) повышается термоустойчивость молока;
- д) уменьшается доступность к-казеина для сычужного фермента.

**II.** Дайте аргументированный ответ, сопровождая его при необходимости расчетами и соответствующими превращениями.

**1.** Дайте определение белков. Опишите их характерные признаки и функции. Каков элементный состав белков?

**2.** Дайте определение первичной структуры белков. Напишите графическую формулу фрагмента полипептидной цепочки. В чем заключаются особенности пептидной связи?

**3.** Из  $\beta$ -казеина выделен гептапептид опиоидного характера, состоящий из Тир, Про, Фен, Гли и Иле в соотношении 1:3:1:1:1. Восстановите аминокислотную последовательность данного пептида, если при его частичном гидролизе обнаружены следующие трипептиды: Фен-Про-Гли, Тир-Про-Фен, Гли-Про-Иле.

**4.** При переваривании казеина выделяются различные биологически активные пептиды. Например, один из казокининов, снижающих давление крови, включает 10 аминокислот. Установите его структуру, если известно, что N-концевая аминокислота — Тир, С-концевая — Арг, а при частичном гидролизе образовались следующие пептиды: Тир-Гли, Вал-Арг, Гли-Про, Гли-Глу-Про, Про-Вал, Вал-Лей-Гли.

**5.** В молоке обнаружены пептиды, способные связывать минеральные вещества в кишечнике и тем самым улучшающие их всасывание. Один из них является нанопептидом с N-концевой аминокислотой Сер. При неполном гидролизе его идентифицированы четыре последовательности:

Глу-Глу-Иле, Про-Асп, Сер-Сер-Глу, Иле-Вал-Про.

Восстановите первичную структуру данного пептида.

**6.** Из  $\kappa$ -казеина молока выделены пептиды казоплателины, препятствующие образованию тромбов. В одном из них 11 аминокислотных остатков. N-концевая аминокислота — Мет. При частичном гидролизе кислотой образовались пептиды: Иле-Про-Про-Лиз, Ала-Иле-Про, Про-Лиз-Лиз-Асн, Лиз-Асн-Глн, Про-Лиз-Лиз-Асн. Установите первоначальную структуру данного пептида.

**7.** В белках выделяют несколько уровней организации, стабилизированных разными контактами. Какие структуры и связи могут разрушаться при нагревании белков до 70°C?

**8.** По химической природе белки делят на простые и сложные. К какой из этих групп относится основной белок молока казеин? Охарактеризуйте его особенности в плане: биологической ценности, основных физико-химических свойств, технологических качеств.

**9.** Гидрофильность белков — важнейшее их качество. Объясните, какими особенностями белковых молекул оно обусловлено. Схематично покажите образование гидрофильной оболочки на поверхности белковой частицы. Какое значение гидрофильность белков имеет в различных пищевых технологиях?

**10.** Традиционный способ производства творога заключается в сквашивании молока и последующем его отваривании. Проанализируйте эти процессы с точки зрения биохимических превращений.

**11.** Для отделения белков от водной фазы существует несколько способов. Перечислите их. Объясните механизм осаждающего действия каждого из способов. В каком случае результат будет обратимым, в каком — нет? Какой из вариантов осаждения белков может применяться в пищевых технологиях с учетом биологической безопасности продуктов?

**12.** В производстве творога и сыра важнейшей технологической операцией является отделение белков от водной фазы. От нее зависят в дальнейшем органолептические характеристики и выход продуктов. Все ли белки молока удастся выделить в производстве данных продуктов? Какую роль в этих процессах играет изоэлектрическое состояние казеина? Дайте понятие изоэлектрической точки белков.

**13.** Многие технологические приемы производства пищевых продуктов связаны с коллоидными свойствами белков. Чем они обусловлены? Объясните смысл понятий: золь, гель, коагуляция, синерезис.

**14.** В современных баромембранных методах отделения белков молока используются их особенности как коллоидов. Перечислите основные виды баромембранных методов и приведите примеры их использования.

**15.** Ряд биологически активных пептидов молока обладают способностью связывать различные минеральные элементы кроме Са, что повышает их усвояемость. Минералы образуют соли с фосфорной кислотой, которая

соединяется с остатками Сер в таких пептидах. Покажите присоединение  $\text{H}_3\text{PO}_4$  к остаткам Сер, а затем образование солей с микроэлементами в следующих вариантах.

Фрагмент пептида	Микроэлементы			
Глу-Сер-Лей	Fe	Cu	Zn	Mo
Лей-Сер-Сер				
Сер-Сер-Глу				
Сер-Глу-Глу				
Глу-Глу-Сер				
Глу-Сер-Иле				

## Глава 5

# НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

В результате изучения материала данной главы студент должен:

### **знать**

- значение и функции НП и НК в организме;
- химический состав НК (виды углеводов и азотистых оснований), различие состава ДНК и РНК;
- строение и названия структурных компонентов НК — нуклеозидмонофосфатов;
- особенности строения полинуклеотидной цепи (5'-начало, 3'-конец, межнуклеотидные и N-гликозидные связи);
- как устроена вторичная структура ДНК, параметры двойной спирали;
- принципы формирования третичной структуры ДНК в прокариотических и эукариотических клетках;
- разновидности РНК, их содержание, особенности строения вторичной и третичной структур, функции в клетке;

### **уметь**

- составлять графические формулы азотистых оснований (кето- и енольные формы), отдельных нуклеозидов и нуклеотидов;
- писать графические формулы фрагментов НК и реакции их гидролиза;

### **владеть**

- простейшими способами выделения НП из биологического материала;
- качественными реакциями для открытия структурных компонентов НК.

**Нуклеиновые кислоты — это небелковый компонент нуклеопротеинов.**

В настоящее время нуклеиновые кислоты (НК) рассматривают как *над-молекулярные комплексы* и по наличию небелкового компонента выделяют *дезоксирибонуклеопротеины* (ДРНП) и *рибонуклеопротеины* (РНП). Соотношение белковой и небелковой частей в нуклеопротеинах может быть различным (рис. 5.1).

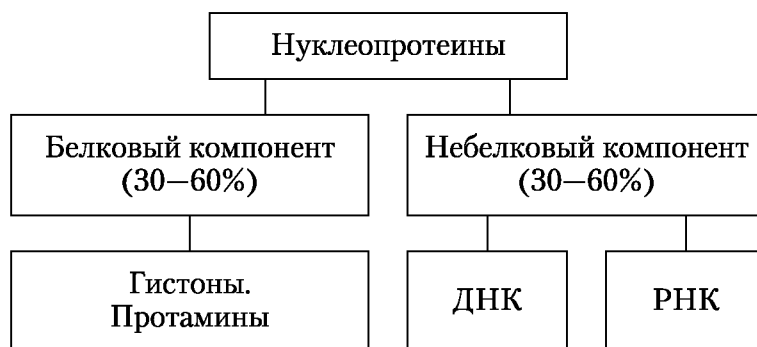


Рис. 5.1. Состав нуклеопротеинов



Хранение и передача генетической информации обеспечиваются благодаря нуклеиновым кислотам. *Дезоксирибонуклеиновая кислота* (ДНК) хранит генетическую информацию, а *рибонуклеиновая кислота* (РНК) реализует эту информацию.

Первооткрывателем НК считается швейцарский физиолог Фридрих Мишер (1844–1894). Он обнаружил НК в 1869 г. в ядрах клеток, поэтому поначалу назвал их нуклеином, а когда у открытого вещества были обнаружены кислотные свойства, добавилось слово «кислота». Позже, когда стало ясно, что НК могут присутствовать и вне ядер, первоначальное название сохранилось.

Биохимики не сразу оценили роль НК. В 1880–1890 гг. немецкий биохимик Альбрехт Кессель (1853–1927) обнаружил, что НК сопутствуют белки. Поначалу считалось, что НК выполняют вспомогательные функции, а ведущая роль отводилась белкам. Мнение кардинально изменилось в 1944 г. после эксперимента, проведенного американским врачом Освальдом Эвери (1877–1955) совместно с Колином Маклеодом и Маклином Маккарти. Объектом их исследований были пневмококки — бактерии, вызывающие пневмонию. Работая с микроорганизмами и их экстрактами, ученые выяснили, что не белки, а именно НК участвуют в передаче генетической информации. Этот момент считается поворотным в биохимии НК — им отводится роль ключевого вещества жизни.

Окончательное представление о роли нуклеиновых кислот в клетке сформировалось к середине XX в. после того, как был изучен их состав и проведены многочисленные и разноплановые исследования свойств и функций нуклеиновых кислот.

## 5.1. Состав нуклеиновых кислот

Состав нуклеиновых кислот был изучен еще в конце XIX в. с помощью простых методов: гидролиза и качественных реакций на структурные компоненты. Так было выяснено, что в составе нуклеиновых кислот есть *углеводы, азотсодержащие соединения и фосфорная кислота*.

Углеводы представлены пентозами — *рибозой* и *дезоксирибозой* (рис. 5.2), которые обнаружены соответственно в РНК и ДНК. Углеродные атомы сахара принято обозначать цифрой со штрихом: 1', 2' и т.д., в отличие от углеродных атомов азотсодержащих соединений.

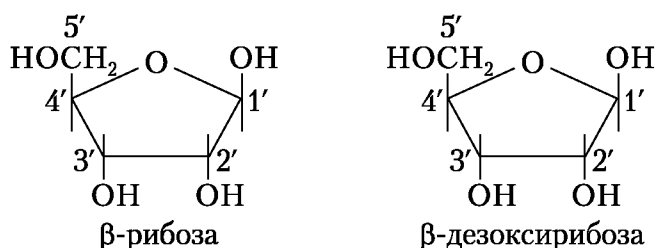
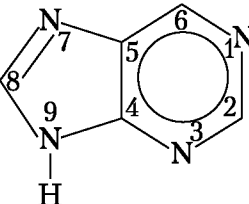
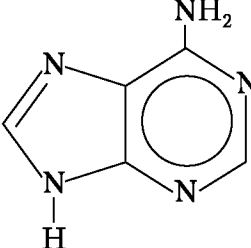
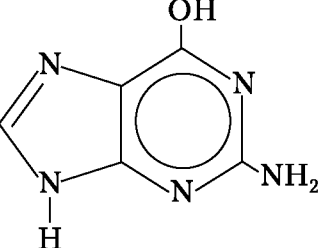
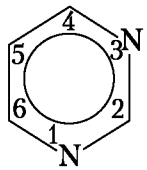
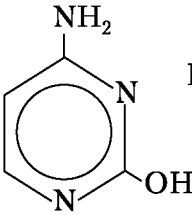
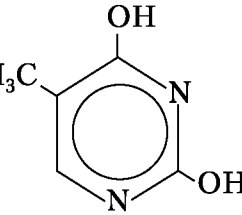
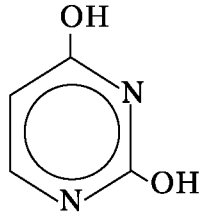


Рис. 5.2. Пентозы, входящие в состав ДНК и РНК

Азотсодержащие соединения представлены производными двух гетероциклов — *пурина* и *пиримидина*. Вершины в них принято нумеровать, как показано в табл. 5.1. Важнейшие производные пурина — это *аденин* (А) и *гуанин* (Г), а *пиримидина* — *цитозин* (Ц), *тимин* (Т) и *урацил* (У).

Структуры азотистых оснований

Гетероциклы	Их производные
 <p>Пурин</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div>  <p>Аденин (А)</p> </div> <div>  <p>Гуанин (Г)</p> </div> </div>
 <p>Пиримидин</p>	<div style="display: flex; justify-content: space-around;"> <div>  <p>Цитозин (Ц)</p> </div> <div>  <p>Тимин (Т)</p> </div> <div>  <p>Урацил (У)</p> </div> </div>

В состав ДНК входят А, Г, Ц, Т, а в РНК — А, Г, Ц, У<sup>1</sup>.

Азотистые основания могут существовать в двух таутомерных формах, которые называют соответственно *кето-енольными* или *лактим-лактамами* (рис. 5.3).

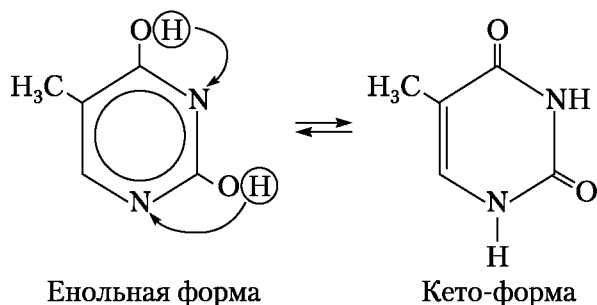


Рис. 5.3. Образование таутомерных форм азотистых оснований

Биологическая роль азотистых оснований не ограничивается НК. Например, пиримидиновый цикл есть в составе витамина В<sub>1</sub> или препаратов для лечения гипертиреоза. Производное пуринового цикла в виде мочевой кислоты является компонентом неферментной антиоксидантной системы организма.

## 5.2. Структуры нуклеиновых кислот

В период с конца 1920-х гг. до начала 1950-х гг. были открыты новые факты, связанные со структурой и функцией нуклеиновых кислот. Многие исследователи вели работы в этом направлении. В настоящее время эти знания выстроены в строгую систему, знакомство с которой позволит понять сложную структурную организацию и функции нуклеиновых кислот.

<sup>1</sup> Кроме этих азотистых оснований в нуклеиновых кислотах обнаружены редкие, минорные: 1-метиладенин, 2-метиладенин, N<sub>6</sub>-диметиладенин, 1-метилгуанин, 7-метилгуанин, N<sub>2</sub>-диметилгуанин. Как следует из названий, минорные азотистые основания содержат дополнительные метильные группы, которые защищают нуклеиновые кислоты от повреждения клеточными нуклеазами.

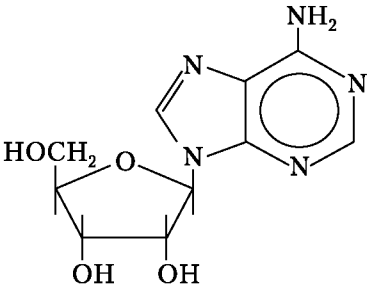
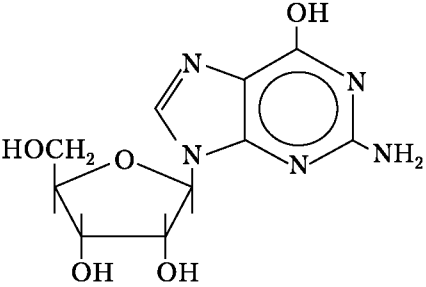
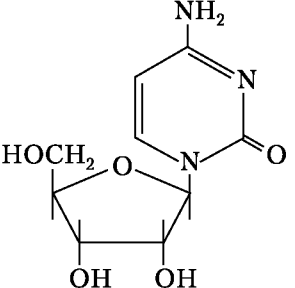
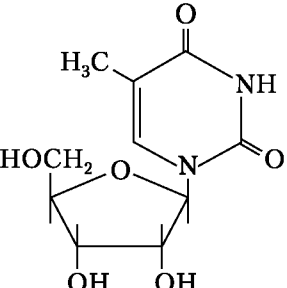
5.2.1. Структурные звенья нуклеиновых кислот

В результате соединения азотистого основания и углевода образуется молекула — **нуклеозид**. По принципу построения нуклеозиды относятся к классу гликозидов, в которых азотистое основание присоединяется к углеводу по месту гликозидного гидроксила (см. рис. 10.12). Установлено, что пиримидиновые азотистые основания присоединяются через 1-й атом азота, а пуриновые — через 9-ю вершину (табл. 5.2).

Если к 5'-углеродному атому сахара присоединяется остаток фосфорной кислоты, то образуется **нуклеотид** или **нуклеозидмонофосфат**. Нуклеотиды подразделяют по числу фосфорных остатков. Это отражают в названии нуклеотида соответствующей приставкой *моно-*, *ди-* или *три-*, которую ста-

Таблица 5.2

Структуры и названия нуклеозидов

Название азотистого основания		Название нуклеозида	Строение нуклеозида
русское	международное		
Аденин	Adenine	Аденозин (может быть и дезоксиаденозин)	
Гуанин	Guanine	Гуанозин (может быть и дезоксигуанозин)	
Цитозин	Cytosine	Цитидин (может быть и дезоксицитидин)	
Тимин	Thymine	Тимидин (может быть и дезокситимидин)	

Название азотистого основания		Название нуклеозида	Строение нуклеозида
русское	международное		
Урацил	Uracil	Уридин	

вят перед суффиксом *фосфат* (фосфорная кислота). Если фосфорных остатков два — *нуклеозиддифосфат*, если присоединяется три фосфорных остатка — *нуклеозидтрифосфат* (рис. 5.4).

Дезоксинуклеотиды обозначаются соответствующей приставкой *дезокси-*.

Нуклеозидфосфаты выполняют разные функции в организме: входят в состав ряда ферментов, участвуют в синтезе биополимеров, регуляции обменных процессов. Например, два производных нуклеозидмонофосфатов — циклические: аденозинмонофосфат (цАМФ) и гуанозинмонофосфат (цГМФ) известны как внутриклеточные посредники (см. табл. 8.2).

Также нуклеозидфосфаты являются макроэргическими соединениями, т.е. используются как источники энергии в клетке. Как известно из курса общей химии, вся энергия в молекулах хранится в химических связях. При разрушении связей эта энергия выделяется. Связи считаются нормальны-

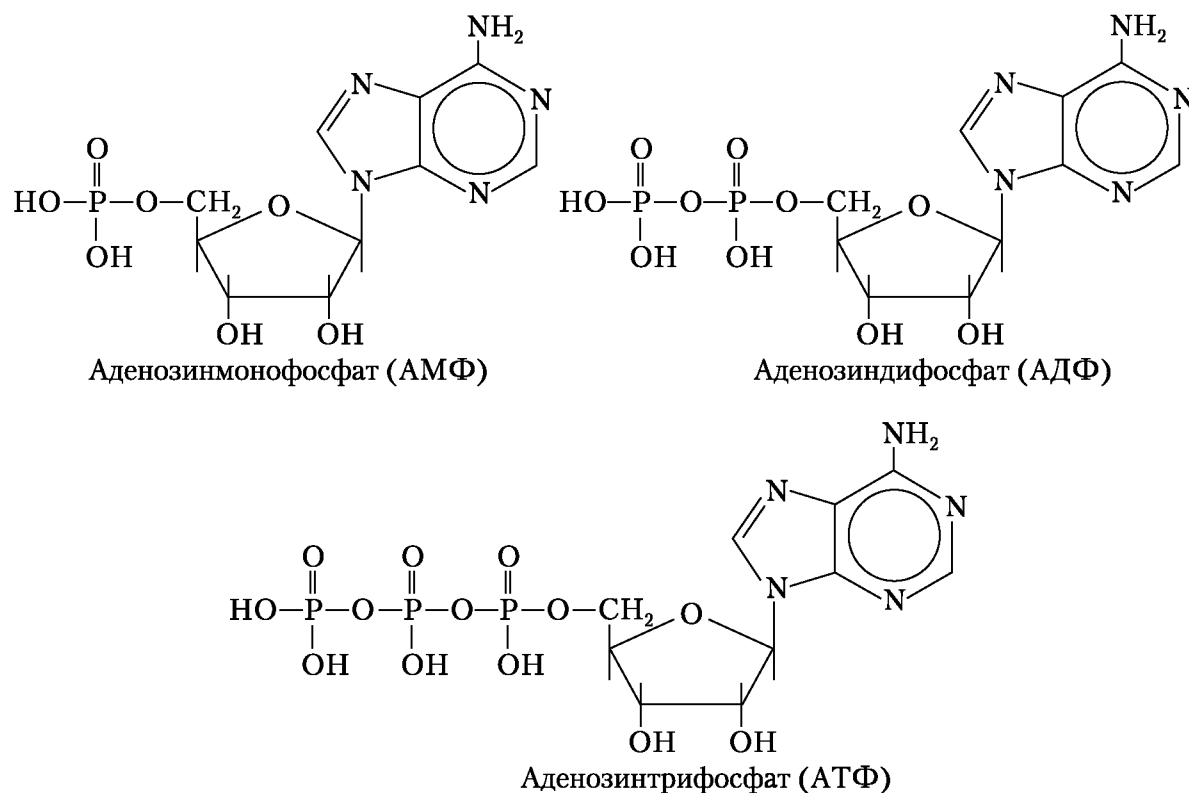
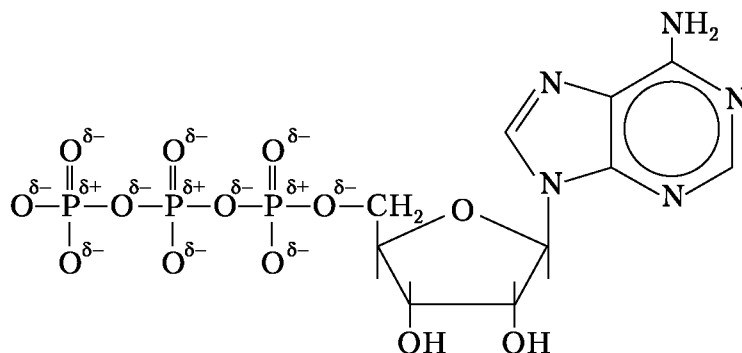


Рис. 5.4. Структуры АМФ, АДФ, АТФ

ми, если при их разрыве выделяется до 25 кДж/моль. При расщеплении *макроэргических*, богатых энергией связей, выделяется 25—50 кДж/моль.

Универсальным источником энергии является АТФ. Считают, что эти свойства проявляются у АТФ благодаря особому строению трифосфатной части.

Как очевидно из рис. 5.5, на этом участке молекулы АТФ положительные заряды локализуются на атомах фосфора, а отрицательные — на окружающих их атомах кислорода. Вероятно, именно чередование отрицательных и положительных зарядов имеет существенное значение для выделения повышенного количества энергии при гидролитическом отрыве фосфатных групп. Подсчитано, что при образовании АДФ из АТФ выделяется около 35 кДж/моль.



**Рис. 5.5. Чередование зарядов на трифосфатном участке молекулы АТФ**

В клетках энергия, накопленная в виде АТФ, используется для различных форм движения, транспорта веществ, в реакциях биосинтеза нуклеиновых кислот, белков, углеводов, липидов и т.д.

Основное предназначение нуклеозидмонофосфатов — это структурные звенья нуклеиновых кислот.

Нуклеиновые кислоты — это биополимеры, в строении которых выделяют *несколько уровней организации*.

### 5.2.2. Первичная структура нуклеиновых кислот

**Первичная структура нуклеиновых кислот — это полинуклеотидная цепь, в которой нуклеотиды соединяются 3',5'-фосфодиэфирными связями.**

Фосфодиэфирные 3',5'-связи иначе называют *межнуклеотидными*.

Началом цепи считают 5'-конец, у которого 5'-углеродный атом сахара имеет только фосфорный остаток. Окончание цепи — это нуклеотид, у которого 3'-углеродный атом сахара содержит ОН-группу. Этот нуклеотид называют 3'-концом полинуклеотидной цепи. Различать начало и конец полинуклеотидной цепи принципиально важно, поскольку при описании последовательности нуклеотидных остатков генетического кода их перечисляют от 5'-конца к 3'-концу. Например, последовательность, показанная на рис. 5.6, б, будет записана: 5'-дТдЦдАдГ-3'. При этом буквой «д» сокращенно обозначается приставка дезокси-, указывающая, что это фрагмент ДНК.

Принцип построения первичной структуры ДНК и РНК одинаков (см. рис. 5.6), но существенная разница заключается в размерах, а точнее в длине полинуклеотидной цепи. Все объясняется назначением нуклеиновых

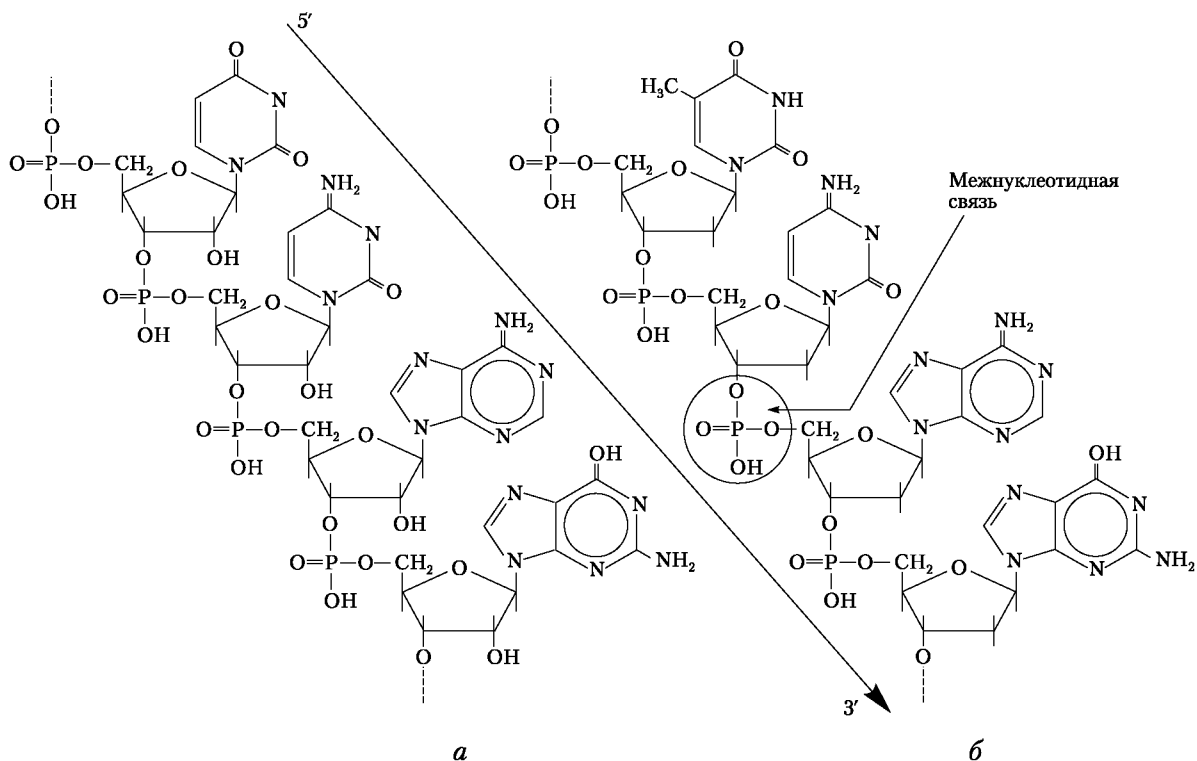


Рис. 5.6. Фрагмент первичной структуры:  
а – РНК; б – ДНК

кислот в клетке. В молекуле ДНК записана вся генетическая информация о данном виде, а РНК лишь реализует эту информацию, причем не всю одномоментно, а фрагментарно, по мере необходимости. Поэтому молекулы ДНК гораздо больше молекул РНК.

Для количественной характеристики существует *коэффициент поликонденсации* — число нуклеотидных остатков в полинуклеотидной цепи. Коэффициент поликонденсации РНК составляет десятки, сотни и тысячи нуклеотидных остатков, а в ДНК их количество больше в тысячи раз. Для наглядности ДНК сравнивают с целой библиотекой, а РНК с отдельной книгой. Если нам хочется прочитать какое-либо произведение, мы не перечитываем всю мировую литературу, а берем отдельную книгу. Так же и в живой природе. Если клетке в определенный момент необходим какой-то белок, она не переписывает всю генетическую информацию (ДНК), а использует лишь информацию о данном белке (РНК).

Следующие уровни организации ДНК и РНК имеют существенные различия.

### 5.2.3. Вторичная структура ДНК

**Вторичная структура ДНК — двойная спираль из двух антипараллельных полинуклеотидных цепей.**

Модель вторичной структуры ДНК была предложена Джеймсом Уотсоном и Фрэнсисом Криком<sup>1</sup> в 1953 г. Эти ученые обобщили большой объем

<sup>1</sup> Ф. Крик, Д. Уотсон, М. Уилкинс — лауреаты Нобелевской премии по физиологии и медицине 1962 г. «За открытия, касающиеся молекулярной структуры нуклеиновых кислот и их значения для передачи информации в живых системах».

предыдущих исследований. В частности, они опирались на работы Эрвина Чаргаффа (1905—2002), который с сотрудниками опубликовал сенсационные результаты по установлению химической структуры нуклеиновых кислот. Изучив огромное количество образцов различных органов и тканей у разных организмов, они установили, что в ДНК разных организмов содержится неодинаковое количество азотистых оснований. Например, в состав ДНК, выделенной из ядер клеток человека, входит 30% аденина, 20% гуанина, 30% тимина и 20% цитозина. У бактерий эти цифры значительно отличаются и, к примеру, у *Sarcinalutea* составляют соответственно 13, 37, 13 и 37%. Однако для одного и того же организма соотношение между нуклеотидами постоянно, независимо от того, из клеток каких тканей выделена ДНК. Это значит, что во всех клетках, например, человека, ядерная ДНК будет содержать 30% аденина. Эти закономерности получили название *правил Чаргаффа*.

1. Количество нуклеотидов с аденином равно количеству нуклеотидов с тимином, а количество нуклеотидов с гуанином равно количеству нуклеотидов с цитозином ( $A = T$ ,  $G = C$ ).

2. Количество пуриновых нуклеотидов равно количеству пиримидиновых нуклеотидов ( $A + G = T + C$ ).

3. Количество оснований с аминогруппами в положении 6 равно количеству оснований с кетогруппами в положении 6 ( $A + C = G + T$ ). В то же время отношение  $(A + T)/(G + C)$  у ДНК разных видов может быть различно. У одних организмов преобладают пары А и Т, у других — Г и Ц.

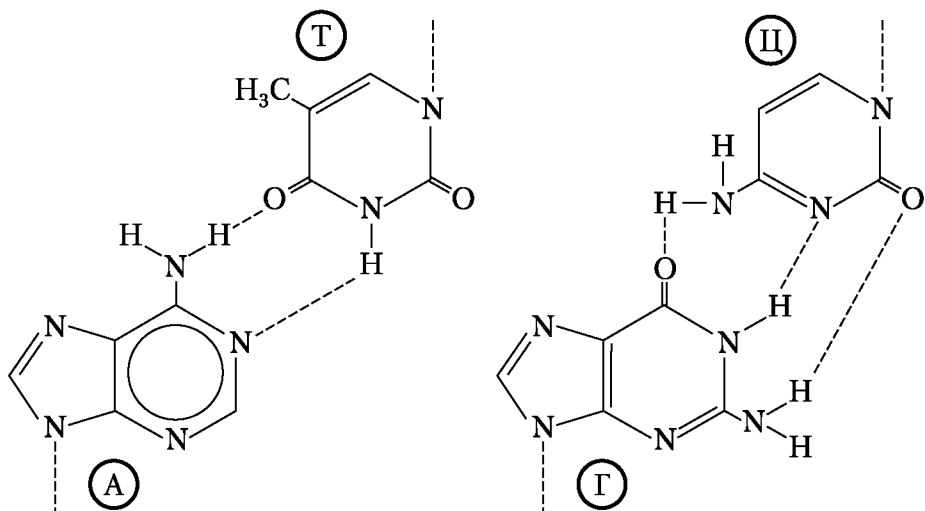
Главным толчком к установлению вторичной структуры ДНК послужили рентгенограммы волокон ДНК, полученные в 1952 г. Розалин Франклин (1920—1958). При анализе этих снимков ею были сделаны выводы о том, что спираль ДНК состоит из двух нитей, в которых фосфатные группы располагаются снаружи, а основания внутри спирали, что в одном витке укладывается 10 пар нуклеотидов, шаг спирали равен 3,4 нм, а одна нить сдвинута относительно другой по вертикали на 3/8 витка. С помощью рентгеноструктурного анализа был выяснен наружный и внутренний диаметр нитей ДНК.

Сопоставив эти данные с работами Э. Чаргаффа, Д. Уотсон и Ф. Крик сделали абсолютно справедливый вывод о взаимном связывании больших и малых азотистых оснований друг с другом парами, которые называют *комплементарными*: А-Т и Г-Ц. Установлено, что пара А-Т удерживается двумя водородными связями, а Г-Ц — тремя, как показано на рис. 5.7.

Модель Уотсона и Крика полностью подтверждена последующими исследованиями.

В настоящее время хорошо известны *параметры двойной спирали*.

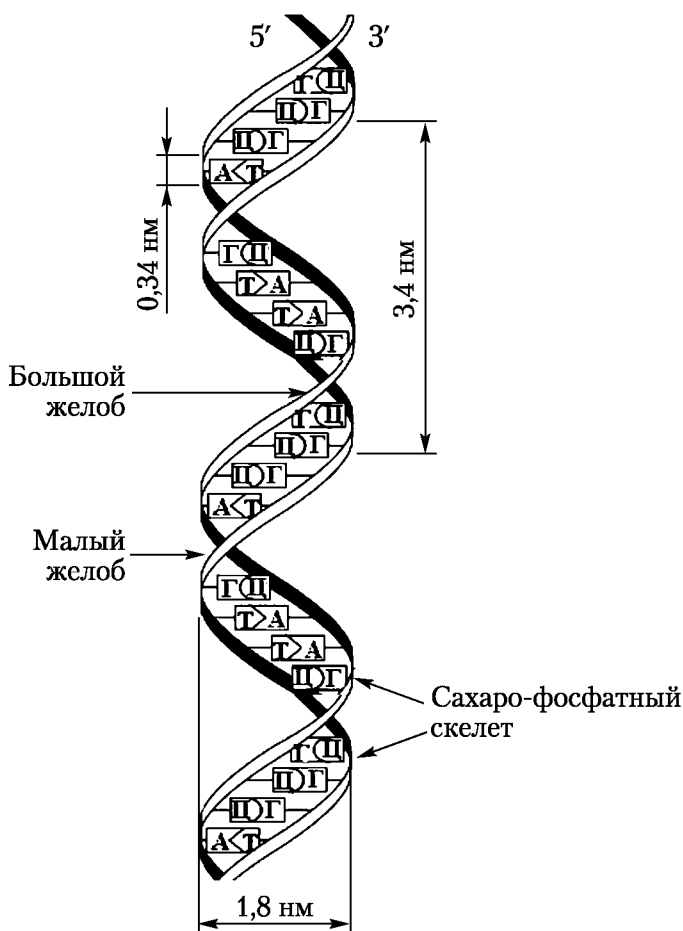
- Спираль закручена по часовой стрелке.
- Цепи являются антипараллельными, т.е. начало одной цепи расположено рядом с концом другой цепи.
- Остатки дезоксирибозы и фосфорной кислоты образуют сахаро-фосфатный скелет и расположены на внешней стороне спирали.
- Остатки азотистых оснований обеих цепей уложены стопкой внутри спирали так, что плоскости этих оснований перпендикулярны оси.
- На каждый виток спирали приходится ровно 10 нуклеотидных пар.
- Шаг спирали равен 3,4 нм, а расстояние между отдельными нуклеотидами составляет 0,34 нм.



**Рис. 5.7. Образование водородных связей в комплементарных парах нуклеотидов**

- Внешний диаметр спирали составляет примерно 2 нм, а внутренний — 1 нм.

Кроме представленной на рис. 5.8 формы ДНК, которую называют *B*-форма, существует несколько ее разновидностей. В них сохраняется общий план построения вторичной структуры ДНК, но различаются некоторые параметры: угол наклона азотистых оснований к оси спирали, число нуклеотидных остатков в одном витке и т.д.



**Рис. 5.8. Вторичная структура ДНК**

Источник: URL: <http://commons.wikimedia.org>



Цепи двойной спирали, как и подходящие азотистые основания, называют комплементарными, но информация, записанная на них, различна. Например, для фрагмента 5'-дТдЦдАдГ-3', показанного на рис. 5.6, б, комплементарная последовательность будет записана так: 5'-дЦдТдГдА-3'.

Если известна нуклеотидная последовательность одной цепи, всегда можно определить последовательность другой.

#### 5.2.4. Третичная структура ДНК

Третичная структура ДНК существенно различается у высших и низших организмов.

**В прокариотических клетках молекулы ДНК в третичной структуре существуют в разных формах: линейной, кольцевой, в виде скрученной кольцевой или компактного клубка.**

Эти структуры могут взаимно переходить из одной формы в другую (рис. 5.9).

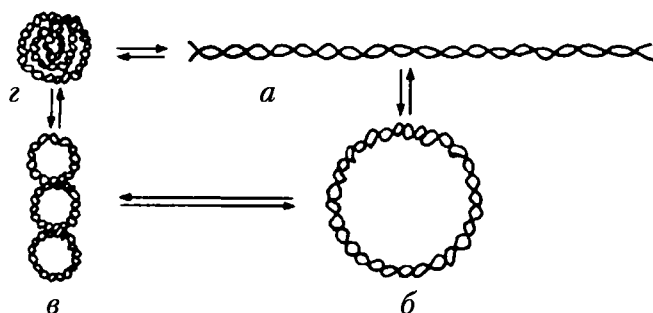


Рис. 5.9. Разновидности третичной структуры ДНК прокариот:

*a* — линейная; *б* — кольцевая; *в* — скрученная кольцевая; *г* — клубок

**В эукариотических клетках третичная структура ДНК формируется в комплексе с белками и представляет собой многократно суперспирализованную молекулу.**

Смысл спирализации заключается в том, чтобы сделать молекулу ДНК короче. Она имеет очень маленький диаметр (около 2 нм) и большую длину. Подсчитано, что если нить ДНК человека распрямить, то ее длина будет более 1,5 м. Кажется просто невероятным, что она может поместиться не только в клетку, а в ядро. Это становится возможным после многократного скручивания и спирализации.

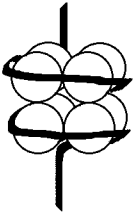
В формировании третичной структуры ДНК участвуют белки **гистоны**. Они относятся к основным белкам, из-за большого содержания аминокислоты Гис. Своими ионизированными NH<sub>2</sub>-группами гистоны связываются с фосфорными остатками и компенсируют кислотные свойства ДНК.

Третичная структура ДНК эукариот формируется поэтапно, как описано в табл. 5.3. На каждом этапе происходят уплотнение и укорачивание молекулы ДНК в несколько раз.

Визуально этапы уплотнения и формирования третичной структуры ДНК эукариот можно представить, как показано на рис. 5.10.

Помимо ядерной ДНК в эукариотических клетках есть небольшое количество цитоплазматической ДНК, которая располагается за пределами яд-

## Этапы образования третичной структуры ДНК в эукариотических клетках

Этап	Особенности
Нуклеосомный	<p>Восемь молекул гистонов образуют октамер, который дважды обвивается двойной спиралью ДНК — формируется <b>нуклеосома</b>.</p> <p>Нуклеосомы одна за другой образуют нуклеосомный тяж (хроматиновую нить), наружный диаметр которой равен 11 нм. Нить ДНК при этом укорачивается в 7 раз</p> 
Соленоидный	<p>Хроматиновая нить сворачивается таким образом, что в одном витке укладывается шесть нуклеосом или 1200 нуклеотидов — образуется <b>фибрилла</b> с наружным диаметром 30 нм. Нить ДНК укорачивается в 40 раз</p>
Диффузный хроматин	Фибриллы скручиваются и при этом становятся еще короче
Конденсированный хроматин	Уплотнение и дальнейшее скручивание диффузного хроматина
Хромосома	Образована конденсированным хроматином; содержит также не-гистоновые белки

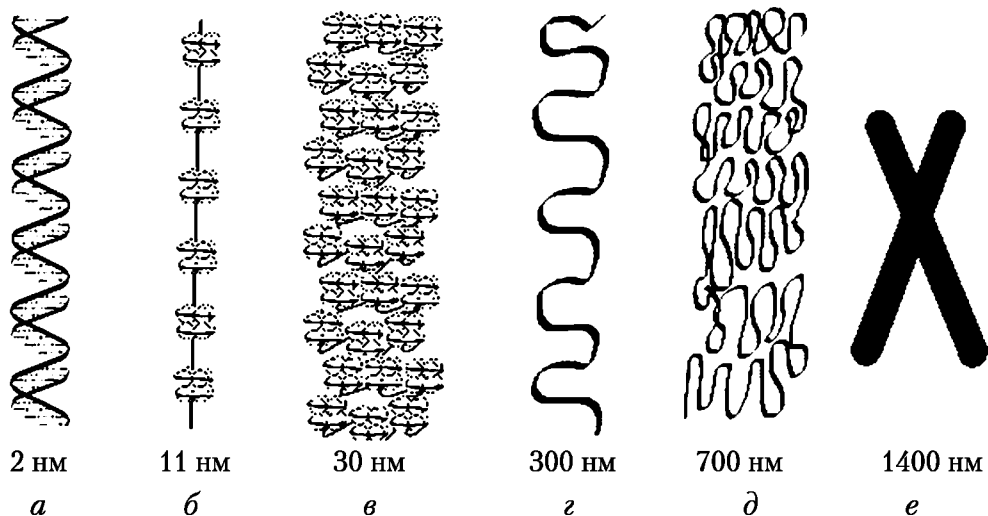


Рис. 5.10. Формирование третичной структуры ДНК эукариот:

*a* — вторичная структура ДНК; *б* — нуклеосомный тяж; *в* — фибрилла;  
*г* — диффузный хроматин; *д* — конденсированный хроматин; *е* — хромосома

ра, в цитоплазме. Ее содержание составляет не более 0,2% всей клеточной ДНК. Внеядерная ДНК составляет химическую основу **плазмид** — цитоплазматических факторов наследственности; отличается от ядерной ДНК набором АО и молекулярной массой.

Внеядерная ДНК воспроизводится независимо от репликации хромосом. Она обеспечивает контроль синтеза токсинов, специфических поверхностных антигенов, устойчивость к некоторым антибиотикам и другим соединениям.

Благодаря способности быстро копироваться и легко передаваться от одной клетки к другой плазмиды активно используются в генной инженерии. В технологических процессах плазмиды находят применение для промышленного производства ферментов и гормонов.

### 5.3. Виды РНК

Всего выделяют три разновидности РНК: информационную (иРНК), транспортную (тРНК) и рибосомальную (рРНК).

Содержание всех видов РНК в клетке в пересчете на массу в 5–10 раз больше, чем содержание ДНК. Это объяснимо предназначением РНК. ДНК только хранит генетическую информацию, которая может многократно копироваться. Молекулы РНК участвуют в синтезе всех белков организма, которые постоянно обновляются. Это требует присутствия большого количества всех видов РНК.

Замечено, что начало синтеза белка в клетке совпадает с увеличением содержания и скорости обновления РНК в цитоплазме клетки, причем в большей степени это касается иРНК и тРНК.

**Матричная или информационная РНК** условно обозначается мРНК или иРНК, иначе РНК-посредник в передаче генетической информации в белок, синтезирующий аппарат клетки. Служит матрицей для синтеза белка. На долю матричной РНК приходится лишь 2–10% всей массы РНК в клетке.

*Информационная РНК отвечает единственному критерию: последовательность нуклеотидных остатков в молекуле несет информацию, обеспечивающую синтез специфического белка непосредственно на ней самой.*

Другие параметры значительно различаются.

- Молекулярные массы иРНК варьируют в широких пределах: от нескольких сотен тысяч до нескольких миллионов дальтон. Как правило, у моноцистронных иРНК (кодируют биосинтез одного белка) молекулярные массы меньше, чем у полицистронных иРНК (кодируют биосинтез нескольких функционально связанных белков). Коэффициент седиментации<sup>1</sup> иРНК колеблется от 10 Св до 65 Св [27].

- Продолжительность жизни молекул иРНК достигает нескольких секунд и минут у бактерий или нескольких часов, дней и недель у эукариот.

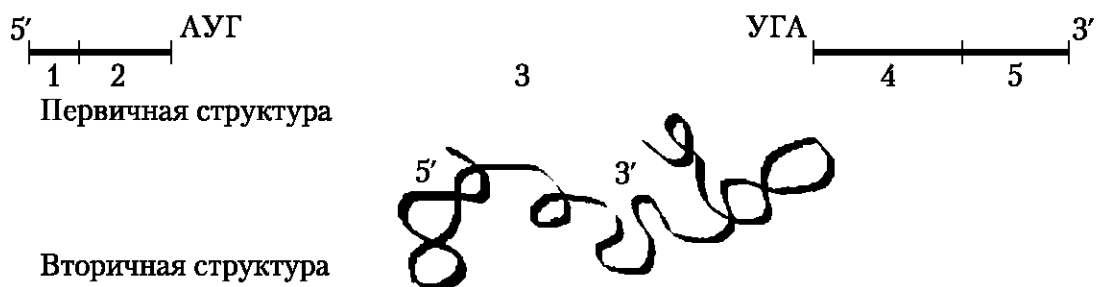
- Нуклеотидный состав бактериальных иРНК отличается ДНК-подобием, чего не наблюдается у иРНК эукариот.

Первичная структура иРНК — полинуклеотидная цепь, состоящая из участков разной функциональной значимости. Если расположить их по порядку от начала полинуклеотидной цепи, то 1-й, 2-й, 4-й и 5-й участки являются не информативными (рис. 5.11), но выполняют определенные нагрузки.

На 1-м с 5'-конца участке находится сайт связывания с рибосомой. Это особая сигнальная последовательность Шайна — Дальгарно<sup>2</sup> АГГАГГУ, которой соответствуют комплементарные нуклеотиды (УЦЦУЦЦА) на 3'-конце рРНК. Благодаря такому соответствию мРНК закрепляется на рибосоме. Также считают, что 1-й с 5'-конца фрагмент защищает иРНК от экзонуклеаз. Такими свойствами он обладает благодаря особому строению: один из нуклеотидов — 7-метилгуанозин присоединен через трифосфатную группировку. В результате образуется «защитный козырек». Поэтому и весь 1-й участок называют кэп (англ. *cap* — кепка).

<sup>1</sup> За единицу измерения константы седиментации принят 1 свёдберг (Св или S), равный  $10^{-13}$  с; эта константа зависит от массы и формы частицы (макромолекулы) и для белков изменяется в пределах 1–200 Св. Назван в честь шведского химика Теодора Свёдберга (1884–1974), удостоенного в 1926 г. Нобелевской премии «За работы в области дисперсных систем».

<sup>2</sup> Описана австралийскими учеными Джоном Шайном и Линн Дальгарно.



**Рис. 5.11. Схематичное изображение структур иРНК:**

серым цветом выделен информативный участок, который начинается иницирующим кодоном АУГ, а завершается одним из терминирующих кодонов (УГА, УАА или УАГ)

Также не несут информации 2-й и 4-й фрагменты, которые различаются размерами. Протяженность 2-го участка составляет 30—100 нуклеотидов, а 4-го участка — достигает 100—1000 нуклеотидов. Эти зоны необходимы для акцептирования белковых факторов и связывания с рибосомой.

На 3'-конце располагается 5-й участок — полиадениловый. Он тоже не информативен, но участвует в созревании иРНК эукариот, способствует переносу иРНК из ядра в цитоплазму и др.

Лишь 3-й по порядку участок является информативным. Он выполняет кодирующую функцию, поэтому его иначе называют *транслируемый фрагмент*. Он начинается через 10—12 нуклеотидов от последовательности Шайна — Дальгарно и всегда открывается *инициирующим кодоном АУГ*. Завершается информативный фрагмент одним из *терминирующих кодонов* (УГА, УАА или УАГ).

Во вторичной структуре полинуклеотидная нить иРНК сворачивается, образуя короткие двухцепочечные участки, которые возникают благодаря спариванию комплементарных оснований А с Т и Г с Ц.

**Транспортная РНК** составляет 15—16% всей массы РНК в клетке. *Функция тРНК* — перенос определенных аминокислот на рибосому в ходе *белкового синтеза*. То, что аминокислота доставляется в рибосому молекулами тРНК, доказано изотопными методами. В модельных системах, содержащих тРНК, связанные с аминокислотами, мечеными изотопом  $^{14}\text{C}$ , концентрация меченых аминокислот уменьшается в соответствии с тем количеством, которое обнаруживается в синтезируемом белке.

В «алфавите» нуклеиновых кислот четыре «буквы» — А, Г, Ц, Т(У), а в «алфавите» белков — 20 «букв» (аминокислот). Роль переводчика наследственной информации с языка нуклеиновых кислот на язык белков и выполняет тРНК.

Ее молекулы самые маленькие среди всех видов РНК. Они содержат в большинстве своем 75 нуклеотидов, поэтому изучены очень хорошо. Именно в молекулах тРНК обнаружено больше всего минорных азотистых оснований. Предполагают, что редкие азотистые остатки защищают тРНК от рибонуклеаз и участвуют в связывании и кодировании аминокислот. Во всех случаях 3'-конец тРНК завершается триплетом ЦЦА (рис. 5.12).

Вторичная структура тРНК — это спирализованный сам на себя полинуклеотид, напоминающий по форме клеверный лист. Биспиральные участки возникают за счет спаривания комплементарных пар А-Т и Г-Ц. Неспирализованные зоны формируют петли.

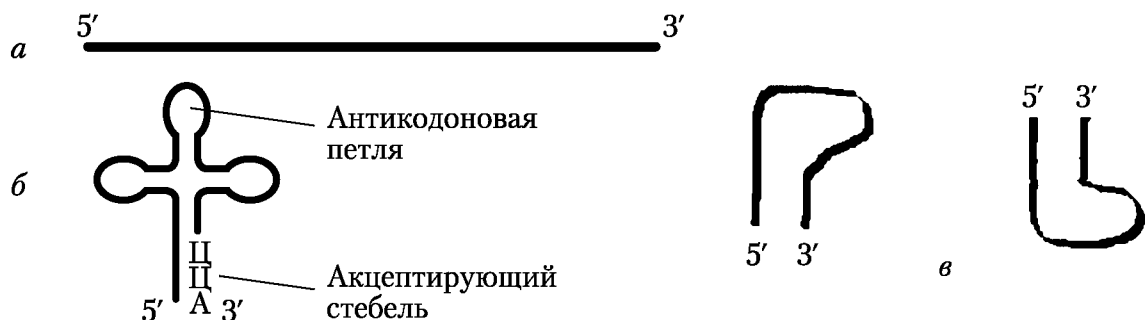


Рис. 5.12. Схематичное изображение структур тРНК:

а — первичная; б — вторичная; в — третичная

Наиболее значимые участки — это *акцептирующий стебель* и *антикодоновая петля*. К акцептирующему стеблю через 3'-концевой аденозин присоединяется аминокислота (см. рис. 13.16 и 13.17). В противоположной стороне, на антикодоновой петле есть триплет (*антикодон*), который комплементарен триплету (*кодону*) на иРНК. Для каждой тРНК ее антикодон — это особое сочетание нуклеотидов. Следовательно, после присоединения аминокислоты к акцептирующему стеблю каждая аминокислота получает свой шифр в антикодоновой петле тРНК.

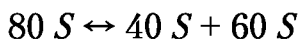
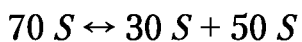
В третичной структуре «клеверный лист» более компактно сложен и похож на заглавную букву Г или латинскую L. При этом антикодоновая петля и акцептирующий стебель пространственно разделены — расположены в противоположных концах.

**Рибосомальная РНК** определила название клеточной органеллы рибосомы. Термин «рибосома» предложил в 1958 г. Ричард Робертс вместо длинного определения — рибонуклеопротеиновая частица микросомальной фракции. А концепция формирования рибосомы, в которой молекула рРНК служит каркасом для присоединения рибосомных белков, выдвинута русским биохимиком Александром Сергеевичем Спириным (род. 1931 г.).

В зависимости от размера и молекулярной массы, которую определяют по константе седиментации, все рибосомы делят на два класса:

- 70 S — присутствует у всех прокариот, а также в ядрах, митохондриях и хлоропластах эукариот;
- 80 S — характерна для цитоплазмы эукариот.

Форма и структура рибосом, выделенных из разных источников, сходны. В каждой рибосоме выделяют две субъединицы: большую L (от англ. *large*) и малую S (от англ. *small*), также различающиеся константами седиментации. Стабилизация малой и большой субъединиц в одну рибосому происходит в присутствии катионов  $Mg^{2+}$ , концентрация которых должна достигать 0,001 М. Если концентрация  $Mg^{2+}$  уменьшается на порядок — до 0,0001 М, то рибосомы диссоциируют:



Рибосомальная РНК составляет основную массу всех видов РНК — 80—85% и выполняет при этом несколько *функций*:

- служит структурной основой рибосомы;
- связывает белковые факторы, необходимые для функционирования рибосомы;

- взаимодействует с иРНК и тРНК, а также участвует в формировании белковой молекулы.

Первичная структура рРНК, как и у других видов нуклеиновых кислот, — полинуклеотидная цепь. Известно несколько видов рРНК, различающихся молекулярной массой, которую характеризуют константой седиментации  $S$ , — *низкомолекулярные* и *высокомолекулярные* рРНК. К низкомолекулярным относят рРНК 5  $S$  и 5,8  $S$ , содержащие по 120 и 158 нуклеотидных остатков соответственно. Высокомолекулярными считаются рРНК 16—18  $S$ , включающие 1500—1800 нуклеотидных остатков, и 23—28  $S$ , в которых содержится 2000—4500 нуклеотидов [27]. Они отличаются также различной локализацией в рибосоме, которая схематично отражена на рис. 5.13.

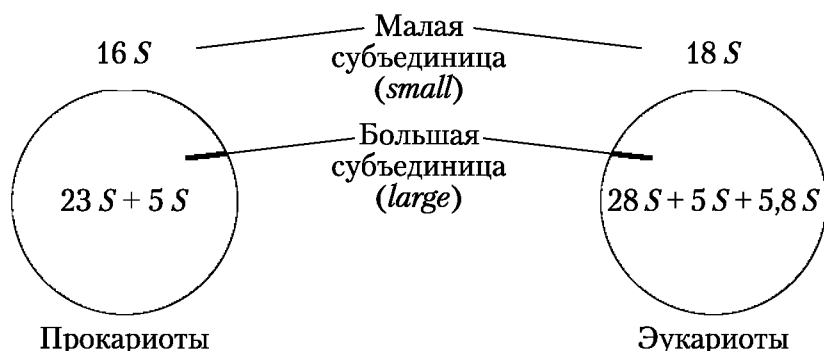


Рис. 5.13. Локализация рРНК в рибосомах

Вторичная структура рРНК — спирализованный сам на себя одонитевый полинуклеотид. Возникает при сворачивании нити рРНК и спаривании комплементарных оснований (А-Т и Г-Ц), при этом образуется то или иное количество биспиральных участков и петель. Вокруг них за счет электростатических сил ориентируются белки, формируя рибонуклеопротеиновый тяж.

Третичная структура рРНК — сворачивание рибонуклеопротеинового тяжа в компактную систему, которая собственно является рибосомной субъединицей.

Работы, направленные на изучение структур отдельных субъединиц рибосом и на раскрытие механизмов взаимодействий между всеми видами РНК, активно ведутся в последние десятилетия. «За исследования структуры и функций рибосомы» трое ученых-биохимиков: Венкатраман Рамакришнан из Великобритании, американец Томас Стейц и Ада Йонат из Израиля получили Нобелевскую премию по химии в 2009 г.

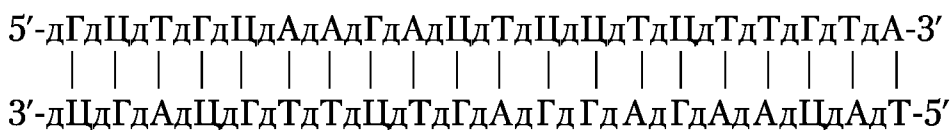
## 5.4. Практические примеры

**I. Определение последовательности нуклеотидов в цепи ДНК** можно установить теоретически, если известна последовательность комплементарной цепи. В противоположной цепи азотистые основания всегда соединяются по принципу комплементарности: А-Т и Г-Ц. При этом следует учитывать, что две нити ДНК являются антипараллельными, т.е. их 5'-начала и 3'-концы (см. рис. 5.8) расположены в противоположных направлениях.

Например, дана нуклеотидная последовательность:

5'-дГдЦдТдГдЦдАдАдГдАдЦдТдЦдЦдТдЦдТдГдУдА-3'

Следовательно, комплементарная данной цепи последовательность:



Однако при описании генетической информации последовательность нуклеотидов всегда перечисляется от 5'-конца к 3'-концу. Поэтому окончательный ответ — определяемой нити ДНК соответствует последовательность:



Этот пример хорошо иллюстрирует, что хотя цепи и являются комплементарными друг другу, последовательность нуклеотидов в них не одинаковая, а значит они содержат в себе информацию о разных белках.

**II. Построение фрагмента ДНК, комплементарного данному.** Для вторичной структуры ДНК характерно строгое соответствие нуклеотидов в смежных цепях: А-Т и Г-Ц. По известной последовательности нуклеотидов в одной цепи можно построить комплементарный ей фрагмент. Если использовать графические формулы соединений, то на образованной структуре можно указать водородные связи, соединяющие азотистые основания.

Например, известна последовательность в одной из цепей ДНК:



Из краткой записи понятно, что данная последовательность включает три нуклеотида, два из которых — это аденозин и третий — гуанозин.

Сначала необходимо изобразить графически отдельные нуклеозиды (см. табл. 5.2), а затем соединить их между собой фосфодиэфирными связями, как в первичной структуре НК (см. рис. 5.6). В данном случае получится фрагмент полинуклеотидной цепочки (рис. 5.14).

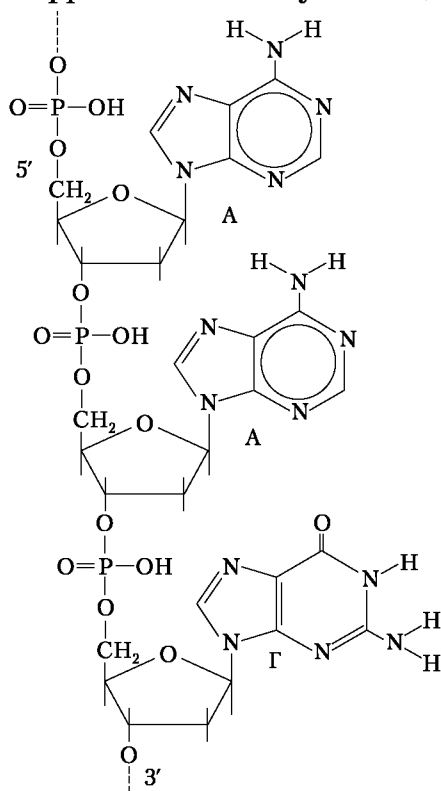


Рис. 5.14

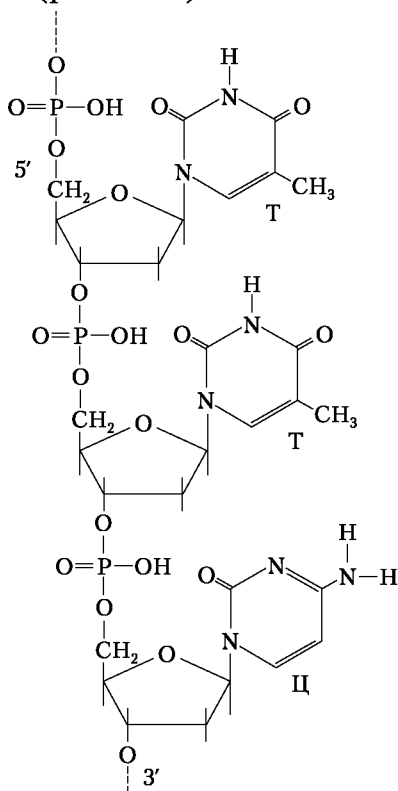


Рис. 5.15

Поскольку аденин (А) всегда спаривается с тиминам (Т), а гуанин (Г) — с цитозином (Ц), то комплементарная цепь будет состоять их двух нуклеотидов с тиминам и одного с цитозином. При этом следует помнить, что смежная цепь является антипараллельной (рис. 5.15, см. рис. 5.8).

Чтобы соединить между собой антипараллельные цепи, для тренировки на черновике можно написать комплементарную цепь 5'-ЦТТ-3' как обычно, а затем перевернуть листочек «вверх ногами» и приложить к исходной цепи. Теперь останется только показать пунктирными линиями водородные связи между азотистыми основаниями (рис. 5.16, см. рис. 5.7).

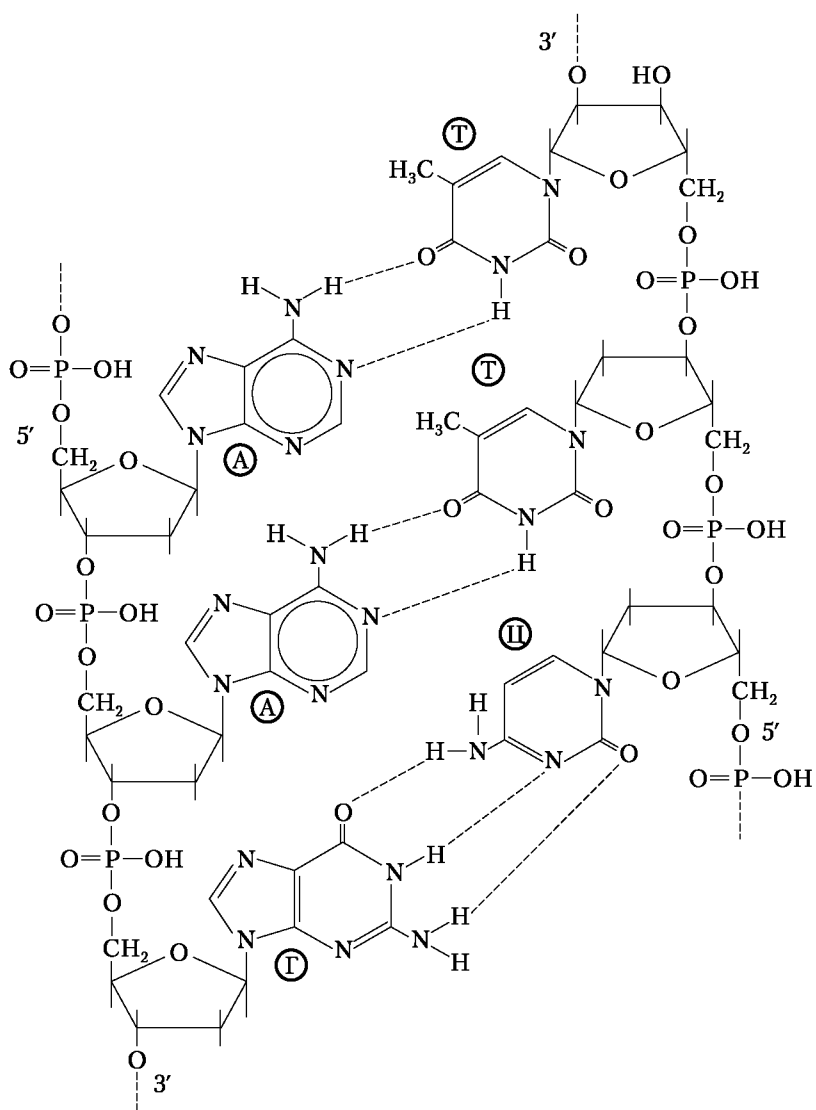


Рис. 5.16

### Задания для самостоятельной работы

I. Среди возможных вариантов выберите единственное верное завершение фразы.

1. Полный кислотный гидролиз ДНК дает следующие перечисленные вещества, кроме:

- а) дезоксирибозы;
- б) аденина;
- в) аденозинмонофосфата;



- г) фосфорной кислоты;
- д) пуриновых оснований.

2. Полный кислотный гидролиз РНК дает следующие перечисленные вещества, кроме:

- а) дезоксирибозы;
- б) аденина;
- в) фосфорной кислоты;
- г) пиримидиновых оснований;
- д) пуриновых оснований.

3. В нуклеиновых кислотах отдельные нуклеотиды соединяются:

- а) 3',5'-фосфодиэфирными связями;
- б) пептидными связями;
- в) водородными связями;
- г) ионными связями;
- д) координационными связями.

4. Коэффициент поликонденсации характеризует:

- а) число нуклеотидных остатков в тРНК;
- б) число нуклеотидных остатков в иРНК;
- в) число нуклеотидных остатков в полинуклеотидной цепи;
- г) число пар с Г и Ц;
- д) число пар с А и Т.

5. Во вторичной структуре ДНК азотистые основания соединяются:

- а) 3',5'-фосфодиэфирными связями;
- б) пептидными связями;
- в) водородными связями;
- г) ионными связями;
- д) координационными связями.

6. В составе ДНК и РНК содержатся одинаковые:

- а) пуриновые азотистые основания;
- б) пиримидиновые основания;
- в) углеводы;
- г) метилированные производные пиримидиновых оснований;
- д) дезаминированные пиримидиновые основания.

7. Во вторичной структуре ДНК:

- а) наружный диаметр равен 3,4 нм;
- б) внутренний диаметр равен 0,34 нм;
- в) расстояние между соседними нуклеотидами составляет 1 нм;
- г) в одном витке укладывается 10 пар нуклеотидных остатков;
- д) между собой спариваются пуриновые азотистые основания.

8. В молекуле тРНК 3'-конец завершается триплетом:

- а) ЦЦЦ;
- б) ЦЦА;
- в) ЦАА;
- г) ЦАЦ;
- д) ААА.

II. Дайте аргументированный ответ, сопровождая его при необходимости расчетами и соответствующими превращениями.

1. Постройте нуклеотид из предложенных фрагментов и назовите его:

Вариант	Фрагменты		
	углевод	азотистое основание	фосфорный компонент
1	Рибоза	Урацил	$\text{H}_3\text{PO}_4$
2	Дезоксирибоза	Тимин	$2\text{H}_3\text{PO}_4$
3	Рибоза	Аденин	$3\text{H}_3\text{PO}_4$
4	Дезоксирибоза	Гуанин	$\text{H}_3\text{PO}_4$
5	Рибоза	Цитозин	$2\text{H}_3\text{PO}_4$
6	Дезоксирибоза	Аденин	$3\text{H}_3\text{PO}_4$
7	Рибоза	Гуанин	$\text{H}_3\text{PO}_4$
8	Дезоксирибоза	Тимин	$\text{H}_3\text{PO}_4$
9	Рибоза	Урацил	$2\text{H}_3\text{PO}_4$
10	Дезоксирибоза	Цитозин	$3\text{H}_3\text{PO}_4$

**2.** Опишите особенности строения полинуклеотидной цепи. Что считают ее началом и концом? Какие различия существуют между полинуклеотидной цепью ДНК и РНК:

- по составу;
- по размерам?

**3.** Для вторичной структуры ДНК характерно строгое соответствие нуклеотидов в смежных цепях. По известной последовательности нуклеотидов в одной цепи постройте комплементарный ей фрагмент, используя только графические формулы. Учтите, что смежная цепь является антипараллельной: а) 5'-дГдЦдТ-3'; б) 5'-дГдЦдА-3'; в) 5'-дАдГдЦ-3'; г) 5'-дГдТдЦ-3'; д) 5'-дЦдАдГ-3'; е) 5'-дГдТдА-3'; ж) 5'-дТдАдГ-3'; з) 5'-дАдТдЦ-3'; и) 5'-дАдСдГ-3'; к) 5'-дЦдТдА-3'. Покажите водородные связи между азотистыми основаниями.

**4.** Пользуясь таблицей генетического кода (приложение 6), напишите графическую формулу возможной нуклеотидной последовательности мРНК, которая соответствует аминокислоте: а) Сер; б) Гис; в) Про; г) Ала; д) Лей; е) Мет; ж) Тир; з) Асн; и) Лиз; к) Вал. На полученной структуре отметьте N-гликозидные связи и 3',5'-концы.

**5.** Опишите особенности первичной, вторичной и третичной структур иРНК. В чем заключается функциональное значение иРНК?

**6.** Опишите особенности вторичной и третичной структур тРНК. Какие функции выполняет тРНК в клетке?

**7.** Опишите особенности вторичной и третичной структур рРНК. Какие разновидности рРНК существуют: а) по массе; б) по локализации?

**8.** Иницирующим кодоном на мРНК является триплет АУГ. Напишите его графическую формулу. Отметьте на ней N-гликозидные и фосфоэфирные связи.

## Глава 6

# ФЕРМЕНТЫ

---

В результате изучения материала данной главы студент должен:

**знать**

- определение ферментов, их отличие от небиологических катализаторов;
- особенности строения молекул простых (однокомпонентных) и сложных (двухкомпонентных) ферментов;
- виды регуляции активности ферментов внутри организмов;
- особенности влияния различных внешних факторов (температуры, pH среды и пр.) на активность ферментов в технологических процессах;
- особенности структур важнейших коферментов (НАД, ФАД, КоА и др.);
- способы названий и принципы классификации ферментов;

**уметь**

- объяснить отличительные свойства ферментов как биологических катализаторов: специфичность, высокую активность, чувствительность к воздействию различных внешних факторов;
- раскрыть механизм действия активных центров одно- и двухкомпонентных ферментов;
- привести примеры отдельных представителей различных классов ферментов и схемы катализируемых ими реакций;
- применять теоретические и практические знания о ферментах в работах научно-исследовательского характера;

**владеть**

- простейшими лабораторными методами исследования свойств ферментов;
  - некоторыми методами определения ферментативной активности, имеющими прикладное значение.
- 

**Ферменты** (от лат. *fermentum* — закваска), или **энзимы** (от греч. *enzyme* — в дрожжах), известны человеку с незапамятных времен в таких процессах, как сыроделие, виноделие, хлебопечение. Но химическая природа, механизм действия, свойства ферментов открыты сравнительно недавно.

<b>Ферменты — это биологические катализаторы белковой природы.</b>
--

Первые обобщения относительно действия ферментов как катализаторов были сделаны к середине XIX в.

Общие особенности ферментов:

- ферменты ускоряют реакции, но сами остаются неизменными;
- не вызывают новых химических реакций, а лишь ускоряют существующие;
- в обратимых реакциях: в равной степени ускоряют как прямое, так и обратное превращение; не влияют на направление реакции, которое опре-

деляется только соотношением концентраций исходных веществ и продуктов; не влияют на положение равновесия, а лишь ускоряют его достижение.

Участие ферментов в катализируемом превращении можно представить простой схемой (рис. 6.1). Превращение субстрата в продукт требует преодоления энергетического барьера. Для этого вне организма в реакционных смесях увеличивают температуру, давление, концентрации реагирующих веществ и пр. С помощью ферментов это же превращение осуществляется по обходному пути, через промежуточные реакции, энергетический барьер которых неизмеримо меньше.

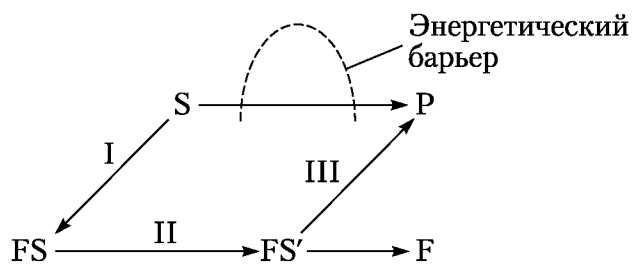


Рис. 6.1. Три стадии ферментативного катализа:

I стадия — происходит диффузия субстрата к ферменту и образование фермент-субстратного комплекса FS; II стадия — фермент-субстратный комплекс преобразуется в активированную форму FS'; III стадия — от активированного фермент-субстратного комплекса отделяется фермент и образуется продукт реакции

Ни один химический процесс, протекающий в живом организме, отдельной клетке, не может протекать без ферментов. Однако между ферментами и небиологическими катализаторами существует значительная разница (табл. 6.1).

Таблица 6.1

Отличие ферментов от небиологических катализаторов

Ферменты	Небиологические катализаторы
Действуют в «мягких» условиях: в присутствии большого количества воды, без высоких давлений, при сравнительно низких температурах, без пламени	Действуют в присутствии пламени, высоких давлений, при высоких температурах
Характерна исключительная избирательность действия	Катализаторы ускоряют несколько реакций одного типа
Отличаются высокой интенсивностью — ускоряют реакции в $10^{14}$ — $10^{15}$ раз	Ускоряют реакции в несколько раз

Подсчитано, что 1 мг железа в ферменте может заменить 10 т неорганического железа в реакции разложения пероксида водорода [27].

Такие существенные отличия ферментов от небиологических катализаторов объясняются строением молекул ферментов.

6.1. Строение ферментов

В первую очередь следует помнить, что ферменты — это белковые вещества и все свойства, характерные для белков, присущи и ферментам. Белковая природа ферментов была признана после того, как Джон Говард Нортроп (1891—1987)<sup>1</sup> в 1930-х гг. получил в кристаллическом виде пепсин

<sup>1</sup> Дж. Г. Нортроп совместно с Уэнделлом Мередит Стенли и Джеймсом Бетчеллером Самнером удостоены Нобелевской премии по химии «За получение в чистом виде вирусных белков» в 1946 г.

и трипсин. Позднее химическая сущность ферментов получила подтверждение с помощью рентгеноструктурного анализа.

При скручивании и сворачивании полипептидных цепей молекул ферментов в определенную структуру образуются особые участки с характерными свойствами. Их называют центрами фермента: *активный, каталитический, субстратный* и схематично изображают в виде углублений различной формы в молекуле фермента (рис. 6.2).

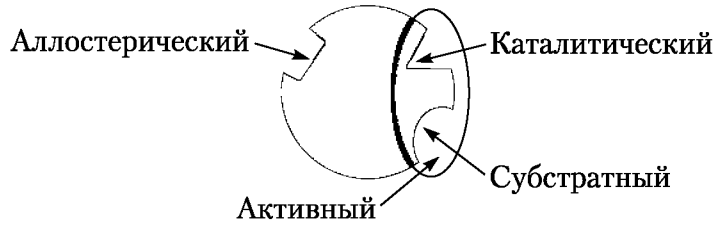


Рис. 6.2. Центры фермента:

*субстратный* — место, куда присоединяется субстрат, центр отвечает за специфичность фермента; *каталитический* — область, где протекает реакция; *аллостерический* (иначе регуляторный, метаболический) есть не у всех ферментов, реагирует на действие внешних факторов

По химической природе все ферменты делят на **простые (однокомпонентные)** и **сложные (двухкомпонентные)**. Как очевидно из рис. 6.3, разница заключается в том, что в составе сложных ферментов есть небелковый компонент. Он может быть прочно связан с ферментом (*простетическая группа*) или легко отделяться от него (*кофермент*).

Однако, в любом случае, каталитическая реакция протекает при взаимодействии субстрата с небелковой частью сложного фермента.

И простые, и сложные ферменты могут быть представлены разными молекулярными формами (табл. 6.2, рис. 6.3).

В олигомерах, катализирующих одну реакцию, выделяют **изоферменты**. **Изоферменты** — это ферменты, катализирующие одну реакцию, но отличающиеся друг от друга аминокислотным составом, последовательностью аминокислот, физико-химическими свойствами, локализацией в разных тканях. Например, *глюкокиназа* и *гексокиназа* катализируют одно и то же превращение — образование гл-6-фосфата из глюкозы, но обладают разным сродством к субстрату, разной локализацией и т.д. (см. параграф 10.6)

Таблица 6.2

Молекулярные формы ферментов

Ферменты	Примеры
<i>Протомеры</i> — ферменты третичной структуры, состоят из одной полипептидной цепи	Катализируют одну реакцию — лизоцим
	Катализируют несколько реакций, поскольку содержат несколько активных центров в пределах одной полипептидной цепи; иначе называют полифункциональные — синтаза пиримидиновых циклов (у млекопитающих)
<i>Олигомеры</i> — ферменты четвертичной структуры, состоят из нескольких полипептидных цепей	Катализируют одну реакцию — химотрипсин
	Катализируют несколько реакций; иначе называют мультиферментные комплексы — синтаза высших жирных кислот



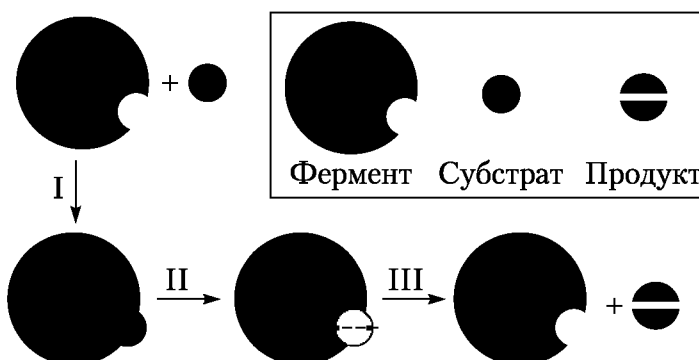
**Рис. 6.3. Особенности простых и сложных ферментов**

Важно подчеркнуть, что все центры фермента не жесткие структуры. Они могут изменять форму в процессе ферментативного катализа. Часто с присоединением субстрата происходит одновременное сближение каталитического центра. В таких случаях говорят об одном активном центре фермента.

Нельзя полностью идентифицировать белки и ферменты с живыми существами, но аналогию провести можно. Фермент и субстрат не ждут случайного соударения при хаотичном движении частиц, как это происходит в неорганической химии. В живой клетке превращения протекают как по сценарию. Определенный фермент узнает и захватывает соответствующий ему субстрат, поворачивает, если необходимо, или изменяет свою пространственную конфигурацию, и осуществляет каталитическое превращение. В результате выделяются фермент в неизменном виде и продукт реакции. Существует много примеров, когда фермент тут же передает преобразованный субстрат (продукт) другому ферменту, как по цепочке на конвейере. Этим во многом и объясняется и особая избирательность, и высокая эффективность действия ферментов.

Одним из первых идею о центрах связывания фермента с субстратом высказал немецкий химик-органик Эмиль Герман Фишер (1852—1919). Его теория получила название «ключа и замка» (рис. 6.4). Это значит, что форма активного центра фермента должна подходить к субстрату, как ключ к замку.

В соответствии с общей схемой ферментативного катализа (см. рис. 6.1) фермент и подходящий ему по форме субстрат образуют фермент-субст-



**Рис. 6.4. Гипотеза «ключа и замка»:**

стадии I, II, III соответствуют общей схеме ферментативного катализа

ратный комплекс, в котором происходят определенные изменения, способствующие образованию активированного фермент-субстратного комплекса. В результате выделяются новый продукт и фермент в неизменном виде.

Основное положение этой теории абсолютно справедливо и сейчас, но по мере изучения структур различных ферментов представления о ферментативном катализе значительно расширились. Известно, что у ряда ферментов активный центр может изменять форму в зависимости от окружающих условий. Речь идет об *аллостерических ферментах*, имеющих аллостерический (регуляторный, метаболический) центр, чувствительный к действию различных клеточных метаболитов.

Аллостерический центр всегда пространственно удален от субстратного и каталитического центра и обладает характерной специфичностью, т.е. связывает только индивидуальные для него лиганды. Связывание всегда не ковалентно и обратимо.

Метаболиты, присоединяющиеся к аллостерическому центру, называются общим термином: **эфффекторы**. Однако по направлению оказываемого ими эффекта их делят на две группы:

- *активаторы* увеличивают активность фермента, т.е. обладают положительной стимуляцией;
- *ингибиторы* уменьшают активность фермента, т.е. обладают отрицательной стимуляцией.

Активаторами часто являются исходные вещества, а ингибиторами — продукты реакции. Например, *гексокиназа* ингибируется продуктом реакции — гл-6-фосфатом, а активность *синтазы-ВЖК* (см. подпараграф 11.8.2.) снижается при высокой концентрации продукта процесса — пальмитил-КоА.

В некоторых ферментах есть несколько аллостерических центров, каждый из которых специфичен к своему эфффектору.

Таким образом, в аллостерических ферментах сценарий процесса будет зависеть от окружающих условий: наличия метаболических активаторов или ингибиторов.

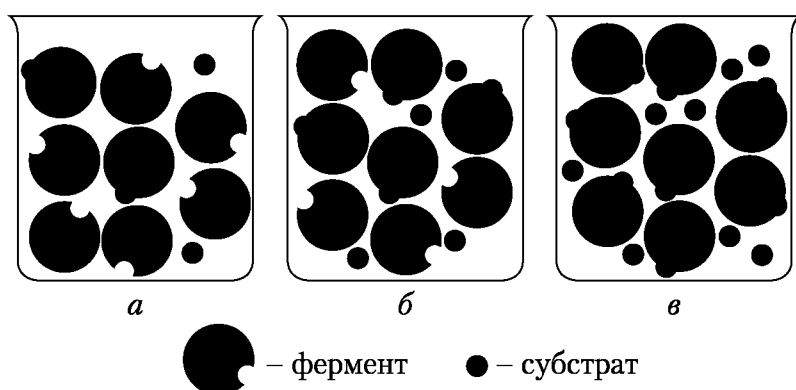
Эта особенность ферментов учитывается теорией «*индуцированного (вынужденного) взаимодействия*» Дэниела Кошланда (1920—2007). В соответствии с этой теорией после образования фермент-субстратного комплекса, в молекуле фермента могут наблюдаться некие конформационные изменения, которые индуцируют соответствующие изменения в молекуле субстрата. Эти сведения подтверждены методом рентгеноструктурного анализа. Также ряд свойств ферментов указывает на различие их конформации в отсутствии и присутствии субстрата. У некоторых ферментов в присутствии субстрата меняются оптические и седиментационные характеристики, возрастает устойчивость к тепловой денатурации, прекращается диссоциация на субъединицы.

## 6.2. Кинетика ферментативных реакций

Ферментативная кинетика изучает скорость реакций, катализируемых ферментами в зависимости от различных условий (концентрации, температуры, pH и др.) их взаимодействия с субстратом.

Однако ферменты — это белки, чувствительные к влиянию различных внешних воздействий. Поэтому при изучении скорости ферментативных

реакций учитывают, главным образом, концентрации реагирующих веществ, а влияние температуры, рН среды, активаторов, ингибиторов и прочих факторов стараются свести к минимуму и создают стандартные условия. Во-первых, это оптимальное для данного фермента значение рН среды. Во-вторых, рекомендуется придерживаться температуры 25°C, в тех случаях, где это возможно. В-третьих, достигают полного насыщения фермента субстратом. Этот момент особенно важен, поскольку при низкой концентрации субстрата не все молекулы фермента участвуют в реакции (рис. 6.5, а), значит и результат будет далек от максимально возможного. Наибольшая мощность катализируемой реакции, при прочих равных условиях, достигается, если каждая молекула фермента участвует в превращении, т.е. при высокой концентрации фермент-субстратного комплекса (рис. 6.5, в). Если же концентрация субстрата не обеспечивает полного насыщения фермента (рис. 6.5, б), то скорость протекающей реакции не достигает максимального значения.



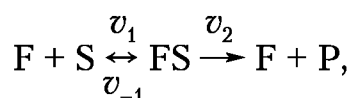
**Рис. 6.5. Схема образования фермент-субстратного комплекса:**

*а* — при низкой концентрации субстрата; *б* — при недостаточной концентрации субстрата; *в* — при полном насыщении фермента субстратом

Скорость ферментативной реакции, измеренной при соблюдении перечисленных условий, и полном насыщении фермента субстратом называют *максимальной скоростью ферментативной реакции* ( $V$ ).

Скорость ферментативной реакции, определяемая при неполном насыщении фермента субстратом, обозначается  $v$ .

Ферментативный катализ упрощенно можно описать схемой



где  $F$  — фермент;  $S$  — субстрат;  $FS$  — фермент-субстратный комплекс.

Каждая стадия этого процесса характеризуется определенной скоростью. *Единицей измерения скорости ферментативной реакции служит количество молей субстрата, превращаемое в единицу времени* (как и скорость обычной реакции).

Взаимодействие фермента с субстратом приводит к образованию фермент-субстратного комплекса, но этот процесс обратимый. Скорости прямой и обратной реакций зависят от концентраций реагирующих веществ и описываются соответствующими уравнениями:

$$v_1 = k_2[FS]; \quad (6.1)$$

$$v_2 = k_1[F][S]. \quad (6.2)$$



В состоянии равновесия справедливо уравнение (6.3), поскольку скорости прямой и обратной реакции равны.

$$v_1 = v_2. \quad (6.3)$$

Подставив значения скорости прямой (6.1) и обратной (6.2) реакции в уравнение (6.3), получим равенство:

$$k_1[F][S] = k_2[FS]. \quad (6.4)$$

Состояние равновесия характеризуется соответствующей *константой равновесия*  $K_p$ , равной отношению констант прямой и обратной реакций (6.5). Величина, обратная константе равновесия, называется *субстратной константой*  $K_s$ , или константой диссоциации фермент-субстратного комплекса:

$$K_p = \frac{k_1}{k_{-1}} = \frac{[FS]}{[F][S]}; \quad (6.5)$$

$$K_s = \frac{1}{K_p} = \frac{[F][S]}{[FS]}. \quad (6.6)$$

Из уравнения (6.6) ясно, что субстратная константа уменьшается при высокой концентрации фермент-субстратного комплекса, т.е. при большой его устойчивости. Следовательно, субстратная константа характеризует сродство фермента и субстрата и соотношение констант скоростей образования и диссоциации фермент-субстратного комплекса.

Явление насыщения фермента субстратом изучали Леонор Михаэлис и Мод Ментен. На основе математической обработки результатов ими было выведено уравнение (6.7), получившее их имена, из которого ясно, что при высокой концентрации субстрата и низком значении субстратной константы скорость ферментативной реакции стремится к максимальной. Однако это уравнение носит ограниченный характер, поскольку учитывает не все параметры:

$$v = \frac{V[S]}{K_s + [S]}. \quad (6.7)$$

Фермент-субстратный комплекс в процессе реакции может подвергаться превращениям в разных направлениях:

- диссоциировать на исходные вещества;
- превращаться в продукт, от которого отделяется фермент в неизменном виде.

Поэтому для описания суммарного действия ферментативного процесса введено понятие *константы Михаэлиса*  $K_m$ , которая выражает взаимосвязь констант скоростей всех трех реакций ферментативного катализа (6.8). Если оба слагаемых разделить на константу скорости реакции образования фермент-субстратного комплекса, то получится выражение (6.9):

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}; \quad (6.8)$$

$$K_m = K_s + \frac{k_2}{k_1}. \quad (6.9)$$

Из уравнения (6.9) вытекает важное следствие: константа Михаэлиса всегда больше субстратной константы на величину  $k_2/k_1$ .

Численно  $K_m$  равна такой концентрации субстрата, при которой скорость реакции составляет половину максимально возможной скорости и соответствует такому насыщению фермента субстратом, как на рис. 6.5, б. Поскольку на практике не всегда удастся достичь полного насыщения фермента субстратом, то именно  $K_m$  используется для сравнительной характеристики кинетических характеристик ферментов.

Скорость ферментативной реакции при неполном насыщении фермента субстратом (6.10) зависит от концентрации фермент-субстратного комплекса. Коэффициентом пропорциональности служит константа реакции освобождения фермента и продукта, поскольку при этом меняется концентрация фермент-субстратного комплекса:

$$v = k_2[FS]. \quad (6.10)$$

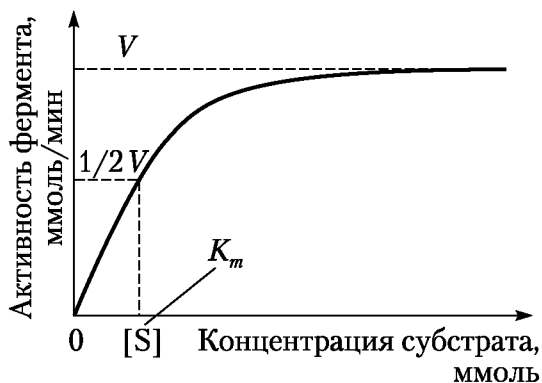
После преобразований, с учетом представленных выше зависимостей, скорость ферментативной реакции при неполном насыщении фермента субстратом описывается уравнением (6.11), т.е. зависит от концентраций фермента, субстрата и их сродства  $K_s$ :

$$v = \frac{k_2[F][S]}{K_s}. \quad (6.11)$$

Графическая зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата не является линейной. Как очевидно из рис. 6.6, с увеличением концентрации субстрата наблюдается рост активности фермента. Однако при достижении максимального насыщения фермента субстратом скорость ферментативной реакции становится максимальной. Следовательно, фактором, ограничивающим скорость реакции, является образование фермент-субстратного комплекса.

Практика показала, что концентрации субстратов, как правило, выражаются значениями намного меньше единицы ( $10^{-6}$ — $10^{-3}$  моль). Оперировать такими величинами в расчетах довольно сложно. Поэтому Г. Лайнуивер и Д. Берк предложили выражать графическую зависимость скорости ферментативной реакции не в прямых координатах, а в обратных. Они исходили из предположения, что для равных величин равны и обратные им значения:

$$v = \frac{V[S]}{K_m + [S]}; \quad (6.12)$$



**Рис. 6.6. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата при постоянной концентрации фермента**

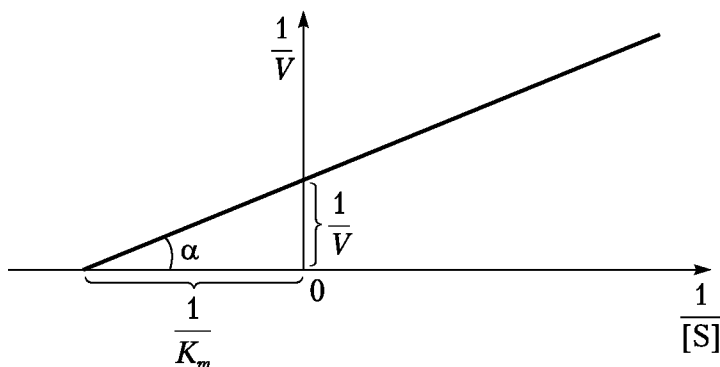
$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + [S]}{V[S]}. \quad (6.13)$$

После преобразования выражения (6.13) получается выражение, называемое *уравнением Лайнуивера — Берка* (6.14):

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V[S]} + \frac{[S]}{V[S]} \rightarrow \frac{1}{v} = \frac{K_m}{V[S]} + \frac{1}{V}. \quad (6.14)$$

Графическая зависимость уравнения Лайнуивера — Берка носит линейный характер (рис. 6.7). Кинетические характеристики фермента определяются следующим образом:

- отрезок, отсекаемый на оси ординат, равен  $1/V$ ;
- отрезок, отсекаемый на оси абсцисс, равен  $-1/K_m$ .



**Рис. 6.7. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата по уравнению Лайнуивера — Берка**

Считается, что метод Лайнуивера — Берка позволяет более точно, чем в прямых координатах, определить максимальную скорость реакции. Из этого графика можно также извлечь ценную информацию, касающуюся ингибирования фермента.

Существуют и другие способы преобразования уравнения Михаэлиса—Ментен. Графические зависимости используют при изучении влияния различных внешних воздействий на ферментативный процесс.

### 6.3. Механизм ферментативного действия

Все разнообразие молекулярных форм ферментов, кажется, невозможно подвести под единую схему ферментативного катализа. Однако раскрытие механизма действия одно- и двухкомпонентных ферментов позволило увидеть, что ферментативные превращения — это цепь довольно простых химических реакций: гидрирования-дегидрирования, гидратации-дегидратации и т.д.

#### 6.3.1. Механизм действия простых ферментов

В активных центрах простых (однокомпонентных) ферментов есть только радикалы аминокислотных остатков. Благодаря их функциональным группам и осуществляется каталитическое превращение.

Например, в активном центре *панкреатической липазы* есть остатки Гис и Сер, которые непосредственно участвуют в гидролизе сложноэфирной связи (рис. 6.8).

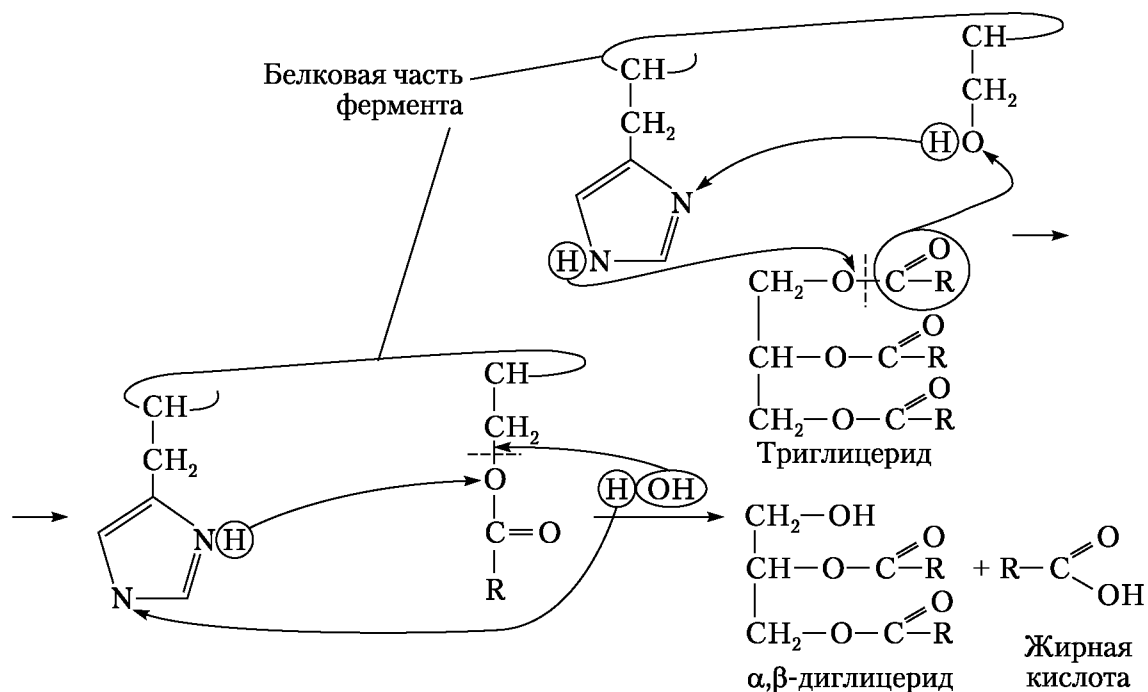


Рис. 6.8. Механизм действия липазы

Гис участвует в переносе  $H^+$ , а Сер связывает ацильный остаток, который освобождается при разрыве сложноэфирной связи. Продуктами реакции являются  $\alpha,\beta$ -диглицерид и свободная жирная кислота, которая отщепляется от остатка Сер при действии воды.

### 6.3.2. Механизм действия сложных ферментов

В каталитическом центре сложных ферментов есть небелковый компонент. Например, простетической группой *аминотрансфераз*, ферментов, участвующих в реакциях переаминирования, является фосфорилированная форма витамина  $B_6$  (см. рис. 7.15). В организме он может находиться в виде спирта (пиридоксол), альдегида (пиридоксаль) и амина (пиридоксамин).

В ходе реакции происходит превращение пиридоксала в пиридоксамин, а непосредственное участие в катализе принимают лишь функциональные группы: альдегидная и аминная, поэтому для упрощения остальная часть витамина обозначена  $R$  (рис. 6.9).

Реакция открыта в 1937 г. А. Е. Браунштейном и М. Г. Крицман и хорошо изучена. В ней выделяют две стадии, так как для пиридоксала субстратом служит аминокислота, а для пиридоксамин — кетокислота.

Из рис. 6.10 очевидно, что и в начальной, и в завершающей стадиях протекают превращения одного типа: дегидратация, перегруппировка и гидролиз.

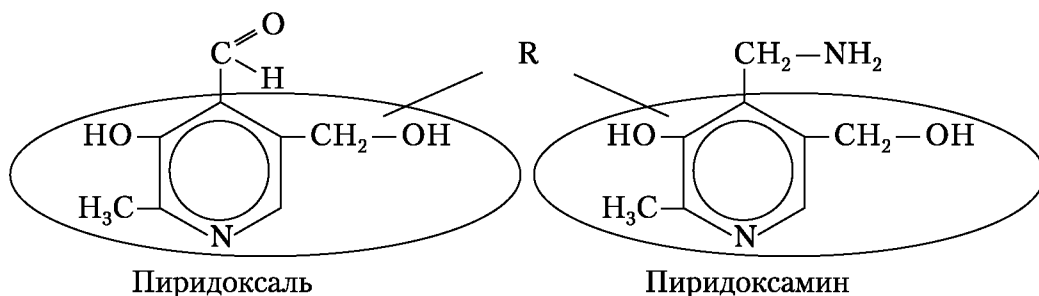


Рис. 6.9. Две формы витамина  $B_6$  в составе аминотрансферазы

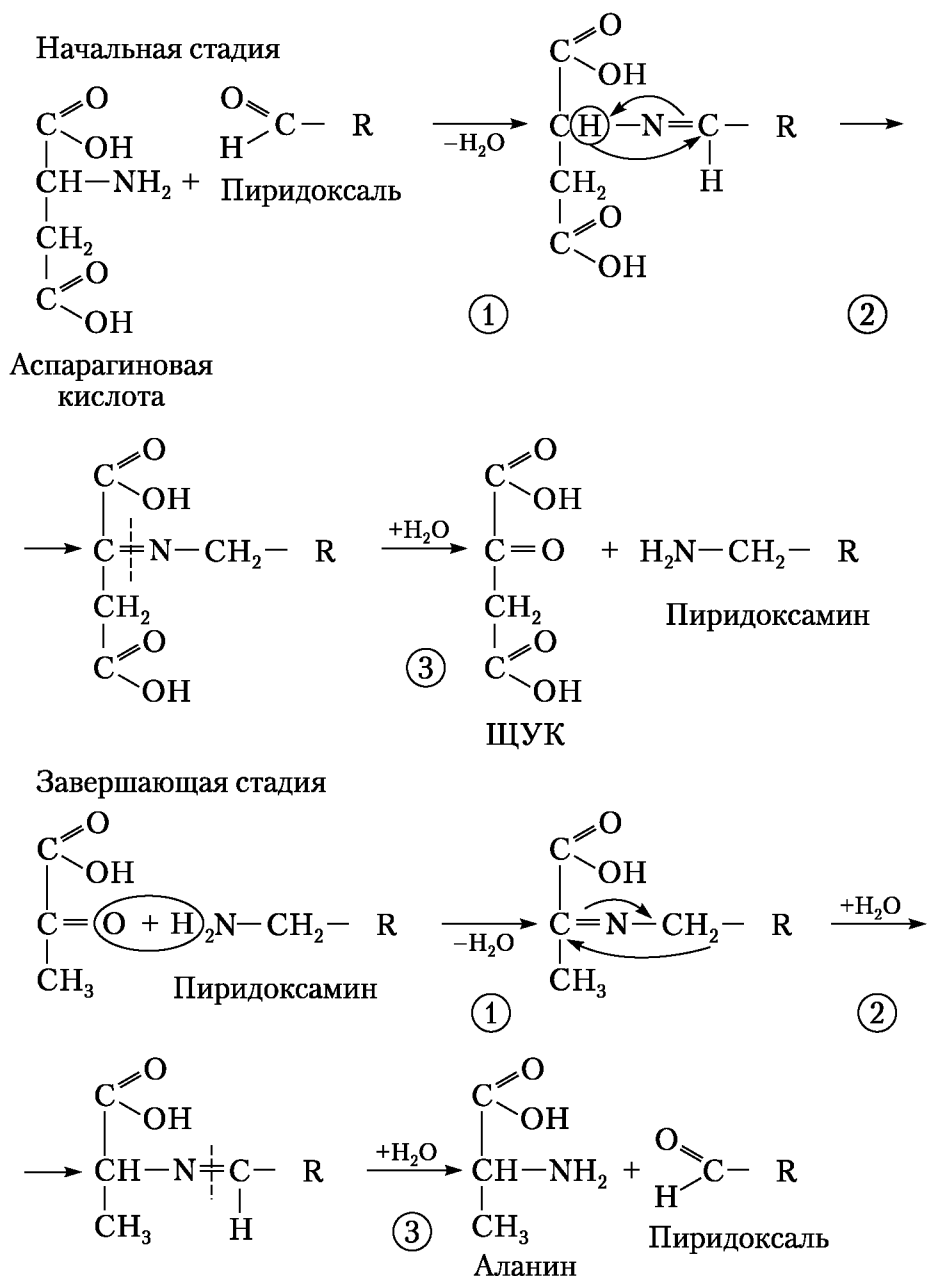


Рис. 6.10. Механизм реакции переаминирования:

1 — дегидратация; 2 — перегруппировка; 3 — гидролиз

На примере механизма действия сложных ферментов можно предположить, что свободные витамины или катионы металлов с таким же успехом осуществляют подобные превращения с субстратом. Отчасти это так. Отделенный от белкового компонента, кофермент может катализировать характерное для него превращение. Разница заключается в эффективности действия и скорости протекающей реакции. Например, ион железа из раствора солей катализирует разложение пероксида водорода. Но эта реакция ускоряется в миллионы раз, если  $\text{Fe}^{2+}$  находится в составе ферментов — железопорфиринов. Это свидетельство того, что белковая часть фермента играет активную роль в катализируемой реакции.

Интересным представляется механизм действия *глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы*, катализирующей превращение 3-ФГА в 1,3-диФГК при распаде и синтезе углеводов (см. рис. 10.30). Небелковым компонентом является  $\text{НАД}^+$  (рис. 6.17), в активном центре фермента есть также остаток

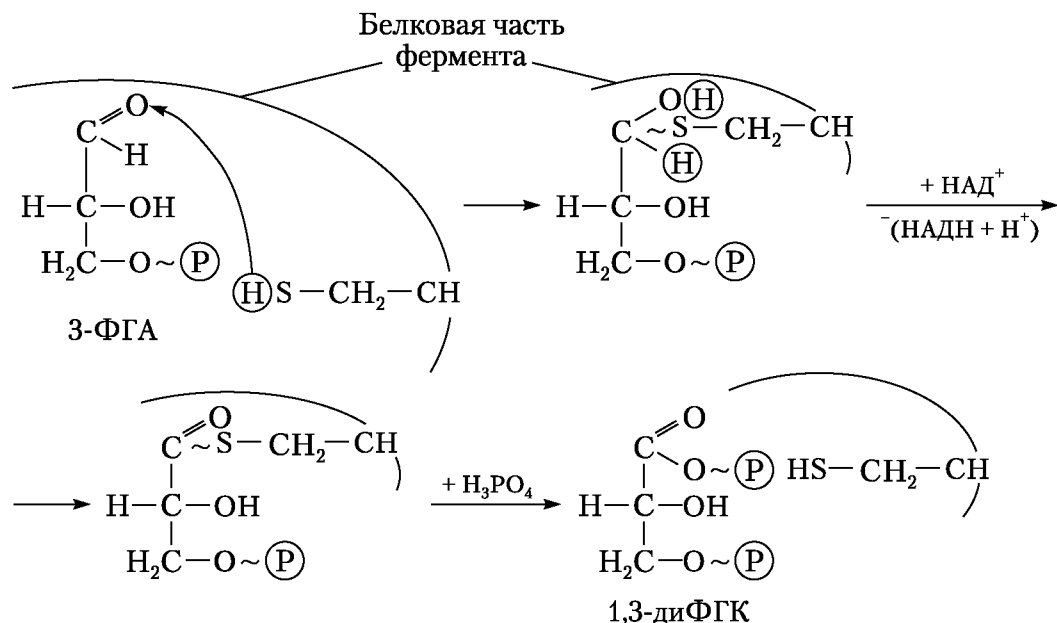


Рис. 6.11. Образование 1,3-диФГК из 3-ФГА

аминокислоты Цис, благодаря которому образуется фермент-субстратный комплекс, как показано на рис. 6.11.

Связывание 3-ФГА с ферментом протекает по типу нуклеофильного присоединения. Возникшая в результате связь между атомами углерода и серы является макроэргической. Это стимулирует, во-первых, реакцию дегидрирования и акцептирование двух атомов водорода коферментом НАД<sup>+</sup> (см. рис. 6.18), а во-вторых, реакцию фосфорилиза С—S-связи (см. подпараграф 6.7.2).

Примером механизма действия **мультиферментного комплекса**, который хорошо изучен, может служить *пируватдегидрогеназный комплекс*. Это система ферментов, участвующая в превращении ПВК в ацетил-КоА. В ее составе три фермента: *пируватдекарбоксилаза*, *липоилацетилтрансфераза*, *дигидролипоилдегидрогеназа*, каждый из которых сложный. Небелковая часть всех трех ферментов — витамины (табл. 6.3).

Первоначально кофермент *пируватдекарбоксилазы* ТПФ образует фермент-субстратный комплекс с ПВК. Такое промежуточное соединение возникает благодаря особенностям строения тиазолового цикла и карбонильного атома ПВК. Второй атом углерода в кольце тиазола обладает повышенной электронной плотностью. Атом Н от него диссоциирует и присоединяется к кислороду при разрыве двойной связи в карбонильной группе ПВК. В результате остаток ПВК, во-первых, соединяется с ферментом, во-вторых, становится восстановленным и содержит оксиэтильную группу (CH<sub>3</sub>—CH—ОН—). Карбоксильная группа при этом разрушается (рис. 6.12).

Таблица 6.3

#### Состав пируватдегидрогеназного комплекса

Фермент	Кофермент
Пируватдекарбоксилаза	Тиаминпирофосфат (ТПФ)
Липоилацетилтрансфераза	Липоевая кислота и пантотеновая кислота (КоА)
Дигидролипоилдегидрогеназа	Рибофлавин (ФАД) и никотинамид (НАД)

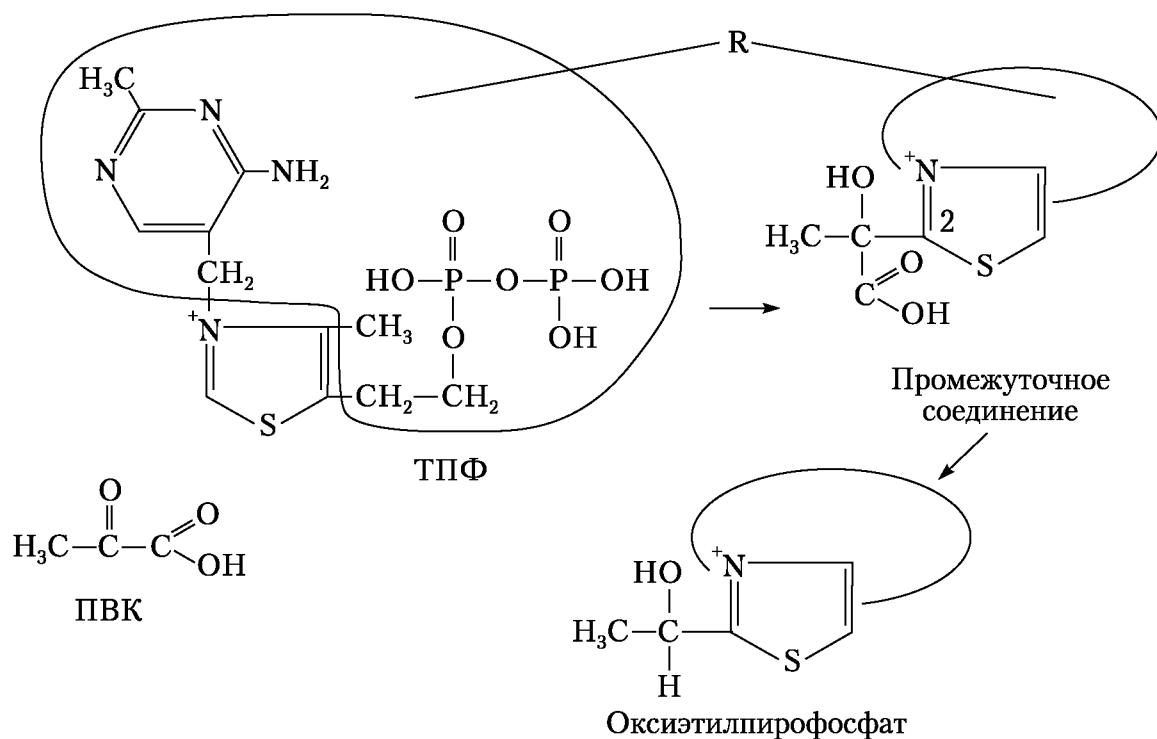


Рис. 6.12. Действие пируватдекарбоксилазы

Далее оксиэтильная группа переносится на *липоилацетилтрансферазу*, кофермент которой — липоевая кислота. При этом происходит восстановление липоевой кислоты и окисление оксиэтильной группы до ацетильной. Здесь же ацетильный остаток передается на HS-KoA, в результате образуется макроэргическое соединение ацетил-KoA (рис. 6.13).

Последний фермент *дигидролипоилдегидрогеназа* (рис. 6.14) окисляет дигидролипоевую кислоту до липоевой с помощью кофермента ФАД (рис. 6.14), который отдает атомы водорода коферменту  $\text{NAD}^+$ .

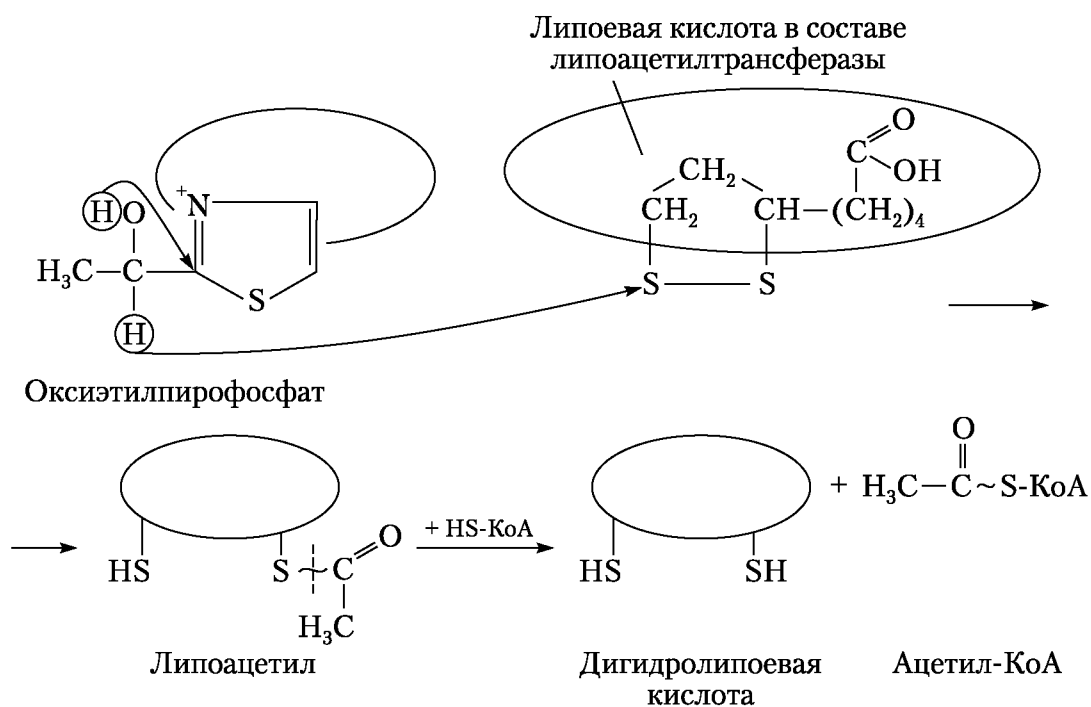


Рис. 6.13. Действие липоилацетилтрансферазы

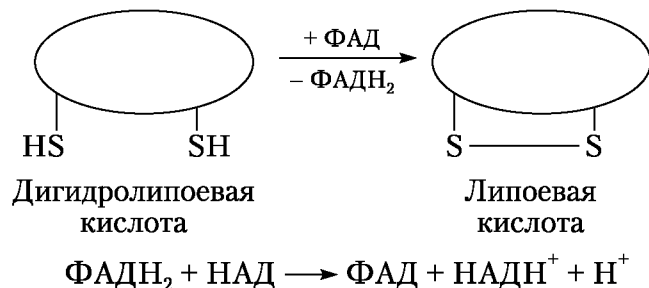


Рис. 6.14. Действие дигидролипоилдегидрогеназы

Таким образом, суммарное уравнение всех превращений пируватдегидрогеназного комплекса:



## 6.4. Регуляция активности ферментов

Изучение механизма отдельных ферментативных реакций позволило раскрыть пути различных метаболических процессов синтеза и распада веществ в организме.

Разделение метаболических путей обеспечивается пространственной локализацией ферментов, вопросы которой хорошо изучены и имеют массу примеров (табл. 6.4). У высших организмов помимо клеточного уровня регуляция ферментативной активности подчиняется функциональным особенностям органов и тканей. Дифференцировка клеток сопровождается отбором специфичных ферментов. В результате ферментативный набор клеток разных тканей различается, что обуславливает ускорение определенных процессов в каждом органе.

Таблица 6.4

Различная локализация ферментов

Уровень разделения	Примеры
Клетка	В матриксе митохондрии сосредоточены ферменты ЦТК, во внутренней мембране митохондрии — ферменты ЭТЦ, в ядре клетки — ферменты синтеза НК и т.д.
Органы и ткани	Аргиназа, участвующая в синтезе мочевины, находится только в печени, В сердечной мышце наиболее активна ЛДГ <sub>1</sub> , в печени и скелетной мускулатуре — ЛДГ <sub>5</sub> и т.д.

При этом установлено, что обменные реакции *в пространстве клетки* подчиняются сложным взаимозависимым превращениям, которые регулируются внутренними системами.

Можно выделить три уровня регуляции активности ферментов в организме:

- автономная (местная) регуляция, осуществляемая изменением концентраций субстратов и продуктов реакции;
- изменения концентрации фермента, связанное с генетическим уровнем;
- нервно-гормональное (нейрогуморальное) влияние.

*Самый первый уровень — автономная (местная) регуляция.* Как известно, скорость ферментативной реакции зависит от концентрации субстрата. Если количество субстрата незначительно, то и активность фермента не-



большая. С увеличением концентрации субстрата и достижением полного насыщения фермента субстратом скорость ферментативной реакции вырастает до максимальной (см. рис. 6.6).

Активность фермента может зависеть от концентрации продукта реакции. Здесь возможны два варианта регуляции, называемые **обратной связью**:

- продукт оказывает активирующее действие на фермент, значит, *обратная связь положительная* (образование фибрина из фибриногена в системе свертывания крови);
- продукт является ингибитором фермента — *обратная связь отрицательная* (пальмитиновая кислота — ингибитор синтазы ВЖК).

В большинстве случаев метаболизм субстратов осуществляется в несколько взаимозависимых стадий. В таких случаях концентрация промежуточного субстрата зависит от кинетических характеристик ( $V$  и  $K_m$ ) ферментов, участвующих в образовании данного субстрата и в дальнейшем его превращении. Каждый фермент обладает характерными для него  $V$  и  $K_m$ , поэтому у одного из всех ферментов процесса кинетические характеристики будут минимальны. Такой фермент называют *лимитирующим*, так как он ограничивает скорость всего процесса.

Один и тот же субстрат может подвергаться разным превращениям, т.е. происходит разветвление путей. В таких случаях ход процесса определяется *регуляторным* ферментом. Например, гл-6-фосфат может использоваться как субстрат для синтеза различных углеводов или подвергаться распаду. Он легко превращается во фр-6-фосфат. Но если фр-6-фосфат под действием *фосфофруктокиназы* необратимо переходит во фр-1,6-дифосфат, то начинается гликолиз (см. рис. 10.29). Поэтому фермент *фосфофруктокиназу* называют регуляторным.

В двухкомпонентных ферментах активность катализируемого превращения может зависеть от регенерации небелковой части (кофермента или простетической группы). Например, замедление многих ферментативных процессов можно объяснить дефицитом витаминов, которые входят в состав небелковой части фермента (см. табл. 6.3).

Регуляция ферментативных процессов может осуществляться на *генетическом уровне*. При этом скорость реакции зависит не только от концентрации субстрата и продукта, но и от концентрации фермента.

Обновление ферментов, как и других белков, зависит от процессов их синтеза и распада. Нарушение соотношения этих путей влечет за собой изменение концентрации фермента, скорости катализируемой реакции, а следовательно, и хода ускоряемого превращения. Механизмы синтеза ферментов неплохо изучены и регулируются на уровне транскрипции, а вопросы деградации ферментов, и особенно, регуляции этого процесса до конца не выяснены.

Для человека и животных характерен *нервно-гормональный (нейро-гуморальный) уровень* регуляции активности ферментативных процессов. Этот вид регуляции позволяет быстро изменять активность ключевых ферментов в зависимости от условий окружающей среды. Например, синтез ряда пищеварительных ферментов начинается при посредстве гормонов (см. подпараграф 8.5.6).

Как правило, гормоны оказывают на ферменты не прямое воздействие, а используют внутриклеточные посредники и различные модификации структуры фермента.

Классические внутриклеточные посредники — циклические АМФ и ГМФ (цАМФ и цГМФ) образуются соответствующими ферментами аденилат- и гуанилатциклазой в ответ на взаимодействие гормона с белком-рецептором.

Регуляция активности ферментов изменением их строения осуществляется разными способами: белок-белковыми взаимодействиями, фосфорилированием-дефосфорилированием, протеолизом (табл. 6.5).

Таблица 6.5

**Примеры регуляции активности ферментов изменением их строения**

Способ регуляции	Особенности
Белок-белковые взаимодействия осуществляются двумя механизмами	1. Взаимодействие фермента с регуляторным белком. Например, <i>аденилатциклаза</i> активируется в результате взаимодействия с регуляторным белком. 2. Ассоциация и диссоциация протомеров в мультиферментных комплексах. Например, <i>протеинкиназа А</i> становится активной в результате присоединения аллостерического активатора (цАМФ) и диссоциации на две регуляторные и две каталитические субъединицы
Фосфорилирование-дефосфорилирование	Осуществляется обратимым ковалентным присоединением остатков фосфорной кислоты на ОН-группы фермента. При этом изменяются конформация каталитического центра фермента и его активность. Действие инсулина и глюкагона реализуется путем фосфорилирования-дефосфорилирования соответствующих ферментов. Например, при высоком уровне инсулина <i>ГМГ-КоА-редуктаза</i> дефосфорилируется и переходит в активное состояние, стимулируя синтез ХС. И наоборот, при высоком уровне глюкагона <i>ГМГ-КоА-редуктаза</i> фосфорилируется и становится не активной, в результате синтез ХС блокируется (см. подпараграф 11.8.4)
Протеолиз	За пределами клетки, например в плазме крови, в желудочно-кишечном канале, ряд ферментов находится в неактивной форме, в виде проферментов. Их активные формы образуются путем частичного протеолиза (см. параграф 12.1). Такая активация является необратимой

### 6.5. Свойства ферментов

При изучении свойств ферментов вводят понятие активности.

**Активность фермента — количество превращенного вещества в единицу времени.**

Для количественного выражения активности фермента используют разные единицы. При этом *единицей активности фермента* считают то его количество, которое катализирует превращение 1 микромоля субстрата в минуту в заданных оптимальных условиях (1 мкмоль/мин). Однако если субстратом служит белок, полисахарид или другая молекула, в которой фермент атакует более одной связи, то мерой скорости реакции считается число катализируемых связей, а не общее число вступивших в реакцию молекул.

Единицу активности фермента обозначают *E* (на рус. и нем.) или *U* (на англ., итал., исп.).

Позднее ввели новую единицу измерения активности фермента:

$$1 \text{ катал (кат)} = 1 \text{ моль/с.}$$

Это количество фермента, способное в течение 1 с обеспечить превращение 1 моль субстрата в стандартных условиях.

На практике оказалось, что превращения идут с гораздо меньшей скоростью, чем 1 моль/с, поэтому пользуются величинами: мккат ( $10^{-6}$ ), нкат ( $10^{-9}$ ) и пкат ( $10^{-12}$ ).

По скорости катализируемой реакции ферменты подразделяют на относительно быстрые и относительно медленные. Количественно эти понятия характеризует *число оборотов* — количество молекул субстрата, превращенного 1 молекулой фермента за 1 с. Самым активным считается *карбоангидраза* ( $\approx 10^6$  об/с). Для большинства ферментов число оборотов на порядок ниже (100 об/с). Есть ферментные комплексы, у которых этот показатель не более 1 об/с.

### 6.5.1. Специфичность ферментативного действия

Специфичность — одно из выдающихся качеств ферментов, которые отличают их от небелковых катализаторов.

**Специфичность** — это способность катализировать лишь определенную реакцию или воздействовать на определенную связь. Различают специфичность *субстратную* и специфичность *действия*.

Пределы субстратной специфичности у разных ферментов различны.

Одни ферменты каталитически ускоряют только одну реакцию. Такую специфичность называют *индивидуальной* или *абсолютной*. Например, *сахараза* расщепляет сахарозу до глюкозы и фруктозы, а *уреаза* гидролизует мочевины, субстратом *глюкокиназы* служит только глюкоза.

Иногда как разновидность индивидуальной специфичности выделяют *стереохимическую* специфичность. Это значит, что фермент действует только на один из пространственных изомеров. Например, *фумаратгидратаза* катализирует присоединение воды к фумаровой кислоте, но не к ее стереоизомеру — малеиновой кислоте.

В некоторых случаях индивидуальная специфичность *относительная*, как, например, у *гексокиназы* (изомер глюкокиназы), которая может активировать не только глюкозу, но и галактозу, фруктозу и другие гексозы.

Другие ферменты катализируют реакции определенного типа и отличаются групповой специфичностью. Основным признаком ферментов этого типа является характер разрушаемой или создаваемой связи. Например, целая группа протеиназ желудочно-кишечного канала (*пепсин*, *трипсин*, *химотрипсин*, *пептидазы* и др.) расщепляет пептидные связи в белках и пептидах.

По специфичности действия все ферменты делят на шесть классов: *оксидоредуктазы*, *трансферазы*, *гидролазы*, *лиазы*, *изомеразы* и *лигазы*.

### 6.5.2. Термолабильность ферментов

Чувствительность ферментов к температуре называют **термолабильностью**.

Как правило, ферменты наиболее активны в небольшом интервале температур. Для ферментов организма теплокровных животных и человека это промежуток от 36 до 40°C. Есть организмы, которые могут не только выживать, но и сохранять свою активность при относительно низких температурах.

Например, *Listeriamonocytogenes* — возбудители листериоза, выживают и могут до нескольких лет сохраняться в почве, воде, соломе, зерне при 4—6°C. Попадая в пищевые продукты, эти микроорганизмы и их ферменты выдерживают температуру комнатного холодильника. Заболевание особенно часто встречается среди европейского населения, где относительно теплые зимы и длинная пищевая цепочка — промежуток от производства продукта до потребителя [21]. При температуре около 6°C развиваются психротрофные микроорганизмы, вызывающие порчу пищевых продуктов с появлением характерных органолептических пороков.

Пик активности фермента называют температурным оптимумом ( $t_{\text{опт}}$ ). У каждого фермента температурный оптимум имеет свое определенное значение.

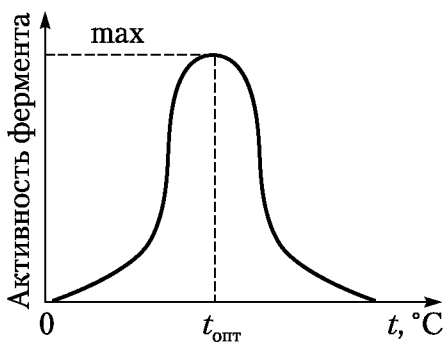
Общие закономерности влияния температуры на активность ферментов обобщены в табл. 6.6.

Температурный фактор — надежный регулятор активности ферментов, как в живом организме, так и в производстве пищевых продуктов. Знание термолабильности ферментов широко применяется при заготовках кормов, хранении и производстве продуктов питания, в медицинской и ветеринарной практике, фармацевтических, пищевых и других технологиях.

Большое физиологическое значение имеет повышение температуры при различных воспалительных процессах в организме человека и животных, так как с увеличением температуры активируются биохимические реакции, катализируемые ферментами. Повышение температуры при хранении пи-

Таблица 6.6

Влияние температуры на активность ферментов

Параметр	Результат
Графическая зависимость	
Повышение температуры	С увеличением температуры до некоторого значения повышается скорость ферментативной реакции. Это объясняется тем, что температура влияет на скорость реакции образования фермент-субстратного комплекса и последующие этапы преобразования субстрата. В среднем при повышении температуры на 1°C скорость реакции возрастает примерно на 20%. При слишком высоких значениях температуры белковая часть фермента денатурирует. Такой критической температурой для большинства ферментов является 40—50°C, при которой денатурация еще обратима. Нагревание до 70°C и выше обычно приводит к необратимой денатурации
Понижение температуры	С уменьшением температуры до 0°C активность действия ферментов падает до нулевой отметки. Однако в этом случае фермент не разрушается, а инактивируется и при повышении температуры до оптимального значения восстанавливает свои свойства

щевого сырья, наоборот, нежелательно именно из-за ускорения ферментативных процессов. Например, суточные потери сахара при хранении сахарной свеклы увеличиваются в пять раз при повышении температуры хранения с 5 до 25°C [7]. Полностью инактивированные ферменты не разрушают белки, липиды, углеводы, поэтому для сохранения пищевой ценности продукта используются высокотемпературные режимы обработки.

Если требуется сохранить свойства ферментов в дальнейшем, например при использовании дрожжей, заквасок, используют глубокое охлаждение. Понижение температуры до определенных значений — одно из основных условий гарантированного сохранения качества сельскохозяйственного сырья (злаковых, овощей, фруктов) и пищевой продукции.

### 6.5.3. Влияние pH среды на активность ферментов

Ферменты, как и любые белки, чувствительны к значению pH среды. От концентрации водородных ионов ( $H^+$ ) зависит ионизация функциональных групп в молекуле белка фермента.

Во-первых, водородные ионы воздействуют на активный центр фермента. При различных значениях pH в реакционной среде активный центр может быть слабее или сильнее ионизирован, больше или меньше экранирован соседними с ним группами.

Во-вторых, концентрация водородных ионов влияет на состояние белковой части фермента, определяя соотношение в нем анионных и катионных групп, что сказывается на третичной структуре. Как известно, именно при формировании третичной структуры фермента образуются активные центры фермента.

В-третьих, pH среды влияет на степень ионизации субстрата, фермент-субстратного комплекса и продуктов реакции.

Для каждого фермента существует свое оптимальное значение pH среды ( $pH_{opt}$ ), при котором его активность максимальна. Например, *амилаза* наиболее активна при pH 6,8–7,0, а *пепсин* — при pH 1,5–2,5.

Изменение pH в кислую или щелочную сторону сопровождается более или менее равномерным падением активности фермента, как показано на рис. 6.15.

Но воздействие pH ощутимо в гораздо большей степени, чем влияние температуры. Если ферменты сохраняют жизнеспособность при изменении температуры на несколько единиц, иногда десятков градусов, то смещение pH

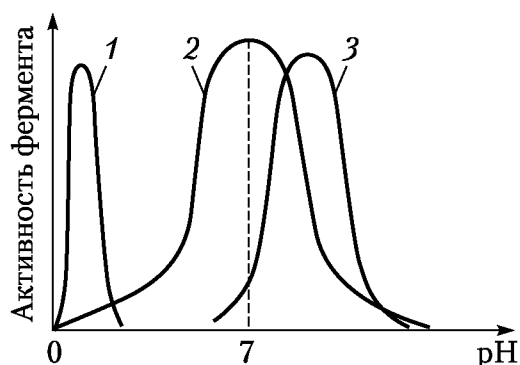


Рис. 6.15. Зависимость активности фермента от значения pH среды:

1 — пепсин; 2 — амилаза; 3 — химотрипсин

лишь на несколько десятых долей единицы уже чувствительно для ферментов. Например, оптимум рН крови у человека в норме составляет 7,4. При уменьшении рН до 7,2–7,3 в результате интенсивной физической нагрузки ощущаются слабость, тошнота, головокружение. Изменение рН крови на одну единицу приводит у животных к агонии и смерти. «Загнать лошадь» — известное выражение, смысл которого всем понятен. Это результат целого комплекса факторов: обезвоживания, гипертермии и др., но сдвиг рН в данном случае — одна из первоочередных причин, приводящая к инактивации ферментных систем и прекращению биохимических реакций.

Особо показательно изменение рН для ферментных систем микроорганизмов. Например, бактериостатический эффект обычного хозяйственного мыла объясняется его щелочной реакцией. Многие очаговые бактериальные заболевания удается купировать простыми средствами: полосканиями и ваннами с кислыми (перманганат калия) и щелочными (питьевая сода) средствами.

Показатель рН — это мощный инструмент и в руках специалистов-технологов, производящих пищевую продукцию. Широко распространенные способы консервирования грибов, ягод, овощей, фруктов, мясных и рыбных продуктов — это подкисление среды с помощью уксусной и лимонной кислот.

#### 6.5.4. Влияние посторонних веществ на активность ферментов

Ферменты чувствительны к наличию в окружающей среде различных посторонних веществ. В целом посторонние вещества видоизменяют либо белковую часть фермента, либо его активный центр настолько, что катализируемая реакция ускоряется или замедляется. Поэтому все посторонние вещества можно разделить на две большие группы:

- *активаторы* — ускоряют скорость ферментативной реакции;
- *ингибиторы* — тормозят действие ферментов.

Нередко одни и те же вещества могут быть активаторами для одних ферментов и ингибиторами для других. Например, соляная кислота активизирует действие *пепсина*, но угнетает действие *амилазы*.

Часто активаторами ферментов являются катионы многих металлов ( $Mg^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $K^+$  и др.) и некоторые анионы, например  $Cl^-$ . Действие ингибиторов может быть *специфичным* и *неспецифичным*.

Специфичное ингибирование означает, что вещество подавляет определенный фермент. Например, действие *эластазы*, выделяемой легкими, блокируется ингибитором белковой природы — антитрипсином, который используется для лечения эмфиземы легких.

Неспецифичные ингибиторы действуют на любые ферменты. Например, ионы тяжелых металлов ( $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ) являются неспецифичными ингибиторами, так как приводят к необратимой денатурации белковой части любого фермента. Эта особенность давно применяется в медицинской практике. Целый ряд препаратов для подавления бактериальных инфекций готовят на основе тяжелых металлов. Механизм их действия связан именно с ингибированием ферментов бактериального происхождения, после чего бактериальные клетки теряют жизнеспособность.

В пищевых технологиях, наоборот, тяжелые металлы представляют большую угрозу. Вот почему и питьевую воду, и продукты питания контролируют на наличие тяжелых металлов.

Ингибирование может быть **обратимым**, если после удаления постороннего вещества активность фермента восстанавливается. В противном случае, если удаление постороннего вещества не приводит к восстановлению активности фермента, ингибирование называют **необратимым**.

Кроме этого ингибирование может быть конкурентным и неконкурентным. При конкурентном ингибировании постороннее вещество и субстрат имеют пространственное сходство и конкурируют за активный центр фермента.

Классический пример **конкурентного ингибирования** — действие малоновой кислоты на *сукцинатдегидрогеназу*, которая катализирует обратимую реакцию превращения янтарной кислоты в фумаровую. С этим ферментом могут соединяться и многие другие вещества, имеющие структурное сходство с янтарной кислотой: щавелевая, глутаровая, фенилпропионовая. Однако малоновая кислота самый сильный ингибитор сукцинатдегидрогеназы. При соотношении малоновой и янтарной кислот, равном 1:50, степень ингибирования фермента составляет 50%.

По принципу конкурентного ингибирования действуют сульфопрепараты, которые содержат сульфоновую группу и имеют некоторое структурное сходство с карбоновыми кислотами. Сульфоновые кислоты встраиваются в цепь превращений карбоновых кислот в бактериальной клетке, тем самым тормозится нормальный ход развития бактерий.

Эффект от конкурентного ингибитора можно снизить, увеличивая концентрацию субстрата, так как в этом случае возрастает вероятность связывания фермента с субстратом. При неконкурентном ингибировании постороннее вещество взаимодействует с белковой частью либо с регуляторным центром, вследствие чего фермент теряет активность. При таком ингибировании влияние постороннего вещества не может быть преодолено повышением концентрации субстрата.

При **неконкурентном ингибировании** сродство фермента к субстрату не меняется, а меняется только максимальная скорость реакции. Поэтому степень неконкурентного ингибирования зависит только от концентрации ингибитора и не зависит от концентрации субстрата. Причем связывание ингибитора происходит не в месте соединения с субстратом, а на другом участке фермента. При этом пространственная структура фермента меняется настолько, что становится невозможным взаимодействие активного центра с субстратом. Примером являются соли тяжелых металлов ( $\text{Ag}^+$ ,  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ), взаимодействующие с SH-группами ферментов.

При изучении механизма действия ингибиторов установлено, что они могут блокировать жизненно важные процессы, без протекания которых становится невозможным развитие организма. Например, действие таких противомикробных средств, как антибиотики, построено по типу того или иного ингибирования.

## 6.6. Имобилизованные ферменты

Имобилизованные (от лат. *immobilis* — неподвижный) ферменты закреплены на неподвижном носителе.

В качестве носителя (матрицы) ферментов используют нерастворимые в воде материалы: гели целлюлозы или декстрана (сефароза, агароза), кремнеземы, микропористые стекла, синтетические полимеры, например

полиакриламид. Чаще для иммобилизации стремятся использовать гидрофильные матрицы, чтобы вокруг фермента создавалось естественное окружение.

Соединение фермента и матрицы осуществляют разными способами [22]:

- ковалентным присоединением;
- электростатическими контактами;
- образованием гидрофобных или водородных связей;
- «сшиванием» молекул фермента друг с другом через другие молекулы (обычно через глутаровый альдегид);
- инкапсулированием — образованием вокруг фермента полупроницаемой капсулы;
- включением фермента в полимер.

При выборе типа иммобилизации следует учитывать особенности фермента, субстрата и их сочетание с неподвижным носителем. Необходимо, чтобы активный центр фермента оставался доступным, а условия иммобилизации не снижали активность фермента.

Если матрица имеет заряды, это может влиять на оптимум pH и скорость реакции. Противоположные заряды на носителе и субстрате увеличивают скорость реакции, катализируемой ферментом, и наоборот, одинаково заряженные матрица и субстрат могут стать причиной не только уменьшения скорости ферментативной реакции, но и привести к ее прекращению.

Несмотря на необходимость соблюдения множества условий при сочетании фермента, матрицы и субстрата, иммобилизация ферментов дает ряд преимуществ:

- возможность многократно использовать фермент;
- создание непрерывного производства;
- более высокая стабильность ферментных препаратов к нагреванию, агрессивным средам, автолизу (подвержены протеолитические ферменты, а иммобилизация разделяет молекулы друг от друга и прекращает этот процесс).

Очевидно, что потенциальные возможности использования иммобилизованных ферментов большие, однако в настоящее время реализованы немногие из них. В основном иммобилизованные ферменты находят применение в исследовательской и медицинской практике: для производства гормональных препаратов, удаления эндотоксинов при заживлении ран и ожогов, в работе аппаратов «искусственная почка» и «искусственная печень».

В пищевой промышленности иммобилизованные ферменты еще не получили широкого внедрения и используются, главным образом, для разделения *L*- и *D*-изомеров аминокислот, получения сиропов с высоким содержанием фруктозы и для выработки безлактозных продуктов [22].

## 6.7. Номенклатура и классификация ферментов

Тривиальные названия строились по случайным признакам. Например, *пепсин* (от греч. *pepsis* — пищеварение), *трипсин* (от греч. *tripsis* — размалывание), *цитохромы* (от лат. *citos* — клетка, *chroma* — цвет).

При попытке упорядочить номенклатуру ферментов появились рациональные названия, учитывающие название субстрата с добавлением суф-



фикса -аза: *амилаза* (от греч. *amilon* —крахмал), *липаза* (от греч. *lipos* — жир), *уреаза* (от греч. *uron* — моча).

Другой путь систематизации названий ферментов — отражение химического состава небелковой группы фермента: *геминфермент* содержит простетическую группу гем, *пиридоксальфермент* содержит витамин В<sub>6</sub> — пиридоксаль и т.д.

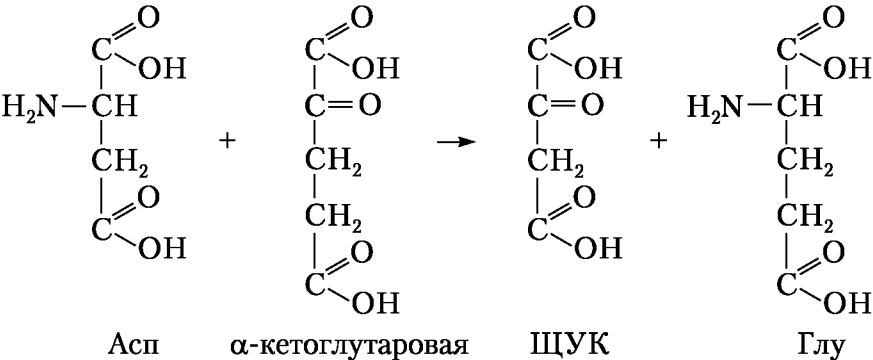
Иногда фермент называют по типу катализируемой реакции, например *лактатдегидрогеназа*.

Чтобы исключить любые разночтения, с 1961 г. ферменты называют в соответствии с международными правилами. Название фермента включает названия субстратов, участвующих в реакции, и тип химического превращения:

**субстрат А:субстрат В — тип химического превращения.**

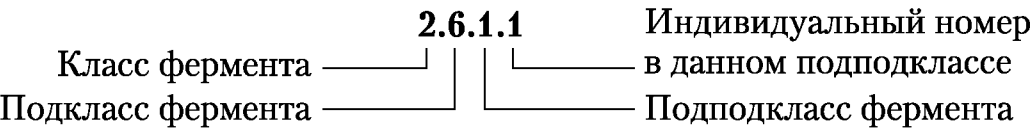
По типу химического превращения все ферменты делят на шесть классов, которые соответствуют делению по специфичности действия, рассмотренному в подпараграфе 6.5.1.

Классы ферментов делятся на подклассы, а подклассы — на подподклассы. В подподклассах выделяют индивидуальные ферменты, которым присваивают номер из четырех символов. Например, фермент, катализирующий реакцию переаминирования Асп с α-кетоглутаровой, называется L-аспартат:2-оксоглутарат-аминотрансфераза (рис. 6.16).



**Рис. 6.16. Переаминирование аспарагиновой кислоты**

Его классификационный номер 2.6.1.1. Он расшифровывается следующим образом:

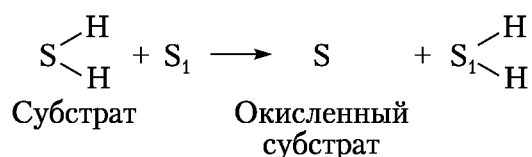


Систематические названия ферментов часто очень длинные, поэтому на практике пользуются рабочими названиями. Для данного фермента — *аспартатаминотрансфераза*.

### 6.7.1. Оксидоредуктазы

**Оксидоредуктазы катализируют окислительно-восстановительные реакции.**

При этом происходит перенос атомов водорода или по отдельности протонов и электронов. Схематично действие оксидоредуктаз можно описать уравнением:



Если  $\text{S}_1$  — это не кислород, то процесс анаэробный, а ферменты называют *дегидрогеназами*, если  $\text{S}_1$  — кислород, то процесс аэробный, а ферменты в зависимости от условий называют *оксидазами* или *оксигеназами*.

Оксидоредуктазы — многочисленный класс ферментов. Их насчитывают более 500. Они являются двухкомпонентными. При такой большой численности оксидоредуктаз набор их коферментов довольно ограничен, а субстратная специфичность обусловлена строением белковой части фермента.

Международные названия строятся по принципу:

донор:акцептор-оксидоредуктаза.

Наиболее распространены **никотинамидные (пиридинзависимые) коферменты**. Такое название они получили благодаря амиду никотиновой кислоты (никотинамиду, он же витамин  $\text{B}_3$ ), в структуру которого входит гетероцикл пиридин. В составе кофермента есть также азотистое основание аденин и остатки рибозы, соединенные дифосфатной группировкой. Весь кофермент представляет собой объединение двух нуклеотидов. Поэтому полное название кофермента — *никотинамидадениндинуклеотид* (НАД) или *никотинамидадениндинуклеотидфосфат* (НАДФ).

Разница в строении обуславливает разную локализацию ферментов, содержащих НАД и НАДФ, и взаимодействие с различными субстратами.

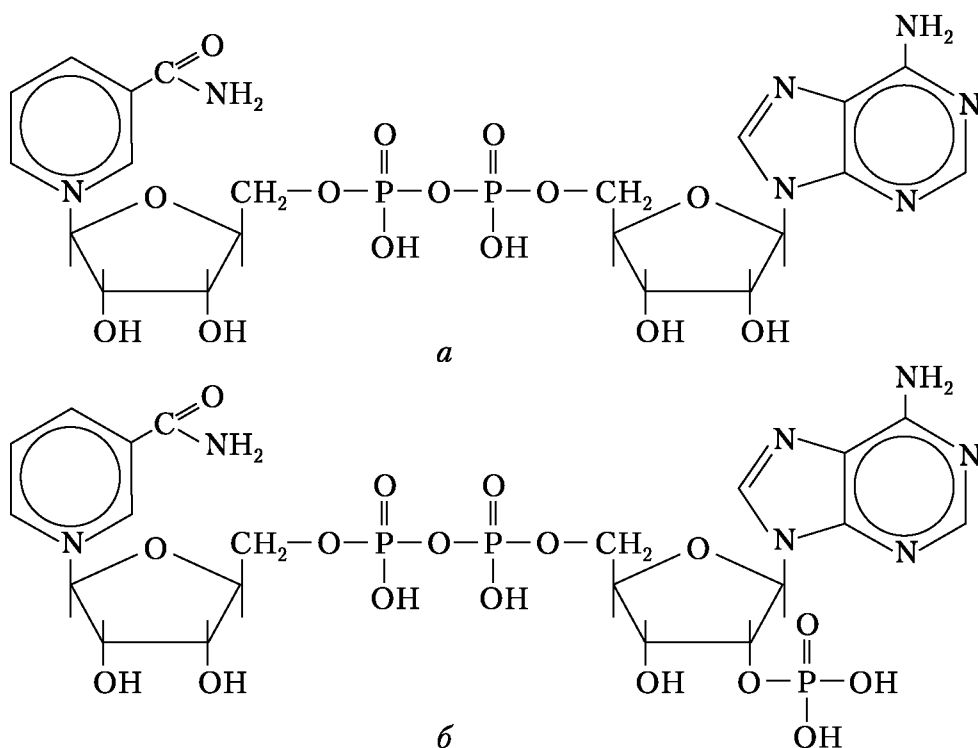


Рис. 6.17. Строение коферментов:  
a — НАД; б — НАДФ

В катализируемой реакции проявляет активность непосредственно амид никотиновой кислоты (рис. 6.18).

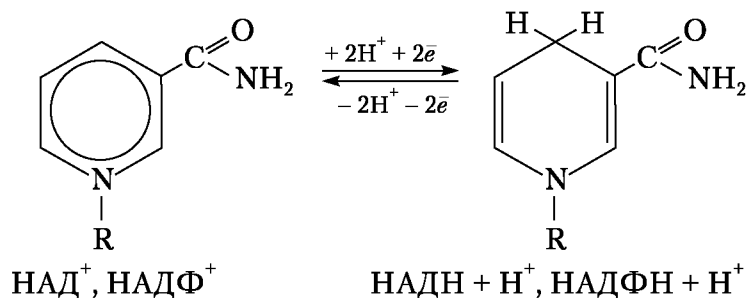


Рис. 6.18. Работа активного центра НАД и НАДФ

Более половины известных в настоящее время оксидоредуктаз содержат НАД или НАДФ в качестве кофермента.

**Флавинзависимые оксидоредуктазы** или **флавопротеины**. Их коферментами являются *флавинмононуклеотид* (ФМН) (рис. 6.19) или *флавинадениндинуклеотид* (ФАД) (рис. 6.20).

Активным центром этих коферментов является флавиновый комплекс, который получил свое название за желтый цвет (от греч. *flavus* — желтый). Как очевидно из рис. 6.21, флавиновые коферменты обратимо переносят атомы Н.

Большинство флавопротеинов — вторичные дегидрогеназы, но некоторые флавопротеины, особенно с ФАД в качестве кофермента, могут непо-

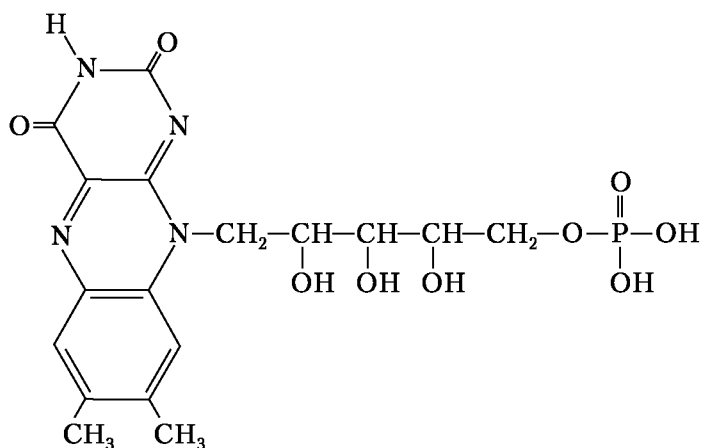


Рис. 6.19. Структура ФМН

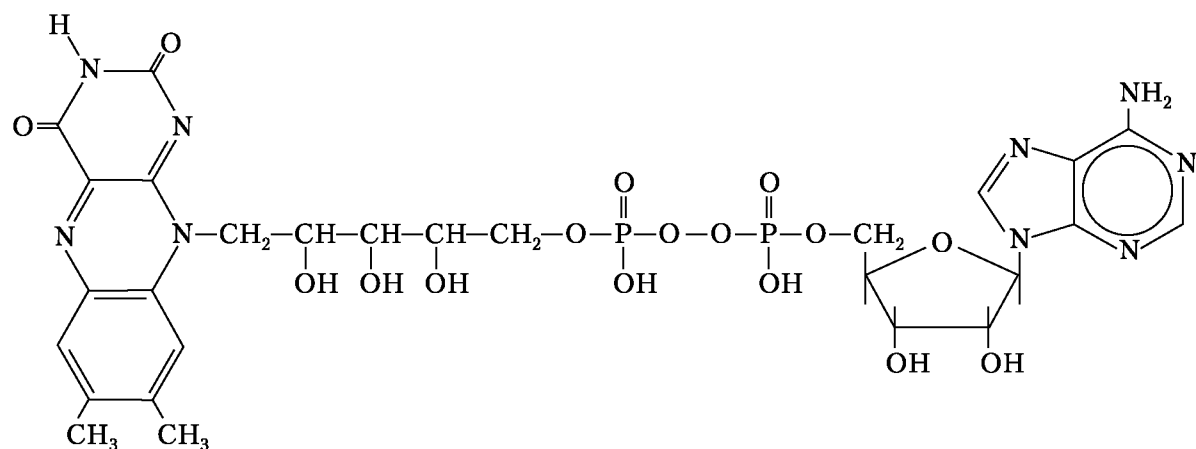
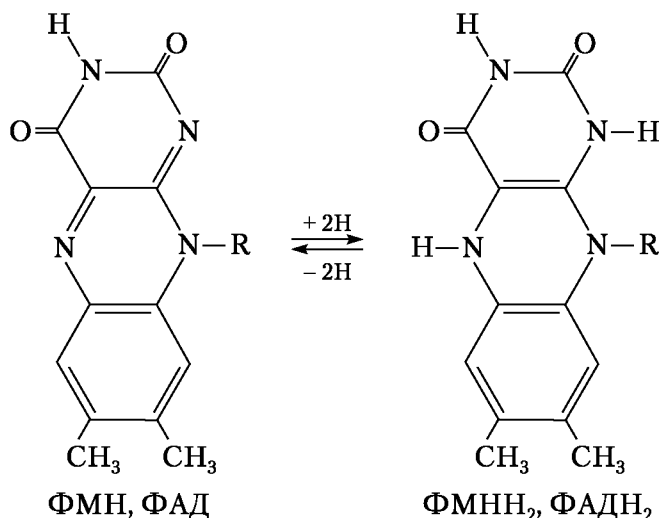


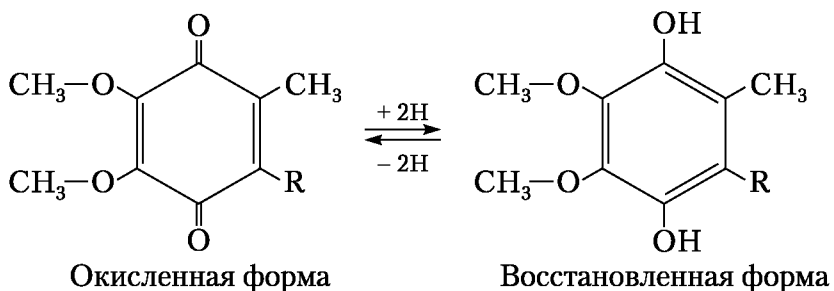
Рис. 6.20. Структура ФАД



**Рис. 6.21. Работа активного центра ФАД и ФМН**

средственно снимать атомы водорода с субстрата, т.е. являются первичными дегидрогеназами.

Коферментами оксидоредуктаз являются *хиноны*. В животных организмах — это убихинон (рис. 6.22), а в растительных — пластохинон. Другое их название — кофермент *Q*. В боковой ветви кофермента *Q* находятся повторяющиеся 6—10 раз остатки изопрена. Отсюда еще одно название —  $Q_{10}$ . Именно длинная боковая ветвь придает высокую гидрофобность этому коферменту, благодаря чему он легко встраивается в липидный слой мембран.



**Рис. 6.22. Участие КоQ в окислительно-восстановительной реакции**

Некоторые оксидоредуктазы в качестве простетической группы содержат *липоевую кислоту*, которая получила название за липофильные свойства — способность растворяться в органических соединениях и нерастворимость в воде, благодаря чему может легко проникать через различные биомембраны.

Роль липоевой кислоты важна в превращении ПВК в ацетил-КоА (см. рис. 6.13), т.е. в утилизации углеводов. Также липоевая кислота обладает выраженными антиоксидантными свойствами как в жирорастворимых, так и в водорастворимых средах, прерывая свободнорадикальные процессы.

Активную роль при этом играют тиольные (сульфгидрильные) SH-группы (рис. 6.23), поэтому липоевую кислоту относят также к группе тиольных коферментов. Благодаря макроэргической связи, образуемой между атомом S и субстратом, липоевая кислота осуществляет еще и транспортные функции, т.е. входит в класс трансфераз.

К классу оксидоредуктаз относят *цитохромы* (от греч. *cito* — клетка, *hromos* — цвет). Из названия ясно, что это окрашенные соединения. По своей при-

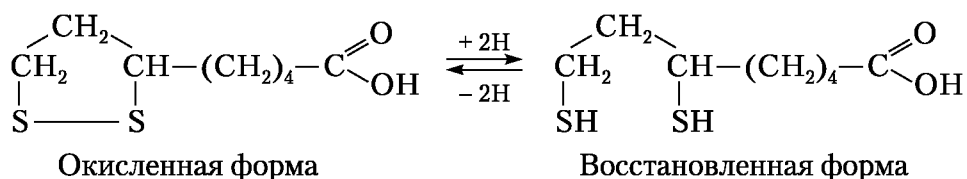


Рис. 6.23. Перенос атомов Н липоевой кислотой

роде — это сложные белки *хромопротеины*. Небелковая часть цитохромов представляет собой *гем* (рис. 6.24), подобный гему в гемоглобине. Основу гема составляет *порфиновое кольцо*, которое образуется из четырех пиррольных циклов и метиновых групп. В центре порфинового кольца находится атом железа. Поэтому цитохромы и подобные им структуры часто называют *железопорфиринами*.

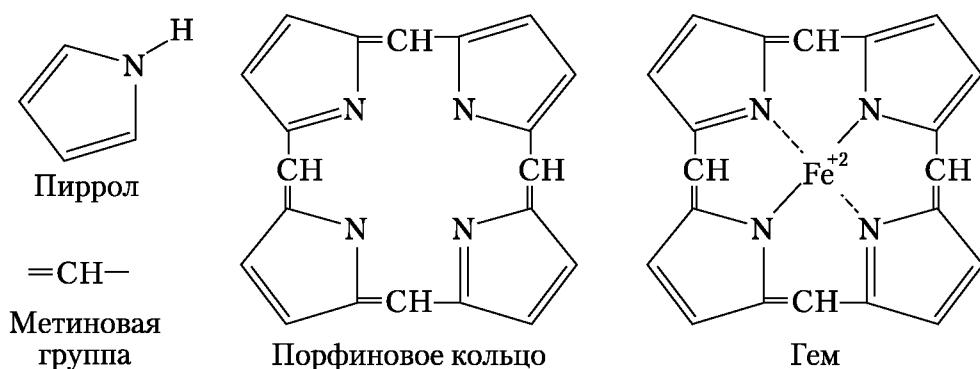


Рис. 6.24. Гем и его структурные компоненты

В зависимости от строения гема все цитохромы делят на классы: *A*, *B*, *C* и *D*. В каждом классе выделяют индивидуальные цитохромы, которые различаются по составу белковой части. Индивидуальные цитохромы обозначают соответствующими латинскими буквами с индексом:  $a_1$ ,  $b_1$  и т.д. Другой способ обозначения индивидуальных цитохромов — указание в индексе характерной длины волны, при которой происходит поглощение в видимой области спектра.

Катион железа в цитохромах участвует в транспорте электронов и обратимо превращается из трехвалентного в двухвалентный (рис. 6.25).

Важной особенностью цитохромов является их способность агрегировать и образовывать цитохромную систему. Принимая электроны от субстрата или от других ферментов, цитохромы передают их по цепочке друг другу, осуществляя окислительно-восстановительные превращения (см. параграф 9.3).

*Каталаза* и *пероксидаза* также содержат гемовое железо (гемопротеины, железопорфирины), которое участвует в переносе электронов. Оба фермен-

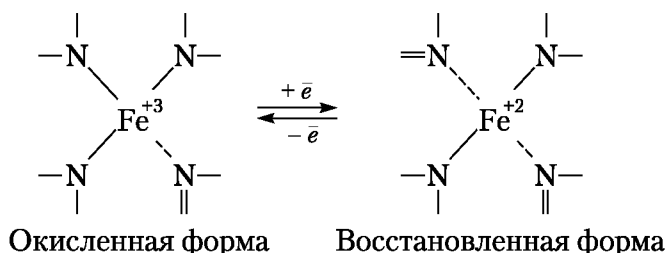
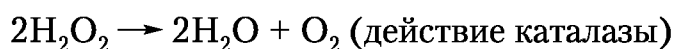


Рис. 6.25. Схема участия цитохромов в окислительно-восстановительных процессах

та являются компонентами антиоксидантной системы организма и разлагают ядовитый пероксид водорода с образованием нескольких нетоксичных продуктов:



Оба фермента обнаружены в молоке. Содержание *каталазы* в молоке зависит от ряда зоотехнических факторов: рациона кормления, периода лактации, но, главным образом, от наличия воспалительных процессов в вымени, которые сопровождаются повышенным содержанием соматических клеток в молоке, что установлено по прямо пропорциональной зависимости между этими показателями. Поэтому высокое содержание каталазы в молоке обычно связано с той или иной формой мастита.

Каталаза молока наиболее активна в нейтральной среде (рН 7,0) при 38°C. При пастеризации каталаза разрушается, а если обнаруживается в пастеризованном молоке, то это каталаза бактериального происхождения.

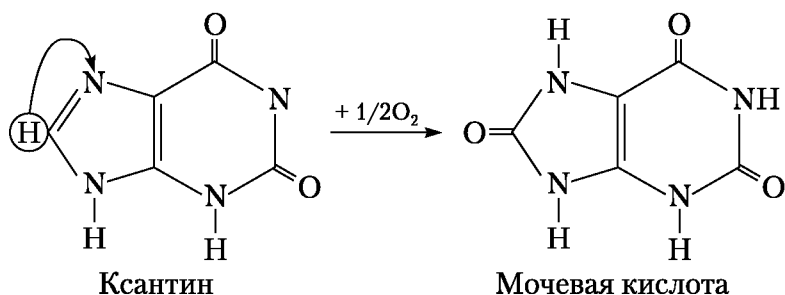
Пероксидазу молока называют *лактопероксидаза*. Она связана с  $\alpha$ -лактальбумином сывороточных белков молока и может составлять до 1% общего количества всех сывороточных белков, что намного больше, чем содержание других ферментов. Особенно высоким содержанием лактопероксидазы отличаются молозиво и маститное молоко. Это связано с тем, что данный фермент действует как компонент лактопероксидазной (антибактериальной) системы, уничтожающей патогенные микроорганизмы.

Наибольшую активность лактопероксидаза проявляет при рН 6,8. Она высвобождает из пероксида атомарный кислород и переносит его на легко окисляемые агенты (ароматические амины и кислоты, фенолы,  $\text{NO}_2^-$ -ионы и тиоцианат). Многие из катализируемых лактопероксидазой реакций сопровождаются изменением цвета, что используют в производственной практике как индикатор на наличие лактопероксидазы. Нагревание до 85°C в течение 10 с гарантированно ее инактивирует, поэтому тест на лактопероксидазу используют для контроля режимов температурной обработки молока и сливок.

К классу оксидоредуктаз относится *ксантиноксидаза*, обнаруживаемая в молоке. Ее часто называют ферментом Шардингера, по фамилии первооткрывателя. Субстратами ксантиноксидазы являются ксантин, гипоксантин и альдегиды, а также нитраты ( $\text{NO}_3^-$ ), которые восстанавливаются до нитритов ( $\text{NO}_2^-$ ). Продуктами окисления ксантиноксидазы являются кислоты и супероксидные радикалы, поэтому ее относят к прооксидантам.

В организме человека и животных ксантиноксидаза завершает обмен пуриновых оснований образованием мочевой кислоты (рис. 6.26).

Этот фермент имеет олигомерную структуру, состоит из двух субъединиц. В активном центре каждой субъединицы находится кофермент ФАД. Кроме этого с молекулой ксантиноксидазы связаны четыре атома железа и один атом молибдена. Считается, что весь Мо молока входит в состав ксантиноксидазы, и дефицит этого минерала в рационе животных приводит к снижению активности ксантиноксидазы.

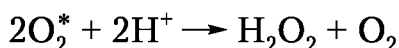


**Рис. 6.26. Участие ксантиноксидазы в окислении ксантина**

В молоке преимущественное количество ксантиноксидазы связано с белками оболочек жировых шариков, поэтому в первую очередь она усиливает процессы окислительной порчи молочного жира. Однако, пока ксантиноксидаза связана с оболочками молочного жира, она малоактивна. Как только ксантиноксидаза становится свободной, активность ее повышается. Это может произойти во многих технологических процессах, затрагивающих целостность оболочек жировых шариков молока.

Например, гомогенизация — процесс, требующий намеренного разрушения фосфолипидных оболочек шариков жира. Обычное резервирование молока при 4°C в течение 24 ч сопровождается кристаллизацией молочного жира, а следовательно, и частичным повреждением его оболочек. При нагреве до 70°C в течение 5 мин из таких жировых шариков происходит вытапливание некоторого количества свободного жира. Эти и другие операции, связанные с получением, хранением, транспортировкой и переработкой молока могут способствовать освобождению ксантиноксидазы и ее непосредственному контакту с молочным жиром. Поскольку этот фермент проявляет проокислительные свойства, он провоцирует увеличение окислительных процессов в продукте. По данным А. Тепела, молоко с признаками окислительной порчи содержит в 10 раз больше ксантиноксидазы, чем нормальное молоко.

Ферментом антиоксидантной защитной системы организма является *супероксиддисмутаза* (СОД), нейтрализующая ионы супероксида ( $O_2^*$ ), возникающие в различных окислительно-восстановительных процессах, в частности, при действии ксантиноксидазы. СОД разлагает их с образованием пероксида и молекулярного кислорода:



Хорошо изучена СОД крови крупного рогатого скота. Это димер, содержащий атомы Cu и Zn, свободные SH-группы и одну S—S-связь. Предполагают, что СОД молока имеет идентичное строение. Установлено, что содержание СОД в молоке пропорционально содержанию ксантиноксидазы. Это свидетельствует о том, что СОД синтезируется для компенсации негативного действия ксантиноксидазы.

В молоке СОД сохраняет активность после нагревания до 71°C в течение 30 мин [26].

К классу оксидоредуктаз относятся *гидроксилазы*, которые катализируют присоединение только одного атома кислорода из его молекулы. Второй атом при этом идет на окисление восстановленных форм НАДН и НАДФН. Гидроксилазы очень активны в надпочечниках млекопитающих. С участием этих ферментов идут многие стадии синтеза стероидных гормонов (см. практический пример 1 в гл. 8).

## 6.7.2. Трансферазы

**Трансферазы катализируют перенос различных групп с одного субстрата (донор) на другой (акцептор).**

Названия строят по принципу:

донор:акцептор — переносимая группа-трансфераза.

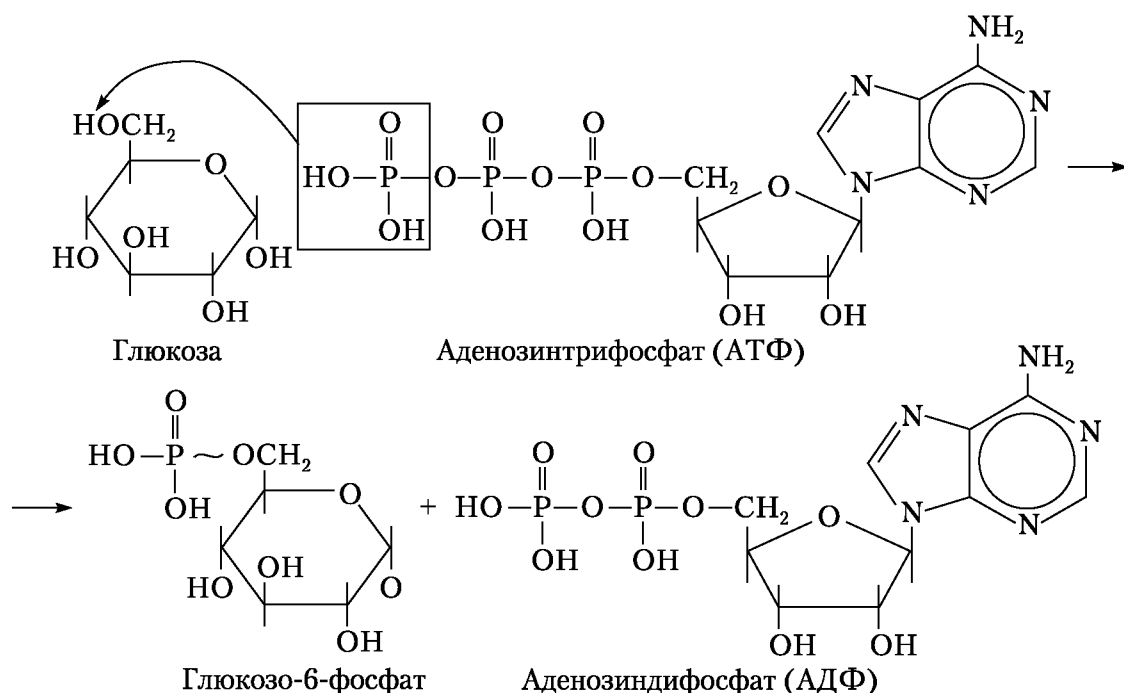
В зависимости от переносимой группы трансферазы подразделяют на несколько подклассов.

**Аминотрансферазы** катализируют перенос  $\text{NH}_2$ -группы в обмен на карбонил ( $=\text{C}=\text{O}$ ). Все представители этого подкласса двухкомпонентны. Их простетическая группа, пиридоксаль (витамин  $\text{B}_6$ ), присоединяется к апоферменту через свою альдегидную группу и ионной связью — через остаток фосфорной кислоты.

Схему реакции можно представить на примере фермента *аспартатамино-трансферазы* (см. рис. 6.16), а механизм рассмотрен в подпараграфе 6.3.2.

**Фосфотрансферазы** ускоряют реакции переноса остатка фосфорной кислоты на спиртовые, карбоксильные, азотсодержащие и другие группы, превращая их в фосфорные эфиры. Такие реакции имеют большое значение для жизнедеятельности организма, поскольку образованные соединения приобретают повышенную реакционную способность и активно вступают в дальнейшие превращения. Донором фосфорных остатков обычно служит АТФ.

Например, активация глюкозы (рис. 6.27) может катализироваться двумя фосфотрансферазами — *глюкокиназой* и *гексокиназой*, но с образованием одинакового производного — *глюкозо-6-фосфата*. Гексокиназа активирует глюкозу в мышцах и других органах, а глюкокиназа — в клетках печени. Систематическое название ферментов — *АТФ:D-гексоза-1-фосфотрансфераза* (2.7.1.1).



**Рис. 6.27. Активация глюкозы при участии фосфотрансфераз глюкокиназы и гексокиназы**



**Гликозилтрансферазы** катализируют перенос углеводных остатков из молекул фосфорных эфиров или других соединений к молекулам моносахаридов, полисахаридов или других веществ, обеспечивая синтез и распад ди-, олиго- и полисахаридов.

В случае переноса моносахаридных остатков на молекулу  $\text{H}_3\text{PO}_4$  реакции называют **фосфоролизом**. Например, распад сахарозы может протекать при каталитическом действии *сахарофосфорилазы* (рис. 6.28), систематическое название которой — *сахароза- $\alpha$ -гликозилтрансфераза*.

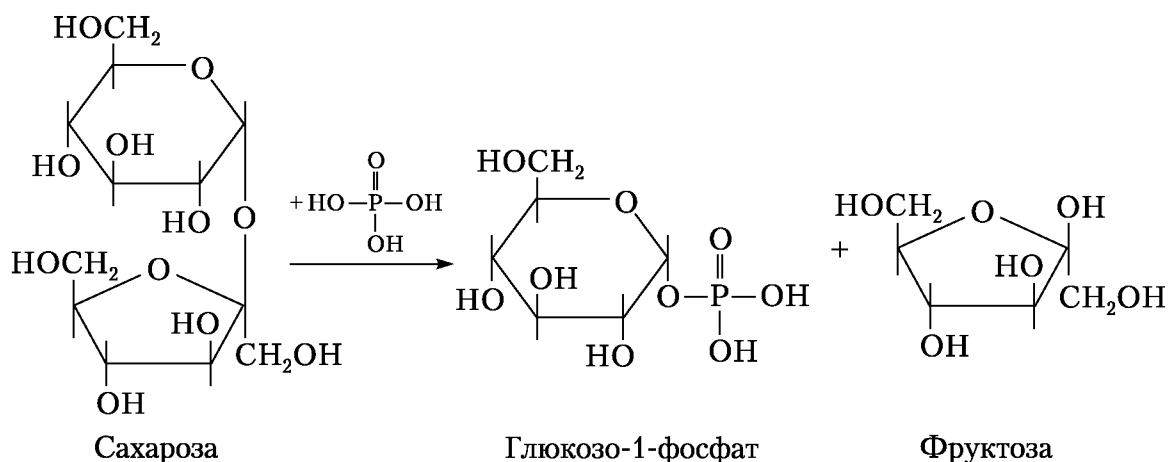


Рис. 6.28. Фосфоролиз сахарозы

Формально этот процесс аналогичен гидролизу. Только вместо фрагментов воды по месту разрыва кислородного мостика присоединяются водород и фосфатная группа — оба из молекулы фосфорной кислоты.

**Ацилтрансферазы** переносят кислотные остатки — ацилы. Универсальным катализатором является *кофермент ацилирования*, сокращенно КоА. За его открытие и значение для промежуточных стадий метаболизма Ф. А. Липман удостоен Нобелевской премии по физиологии и медицине 1953 г.

КоА имеет нуклеотидную структуру. Он, подобно НАД (НАДФ), ФМН и ФАД, содержит нуклеотид аденозин, который через дифосфатную группировку соединяется с витамином  $\text{B}_3$  (пантотеновая кислота) и тиюэтанол амином (рис. 6.29).

Активным центром кофермента ацилирования является SH-группа, поэтому сокращенно кофермент часто обозначают HSKoA. Связывание кислотных остатков происходит по месту атома S, а возникающая связь является макроэргической. В результате кислотные остатки легко вовлекаются в обменные процессы. В действительности реакция АТФ-зависима, но схематично ее можно изобразить, как на рис 6.30.

Производные кислот и КоА называют по аналогии с солями кислот: ацетил-КоА, бутирил-КоА, кротонил-КоА, стеарил-КоА и т.д.

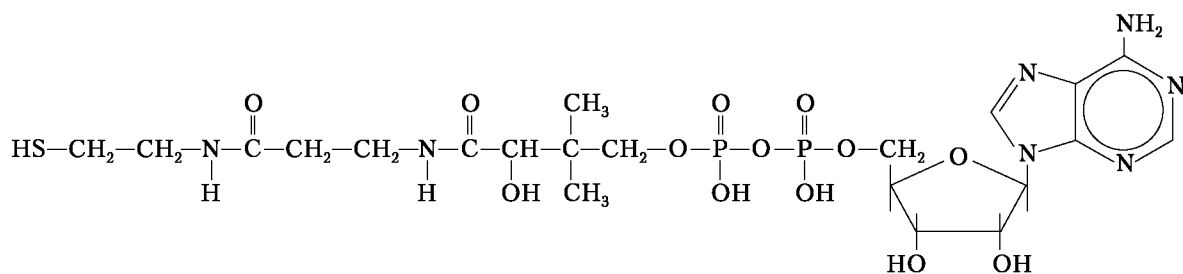


Рис. 6.29. Структура кофермента ацилирования

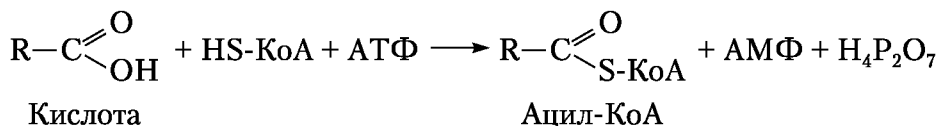


Рис. 6.30. Активирование кислоты при участии ацетил-KoA

**Метилтрансферазы** участвуют в метилировании разных субстратов, например азотистых оснований НК. Коферментами являются тетрагидрофолиевая кислота, производное витамина В<sub>9</sub> (фолиевая кислота), метилкобаламин (витамин В<sub>12</sub>) и S<sup>+</sup>-аденозилметионин (рис. 6.31).

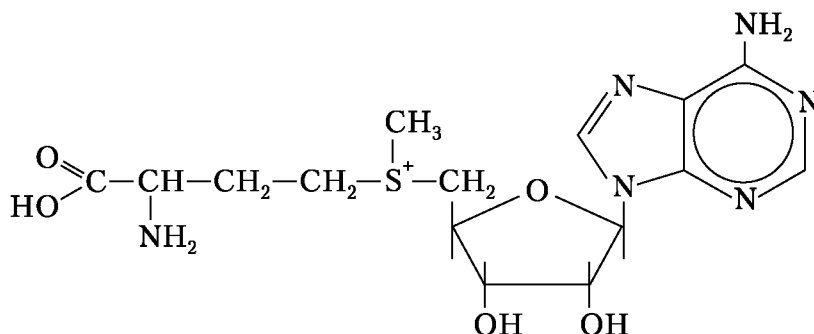


Рис. 6.31. Структура S<sup>+</sup>-аденозилметионина

### 6.7.3. Гидролазы

**Гидролазы катализируют разрыв (иногда синтез) связей с участием молекулы воды.**

Это единственный класс, в котором все ферменты однокомпонентные. Называя гидролазы, придерживаются принципа:

субстрат:отщепляемая группа-гидролаза.

Однако именно для ферментов этого класса сохраняются тривиальные названия. Часто название образуют, просто добавляя суффикс -аза к названию субстрата: *протеиназа*, *лактаза*, *липаза*.

Гидролазы подразделяют на несколько подклассов в зависимости от субстрата, на который они действуют.

**Эстеразы** ускоряют гидролиз сложноэфирных связей. Важнейшие подклассы эстераз — гидролазы эфиров карбоновых кислот и фосфатазы. Примером гидролаз эфиров карбоновых кислот может служить *липаза* (рис. 6.32), которая катализирует разрыв внешних, так называемых α-сложноэфирных связей триглицеридов. Систематическое название ТАГ-липазы — *триацилглицерол:ацил-гидролаза*.

По такой схеме протекает гидролиз простых липидов при переваривании жиров у человека под влиянием липазы поджелудочной железы. Обра-

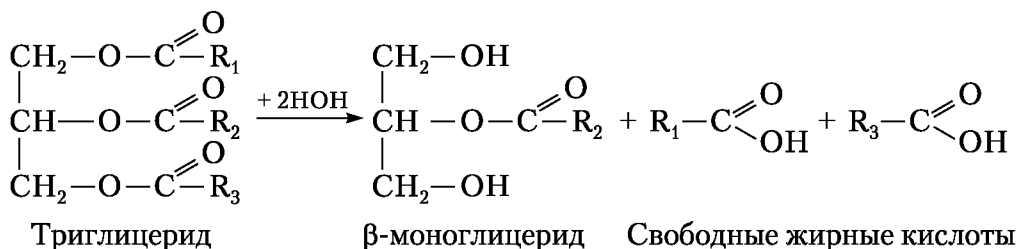


Рис. 6.32. Действие липазы

зующиеся  $\beta$ -моноглицериды направляются на ресинтез жира в стенке кишечника либо полностью гидролизуются до глицерина и жирных кислот при участии эстеразы печени.

В производстве молочных продуктов липазы могут оказывать как положительное, так и незапланированное отрицательное воздействие. Продукты гидролиза молочного жира содержат низкомолекулярные жирные кислоты, обладающие характерным и часто неприятным резким вкусом и запахом. В значительных количествах они придают молоку, сливкам, маслу и другим молочным продуктам такие пороки вкуса, как несвежий, прогорклый и мыльный привкус. Эти нежелательные эффекты появляются, если липаза имеет контакт со свободным жиром, т.е. наиболее характерны для сливочного масла, а также в производстве любых молочных продуктов, поскольку повреждение оболочек жировых шариков может произойти при различных технологических операциях, связанных с быстрым перепадом температур, замораживанием, гомогенизацией, активным механическим воздействием.

Положительное действие липаза оказывает при созревании различных твердых, полутвердых сыров и сыров с плесенью, для которых наличие тех же самых продуктов гидролиза жира — низкомолекулярных жирных кислот является залогом характерного аромата.

В молоко липаза попадает двумя путями: из клеток, синтезирующих молоко, — *нативная* липаза, и из клеток микроорганизмов — *бактериальная*. Их особенности показаны в табл. 6.7.

Таблица 6.7

Сходство и различие нативной и бактериальной липазы

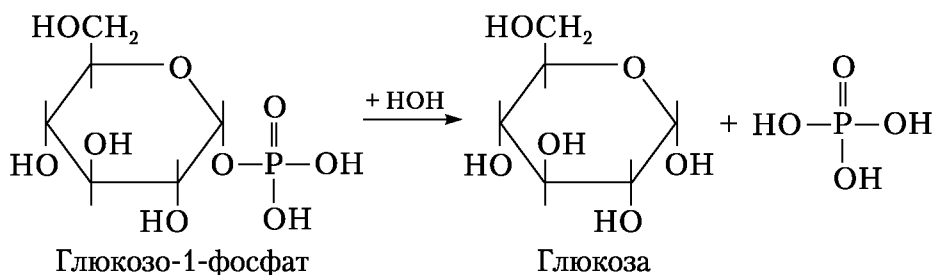
Происхождение липазы	Свойства
Нативная	Синтезируется в крови для каталитического гидролиза ЛП. Вместе со СЖК попадает в клетки, синтезирующие молоко, а оттуда в молоко. Количество поступающей в молоко липазы возрастает при повреждении продуцирующих молоко клеток, при различных воспалительных процессах, например при мастите. Полностью разрушается при соблюдении режимов пастеризации
Бактериальная	Синтезируется различными микроорганизмами, включая плесневые грибы и дрожжи. Наибольшую опасность представляют психротрофы, липаза которых может восстанавливать активность даже после УВТ-обработки

Из табл. 6.7 ясно, что появление липолитических пороков в жидких и сухих молочных продуктах, а также продуктах, подвергнутых УВТ-обработке, — результат действия липаз бактериального происхождения или несоблюдения надлежащих режимов пастеризации.

**Фосфатазы** катализируют гидролиз фосфорноэфирных связей. Большое значение имеют фосфатазы, действующие на сложные эфиры фосфорной кислоты и углеводов (рис. 6.33).

В молоке обнаружены фосфатазы, отличающиеся рН оптимумом действия: *кислая* и *щелочная*. Кислая фосфатаза наиболее активна при рН 4,9, а щелочная — в диапазоне рН 9—10.

Оба фермента катализируют гидролиз фосфорных остатков от молекулы казеина. В результате ухудшается способность казеина связывать ионы  $\text{Ca}^{2+}$ ,



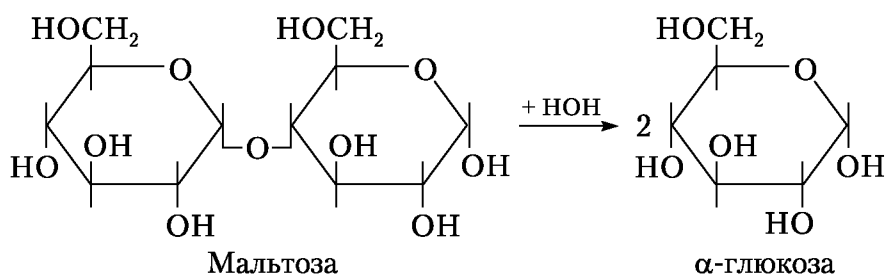
**Рис. 6.33. Дефосфорилирование глюкозо-1-фосфата:**

реакция катализируется *D*-глюкозо-1-фосфат:фосфогидролазой

а следовательно, и возможность образовывать мультимерные комплексы казеина. Однако гидролитические свойства в молоке реализует только кислая фосфатаза, поскольку оптимум pH щелочной фосфатазы не достигается при получении или переработке молока. Тем не менее, щелочная фосфатаза играет значительную роль в производстве молочных продуктов. Это объясняется тем, что она разрушается при температурах несколько больших, чем температуры, обеспечивающие уничтожение патогенных микроорганизмов. Поэтому щелочная фосфатаза отсутствует в молоке, если режимы его пастеризации соблюдались.

**Гликозидазы (гликозилгидролазы)** ускоряют гидролиз гликозидов, например ди- и полисахаридов. В пищевых технологиях это одни из самых востребованных ферментов, поскольку в ценовом выражении на их долю приходится примерно 50% стоимости всех ферментов, применяемых в производстве продуктов питания. Они применяются для изготовления подсластителей, загустителей, модификации углеводов и пр. [29].

Ферменты высокоспецифичны и различают  $\alpha$ - и  $\beta$ -формы сахаров, как, например, *мальтаза* на рис. 6.34, которая расщепляет только  $\alpha$ -гликозидные связи. Систематическое название этого фермента —  $\alpha$ ,*D*-глюкозид:глюкогидролаза (3.2.1.20).



**Рис. 6.34. Гидролиз мальтозы мальтазой ( $\alpha$ -глюкозидазой)**

Гликозидазы достаточно хорошо изучены. По предложению Ш. Дамодарана их можно разделить на две разновидности: *инвертирующие* и *удерживающие*, в зависимости от того, в каком положении остается гликозидный гидроксил после гидролиза. Инвертирующие ферменты катализируют только гидролиз. Удерживающие гликозидазы катализируют и гидролиз, и перенос гликозильного остатка, сохраняя ту аномерную конфигурацию гидроксила, которая была при образовании гликозидной связи [29].

По месту действия гликозидазы делят на *экзо*-и *эндоферменты*. Экзо-гликозидазы обычно, но не всегда гидролизуют связи с нередуцирующей стороны полисахарида.

**Пептидгидролазы** катализируют гидролиз пептидных связей в пептидах и белках. Пептидгидролазы разделяют по месту действия на протеиназы и пептидазы. *Протеиназы* расщепляют внутренние пептидные связи, т.е. являются *эндопептидазами*. *Пептидазы* действуют на внешние пептидные связи, и следовательно, являются *экзопептидазами*. Экзопептидазы, в свою очередь, делятся на амино- и карбоксипептидазы, в зависимости от того, с какого конца гидролизуют пептидную связь. *Аминопептидазы* отщепляют N-концевые аминокислоты, *карбоксипептидазы* ускоряют гидролиз C-концевых аминокислот (рис. 6.35).

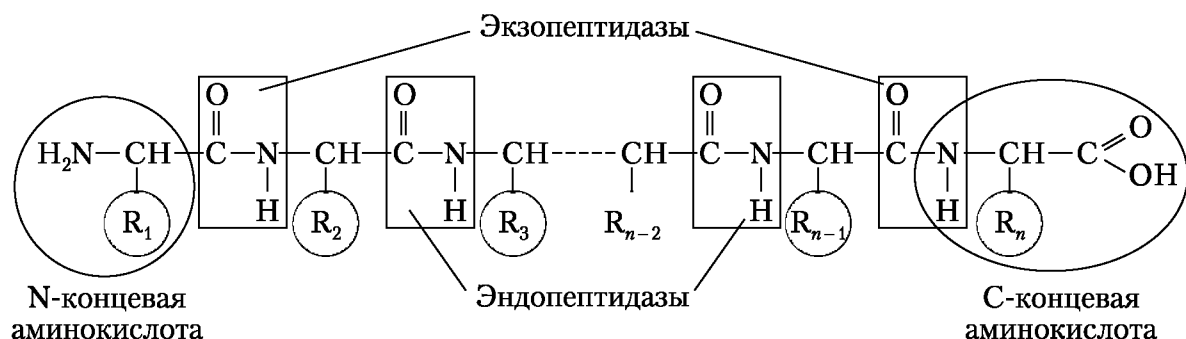


Рис. 6.35. Область действия различных пептидаз

С открытием экзопептидаз связан большой прорыв в биохимии. Эти ферменты позволили устанавливать последовательность аминокислот в белках. До этого в результате гидролиза белков получалась смесь аминокислот и выяснить их чередование, т.е. первичную структуру белка, не представлялось возможным.

Например, за открытие первичной структуры гормона пептидной природы инсулина Ф. Сенгеру<sup>1</sup> была присуждена Нобелевская премия.

Распад белков под действием всей этой группы ферментов называют **протеолиз**. Он сопровождается образованием пептидов разной длины цепи. Низкомолекулярные пептиды часто обладают горьким вкусом, что может привести к появлению органолептических пороков в пищевом продукте.

В молоке есть два вида протеиназ — нативные и бактериальные.

**Нативные протеиназы** — *плазмин* и *катепсин* открыты сравнительно недавно, во второй половине XX в. Поводом к их исследованию служило сохранение протеолитических процессов, протекающих в молоке, несмотря на улучшение его санитарно-микробиологических показателей.

Наибольшее значение на технологические характеристики молока и молочных продуктов оказывает плазмин. Он выделяется в молоко из крови в виде неактивного предшественника плазминогена и связывается с казеиновыми коллоидными частицами. В состав плазминогена входят непосредственно плазмин, а также его активатор и ингибитор. В такой форме и под «защитой» казеина плазмин относительно стабилен в большом интервале рН — от 4 до 9 ед., но наибольшую активность проявляет при рН 7,5. Температурный оптимум плазмина 35°C, но и при охлаждении до 5°C его активность составляет 20% максимальной [26].

<sup>1</sup> Ф. Сенгер — дважды лауреат Нобелевской премии по химии: 1958 г. «За установление структур белков, особенно инсулина» и 1980 г. «За фундаментальные исследования биохимических свойств нуклеиновых кислот, в особенности рекомбинантных ДНК».

По характеру действия плазмин относится к эндопротеиназам. Он специфичен к внутренним связям  $\beta$ -казеина (Лиз<sub>28</sub>-Лиз<sub>29</sub>, Лиз<sub>105</sub>-Гис<sub>106</sub> и Лиз<sub>107</sub>-Глу<sub>108</sub>) и в меньшей степени действует на  $\alpha$ -казеин. Сывороточные белки и к-казеин устойчивы к воздействию плазмينا.

При сычужном сквашивании плазмин локализуется в сырном зерне в составе казеиновых частиц и проявляет свою активность в начальной стадии созревания сыров.

Вследствие того, что плазмин находится в составе казеиновых коллоидных частиц, он выдерживает высокотемпературный нагрев и полностью инактивируется лишь при 142°C в течение 15 с. Поэтому в продуктах, прошедших высокотемпературную обработку и имеющих длительный срок хранения, например в УВТ-молоке, плазмин проявляет свою активность. Результатом его действия становится изменение консистенции с характерным гелеобразованием.

Протеиназы *бактериального происхождения* по своим свойствам более разнообразны. Среди них есть и эндо- и экзопептидазы, вследствие чего гидролиз может происходить очень глубоко с образованием пептидов разной длины, дипептидов и свободных аминокислот. Такие процессы могут протекать как результат восстановления активности бактериальных ферментов или как результат непосредственного развития нежелательной микрофлоры в молоке и молочных продуктах. Последствиями обязательно являются пороки вкуса, запаха, а иногда и консистенции.

Регулируемый гидролиз белков протеиназами бактериального происхождения осуществляется в производстве сыров. Выбор чистых культур, создание различных комбинаций заквасок, направленное действие температур, контроль уровня pH и других технологических показателей — все это выделяет сыроделие в крупнейшую отрасль молочной промышленности.

В молочной промышленности большое значение имеет *сычужный фермент* (пепсин или реннин<sup>1</sup>) — протеиназа, сычуга сельскохозяйственных животных, которая высокоспецифична по отношению к основному белку молока — к-казеину. И пепсин, и реннин избирательно действуют на связь, образованную 105-й и 106-й аминокислотами Фен и Мет. В результате гидролиза этой связи в к-казеине от него отщепляется большой гидрофобный фрагмент, казеин денатурирует и выпадает в осадок (рис. 6.36).

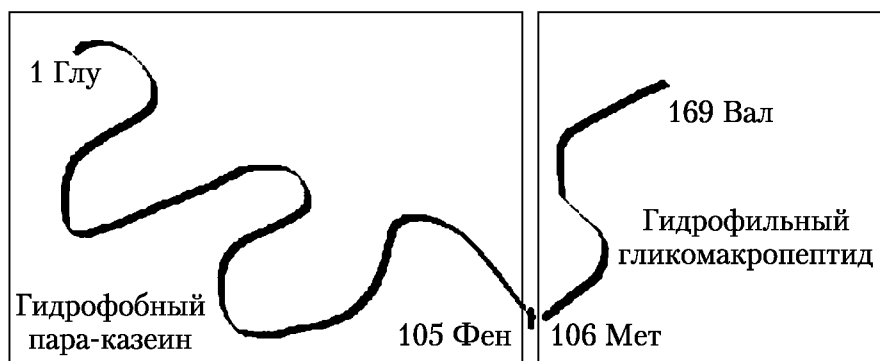


Рис. 6.36. Схема гидролиза казеина сычужным ферментом

<sup>1</sup> Пепсин — фермент взрослых животных; реннин (химозин) — фермент молодняка жвачных.

В производстве мясных продуктов, напитков, хлебопечении находят применение протеиназы растительного происхождения. Для умягчения мяса используют *папаин*, выделенный из млечного сока дынного дерева, или *бромелин* (*бромелайн*), получаемый из сока стеблей ананасов. При брожении теста и пива большое значение имеют протеиназы злаковых, под влиянием которых готовые продукты приобретают необходимые потребительские свойства.

**Амидазы** катализируют гидролиз C—N-связей, но не пептидных. Например, синтез мочевины в орнитиновом цикле протекает при участии *L-аргинин:урео-гидролазы* (рис. 6.37).

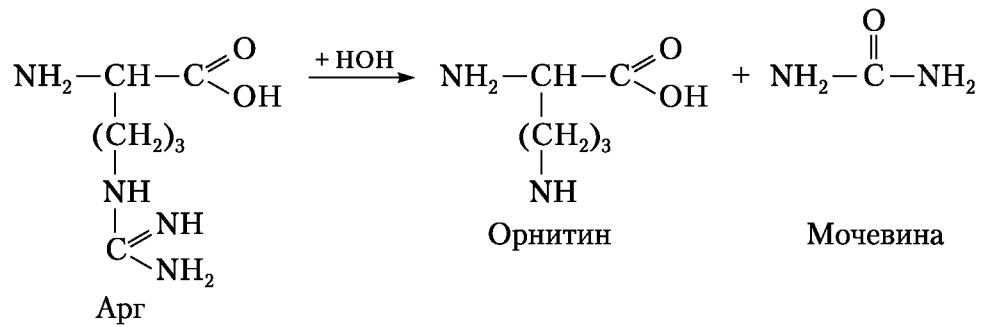


Рис. 6.37. Действие амидазы

#### 6.7.4. Лиазы

**Лиазы катализируют негидролитический разрыв связей.**

Название образуется по схеме:

субстрат:отщепляемая (или присоединяемая) группа-лиаза.

В зависимости от расщепляемой связи лиазы подразделяют на несколько подклассов.

**Углерод-кислород-лиазы** расщепляют связи между атомами углерода и кислорода, иначе дегидратазы и гидратазы (рис. 6.38).

**Углерод-углерод-лиазы** расщепляют связи между атомами углерода. Например, *пируватдекарбоксилаза*, или карбоксилиаза-2-оксопропановой кислоты катализирует реакцию декарбоксилирования ПВК (рис. 6.39). Систематическое название фермента — *2-оксокислота:карбокси-лиаза*.

**Углерод-азот-лиазы** действуют на связи между атомами углерода и азота, как, например, *аспартатаммиаклиаза*. Ее международное название *L-аспартат:аммиак-лиаза* (рис. 6.40).

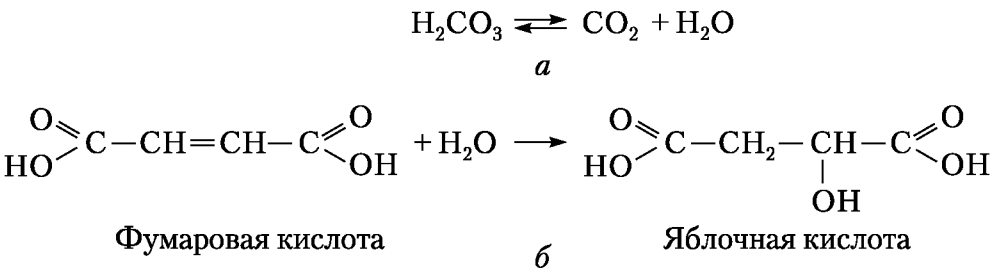


Рис. 6.38. Примеры действия углерод-кислород-лиаз:

*а* — разложение углекислоты под действием карбоангидразы (карбонат:гидро-лиаза);  
*б* — фумаратгидратаза (фумарат:гидро-лиаза)

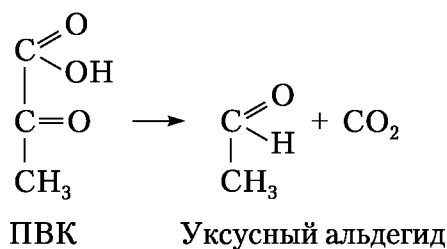


Рис. 6.39. Декарбоксилирование ПВК

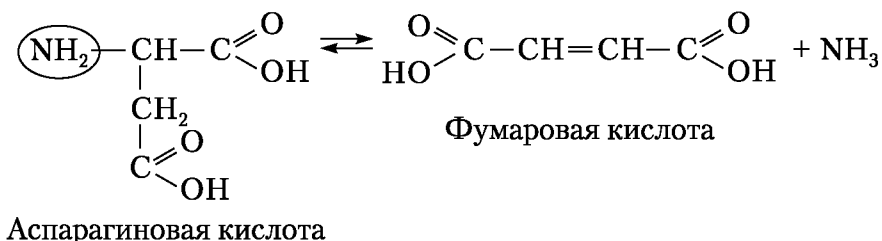


Рис. 6.40. Внутримолекулярное дезаминирование

### 6.7.5. Изомеразы

**Изомеразы катализируют изомерные превращения внутри одной молекулы.**

Изомеразы делят на подклассы в зависимости от вида структурных изменений.

**Рацемазы и эпимеразы**, например, ускоряют инверсию асимметричных групп. Рацемазы осуществляют превращения в молекулах с одним асимметричным центром. Например, *аланин-рацемаза* катализирует превращение *D*-Ала в *L*-Ала (рис. 6.41).

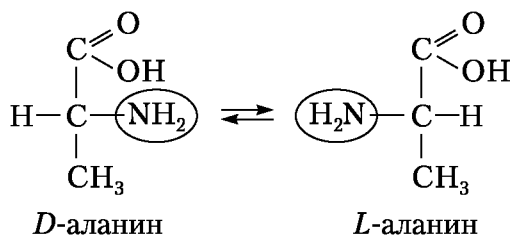


Рис. 6.41. Действие рацемазы

Эпимеразы катализируют изомерные превращения в молекулах с несколькими асимметричными центрами. *УДФ-глюкозо-4-эпимераза* катализирует превращение *УДФ-1-глюкозы* в *УДФ-1-галактозу* (рис. 6.42).

**Цис-транс-изомеразы** ускоряют превращения геометрических изомеров, которые различаются положением заместителей относительно двойной связи. Примером может служить *малеинат-цис-транс-изомераза* (рис. 6.43).

**Внутримолекулярные оксидоредуктазы** осуществляют взаимные превращения альдоз в кетозы. С участием этих ферментов окисляются  $\text{=CH-OH}$  группы и восстанавливаются карбонильные  $\text{=C=O}$ , например, как показано на рис. 6.44, при действии *D-глицеральдегид-3-фосфат:кетол-изомеразы*.

**Внутримолекулярные трансферазы (мутазы)** переносят различные группы с одной части молекулы на другую. *D-фосфоглицерат:2,3-фосфомутаза* катализирует превращение 3-ФГК в 2-ФГК (рис. 6.45).



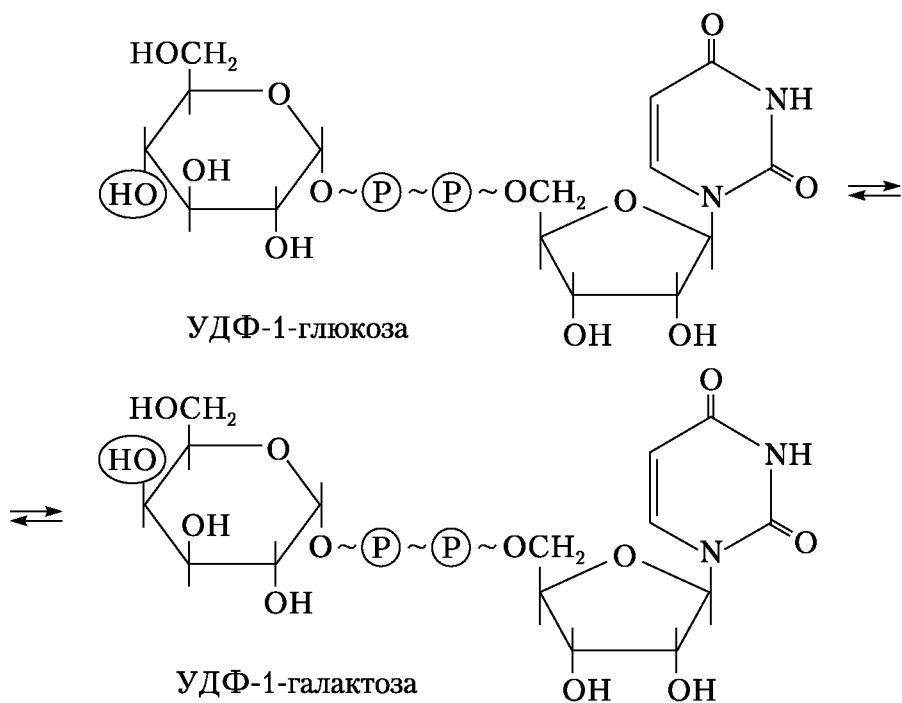


Рис. 6.42. Действие эпимеразы

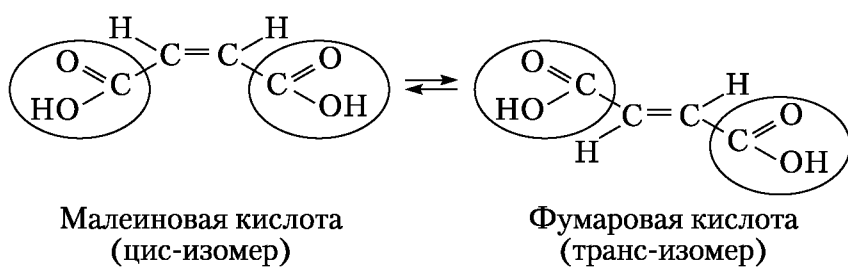


Рис. 6.43. Обратимое превращение малеиновой кислоты в фумаровую

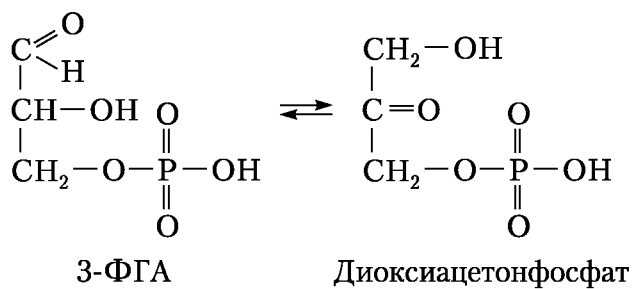


Рис. 6.44. Действие внутримолекулярной оксидоредуктазы

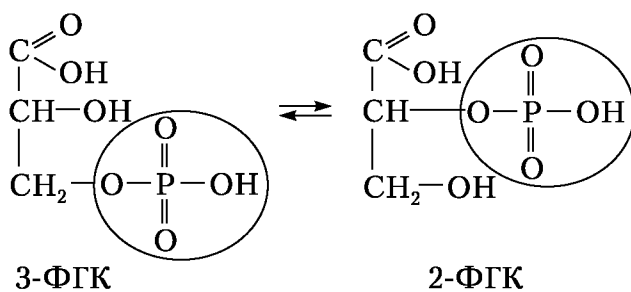


Рис. 6.45. Действие мутазы

### 6.7.6. Лига́зы (синте́тазы)

**Лига́зы (синте́тазы) катализируют синтез веществ с использованием энергии фосфорной связи из АТФ и ее аналогов (ГТФ, ЦТФ, УТФ).**

Систематические названия дают по формуле:

субстрат:присоединяемая группа (или второй субстрат)-лигаза.

На практике чаще пользуются термином «синтетаза», а в громоздких названиях его укорачивают до «синтаза».

Лига́зы делят на подклассы в зависимости от синтезируемой связи.

**Углерод-сера-лигазы** катализируют образование связей между атомами углерода и серы. Среди этого подкласса большое значение имеют ацил-КоА-синтетазы. Их действие тесно связано с *ацил-трансферазами* (см. подпараграф 6.5.2).

**Углерод-углерод-лигазы** катализируют образование связей между атомами углерода, например, в реакциях карбоксилирования, так называемые *карбоксилазы* (рис. 6.46). Они способствуют удлинению углеродной цепочки.

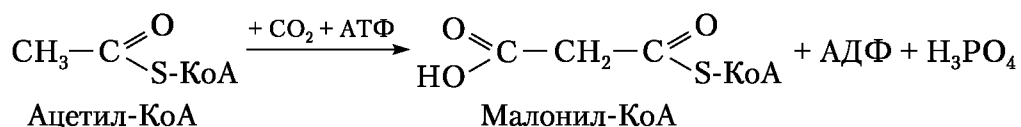


Рис. 6.46. Действие ацетил-КоА:СО<sub>2</sub>-лигазы

**Углерод-азот-лигазы** способствуют образованию связей между атомами углерода и азота, например, при синтезе пантотеновой кислоты (рис. 6.47).



Рис. 6.47. Синтез пантотеновой кислоты

**Углерод-кислород-лигазы** катализируют образование связей между атомами углерода и кислорода. Они играют важную роль в активировании кислот. При этом ацилы переносятся на АТФ с образованием макроэргической связи (рис. 6.48).

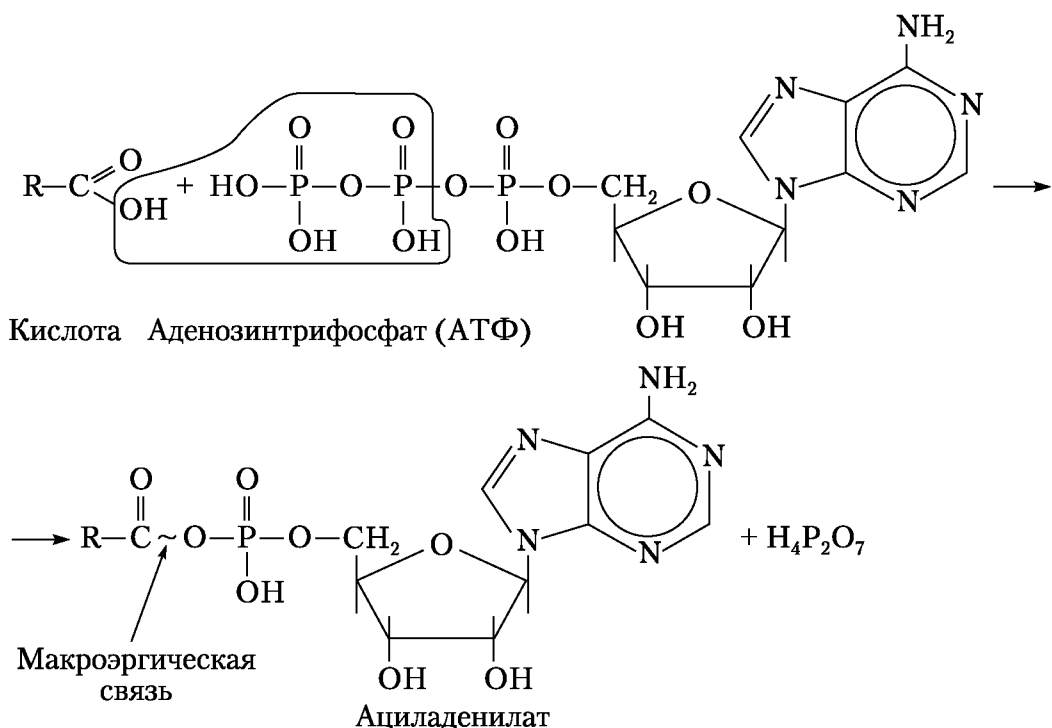


Рис. 6.48. Активирование кислоты

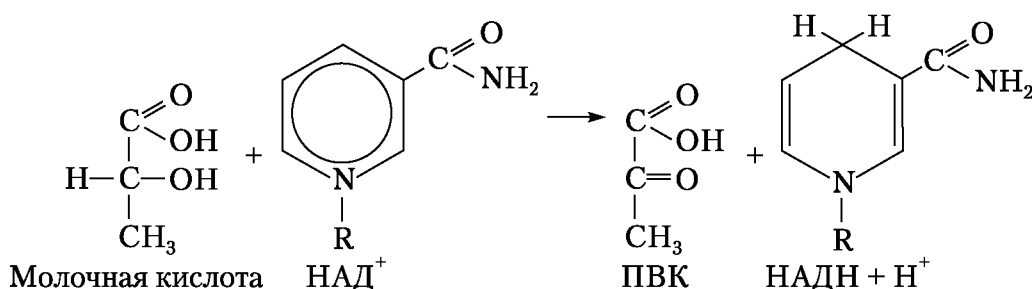
## 6.8. Практические примеры

**I. Написание уравнения реакции по названию фермента.** Международная номенклатура диктует общее правило, по которому строится название фермента:

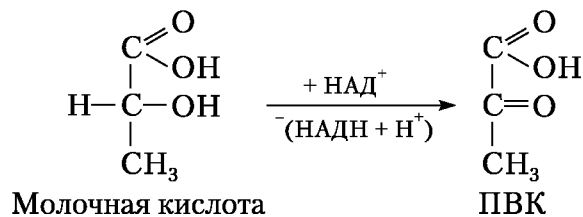
субстрат А:субстрат В-тип химического превращения.

Например, фермент, катализирующий превращение молочной кислоты в ПВК, в соответствии с этим правилом, называется *L-лактат:НАД<sup>+</sup>-оксидоредуктаза*. Из названия фермента ясно, что субстрат А — это *L*-изомер молочной кислоты. Субстрат В — окисленная форма кофермента НАД<sup>+</sup>. Тип химического превращения — окислительно-восстановительный процесс.

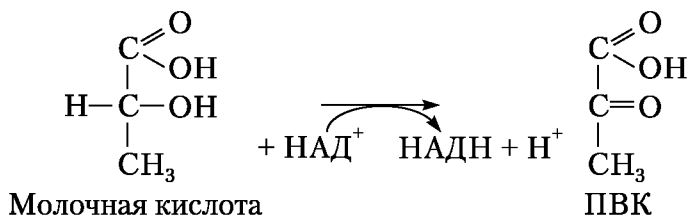
Кофермент НАД осуществляет окисление субстратов путем дегидрирования, т.е. отщепления 2H. Зная формулу молочной кислоты и принцип действия кофермента НАД<sup>+</sup>, можно записать уравнение:



Если по условию задачи не требуется писать все субстраты с использованием графических формул, то участие кофермента лишь обозначают краткой записью — НАД<sup>+</sup> (окисленная форма) и НАД<sup>+</sup> + H<sup>+</sup> (восстановленная форма):



В биохимической литературе для обозначения участия кофермента в реакции есть еще один распространенный способ записи:

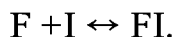


Оксидоредуктазы очень многочисленный класс ферментов. Многие из них в качестве кофермента содержат НАД или ФАД. Оба кофермента относятся к анаэробным оксидоредуктазам, поэтому в названии фермента часто подчеркивают эту особенность. Например, в данном случае фермент называют *L-лактат:НАД<sup>+</sup>-дегидрогеназа*.

Для дегидрогеназ и в научной, и в научно-практической, и в учебной отечественной и зарубежной литературе укоренился еще один вариант названий. Например, этот же самый фермент называют: *НАД-зависимая лактатдегидрогеназа*.

**II. Определение вида ингибирования по графической зависимости.** Основные типы обратимого ингибирования — конкурентное, неконкурентное и бесконкурентное можно различить с помощью кинетического анализа.

При *конкурентном ингибировании* постороннее вещество (ингибитор — I) и субстрат (S) имеют пространственное сходство и конкурируют за активный центр фермента (F). Если активный центр фермента занят ингибитором, то фермент не способен связывать субстрат. Взаимодействие конкурентного ингибитора с ферментом будет описываться уравнением

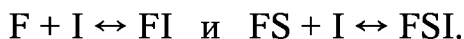


При этом константе диссоциации ( $K_i$ ) фермент-ингибиторного комплекса (FI) соответствует уравнение

$$K_i = \frac{[F][I]}{[FI]}.$$

Отсюда следует, что образование FI-комплекса зависит от концентрации I так же, как от концентрации S зависит образование FS-комплекса. Значит, скорость реакции в присутствии конкурентного ингибитора определяется соотношением концентраций I и S.

При *неконкурентном ингибировании* образование FI-комплекса происходит не в месте соединения с субстратом, а в другой области фермента, поэтому возможно образование ингибиторных комплексов двух видов:



Каждая из этих реакций характеризуется своей константой диссоциации —  $K_i^{\text{FI}}$  и  $K_i^{\text{FSI}}$ , соответственно:

$$K_i^{\text{FI}} = \frac{[\text{FI}]}{[\text{F}][\text{I}]};$$

$$K_i^{\text{FSI}} = \frac{[\text{FS}][\text{I}]}{[\text{FSI}]}.$$

Константы диссоциации  $K_i^{\text{FI}}$  и  $K_i^{\text{FSI}}$  могут иметь как одинаковое, так и разное значение, но анализ графической зависимости показывает, что наклон и величина отрезка, отсекаемого на оси ординат, отличаются от соответствующих параметров в неингибированной реакции (рис. 6.49).

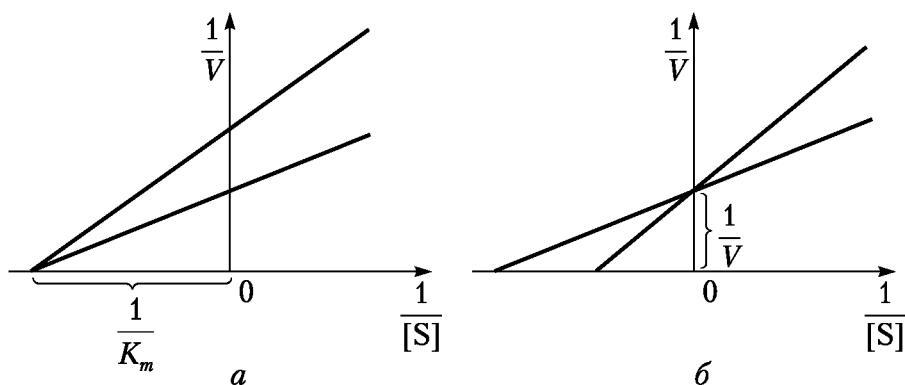


Рис. 6.49. Влияние ингибиторов на скорость ферментативной реакции:

*а* — при неконкурентном ингибировании сродство фермента к субстрату остается неизменным, но максимальная скорость реакции уменьшается; *б* — при конкурентном ингибировании максимальная скорость реакции не меняется, меняется лишь сродство фермента к субстрату

**III. Чувствительность ферментов к температуре и переработка молока.** Для молочной промышленности характерно контролирование не только качества готовой продукции, но и исходного сырья. Простое, но очень важное требование — охлаждение молока до 4°C обеспечивает надежное уменьшение активности бактериальных и нативных ферментов, что сохраняет качество молока на стадии получения, в процессе доставки и резервирования на фермах и перерабатывающих предприятиях.

В производстве молочных продуктов испытанным средством против нежелательной микрофлоры и ее ферментов является нагревание. Традиционный нагрев молока до 72°C в течение 16 с называют *пастеризацией* в честь Л. Пастера, который обнаружил, что порчу продуктов можно предотвратить их нагреванием до определенной температуры. Более жесткая обработка — нагрев до 120°C в течение 15 мин, называемый *стерилизацией*, сопровождается изменением вкуса и цвета продукта, что не нравится многим потребителям. Современные технологии позволяют и сохранять первоначальный вкус молока, и нагревать его до 130–140°C за 2–4 с методом *ультрапастеризации* или ультравысокотемпературной обработки (УВТ-молоко). В новейших технологиях с использованием инфузии пара нагрев молока до 130–145°C достигается менее чем за 1 с при полной гибели микроорганизмов и инактивации ферментов. В сочетании с быстрым охлаждением и упаковкой в асептических условиях УВТ-молоко может храниться до 28–35 сут.

Таким образом, резкое снижение активности ферментов путем понижения и повышения температуры — это действенные способы сохранения качества молока и молочной продукции.

Чувствительность ферментов к температуре используется для оценки качества пастеризации в производстве молочных продуктов. Разные ферменты полностью инактивируются при различных температурах. Например, *лактопероксидаза* инактивируется при 85°C за 10 с, а *щелочная фосфатаза* — при 72°C за 15 с.

Если необходимый температурный рубеж не был достигнут, то после охлаждения молока активность ферментов восстанавливается. Поэтому проявление активности некоторых ферментов в молоке и молочных продуктах может служить индикатором процесса пастеризации. Для открытия ферментов используют их биохимические свойства, а для наглядности вводят вещества, дающие окрашенные соединения в ходе реакции, катализируемой ферментом (см. лабораторную работу «Ферментативный метод оценки качества пастеризации молока и молочных продуктов по открытию пероксидазы»).

### **Задания для самостоятельной работы**

I. Среди возможных вариантов выберите единственное верное завершение фразы.

1. Для определения N-концевых аминокислот используют:

- а) трипсин;
- б) химотрипсин;
- в) аминопептидазу;
- г) карбоксипептидазу;
- д) соляную кислоту.

2. Абсолютной специфичностью к субстрату обладает:

- а) фосфатаза;
- б) пепсин;
- в) химотрипсин;
- г) трипсин;
- д) уреазы.

3. Составной частью КоА является:

- а) кобаламин;
- б) холин;
- в) ретинол;
- г) никотинамид;
- д) пиридоксальфосфат.

4. В активном центре коферментов НАД и НАДФ находится витамин:

- а) В<sub>1</sub>; б) В<sub>2</sub>; в) В<sub>3</sub>; г) В<sub>4</sub>; д) В<sub>5</sub>.

5. В активном центре коферментов ФМН и ФАД находится витамин:

- а) В<sub>1</sub>; б) В<sub>2</sub>; в) В<sub>3</sub>; г) В<sub>4</sub>; д) В<sub>5</sub>.

6. Липоевая кислота в составе различных ферментов может проявлять свойства:

- а) трансферазы;
- б) гидролазы;
- в) лиазы;
- г) лигазы;
- д) изомеразы.

**7.** В активном центре кофермента А находится витамин:

а) В<sub>1</sub>; б) В<sub>2</sub>; в) В<sub>3</sub>; г) В<sub>4</sub>; д) В<sub>5</sub>.

**8.** Максимальная активность пепсина проявляется при значении pH:

а) 1,5—2,0; б) 5,5—6,0; в) 6,8—7,0; г) 7,0—8,5; д) 10,5—11,0.

**9.** Перенос различных групп внутри молекулы катализируют:

а) рацемазы;

б) эпимеразы;

в) цис-транс-изомеразы;

г) внутримолекулярные оксидоредуктазы;

д) мутазы.

**10.** Участок молекулы фермента, отвечающий за его специфичность, называется:

а) субстратный центр;

б) каталитический центр;

в) аллостерический центр;

г) гидрофобный центр;

д) активный центр.

**11.** Трансферазы катализируют реакции:

а) переноса атомных групп и молекулярных остатков от одного субстрата к другому;

б) переноса атомов и групп атомов внутри молекулы;

в) переноса ацильных остатков;

г) осуществляемые тРНК;

д) синтеза тРНК.

**12.** Глицерокиназа относится к классу:

а) оксидоредуктаз;

б) трансфераз;

в) изомераз;

г) лигаз;

д) гидролаз.

**13.** Лактаза — это фермент класса:

а) оксидоредуктаз;

б) трансфераз;

в) изомераз;

г) лигаз;

д) гидролаз.

**14.** Функционально активной группой кофермента А является:

а) гидроксильная;

б) карбоксильная;

в) карбонильная;

г) сульфгидрильная;

д) дисульфидная.

**II.** Дайте аргументированный ответ, сопровождая его при необходимости расчетами и соответствующими превращениями.

**1.** Напишите уравнение реакции перехода окисленной формы никотинамидадениндинуклеотида в восстановленную.

**2.** Обмен аминокислот сопряжен с переносом аминогруппы на кетокислоту. Эти реакции катализируются сложными ферментами — аминотранс-

феразами, в активном центре которых находится фосфорилированная форма витамина В<sub>6</sub>. Пользуясь схемой на рис. 6.10, покажите механизм действия аминотрансферазы для данной аминокислоты с α-кетоглутаровой кислотой: а) Гли; б) Вал; в) Тре; г) Фен; д) Цис; е) Мет; ж) Лиз; з) Асп; и) Гис; к) Иле. Назовите фермент и продукты реакции.

3. Разные по физико-химическим свойствам кислоты: уксусная, сорбиновая, лимонная — используются в производстве многих пищевых продуктов (овощей, фруктов, рыбы и пр.) как консерванты. Обоснуйте применение этих кислот в качестве консервантов с учетом биохимических превращений, протекающих в пищевых продуктах в процессе производства и хранения.

4. При переваривании казеина выделяется гептапептид, снижающий давление крови. Последовательность аминокислот в нем следующая: Ала-Вал-Про-Тир-Про-Глн-Арг. Напишите графическую формулу этого пептида и схемы гидролиза его аминок- и карбоксипептидазами (см. подпараграфы 6.7.3 и 6.33).

5. Любые химические превращения ускоряются при повышении температуры. В отношении ферментов это справедливо только до определенного температурного предела, с превышением которого скорость ферментативной реакции уменьшается. Объясните сущность данного явления.

6. Питьевую воду, пищевые продукты, а также корма для животных контролируют на наличие тяжелых металлов. Чем вызваны такие меры?

7. Название фермента включает названия субстратов, участвующих в реакции, и тип химического превращения:

субстрат А:субстрат В-тип химического превращения

Пользуясь этим правилом, напишите уравнения реакций, которые катализируются следующими ферментами:

Вариант	Название фермента
1	α-глицеролфосфат:НАД <sup>+</sup> -дегидрогеназа
2	Сукцинат:ФАД-дегидрогеназа
3	Фосфоенолпироват:карбоксилаза
4	D-фосфоглицерат:2,3-фосфомутаза
5	L-аспартат:аммиак-лиаза
6	D-глюкозо-1-фосфат:фосфо-гидролаза
7	УДФ-глюкозопирофосфорилаза
8	Галактозо-1-фосфатуридилтрансфераза
9	L-лактат:НАД <sup>+</sup> -оксидоредуктаза
10	L-малат:НАД <sup>+</sup> -оксидоредуктаза

Для изображения субстратов и коферментов используйте только графические формулы. Используя данные таблицы, определите класс, подкласс и подподкласс фермента.

8. Оксидоредуктазы катализируют окислительно-восстановительные реакции. При этом окисление может происходить в результате введения атома кислорода в молекулу субстрата или отщепления атомов водорода (или по отдельности протонов и электронов). Напишите уравнения реакций с использованием графических формул субстратов и поясните, каким образом происходило их окисление:



Вариант	Превращение
1	Ретинол + НАД <sup>+</sup> → ретиналь + НАД <sup>+</sup> + Н <sup>+</sup>
2	Малат + НАД <sup>+</sup> → ЦУК + НАД <sup>+</sup> + Н <sup>+</sup>
3	Янтарная кислота + ФАД → фумаровая кислота + ФАДН <sub>2</sub>
4	Дигидролипоевая кислота + ФАД → липоевая кислота + ФАДН <sub>2</sub>
5	α-глицерофосфат + НАД <sup>+</sup> → диоксиацетонфосфат + НАД <sup>+</sup> + Н <sup>+</sup>
6	β-оксацил-КоА + НАД <sup>+</sup> → β-кетоацил-КоА + НАД <sup>+</sup> + Н <sup>+</sup>
7	Ацил-КоА + ФАД → α,β-еноил-КоА + ФАДН <sub>2</sub>
8	Оксиянтарная кислота + НАД <sup>+</sup> → ЦУК + НАД <sup>+</sup> + Н <sup>+</sup>
9	Гл-6-фосфат + НАД <sup>+</sup> → 6-фосфоглюколактон + НАД <sup>+</sup> + Н <sup>+</sup>
10	β-оксимасляная кислота + НАД <sup>+</sup> → ацетоуксусная кислота + НАД <sup>+</sup> + Н <sup>+</sup>

Назовите ферменты, катализирующие превращения.

**9.** Трансферазы катализируют перенос различных групп с одного субстрата (донор) на другой (акцептор). Напишите уравнения реакций, используя графические формулы субстратов, и выделите переносимую группу. Определите подкласс фермента и назовите фермент.

Вариант	Превращение
1	β-аланин + пантотевая кислота + АТФ → пантотеновая кислота + АДФ
2	Тиамин + АТФ → тиаминпирофосфат + АМФ
3	Глюкоза + АТФ → гл-6-фосфат + АДФ
4	Глицерин + АТФ → α-глицерофосфат + АДФ
5	Миристиновая кислота + КоА → миристил-КоА + НОН
6	Сахароза + Н <sub>3</sub> РO <sub>4</sub> → гл-1-фосфат + фруктоза
7	Цитидин + Н <sub>3</sub> РO <sub>4</sub> → цитозин + фр-1-фосфат
8	Гуанозин + Н <sub>3</sub> РO <sub>4</sub> → гуанин + фр-1-фосфат
9	Пальмитиновая кислота + КоА → пальмитил-КоА + НОН
10	Гл-1-фосфат + УТФ → УДФ-1-глюкоза

**10.** Гидролазы катализируют разрыв (иногда синтез) связей с участием молекулы воды. Покажите, как протекают предлагаемые превращения, используя только графические формулы субстратов.

Вариант	Превращение
1	Арг → орнитин + мочеви́на
2	Тримиристин + 3НОН → глицерин + 3 миристиновая кислота
3	Мальтоза + НОН → 2α-глюкоза
4	Н-Ала-Про-Иле-ОН + 2НОН → Ала + Про + Иле
5	Аденозин + НОН → аденин + β-рибоза
6	Ацетилхолин + НОН → ацетил + холин
7	Триолеин + 3НОН → глицерин + 3 олеиновая кислота
8	Гуанозин + НОН → гуанин + β-рибоза
9	6-фосфоглюколактон + НОН → 5-ФГК
10	НО-Сер-Фен-Про-ОН + 2НОН → Сер + Фен + Про

Дайте название ферменту и определите, к какому подклассу он относится.

**11.** Лиазы катализируют негидролитический разрыв связей. Определите подкласс фермента, который катализирует соответствующее превращение. Пользуясь графическими формулами, напишите уравнение реакции.

Вариант	Превращение
1	ПВК $\rightarrow$ уксусный альдегид + $\text{CO}_2$
2	Фумаровая кислота + $\text{НОН}$ $\rightarrow$ яблочная кислота
3	3-кето-6-ФГК $\rightarrow$ рибулозо-5-фосфат
4	Гис $\rightarrow$ гистамин + $\text{CO}_2$
5	АТФ $\rightarrow$ цАМФ + $\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$
6	Углекислота $\rightarrow$ $\text{НОН}$ + $\text{CO}_2$
7	Асп $\rightarrow$ фумаровая кислота + $\text{NH}_3$
8	Аргининянтарная кислота $\rightarrow$ Арг + фумаровая кислота
9	Три $\rightarrow$ серотонин + $\text{CO}_2$
10	ДОФА $\rightarrow$ дофамин + $\text{CO}_2$

Назовите фермент, следуя правилу:

субстрат:отщепляемая (или присоединяемая) группа-лиаза.

Определите, к какому подклассу он принадлежит.

**12.** Изомеразы катализируют изомерные превращения внутри одной молекулы. По виду структурных изменений определите подкласс фермента, катализирующего соответствующее превращение. Покажите данное превращение и отметьте перемены на графических формулах субстратов.

Вариант	Превращение
1	Гл-6-фосфат $\rightarrow$ гл-1-фосфат
2	<i>D</i> -треонин $\rightarrow$ <i>L</i> -треонин
3	Гл-6-фосфат $\rightarrow$ фр-6-фосфат
4	<i>D</i> -лейцин $\rightarrow$ <i>L</i> -лейцин
5	Рибулозо-5-фосфат $\rightarrow$ рибозо-5-фосфат
6	Метилмалонил-КоА $\rightarrow$ сукцинил-КоА
7	УДФ-1-глюкоза $\rightarrow$ УДФ-1-галактоза
8	<i>D</i> -молочная кислота $\rightarrow$ <i>L</i> -молочная кислота
9	Рибулозо-5-фосфат $\rightarrow$ ксилулозо-5-фосфат
10	Фумаровая кислота $\rightarrow$ малеиновая кислота

**13.** Лигазы (синтетазы) катализируют синтез веществ с использованием энергии фосфорной связи из АТФ и ее аналогов (ГТФ, ЦТФ, УТФ). Напишите уравнения следующих реакций, используя только графические формулы субстратов. Укажите образованную связь и назовите подкласс фермента.

Вариант	Превращение
1	Мет + АТФ $\rightarrow$ $\text{S}^+$ -аденозилметионин + $\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$
2	Ацетил-КоА + $\text{CO}_2$ $\rightarrow$ малонил-КоА
3	Ацетил-КоА + холин $\rightarrow$ ацетилхолин + КоА
4	УДФ-галактоза + глюкоза $\rightarrow$ лактоза + УДФ
5	1,2-Диолеилглицерин + бутирил-КоА $\rightarrow$ 1,2-диолеил-3-бутирин + КоА
6	Пропионил-КоА + $\text{CO}_2$ $\rightarrow$ метилмалонил-КоА
7	Ацетоуксусная кислота + КоА $\rightarrow$ ацетоацетил-КоА
8	ПВК $\rightarrow$ ЦУК
9	Глюкозо-1-фосфат + УТФ $\rightarrow$ УДФ-1-глюкоза
10	1,2-Дибутирилглицерин + пальмитил-КоА $\rightarrow$ 1,2-дibuтирил-3-пальмитин + КоА

## Глава 7

# ВИТАМИНЫ

---

В результате изучения материала данной главы студент должен:

**знать**

- определение и основные свойства витаминов;
- основные причины гипо- и авитаминозов;
- названия, биологическую роль, признаки авитаминоза и источники жирорастворимых витаминов;

**уметь**

- объяснять причины авитаминоза для каждого витамина;

**владеть**

- понятиями «гиповитаминоз», «авитаминоз», «гипервитаминоз», «антитамини»;
  - некоторыми лабораторными методами определения витаминов в пищевых продуктах.
- 

Открытие витаминов — это наглядный пример исторических эпидемиологических наблюдений. Еще в Средние века было замечено, что в осажденных городах и длительных морских путешествиях люди страдают от цинги. В 1497—1498 гг. от цинги и лихорадки погибло две трети экипажа Васко да Гамы, который прокладывал морской путь из Лиссабона в Индию. Однако при переходе на обычный рацион цинга быстро излечивалась.

В 1747 г. шотландский врач Джеймс Линдт (1716—1794) экспериментально подтвердил, что больные цингой быстро поправляются, если в их рацион добавляют соки citrusовых. Легендарный английский мореплаватель Джеймс Кук (1728—1779), видимо, зная об этом факте, давал своим морякам соки citrusовых, поэтому от цинги у него умер всего один человек. А в 1795 г. командование английского флота приняло официальное решение о введении в рацион моряков сока citrusовых, после чего цинга покинула английские корабли.

Голландский врач Христиан Эйкман (1858—1930) был командирован в 1886 г. на остров Ява для изучения заболевания «бери-бери», которое было серьезной проблемой для местного населения, а особенно для тех, кто находился в особых режимных условиях — тюрьмах или воинских частях. Десятилетиями эта болезнь угрожала жизням японских моряков, так же как цинга английским. Рацион местного населения и японских моряков состоял преимущественно из риса и рыбы. Оказалось, что заболевание возникает при употреблении шлифованного риса, но поверить, что рисовая шелуха содержит в себе лекарство от «бери-бери», в тот момент было невозможно. Считалось, что шлифованный рис содержит ядовитые вещества или болезнь вызывается какой-то бактерией.

В 1911 г. польский биохимик К. Функ (1884—1967) выделил из рисовых отрубей вещество, излечивающее полиневрит у голубей — заболевание, похожее на «бери-бери». Вещество содержало аминокгруппу и было жизненно необходимо; так появился термин «витамины».

Большое значение для открытия и изучения витаминов имели опыты русского педиатра Николая Ивановича Лунина (1853—1937). Он изучал роль неорганических солей в питании животных на двух группах мышей. Опытная группа получала «искусственное» молоко — водный раствор казеина, молочного жира, лактозы и минеральных солей, присутствующих в молоке. Контрольная группа питалась цельным молоком. Животные в опытной группе болели и погибали, а в контрольной нормально развивались. На основании этого был сделан вывод о том, что помимо известных компонентов, казеина, молочного жира, лактозы и минеральных солей, в молоке содержатся и неизвестные вещества, необходимые для жизни. Несомненно, их следовало изучать.

Со временем в водной фазе молока были открыты вся группа В и жирорастворимые витамины в цельном молоке, что в общем-то и не удивительно, ведь молоко создано природой, чтобы вырастить потомство.

**Витамины — группа эссенциальных<sup>1</sup> микронутриентов, участвующих в регуляции и ферментативном обеспечении большинства метаболических процессов.**

Они обеспечивают нормальную жизнедеятельность организма, участвуют в процессе усвоения других пищевых веществ, повышают трудоспособность человека и сопротивляемость вредным воздействиям окружающей среды.

Большинство витаминов проявляют свою активность в виде коферментов, т.е. только после формирования определенных ферментов. Выяснение механизмов ферментативного действия показало значение определенных витаминов для различных обменных процессов. Например, в состав пируватдегидрогеназного и  $\alpha$ -кетоглутататдегидрогеназного комплексов входят пять витаминов: тиамин, липоевая кислота, рибофлавин, пантотеновая кислота и никотинамид (см. параграф 7.2). Дефицит хотя бы одного из этих витаминов повлечет за собой нарушение слаженности всего ферментативного механизма и приведет к характерным последствиям: поражению нервной системы из-за накопления ПВК, уменьшению синтеза АТФ в отсутствие ацетил-КоА и т.д.

Дефицит витаминов называют **гиповитаминоз**. Он проявляется nonspecific признаками, такими, как быстрая утомляемость, потеря аппетита, плохая сопротивляемость к инфекциям, отставание в росте и развитии и пр.

Отсутствие витамина в организме — **авитаминоз** сопровождается характерными для данного витамина признаками. Например, D-авитаминоз приводит к рахиту, C-авитаминоз вызывает цингу. Причинами гипо- и авитаминозов являются: недостаток витаминов в рационе, повышенная

---

<sup>1</sup> Эссенциальные (незаменимые) — пищевые вещества, не образуются в организме человека и обязательно поступают с пищей для обеспечения его жизнедеятельности. Их дефицит в питании приводит к развитию патологических состояний.

потребность в период роста и больших физических нагрузок, заболевания желудочно-кишечного канала, прием антибиотиков и др.

Вызвать авитаминоз могут **антивитамины**. К ним относят вещества, обладающие структурным сходством с определенным витамином. Они встраиваются в цепочку реакций и действуют по типу конкурентного ингибитора. В результате естественный процесс, контролируемый данным витамином, становится невозможным. Например, антивитаминами В<sub>5</sub> и В<sub>6</sub> являются схожие с ними по структуре пиридинсульфокислота и дезоксипиридоксин, соответственно (рис. 7.1).

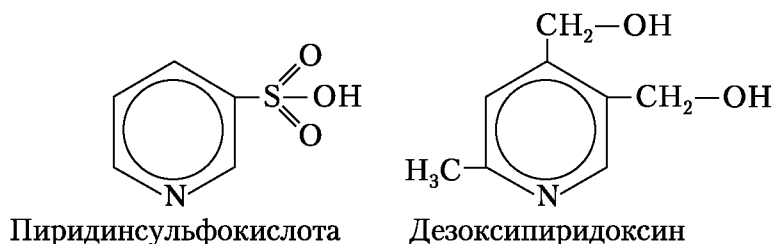


Рис. 7.1. Антивитамины В<sub>5</sub> и В<sub>6</sub>

К антивитаминам также относят вещества, вызывающие структурную модификацию витамина настолько, что биологический эффект витамина снижается или утрачивается.

**Гипервитаминоз** — избыточное содержание витамина. Возможен, как правило, при передозировке витаминов, главным образом, жирорастворимых из-за отложения их в тканях.

Витамины принято обозначать большими латинскими буквами А, В, С и т.д. Также у каждого витамина есть химическое название, в котором отражена структура витамина. Еще витамины называют по заболеванию, которое они излечивают, с добавлением приставки анти-.

По физико-химическим свойствам все витамины делят на жирорастворимые (А, D, Е, F, К) и водорастворимые (С и группа В).

## 7.1. Жирорастворимые витамины

### Витамин А, ретинол, антиксерофтальмический

**Строение витамина.** По структуре витамин А представляет циклический полиненасыщенный одноатомный спирт. В организме спиртовая группа защищена от окисления путем образования сложноэфирной связи (рис. 7.2).

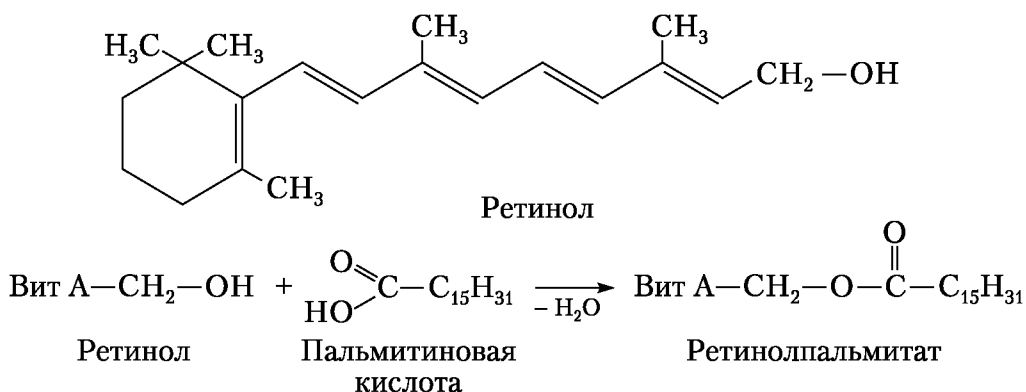
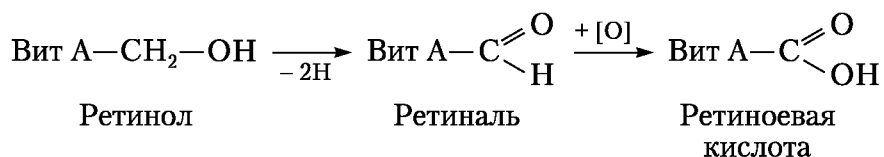


Рис. 7.2. Структура витамина А и защита ОН-группы

Запасается в более устойчивой форме — в виде сложных эфиров, например с пальмитиновой кислотой. Также в виде эфиров он, как правило, входит в состав витаминных комплексов.

**Биологическая роль.** В тканях организма ретинол окисляется до альдегида ретиналя и ретиноевой кислоты (рис. 7.3).



**Рис. 7.3. Образование активных форм витамина А**

*Ретиналь* участвует в фотохимическом акте зрения. Этот процесс хорошо изучен. Светочувствительный аппарат глаза, сетчатка<sup>1</sup>, содержит два вида рецепторных клеток: палочки и колбочки. Палочки реагируют на слабое сумеречное освещение с помощью зрительного пигмента родопсина (зрительный пурпур), а колбочки воспринимают хорошее дневное освещение при участии иодопсина. Родопсин и иодопсин — это сложные белки, обладающие ферментативной активностью, их коферментами является 11-цис-ретиналь<sup>2</sup>.

*Ретиноевая кислота* избирательно влияет на синтез белков. Роль ретиноевой кислоты при этом подобна действию стероидных гормонов. Ретиноевая кислота взаимодействует со специфичными ей рецепторными клетками-мишенями. В результате возникает рецепторный комплекс, который стимулирует транскрипцию генов. Белки, образующиеся на синтезируемых информационных РНК, обладают характерной функциональной активностью — влияют на рост, дифференцировку клеток, репродукцию и эмбриональное развитие. Поэтому витамин А считают витамином роста.

Также при посредстве ретиноевой кислоты синтезируются белки-антитела, участвующие в формировании иммунитета организма. В связи с этим витамин А относят к антиинфекционным. Образование ретиноевой кислоты приводит к необратимым потерям витамина А, поскольку кислота не может восстанавливаться до альдегида. Восстановление потерь происходит из резервных запасов — эфиров ретинола.

**Авитаминоз.** Основной признак — нарушение сумеречного зрения, или «куриная слепота», при этом человек и животные теряют способность видеть в темноте. Следующая стадия — ксерофтальмия, сопровождается сухостью конъюнктивы глаза, ороговением эпителия слезного канала, и как результат сухостью роговицы глаза. В результате развивается конъюнктивит. Прогрессирующий недостаток витамина А приводит к кератомалиции, т.е. изъязвлению, помутнению и размягчению роговой оболочки. Без соответствующего лечения может произойти полная потеря зрения.

**Источники витамина А** — жиросодержащие животные продукты: рыбий жир, сливочное масло, печень, желток яйца. В растительных продуктах содержится провитамин, т.е. предшественник витамина А — каротин.

Известны α-, β- и γ-каротины. Наибольшей витаминной ценностью обладает β-каротин, поскольку из одной его молекулы образуется две молеку-

<sup>1</sup> Ретинол — от названия сетчатки глаза (ретины).

<sup>2</sup> Существует и транс-ретиналь.

лы витамина А. В природных источниках изомерам каротина сопутствуют родственные по строению растительные пигменты — каротиноиды, некоторые из которых также обладают провитаминной активностью. В слизистой оболочке кишечника и клетках печени каротиноиды превращаются в активную форму витамина А под действием фермента каротиндиоксигеназы. Каротин и каротиноиды имеют характерную желто-оранжево-красную окраску и содержатся в так называемой группе желтых овощей и зелени: моркови, шпинате, красном перце, тыкве.

### Витамин D<sub>3</sub>, кальциферол, антирахитный

**Строение витамина.** Витамин D представлен несколькими соединениями. Для человека и животных активны формы D<sub>2</sub> и D<sub>3</sub>. С химической точки зрения все они являются полициклическими непредельными одноатомными спиртами, т.е. производными стеролов.

Витамин D<sub>2</sub> синтезируется из эргостерина в дрожжах, грибах и растениях, а витамин D<sub>3</sub> — из холестерина в коже человека и животных. Соответственно название витамина D<sub>2</sub> — эргокальциферол, а витамина D<sub>3</sub> — холекальциферол (рис. 7.4). Синтез обоих производных запускается под воздействием ультрафиолетовых лучей.

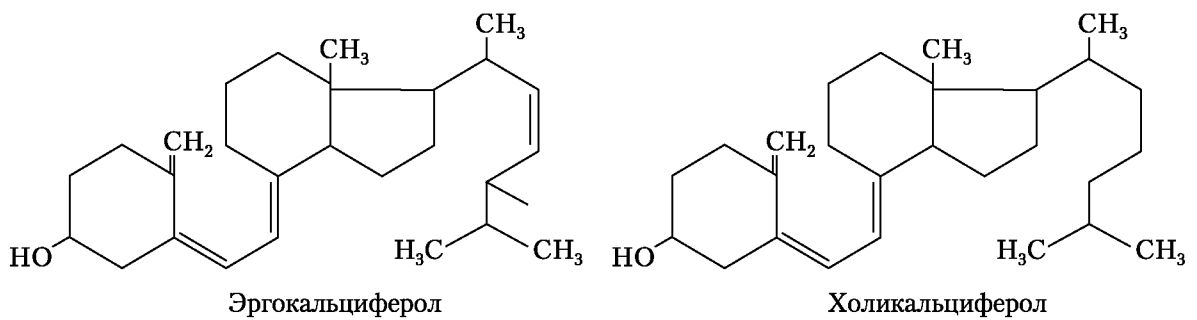


Рис. 7.4. Структуры витаминов D<sub>2</sub> (эргокальциферол) и D<sub>3</sub> (холекальциферол)

**Биологическая роль.** Витамин D участвует в поддержании нормальной концентрации Ca<sup>2+</sup> и PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> в крови. Витамин D<sub>3</sub> синтезируется из холестерина по схеме (рис. 7.5). При этом он дважды подвергается окислению: в печени — до кальцидиола и в почках — до кальцитриола.

Кальцитриол обладает гормональной активностью. Из почек он транспортируется с кровью в кишечник, где в клетках слизистой стимулирует выработку кальций-связывающего белка. В костной ткани кальцитриол вызывает деминерализацию кости, а в почечных канальцах усиливает реабсорбцию кальция и фосфатов. В результате увеличивается концентрация кальция и фосфатов в крови.



Рис. 7.5. Схема биосинтеза кальцитриола из холестерина

**Авитаминоз.** У детей развивается рахит (ослабление костного скелета). У взрослых — снижение содержания  $\text{Ca}^{2+}$  в крови, что влечет за собой инактивацию кальций-зависимых ферментов, повышение нервно-мышечной возбудимости, нарушение свертываемости крови, остеомалацию.

**Источники:** печень рыб, сливочное масло, молоко, желток яйца, дрожжи.

### Витамин Е, токоферол, антистерильный

**Строение витамина.** Известно несколько токоферолов, являющихся производными токола и хромана. Витамеры имеют схожее строение и обозначаются буквами греческого алфавита. В природе широко распространены  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -токоферолы, различающиеся числом метильных групп. Наибольшей витаминной активностью обладает  $\alpha$ -токоферол (рис. 7.6).

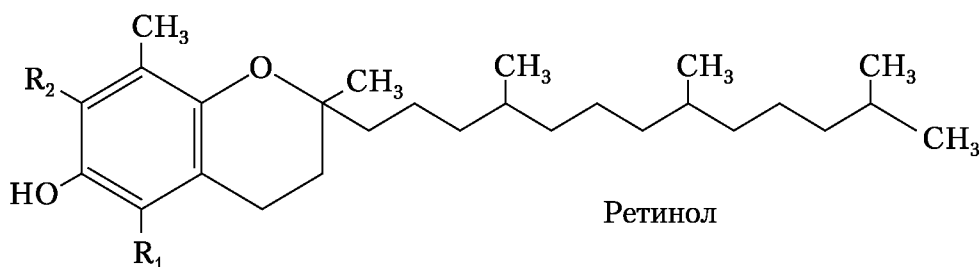


Рис. 7.6. Структура витамина Е:

$\text{R}_1$ —,  $\text{R}_2$ — =  $-\text{CH}_3$  —  $\alpha$ -токоферол;  $\text{R}_1$ — =  $-\text{CH}_3$ ,  $\text{R}_2$ — =  $-\text{H}$  —  $\beta$ -токоферол;  
 $\text{R}_1$ — =  $-\text{H}$ ,  $\text{R}_2$ — =  $-\text{CH}_3$  —  $\gamma$ -токоферол

**Биологическая роль.** Витамин Е — это природный антиоксидант. Он предотвращает свободно-радикальные процессы в клетках, препятствует пероксидному окислению липидов и разрушению двойных связей в других соединениях, например в боковой ветви витамина А, что способствует поддержанию запасов ретинола в организме.

Сохранение двойных связей особенно важно для остатков высших жирных кислот, встроенных в клеточные мембраны, поскольку благодаря этому целостность клеточной мембраны не нарушается. Подобными свойствами обладает один из селенсодержащих белков — *глутатионпероксидаза*. Это объясняет, почему в присутствии витамина Е потребность в данном ферменте снижается, а также то, почему концентрация селена в рационе находится в зависимости от содержания витамина Е в продуктах.

Неокончательно выяснена, но установлена положительная связь между витамином Е и транспортом протонов и электронов при биологическом окислении.

**Авитаминоз.** Нарушение функции размножения, изменения репродуктивных органов, приводящие к бесплодию. У женских особей сохраняется способность к зачатию, но из-за поражения плаценты происходят самопроизвольные выкидыши. У мужских особей — дегенеративные изменения в семенниках, не восстанавливающиеся при приеме витамина Е, что приводит к стерильности.

Проявлениями Е-авитаминоза являются также жировая дегенерация печени, мышечная дистрофия, парезы, параличи. У недоношенных детей наблюдаются признаки гемолитической анемии, возможно, из-за разрушения мембран эритроцитов в результате ПОЛ [4].



Для человека Е-авитаминоз — довольно редкое явление, поскольку витамин Е, во-первых, достаточно распространенное соединение, а во-вторых, он откладывается во многих тканях организма. Считается, что авитаминоз не наблюдается, даже если витамин Е отсутствует в рационе в течение нескольких месяцев.

**Источники:** различные семена, растительные масла, мясо, молоко, желток яйца, масло сливочное, дрожжи, соя, горох, ягоды шиповника, облепиха, капуста.

Содержание витамина Е в коровьем молоке в 10 раз меньше, чем в женском, поэтому детям, находящимся на искусственном вскармливании, показано применение данного витамина.

### Витамин К, нафтохинон, антигеморрагический

**Строение витамина.** По химической природе это циклический непредельный дикетон (рис. 7.7).

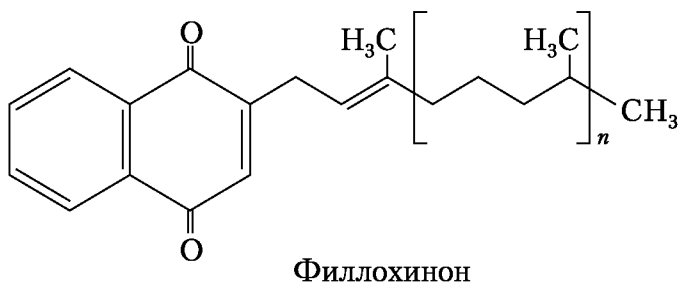


Рис. 7.7. Структура витамина К

**Биологическая роль.** Витамин К участвует в процессе свертывания крови путем перевода ряда неактивных белковых предшественников в активную форму. Витамин К является кофактором  $\gamma$ -глутамилкарбоксилазы, под действием которой в  $\gamma$ -положение глутаминовой кислоты дополнительно вводится карбоксильная группа, необходимая для связывания Са. В результате неактивный протромбин превращается в активный тромбин (рис. 7.8, а). Тромбин, в свою очередь, способствует переводу растворимого в воде фибриногена в нерастворимый фибрин, который служит основой тромба (рис. 7.8, б).



Рис. 7.8. Участие витамина К в системе свертывания крови

**Авитаминоз.** Снижение свертываемости крови приводит к различным кровоизлияниям (геморрагиям). Любые повреждения сосудов могут привести к обильным кровотечениям.

У человека К-авитаминоз встречается реже, чем другие авитаминозы [2]. Объясняется это двумя обстоятельствами. Во-первых, различные продукты довольно богаты этим витамином. Во-вторых, витамин синтезируется микрофлорой кишечника.

**Источники:** витамин К синтезируется в зеленых растениях и некоторыми микроорганизмами, поэтому им богаты капуста, шпинат, крапива, ягоды рябины, дрожжи. Из животных продуктов основной источник — печень свиньи.

## Витамин F, полиненасыщенные жирные кислоты

**Строение витамина.** В группу витамина F входят три высшие жирные кислоты: линолевая, линоленовая и арахидоновая. Полиненасыщенные высшие жирные (ПНЖК) кислоты содержат две и более двойных связей между углеродными атомами (рис. 7.9). Иначе их часто называют  $\omega$ -3- и  $\omega$ -6-кислоты. Буквой  $\omega$  обозначают последний углеродный атом кислоты, а цифрами 3 и 6 — положение двойной связи, начиная от этого атома.

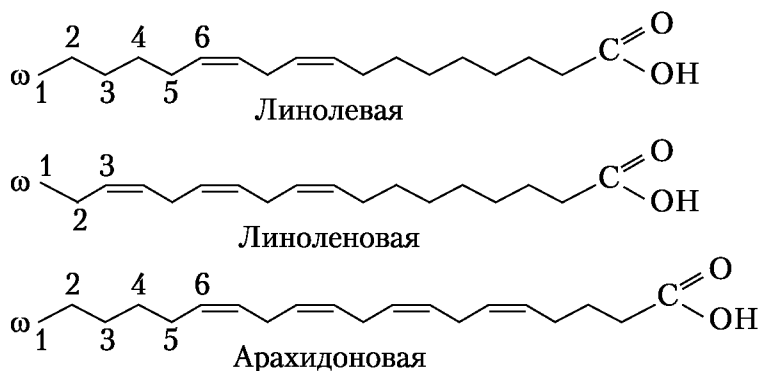


Рис. 7.9. Полиненасыщенные жирные кислоты

В группу  $\omega$ -6-кислот входят арахидоновая и линолевая кислоты, линоленовая относится к  $\omega$ -3-кислотам.

**Биологическая роль.** Полиненасыщенные жирные кислоты являются структурными элементами клеточных мембран и обеспечивают нормальное развитие и адаптацию организма человека к неблагоприятным факторам окружающей среды.

Витамин F участвует в обмене липидов. Препятствует отложению жира и способствует выведению холестерина из организма, тем самым предупреждает развитие атеросклероза. Кроме этого, арахидоновая кислота — это субстрат для синтеза простагландинов (гормоноподобных соединений), тромбоксанов и лейкотриенов в организме человека. Предшественником арахидоновой кислоты является линолевая кислота.

**Авитаминоз.** Дефицит витамина влияет на состояние кожных и волосных покровов. Наблюдаются сухость слизистых оболочек, шелушение кожи, выпадение волос, ломкость ногтей.

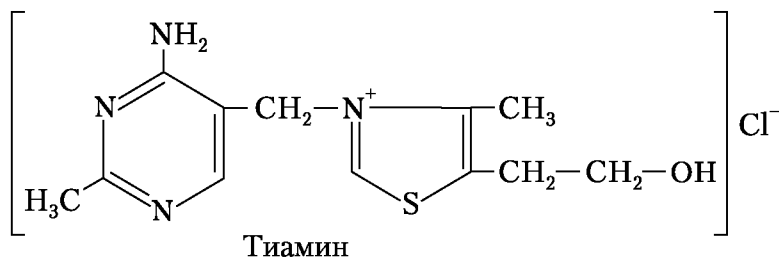
**Источники:** жирные сорта рыб и некоторые морепродукты, растительные масла, орехи.

## 7.2. Водорастворимые витамины

### Витамин B<sub>1</sub>, тиамин, антиневритный

**Строение витамина.** В структуре витамина B<sub>1</sub> есть два гетероцикла: пиримидиновый и тиазоловый. В кольце тиазола на атоме N локализован положительный заряд, поэтому витамин находится в виде соли — тиаминхлорида (рис. 7.10).

**Биологическая роль.** В составе ферментов декарбоксилаз кетокислот участвует в углеводном и энергетическом обменах, обеспечивающих организм энергией и пластическими веществами. Например, в составе пируват-дегидрогеназы витамин разрушает ядовитую для нервной системы ПВК,



Тиамин

Рис. 7.10. Структура витамина В<sub>1</sub>

образующуюся в больших количествах при окислении углеводов. Поэтому наибольшее влияние витамин В<sub>1</sub> оказывает на углеводный обмен.

Коферментная форма витамина, тиаминпирофосфат синтезируется путем прямого переноса фосфорных остатков от АТФ на ОН-группу под действием *тиаминпирофосфокиназы* (фосфотрансферазы):



**Авитаминоз** приводит к торможению пируватдегидрогеназной реакции и, следовательно, к накоплению пирувата и снижению выработки ацетил-КоА. Ацетил-КоА является ключевым метаболитом цикла Кребса. Этот циклический процесс происходит в матриксе митохондрий и поддерживает работу дыхательной цепи, функционирование которой обеспечивает процесс окислительного фосфорилирования. Следовательно, дефицит рассматриваемых витаминов приведет к угнетению клеточного дыхания и снижению выработки АТФ. Уменьшение выработки АТФ будет проявляться в снижении интенсивности обменных процессов в организме в целом, что проявляется в вялости, быстрой утомляемости, отсутствии аппетита, расстройстве центральной нервной системы и т.д.

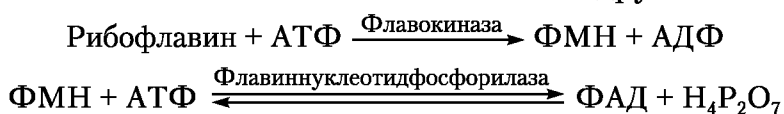
При В<sub>1</sub>-авитаминозе развивается полиневрит, называемый «бери-бери». Заболевание проявляется, во-первых, поражением периферической нервной системы (боли по ходу нервов, судороги, потеря кожной чувствительности, параличи, полупараличи). Во-вторых, страдает сердечно-сосудистая система (появление болей в области сердца, нарушение сердечного ритма (стенокардия), увеличение размеров сердца).

**Источники.** Витамином богаты оболочки зерен. Единственное зерно, которое содержит В<sub>1</sub> во всем объеме, — это рожь, поэтому источниками данного витамина служат ржаной хлеб, отруби, нешлифованные крупы. Из животных продуктов витамином богаты печень, почки, сердце, молоко, нежирные молочные продукты, дрожжи, бобовые. При длительной варке значительные количества витамина теряются.

## Витамин В<sub>2</sub>, рибофлавин

**Строение витамина.** Витамин представляет собой объединение флавинового комплекса и спирта рибитола (рис. 7.11).

**Биологическая роль.** Биологические функции рибофлавина осуществляются в виде двух коферментов — ФМН и ФАД. Их образование происходит в слизистой кишечника и после всасывания в других тканях по схеме:



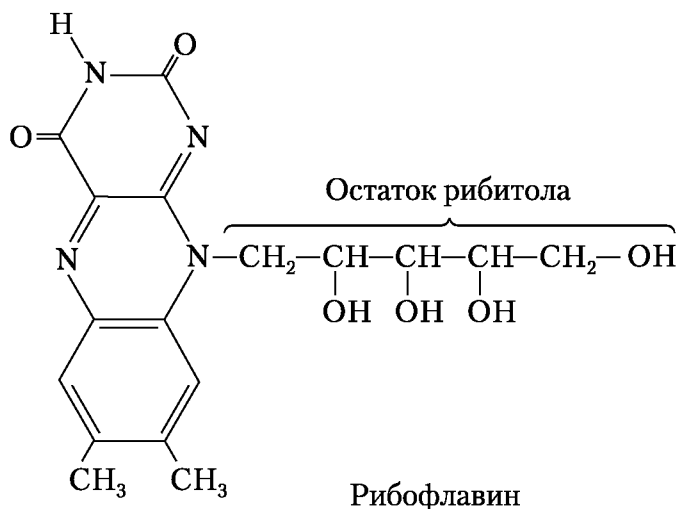


Рис. 7.11. Структура витамина В<sub>2</sub>

Оба кофермента, и ФМН, и ФАД, в составе флавиновых ферментов катализируют специфические реакции ЦТК, β-окисления, ЦПЭ, обмена НК и аминов.

**Авитаминоз.** Наиболее точным показателем дефицита витамина В<sub>2</sub> является изменение его концентрации в эритроцитах. Отсутствие витамина сопровождается дерматитами, шелушением кожи, особенно на лице, покраснением слизистых. Кожа на губах трескается, в углах рта появляются мелкие трещинки — заеды.

**Источники.** Витамин синтезируется большинством бактерий и грибов, всеми зелеными растениями, поэтому он содержится во многих овощах и фруктах. К продуктам, богатым витамином, также относятся печень, почки, желток яйца, дрожжи. Однако по статистике для населения России основной источник витамина В<sub>2</sub> — молоко и молочные продукты. Объясняется это еще и тем, что для молочнокислых палочек (*Lactobacillus*) В<sub>2</sub> является фактором роста, от его содержания в среде зависят кислотообразующие способности этих микроорганизмов. Поэтому молоко и особенно кисломолочные продукты — важнейший источник витамина В<sub>2</sub>.

### Витамин В<sub>3</sub>, пантотеновая кислота

**Строение витамина.** Пантотеновая кислота состоит из β-аланина и пантоевой кислоты, соединенных пептидной связью (рис. 7.12).

**Биологическая роль.** Витамин входит в состав кофермента А (КоА) и ацилпереносящего белка (АПБ). Известно несколько десятков ферментов, участвующих в липидном, углеводном и завершающем этапе белкового обмена, в составе которых есть производные КоА и АПБ.

**Авитаминоз.** Витамин получил свое название от греч. *pantothea* — повсюду, как самый распространенный. Поэтому как таковой В<sub>3</sub>-авитаминоз

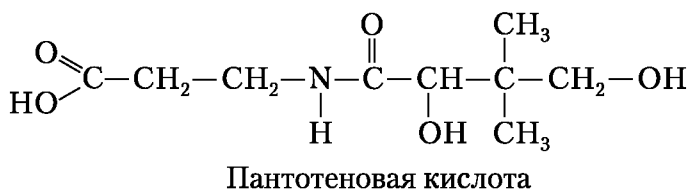


Рис. 7.12. Структура витамина В<sub>3</sub>

практически не встречается. В экспериментах с животными и добровольцами было установлено, что в отсутствие витамина появляются дерматит, поседение и выпадение волос, шерсти, перьев.

**Источники.** Особо богаты витамином печень, почки, мясо, рыба, яйца, молоко, бобовые, злаковые, дрожжи.

### Витамин В<sub>5</sub>, ниацин, антипеллагрический, РР

**Строение витамина.** Свойствами витамина В<sub>5</sub> обладают два соединения: никотиновая кислота и ее амид (рис. 7.13).

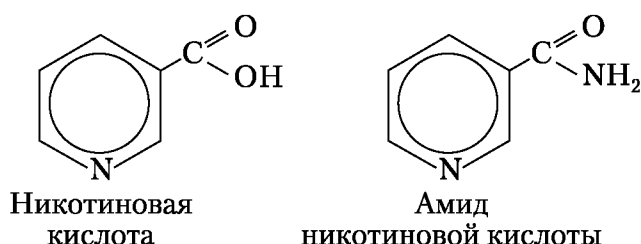


Рис. 7.13. Структура витамина В<sub>5</sub>

**Биологическая роль.** Амид никотиновой кислоты входит в состав двух коферментов, НАД и НАДФ, на базе которых синтезируется более сотни анаэробных оксидоредуктаз. Мононуклеотид никотиновой кислоты образуется при окислении незаменимой аминокислоты триптофана почти у всех организмов — от растений до человека, но с разной интенсивностью.

**Авитаминоз В<sub>5</sub>** называют пеллагра, что в переводе с итальянского (*pelle agra*) означает шершавая кожа. Пеллагра была описана врачом испанского короля Филиппа V Гаспаром Казалем еще в 1735 г. Заболевание характеризуется дерматитом, при котором кожа на участках, подверженных солнечному излучению, утолщается, становится шершавой, бугристой, приобретает серый оттенок. На ней появляются пузыри, которые вскрываются и медленно рубцуются. Процесс сопровождается стоматитом, болезненностью языка, приобретающего фуксиноподобный цвет, поражениями кишечника: тошнотой, болями в области живота, геморрагиями на протяжении всего пищеварительного канала, поносами с кровью. Если дефицит витамина сохраняется, то далее поражается нервная система. Появляются головные боли, головокружение, повышенная раздражительность, депрессия, ухудшение памяти и другие симптомы. Все эти проявления называют триадой — тройное Д (дерматит, диарея, деменция).

**Источники** витамина — это продукты, богатые ниацином, или продукты, содержащие незаменимую аминокислоту триптофан. Ежедневное поступление триптофана уменьшает потребность организма в витамине В<sub>5</sub>. Считается, что 60 мг триптофана в рационе эквивалентно 1 мг ниацина. Витамин содержится в мясе, печени и растительных продуктах, за исключением кукурузы (отсутствует триптофан). Молочные продукты почти не содержат В<sub>5</sub>, но обладают антипеллагрическим эффектом благодаря относительно высокому содержанию триптофана.

### Витамин В<sub>6</sub>, пиридоксин

**Строение витамина.** В группу витамина В<sub>6</sub> объединяют три вещества: пиридоксол, пиридоксаль и пиридоксамин (рис. 7.14).



Рис. 7.14. Разные формы витамина В<sub>6</sub>

**Биологическая роль.** Метаболическая активность витамина В<sub>6</sub> проявляется в виде фосфорных эфиров — пиридоксаль-5-фосфата и пиридоксамин-5-фосфата (рис. 7.15). Витамин выполняет роль кофермента и связывается с белковой частью фермента через фосфорные группы. У многих бактерий, особенно у молочнокислых, пиридоксаль и его фосфорный эфир стимулируют рост в значительно большей степени, чем пиридоксол. Это наблюдение и привело к открытию пиридоксала и пиридоксамина.

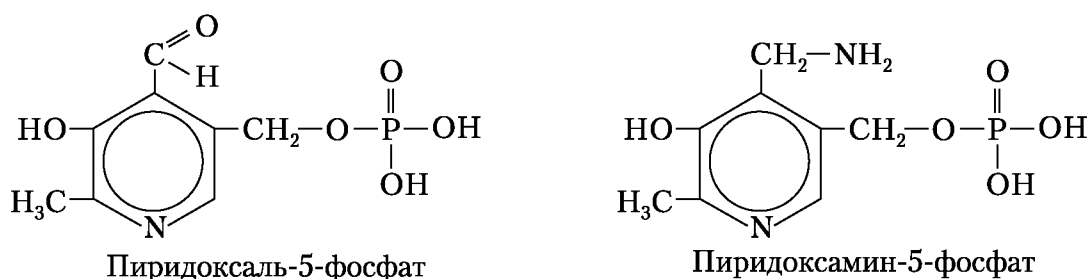


Рис. 7.15. Фосфорилированные формы витамина В<sub>6</sub>

Витамин входит в состав аминотрансфераз (см. подпараграф 6.3.2), декарбоксилаз и изомераз аминокислот и др. Таким образом, витамин участвует в реакциях переаминирования, дезаминирования, декарбоксилирования аминокислот и влияет на обмен белков.

**Авитаминоз.** В случае В<sub>6</sub>-авитаминоза наблюдаются дерматиты, задержка роста, поражение центральной нервной системы, развитие анемии, при которой количество гемоглобина падает до 30%.

**Источники.** В целом потребность человека в пиридоксине зависит от содержания белка в рационе и возрастает при высокобелковой диете и с возрастом. Хорошими источниками служат мясо, печень, почки, рыба, зерновые, бобовые, дрожжи.

### Витамин В<sub>9</sub>, В<sub>с</sub>, фолацин, фолиевая кислота

**Строение витамина.** Витамин состоит из птеринового цикла, γ-аминобензойной и глутаминовой кислот (рис. 7.16).

**Биологическая роль.** Участвует в переносе одноуглеродных остатков (-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>OH, -CHO), стимулируя тем самым обмен АК (Гли, Сер, Гис) и белков. Способствует синтезу пуриновых нуклеотидов и тимина, необходимых для построения нуклеиновых кислот. Предупреждает пороки развития плода.

**Авитаминоз.** В отсутствии витамина развивается микроцитарная анемия. При этом снижается содержание гемоглобина, эритроцитов и лейкоцитов в крови, происходит задержка роста.

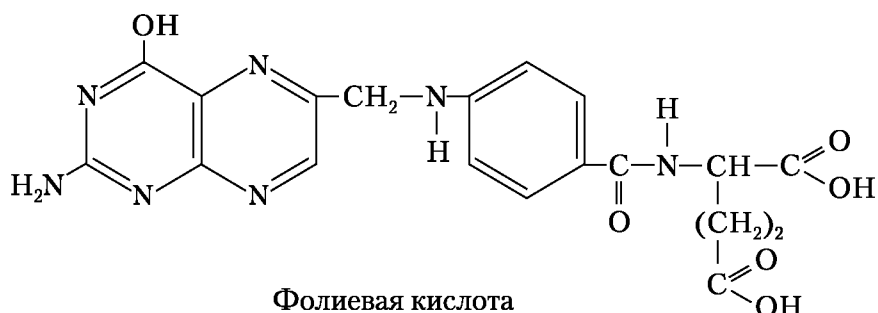


Рис. 7.16. Структура витамина В<sub>9</sub>

**Источники.** Витамин получил название от лат. *folium* — лист и содержится в зеленых частях разных растений. Им богаты щавель, салат, шпинат, зеленый лук, горох, а также печень, почки, молоко сухое, творог, сыр, дрожжи.

### Витамин В<sub>12</sub>, кобаламин, антианемический

**Строение витамина.** Кобаламин содержит атом Со, который является комплексообразователем для четырех пиррольных колец. Одной ковалентной и четырьмя координационными связями атом Со соединяется с атомами азота гетероциклов (на рис. 7.17 показаны только их вершины). В целом образуется структура, подобная небелковой части гемоглобина, хлорофилла, цитохромов и других порфинов. Содержание кобальта от общей массы витамина составляет 4%.

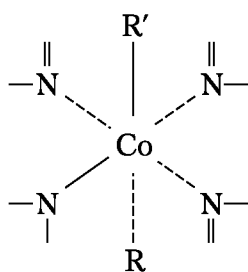


Рис. 7.17. Центральный фрагмент витамина В<sub>12</sub>

R' — 5-дезоксиаденозин или СН<sub>3</sub>-группа; R — белковая часть витамина

За установление структуры витамина В<sub>12</sub> методом рентгеноструктурного анализа в 1964 г. Дороти Мэри Кроуфорд-Ходжкин (1910—1994) была присуждена Нобелевская премия по химии.

**Биологическая роль.** Из витамина образуются два кофермента: метилкобаламин и 5-дезоксиаденозилкобаламин. Они входят в состав ферментов, участвующих в переносе метильных групп, атомов водорода, превращении рибонуклеотидов до дезоксирибонуклеотидов, изомерном превращении метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА.

**Авитаминоз** — макроцитарная, пернициозная (устаревшее — злокачественная) анемия. При этом появляются незрелые, большие эритроциты. Наблюдаются нарушение обмена нечетных высших жирных кислот и разветвленных аминокислот, задержка роста, поражение нервной системы. Авитаминоз может быть вызван не отсутствием витамина В<sub>12</sub> в рационе, а развиваться при нарушении секреции желудка. Для всасывания кобаламина необходим «внутренний фактор» — особый гликопротеин, защищающий витамин В<sub>12</sub> от разрушения кишечной микрофлорой. Дефицит витамина может наблюдаться у лиц, исключаяющих потребление животных продуктов.

**Источники.** В природе он синтезируется только одноклеточными микроорганизмами. Например, микрофлора рубца жвачных животных способна включать кобальт в структуру витамина В<sub>12</sub>. При наличии в пище кобальта симбиотическая микрофлора кишечника человека также способна синтезировать небольшие количества этого витамина. Ни животные, ни высшие растения не синтезируют витамин В<sub>12</sub>, но в животных тканях он может накапливаться. Поэтому источниками витамина служат только продукты животного происхождения — печень, мясо, рыба, молоко, яйца.

### Витамин С, аскорбиновая кислота, антицинготный

**Строение витамина.** По своему строению это лактон гексоновой кислоты. Благодаря наличию двух енольных гидроксильных групп в своей молекуле аскорбиновая кислота обладает сильным кислотным характером и может существовать в двух формах: окисленной (аскорбиновая) и восстановленной (дегидроаскорбиновая), как показано на рис. 7.18.

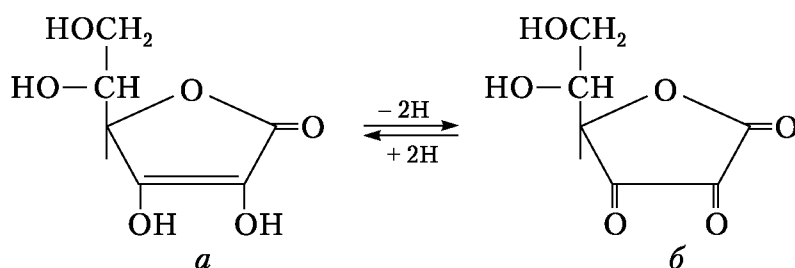


Рис. 7.18. Формы витамина С

Особенности строения обуславливают участие аскорбиновой кислоты во множестве окислительно-восстановительных процессов в организме. Действие витамина С проявляется в обмене белков, углеводов и жиров в тканях. Аскорбиновая кислота участвует в синтезе дезоксирибонуклеиновой кислоты и образовании стероидных оксигормонов надпочечников, дентина и коллагена, а также межклеточных веществ хряща и кости. Также витамин С активизирует функции других витаминов и многие процессы в тканях.

Синтез аскорбиновой кислоты может происходить у всех видов животных, кроме морских свинок, обезьян и человека.

В организме человека и животных аскорбиновая кислота находится в виде биохимических комплексов с белками. В этом состоянии она более устойчива, но менее активна. При гипо- и авитаминозах белки крови связывают значительно больше аскорбиновой кислоты, чем в норме.

**Биологическая роль.** Витамин С участвует в ряде окислительно-восстановительных процессов, связанных с переносом  $H^+$  и  $e^-$ . Например, восстановление  $Fe^{3+}$  в  $Fe^{2+}$  происходит при участии аскорбиновой кислоты.

Витамин является кофактором гидроксилаз, участвующих в синтезе коллагена, эластина, стероидных гормонов, адреналина, Hb. Также витамин активизирует функции других витаминов.

**Авитаминоз.** Недостаток витамина С вызывает цингу, которую раньше называли «скорбут» (отсюда другое название витамина — аскорбиновая кислота). При цинге, вследствие замедления синтеза коллагена и эластина, нарушаются структуры хрящевой и костной ткани, повышается проницаемость



сосудов, возникают кровотечения и кровоизлияния различного характера (расшатывание зубов, кровоточивость десен, слизистых оболочек, мышц).

**Источники** витамина С — растительные продукты. В значительных количествах аскорбиновая кислота содержится в шиповнике, черной смородине, апельсинах, лимонах, ягодах рябины и др.

Витамин С — один из самых нестойких витаминов. При хранении овощей и фруктов он легко разрушается под действием кислорода воздуха и особенно в присутствии катионов меди и железа.

Витамин С чувствителен к высокой температуре, особенно в щелочной среде, а в кислой среде не разрушается даже при кипячении.

Высушивание кормовых и пищевых продуктов при повышенной температуре заметно снижает в них содержание витамина С.

Потери аскорбиновой кислоты при тепловой обработке могут достигать 60%. Однако в засилосованных кормах и заквашенных продуктах он хорошо сохраняется.

### Витамин Р, рутин

**Строение витамина.** Витаминной активностью обладают несколько соединений. Основу их составляет флаван (рис. 7.19). Различаются представители количеством ОН-групп в ядрах бензола. Одной из ОН-групп он присоединяет углеводные остатки.

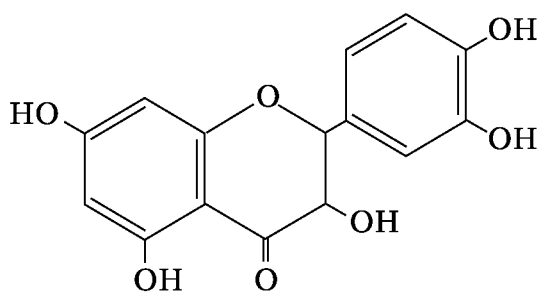


Рис. 7.19. Основа витамина Р

**Биологическая роль.** Название витамина происходит от лат. *permeo* — проникать, так как он улучшает состояние капилляров. Действие витамина связано с его участием в окислительно-восстановительных реакциях. Может быть партнером витамина С в окислительно-восстановительных системах. При совместном действии этих витаминов достигается более высокий терапевтический эффект, чем по отдельности.

**Авитаминоз.** Повышение проницаемости капилляров, что приводит к кровоизлияниям при сдавливании ткани, боль в конечностях, общая слабость.

**Источники.** Те же, что и для витамина С: лимоны, смородина, клюква, брусника, черника, слива, вишня, перец.

### Витамин Н, биотин, антисеборейный

**Строение витамина.** Производное двух гетероциклов — имидазола и тиофена. В боковой ветви тиофена — валериановая кислота (рис. 7.20).

**Биологическая роль.** Витамин Н проявляет свои свойства в составе кофакторов карбоксилаз и транскарбоксилаз, что имеет большое значение для

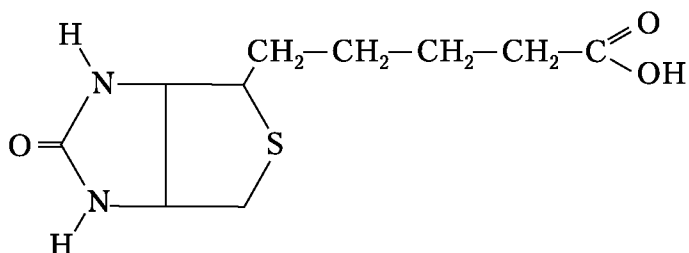


Рис. 7.20. Структура биотина

синтеза пуриновых оснований, в глюконеогенезе при образовании ЩУК из ПВК и в процессе синтеза ВЖК на стадии превращения ацетил-КоА в малонил-КоА.

**Авитаминоз.** Сопровождается воспалением кожных покровов, выпадением волос, усилением выделения жира сальными железами (себоррея от лат. *sebum* — сало и *rheo* — теку).

**Источники:** молоко, яйца, печень, почки, соя, горох, морковь, картофель.

### 7.3. Витаминоподобные соединения

Доказанное действие всех перечисленных ниже витаминopodobных соединений установлено относительно недавно. Поэтому рекомендуемые для них Министерством здравоохранения уровни потребления вводятся впервые с 2008 г.<sup>1</sup>

#### Витамин В<sub>7</sub>, карнитин

**Строение витамина.** Производное γ-аминомасляной кислоты — β-окси-γ-N-триметиламинотетракарбоновая кислота (рис. 7.21).

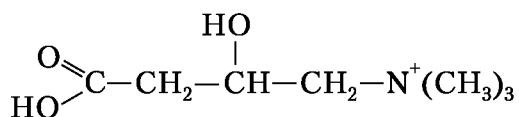


Рис. 7.21. Карнитин

**Биологическая роль.** Действие витамина впервые выявлено на насекомом — мучном хрущаче, латинское название которого *Tenebriomolitor*, что объясняет появление индекса в названии витамина. У насекомых карнитин является донором  $\text{CH}_3$ -групп. Такая же функция не исключена и у позвоночных.

Доказано участие витамина в транспорте кислотных остатков длиной более  $\text{C}_{12}$  через клеточные мембраны, что влияет на синтез и окисление жирных кислот, препятствует накоплению липидов.

**Авитаминоз.** Нарушение липидного обмена, включая ожирение, а также развитие дистрофических процессов в миокарде.

**Источники.** Название витамина происходит от лат. *carnis* — мясо. Источники карнитина в основном продукты животного происхождения: мясо, рыба, птица, молоко, сыр, творог. Рекомендуемые уровни потребления: для взрослых — 300 мг/сут.; для детей 4–6 лет — 60–90 мг/сут.; для детей 7–18 лет — от 100 до 300 мг/сут.

<sup>1</sup> Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации : Методические рекомендации МР 2.3.1.2432–08.

## Липоевая кислота

**Строение витамина** изображено на рис. 6.23.

**Биологическая роль.** В составе пируватдегидрогеназного и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного комплексов участвует в декарбоксилировании и активировании ПВК и  $\alpha$ -кетоглутаровой кислот. Эти процессы очень важны в первую очередь для обмена углеводов. Липоевая кислота участвует в обмене липидов и белков, и в целом в энергетическом обмене организма, оказывая липотропный эффект. Имея атомы S, которые могут гидрироваться-дегидрироваться, липоевая кислота участвует также в ряде окислительно-восстановительных процессов, в частности, связанных с детоксикацией ксенобиотиков. Рекомендуемый уровень потребления для взрослых — 30 мг/сут.

**Авитаминоз.** При длительном отсутствии возможны головокружение, боли по ходу нервов, судороги из-за накопления ПВК в тканях.

**Источники:** мясо, печень, молоко, злаковые, капуста, зелень.

## Витамин U, метилметионинсульфоний, S-метилметионин

**Строение витамина.** Производное незаменимой аминокислоты Мет (рис. 7.22).

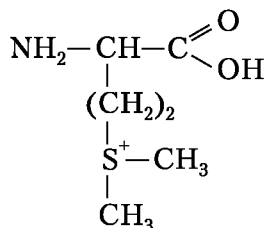


Рис. 7.22.  $\text{S}^+$ -метилметионин

**Биологическая роль.** Это макроэргическое соединение и активный поставщик  $\text{CH}_3$ -групп, необходимых для различных процессов. Например, одним из путей инактивации и выведения Гис из аллергической реакции является его метилирование, поэтому S-метилметионин способствует проявлению антиаллергического эффекта. Установлено, что витамин необходим для нормализации кислотности желудочного сока, для процессов регенерации слизистых оболочек органов пищеварения и заживления язв желудочно-кишечного канала.

**Авитаминоз.** В экспериментах с животными установлено, что отсутствие витамина U (от лат. *ulcus* — язва) провоцирует появление язв пищеварительного канала.

**Источники:** спаржа, капуста, сельдерей, томаты, зеленый чай. Рекомендуемый уровень потребления для взрослых — 200 мг/сут.

## Витамин B<sub>13</sub>, оротовая кислота

**Строение витамина.** Витамин имеет пиримидиновую основу и карбоксильную группу (рис. 7.23). Впервые обнаружен в молоке (от греч. *oros* — молозиво), отсюда название — оротовая кислота.

**Биологическая роль.** Участвует в синтезе фосфолипидов, билирубина (продукт распада гема), пиримидинов УМФ и ЦМФ, обмене НК.

**Авитаминоз.** Нет данных о примерах авитаминоза у человека.

**Источники:** молоко, печень, дрожжи. Рекомендуемый уровень потребления для взрослых — 300 мг/сут.

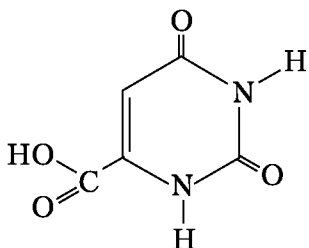


Рис. 7.23. Оротовая кислота

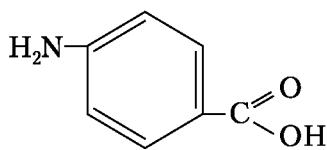


Рис. 7.24. Парааминобензойная кислота

### Витамин В<sub>10</sub>, парааминобензойная кислота, γ-аминобензойная кислота

**Строение витамина.** Монокарбоновая ароматическая аминокислота (рис. 7.24).

**Биологическая роль.** Объясняется тем, что парааминобензойная кислота входит в структуру фолиевой кислоты — витамина В<sub>9</sub>, поэтому ее иногда называют «витамин в витамине». Самостоятельно или в составе фолиевой кислоты из кишечника попадает в кровь и затем в разные ткани. Участвует в кроветворении, синтезе пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов, метаболизме белков и НК. Является фактором роста для многих микроорганизмов, в том числе молочнокислых.

**Авитаминоз.** Дерматиты, выпадение волос, раннее поседение.

**Источники.** Дрожжи, пророщенные зерна пшеницы, печень, кисло-молочные продукты, а также микрофлора кишечника. Рекомендуемый уровень потребления для взрослых — 100 мг/сут.

### Витамин В<sub>4</sub>, холин

**Строение витамина.** Триметилированный аминоэтанол. Присутствует в виде соли холинхлорида (рис. 7.25).

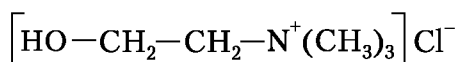


Рис. 7.25. Холинхлорид

**Биологическая роль** связана с синтезом нескольких активных соединений, в структуру которых входит холин. Во-первых, это фосфолипид лецитин (фосфатидилхолин) — компонент клеточных мембран. Здесь холин действует как липотропный фактор. Во-вторых, холин — составная часть ацетилхолина, выполняющего роль посредника при передаче нервного импульса в центральной и периферической нервной системе. В-третьих, холин может быть донором метильных групп, например, в синтезе метилированных азотистых оснований.

**Авитаминоз.** При недостатке холина снижается активность холинэргических волокон мозгового вещества, что ведет к ухудшению памяти, рассеянности, раздражительности. Со стороны обмена липидов — жировое перерождение печени, замедление обмена фосфолипидов и холестерина. Как результат — кровоизлияния в различные органы. Отмечается также уменьшение объема синтеза протромбина.

**Источники.** Желток яйца, печень, мясо, рыба, молоко, пахта, капуста. В обычном рационе содержится 500–900 мг. Рекомендуемые уровни потребления: для взрослых — 500 мг/сут.; для детей 4–6 лет — от 100 до 200 мг/сут.; 7–18 лет — от 200 до 500 мг/сут.

7.4. Содержание витаминов в молоке и молочных продуктах

В молоке присутствуют все витамины. При этом следует оговориться, что содержание витаминов в молоке может колебаться в зависимости от разных факторов: рациона кормления животных, условий их содержания, сезона года, стадии лактации и др.

Рацион животных в большей степени влияет на содержание жирорастворимых витаминов, поскольку водорастворимые витамины могут синтезироваться микрофлорой рубца. Также рубцовая микрофлора синтезирует витамин К. От сезона года зависит содержание витамина D в молоке, который синтезируется в организме при попадании на кожу ультрафиолетовых лучей.

Содержание некоторых витаминов в молоке довольно значительно для суточной физиологической потребности человека (табл. 7.1).

Таблица 7.1

Содержание витаминов в молоке [26]

Витамин	Суточная потребность (для взрослых)	Среднее содержание в молоке, мг/л
А, ретинол	900 мкг (ретинолового эквивалента)	0,3
D, кальциферол	10 мкг	0,001
Е, токоферол	15 мг (токоферолового эквивалента)	0,9
К, филлохинон	120 мкг	0,04
В <sub>1</sub> , тиамин	1,5 мг	0,4
В <sub>2</sub> , рибофлавин	1,8 мг	1,0
В <sub>3</sub> , пантотеновая кислота	5,0 мг	3,6
В <sub>5</sub> , никотинамид	20 мг	1,0
В <sub>6</sub> , пиридоксин	2 мг	0,5
В <sub>9</sub> , В <sub>с</sub> , фолиевая кислота	400 мкг	0,05
В <sub>12</sub> , цианкобаламин	3 мкг	0,005
Н, биотин	50 мкг	0,04
С, аскорбиновая кислота	90 мг	20,0

Содержание витаминов значительно изменяется в производстве разных молочных продуктов, главным образом, при отделении жировой фазы от водной в производстве сливочного масла. При этом наблюдается естественное концентрирование жирорастворимых витаминов в масле и других жиросодержащих продуктах (табл. 7.2)<sup>1</sup>.

Таблица 7.2

Витамины в сливочном масле

Массовая доля жира в масле, %	Содержание витаминов, мкг					
	А	β-каротин	D	Е	В <sub>1</sub>	В <sub>5</sub>
82,5	590	380	1,5	2200	10	100
72,5	460	330	1,41	2130	10	100
61,5	400	300	1,3	2350	12	100

<sup>1</sup> Вышемирский Ф. А. Масло из коровьего молока и комбинированное. СПб. : ГИОРД, 2004.

Водорастворимые витамины концентрируются в низкожирных молочных продуктах — обезжиренном молоке, пахте, сыворотке. Например, в сыворотку переходит большая часть всех водорастворимых витаминов (табл. 7.3), а содержание витамина В<sub>6</sub> даже больше, чем в исходном молоке. Это результат деятельности молочнокислых микроорганизмов, которые могут синтезировать ряд витаминов для своего роста. По этой же причине содержание некоторых витаминов в кисломолочных продуктах, как правило, выше, чем в молоке-сырье.

Таблица 7.3

Доля перехода витаминов молока в сыворотку [5]

Витамины	А	Е	В <sub>1</sub>	В <sub>2</sub>	В <sub>5</sub>	В <sub>6</sub>	В <sub>12</sub>	Н	С
Относительное содержание, %	11	32	88	91	54	136	58	90	78

Обычное температурное воздействие в производстве молочных продуктов — пастеризация, не оказывает значительного влияния на содержание витаминов в продуктах. Лишь высокотемпературные режимы при значительной продолжительности воздействия существенно уменьшают содержание витаминов, например, в производстве сгущенного молока и сухих молочных продуктов (табл. 7.4).

Таблица 7.4

Уменьшение содержания витаминов при сгущении и сушке молока [5]

Витамины	А	β-каротин	Е	В <sub>1</sub>	В <sub>2</sub>	В <sub>5</sub>	В <sub>6</sub>	В <sub>12</sub>	С
Уменьшение содержания, %	10—19	12—15	3—12	30	8—21	54	40	40	20

Для потребителя в этом нет ничего страшного, поскольку в ежедневном рационе преобладают молоко и молочные продукты, не предназначенные для длительного хранения и, следовательно, не подвергавшиеся такой жесткой обработке, как в производстве молочных консервов. Сухие и сгущенные молочные продукты выпускаются для создания стратегических запасов, резервов сырья, для снабжения населения в крайне удаленных регионах, в экспедициях и т.д. В таких случаях показан прием витаминно-минеральных препаратов, а пищевая отрасль, со своей стороны, предусматривает разработку витаминизированных продуктов специального назначения.

## 7.5. Практические примеры

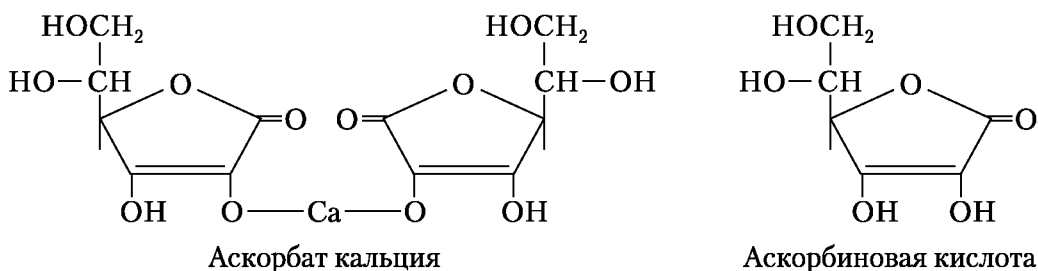
В производстве многих пищевых продуктов допускается использование витаминов. Например, для продуктов детского питания разрешены различные витаминные препараты<sup>1</sup>. Доля определенного витамина в разных препаратах не одинакова. Это следует учитывать при разработке рецептуры.

Например, необходимо рассчитать количество аскорбата кальция, которое надо внести в подготавливаемую фруктовую смесь, чтобы в готовом

<sup>1</sup> Приложение 3 к техническому регламенту Таможенного союза «О безопасности отдельных видов специализированной пищевой продукции, в том числе диетического лечебного и диетического профилактического питания», принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 15 июня 2012 г. № 34.

продукте его концентрация составила 200 мг/кг (в пересчете на аскорбиновую кислоту).

Чтобы выполнить требуемые расчеты, надо знать формулу аскорбата кальция и аскорбиновой кислоты:



По формуле легко рассчитать относительную молекулярную массу аскорбата кальция и массовую долю в нем аскорбиновой кислоты ( $W_{\text{аскорбиновой кислоты}}$ ), как показано в практическом примере на с. 28. Молекулярная формула аскорбата кальция —  $C_{12}H_{14}O_{12}Ca$ . Значит, относительная молекулярная масса соответственно равна

$$M(C_{12}H_{14}O_{12}Ca) = 12 \cdot 12 + 14 \cdot 1 + 12 \cdot 16 + 40 = 390.$$

Также из формулы аскорбата кальция очевидно, что массовая доля аскорбиновой кислоты в нем составит

$$W_{\text{аскорбиновой кислоты}} = \frac{M_{\text{аскорбата кальция}} - A_{Ca}}{M_{\text{аскорбата кальция}}},$$

где  $A_{Ca}$  — относительная атомная масса Ca;

$$W_{\text{аскорбиновой кислоты}} = \frac{390 - 40}{390} \cdot 100 = 89,7 (\%).$$

Зная массовую долю аскорбиновой кислоты в аскорбате кальция, можно рассчитать его количество —  $m_{\text{аскорбата кальция}}$ , которое будет содержать необходимую массу аскорбиновой кислоты в продукте. По заданию в готовом продукте концентрация аскорбиновой кислоты должна составлять 200 мг/л, или 0,2 г/л.

В 100 г аскорбата кальция содержится 89,7 г аскорбиновой кислоты, а  $m_{\text{аскорбата кальция}}$ , г, будет содержать 0,2 г аскорбиновой кислоты. Тогда

$$m_{\text{аскорбата кальция}} = \frac{0,2 \cdot 100}{89,7} = 0,223 (\text{г}).$$

Значит, масса вносимого в 1 л смеси аскорбата кальция составит 0,223 г.

### Задания для самостоятельной работы

I. Среди возможных вариантов выберите единственное верное завершение фразы.

1. Действие витамина А связано с синтезом:

- а) коллагена;
- б) дентина;
- в) кальцитриола;
- г) родопсина;
- д) эластина.

**2. Пантотеновая кислота является составной частью:**

- а) липоевой кислоты;
- б) тиаминпирофосфата;
- в) глутатиона;
- г) кофермента А;
- д) тетрагидрофолиевой кислоты.

**3. Витамин В<sub>1</sub> является составной частью кофермента:**

- а) пиридоксальфосфата;
- б) тиаминпирофосфата;
- в) биотина;
- г) никотинамидадениндинуклеотида;
- д) флавинадениндинуклеотида.

**4. В минерализации костной ткани необходим витамин:**

- а) ретинол;
- б) токоферол;
- в) кальциферол;
- г) карнитин;
- д) рутин.

**5. Предотвращает свободно-радикальные процессы в клетках, препятствует пероксидному окислению липидов и разрушению двойных связей витамин:**

- а) филлохинон;
- б) токоферол;
- в) кальциферол;
- г) карнитин;
- д) рутин.

**6. В процессе свертывания крови участвует витамин:**

- а) филлохинон;
- б) фолиевая кислота;
- в) кобаламин;
- г) холин;
- д) рутин.

**7. В составе пируватдегидрогеназного и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного комплексов нет витаминов:**

- а) рибофлавина и тиамина;
- б) тиамина и пантотеновой кислоты;
- в) пантотеновой кислоты и никотинамида;
- г) рибофлавина и никотинамида;
- д) холина и рутина.

**8. Действие фолиевой кислоты связано с:**

- а) синтезом гормоноподобных соединений;
- б) процессами свертывания крови;
- в) предупреждением свободно-радикальных процессов в клетках;
- г) транспортом одноуглеродных остатков;
- д) декарбоксилированием кетокислот.

**9. Партнером витамина С в окислительно-восстановительных системах может быть:**

- а) ретинол;
- б) токоферол;



- в) кальциферол;
- г) карнитин;
- д) рутин.

**10.** Транспорт кислотных остатков через клеточные мембраны происходит при участии:

- а) филлохинона;
- б) токоферола;
- в) кальциферола;
- г) карнитина;
- д) рутина.

**11.** Причина заболевания «бери-бери» — отсутствие витамина:

- а) В<sub>1</sub>; б) В<sub>2</sub>; в) В<sub>3</sub>; г) В<sub>4</sub>; д) В<sub>5</sub>.

**12.** В транспорте метильных групп участвуют витамины:

- а) В<sub>1</sub> и В<sub>12</sub>;
- б) В<sub>2</sub> и В<sub>12</sub>;
- в) В<sub>9</sub> и В<sub>12</sub>;
- г) В<sub>5</sub> и В<sub>9</sub>;
- д) В<sub>6</sub> и В<sub>9</sub>.

**13.** В образовании стероидных оксигормонов надпочечников, дентина и коллагена участвует витамин:

- а) С; б) Н; в) Р; г) РР; д) U.

**14.** Донор метильных групп и посредник при передаче нервного импульса в центральной и периферической нервной системе — витамин:

- а) рибофлавин;
- б) биотин;
- в) холин;
- г) карнитин;
- д) рутин.

**15.** Антисеборрейным витамином является:

- а) ниацин;
- б) биотин;
- в) рутин;
- г) тиамин;
- д) пиридоксин.

**II.** Дайте аргументированный ответ, сопровождая его при необходимости расчетами и схемами соответствующих превращений.

**1.** Сформулируйте основные понятия темы «Витамины». Ответы оформите в виде таблицы.

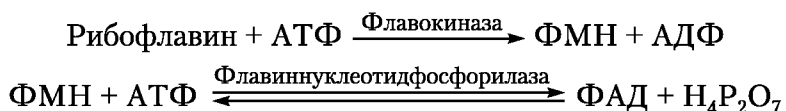
Понятие	Определение
Витамины	
Авитаминоз	
Гиповитаминоз	
Гипервитаминоз	
Антивитамины	

**2.** Выделенный из природных источников или полученный синтетическим или микробиологическим путем β-каротин используют как краситель

для различных пищевых продуктов: сливочного масла, маргарина, сыров, хлебобулочных изделий, напитков. Обоснуйте с точки зрения биохимии и технологии эту возможность.

**3.** В Российской Федерации аскорбиновая кислота (Е300) и токоферолы (Е306—Е309) разрешены к применению в качестве антиоксидантов. Как объяснить антиоксидантный эффект этих витаминов с учетом биохимических процессов, протекающих в продуктах?

**4.** Напишите уравнения реакций образования коферментов — ФМН и ФАД, в состав которых входит витамин В<sub>2</sub> — рибофлавин. Для этого воспользуйтесь схемой:



Все соединения покажите с помощью графических формул.

**5.** Дефицит витаминов группы В может привести к накоплению ядовитой для нервной системы ПВК из-за снижения процесса ее окислительного декарбоксилирования. Воспользуйтесь информацией, данной в главе (см. параграф 7.2), и объясните механизм этого нарушения.

**6.** Коферментная форма витамина, тиаминпирофосфат синтезируется путем прямого переноса фосфорных остатков от АТФ:



Напишите уравнение этой реакции, используя только графические формулы соединений.

**7.** Почему витамин В<sub>5</sub> часто называют РР? Как проявляется дефицит данного витамина в организме?

**8.** Приведите схему переноса оксиметильной группы на Гли с участием 5,6,7,8-тетрагидрофолиевой кислоты.

**9.** Источником каких витаминов могут служить молоко, молочная сыворотка, пахта?

**10.** Источником каких витаминов служат сливочное масло и другие жиродержащие молочные продукты?

**11.** В различных исследованиях установлено, что содержание витаминов в кисломолочных продуктах, полученных с использованием заквасочной микрофлоры, выше, чем в исходном молоке. Дайте объяснение этому явлению.

**12.** В производстве различных пищевых продуктов для активирования роста дрожжей разрешено применение питательных веществ (подкормки). Объясните механизм оказываемого действия при внесении следующих соединений: а) биотин; б) ниацин; в) пантотеновая кислота; г) рибофлавин; д) тиамин.

**13.** В низколактозную молочную смесь для детского питания планируется вносить витамин В<sub>2</sub> в форме рибофлавин-5-фосфата натрия. Рассчитайте количество вносимого витаминного препарата, так чтобы в готовом продукте его содержание в пересчете на рибофлавин составляло 600 мкг/л.

**14.** Смесь на основе частично гидролизованных белков для питания детей старше 6 месяцев обогащается водорастворимыми витаминами. Вычис-

лите количество вносимых препаратов в пересчете на соответствующий витамин, так чтобы его содержание в готовом продукте соответствовало заданному в таблице.

Вариант	Вносимый препарат	Содержание витамина в готовом продукте
1	Рибофлавин-5-фосфат натрия	$B_2 - 800 \text{ мкг/л}$
2	Тиаминахлорид	$B_1 - 0,4-2,1 \text{ мг/л}$
3	Никотинамид	$B_3 - 3-10 \text{ мг/л}$
4	Пиридоксиндипальмитат	$B_6 - 700 \text{ мкг/л}$
5	<i>D</i> -пантотенат кальция	$B_5 - 10 \text{ мг/л}$
6	Пиридоксин гидрохлорид	$B_6 - 500 \text{ мкг/л}$
7	Пиридоксин-5-фосфат	$B_6 - 600 \text{ мкг/л}$
8	<i>L</i> -аскорбат калия	$C - 80 \text{ мг/л}$
9	Аскорбилпальмитат (6-пальмитил- <i>L</i> -аскорбиновая кислота)	$C - 60 \text{ мг/л}$
10	<i>L</i> -аскорбат натрия	$C - 100 \text{ мг/л}$

## Глава 8

# ГОРМОНЫ

---

В результате изучения материала данной главы студент должен:

**знать**

- уровни гормональной регуляции в организме человека;
- определение гормонов и их классификацию по химической природе и месту синтеза;
- место синтеза, химическую природу и эффект, оказываемый отдельными гормонами;

**уметь**

- объяснить механизм действия пептидных и стероидных гормонов;
- объяснить действие гормоноподобных соединений;

**владеть**

- информацией о нервно-гормональной регуляции и о роли отдельных гормонов в обмене веществ в организме человека.
- 

### 8.1. Уровни гормональной регуляции

Деятельность разных органов, тканей и физиологических процессов в организме человека и высших животных находится под совместным контролем нервной системы и гормонов (гуморальных факторов) — *нервно-гормональная (нейрогуморальная) регуляция*.

Ведущая роль в обеспечении согласованности действия различных органов и тканей принадлежит *центральной нервной системе (ЦНС)*, которая получает, анализирует и преобразует сигналы из внутренней и внешней среды в химическую форму. Отдел ЦНС *гипоталамус* в ответ на нервные импульсы вырабатывает нейрогормоны. На действие нейрогормонов реагирует придаток мозга *гипофиз*, который синтезирует собственные гормоны. Гипофиз называют главной эндокринной железой, поскольку вырабатываемые им гормоны оказывают влияние на работу других эндокринных желез. Это можно представить в виде простой схемы (рис. 8.1).



Рис. 8.1. Схема нервно-гормональной регуляции

8.2. Классификация и механизм действия гормонов

**Гормоны — биологически активные вещества, вырабатываемые в эндокринных железах животных и человека и оказывающие целенаправленное влияние на деятельность других органов и тканей.**

Гормоны разносятся с током крови или по лимфатической системе и имеют ряд общих признаков:

- дистанционный характер действия — синтезируются в одном месте, а оказывают эффект в другом;
- роль посредника между ЦНС и тканями;
- высокая биологическая активность, поэтому требуются в ничтожно низких концентрациях;
- специфичность эффекта: гормон оказывает влияние лишь на чувствительные к нему клетки-мишени;
- высокая скорость образования и распада, например инсулин обновляется каждые 20 мин.

Гормоны классифицируют разными способами. Деление по биологическому действию и месту синтеза представлено в параграфах 8.3—8.7. Химическая природа гормонов (табл. 8.1) во многом определяет механизм их действия (табл. 8.2).

Гормоны действуют лишь на специфические **клетки-мишени**, у которых есть гормончувствительные рецепторы. По расположению рецепторов клетки-мишени делят на *мембранные* и *цитоплазматические*. Соответственно различается и механизм действия гормонов (см. табл. 8.2).

Таблица 8.1

Классификация гормонов по химической природе

Химический состав	Примеры
Пептидные гормоны	Соматотропин, вазопрессин, инсулин
Гормоны — производные аминокислот	Тироксин, адреналин
Стероидные гормоны	Кортизол, альдостерон

Таблица 8.2

Механизм действия гормонов

Мембранный	Цитоплазматический
Характерен для пептидных гормонов, адреналина и 10% тиреоидных гормонов	Характерен для стероидных и 90% тиреоидных гормонов
Мембрана служит барьером для этих гормонов, поэтому они не проникают внутрь клетки и взаимодействуют с рецепторами на поверхности клетки-мишени. Гормонрецепторный комплекс активирует <i>аденилатциклазу (гуанилатциклазу)</i> , в результате образуется цАМФ (цГМФ), который запускает каскадный механизм активации ряда ферментов, влияющих на обмен углеводов, липидов, белков	Гормоны обладают небольшими размерами и липофильными свойствами, поэтому проникают сквозь мембрану внутрь клетки-мишени. Гормонрецепторный комплекс внедряется в ядро и влияет на синтез белков, как правило, ферментов.

8.3. Гормоны гипоталамуса

Непосредственный контроль над деятельностью гормонов осуществляет гипоталамус. Этот отдел промежуточного мозга объединяет высшие отделы ЦНС и эндокринные железы. Нервные клетки обрабатывают сигналы, поступающие из внешней и внутренней среды, преобразуют их в химические вещества — *нейромедиаторы* и направляют в гипоталамус. В результате в нервных клетках гипоталамуса образуются вещества, получившие название *нейрогормонов*. В настоящее время гормоны гипоталамуса называют *рилизинг-факторы* (от англ. *release* — освобождать), или *либерины*. По химической природе все они — низкомолекулярные пептиды.

**Гормоны гипоталамуса стимулируют или ингибируют секрецию гормонов гипофиза.**

Считается, что гормоны гипоталамуса строго специфичны в отношении одного из гормонов гипофиза. Поэтому гормоны гипоталамуса называют по гормонам гипофиза, на которые они оказывают свое действие. У гормонов с активирующим эффектом добавляют окончание *либерин*, с ингибирующим — *статин*. Например, «соматостатин» означает, что этот гормон гипоталамуса ингибирует образование гормона гипофиза — соматотропина. Или название «тиролиберин» обозначает гормон гипоталамуса, стимулирующий освобождение (и, возможно, синтез) тиротропина (ТТГ) — соответствующего гормона гипофиза [2]. В настоящее время открыто семь стимуляторов и три ингибитора секреции гормонов гипофиза (табл. 8.3).

Таблица 8.3

Название гормонов гипоталамуса

Стимулирующие	Ингибирующие
Соматолиберин	Соматостатин
Тиролиберин	Пролактостатин
Кортиколиберин	Меланостатин
Люлиберин	
Фоллилиберин	
Пролактолиберин	
Либерин	

8.4. Гормоны гипофиза

Гипофиз — это железа внутренней секреции, расположенная в основании головного мозга. В ответ на действие рилизинг-факторов гипофиз синтезирует и секретирует собственные гормоны (табл. 8.4).

**Гормоны гипофиза влияют на деятельность других эндокринных желез.**

В связи с этим гипофиз часто называют главной эндокринной железой. Все гормоны, выделяемые гипофизом, имеют пептидную природу.



Гормоны щитовидной железы контролируют общую скорость метаболизма, стимулируя дифференцировку клеток, синтез белков, процессы роста. Таким образом, иодтиронины являются синергистами соматотропина.

8.5.2. Паращитовидные железы

Это четыре железы, каждая размером с горошину, расположенные позади щитовидной железы. Несмотря на близкое соседство работают совершенно самостоятельно. Синтезируемые паращитовидными железами гормоны *паратгормон (паратирин)* и *кальцитонин* являются пептидами, т.е. производными белков.

Паратгормон синтезируется в ответ на снижение концентрации кальция в крови. Паратгормон восстанавливает нормальный уровень ионов кальция во внеклеточной жидкости разными способами. Во-первых, путем прямого воздействия на кости и почки. При этом  $Ca^{2+}$  и фосфаты мобилизуются из кости во внеклеточную жидкость. В почках паратгормон стимулирует реабсорбцию кальция в почечных канальцах, снижая экскрецию кальция с мочой. Одновременно, снижая реабсорбцию фосфатов из почек, паратгормон способствует уменьшению концентрации фосфатов во внеклеточной жидкости [4]. Во-вторых, паратгормон нормализует уровень  $Ca^{2+}$  косвенно, влияя на кальцитриол.

Кальцитонин секретируется парафолликулярными К-клетками щитовидной железы или С-клетками паращитовидных желез при увеличении концентрации  $Ca^{2+}$  в крови. Кальцитонин — антагонист паратгормона и кальцитриола. Он ингибирует высвобождение  $Ca^{2+}$  из костей и подавляет реабсорбцию ионов кальция в почках, тем самым стимулируя их экскрецию почками с мочой. Скорость секреции кальцитонина у женщин сильно зависит от уровня эстрогенов. При недостатке эстрогенов секреция кальцитонина снижается. Это вызывает ускорение мобилизации кальция из костной ткани, что приводит к развитию остеопороза [4].

8.5.3. Поджелудочная железа

Поджелудочная железа расположена в брюшной полости ниже желудка. Большая часть поджелудочной железы действует как пищеварительная и выделяет в кишечник ферменты. Другая часть выполняет работу эндокринной железы и вырабатывает гормоны пептидной природы — инсулин и глюкагон. Действие этих гормонов многопланово. Из табл. 8.5 и 8.6 очевидно, что инсулин и глюкагон влияют на обмен углеводов, липидов и белков.

Таблица 8.5

Влияние инсулина на обмен веществ

Процесс	Действие гормона	Эффект
Обмен углеводов	<i>Активирует:</i> транспорт глюкозы в клетки; дихотомический и апотомический пути окисления глюкозы; биосинтез гликогена. <i>Ингибирует:</i> распад гликогена; глюконеогенез	Снижение уровня глюкозы в крови
Обмен липидов	<i>Активирует:</i> биосинтез ВЖК, ТАГ и липопротеинов. <i>Ингибирует:</i> распад ТАГ; распад ВЖК в процессе $\beta$ -окисления; синтез кетоновых тел	Способствует синтезу липидов в организме



Процесс	Действие гормона	Эффект
Обмен белков	<i>Активирует:</i> поступление аминокислот в клетки тканей; биосинтез белков в клетках тканей. <i>Уменьшает:</i> концентрацию аминокислот в крови	Способствует синтезу белков в организме
Обмен минеральных веществ	<i>Активирует:</i> работу $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -насоса	Возрастает проницаемость мембран для поступления $\text{K}^+$ в клетки

Таблица 8.6

Влияние глюкагона на обмен веществ

Процесс	Действие гормона	Эффект
Обмен углеводов	<i>Активирует:</i> распад гликогена; глюконеогенез. <i>Ингибирует:</i> анаэробный и аэробный пути окисления глюкозы; биосинтез гликогена	Повышение уровня глюкозы в крови
Обмен липидов	<i>Активирует:</i> распад ТАГ; распад ВЖК в процессе $\beta$ -окисления; синтез кетоновых тел. <i>Ингибирует:</i> биосинтез ВЖК и ТАГ	Способствует распаду липидов в организме

8.5.4. Надпочечники

Надпочечники состоят из двух слоев — мозгового и коркового.

**Мозговое вещество** вырабатывает два гормона — адреналин и норадреналин (рис. 8.3), которые являются производными аминокислоты Тир. *Адреналин* увеличивает частоту и силу сердечных сокращений, повышает кровяное давление, а также действует подобно глюкагону — способствует расщеплению гликогена до глюкозы, вплоть до гипергликемии. Это своего рода защитный механизм, который позволяет обеспечить мышцы питанием в период стресса.

*Норадреналин* вызывает сокращение кровеносных сосудов, вследствие чего повышается кровяное давление.

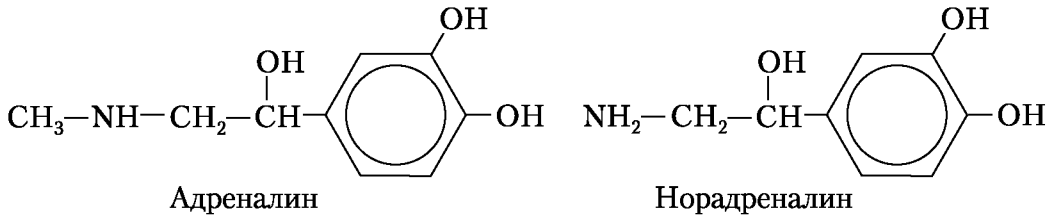


Рис. 8.3. Гормоны мозгового вещества надпочечников

Оба гормона входят в группу катехоламинов<sup>1</sup> (медиаторы нервной системы). Участвуют в обмене веществ и приспособительных реакциях, обеспечивая постоянство внутренней среды организма.

**Кора надпочечника** синтезирует около 20 веществ стероидной природы. Почти половина из них обладают гормональным действием. Среди этих гормонов выделяют *глюкокортикоиды* и *минералокортикоиды*.

Глюкокортикоиды воздействуют как на анаболические, так и на катаболические процессы в разных тканях. Основной глюкокортикоид человека — *кортизол* (рис. 8.4). Он контролирует углеводный, липидный и белко-

<sup>1</sup> Производные пирокатехина (катехола).

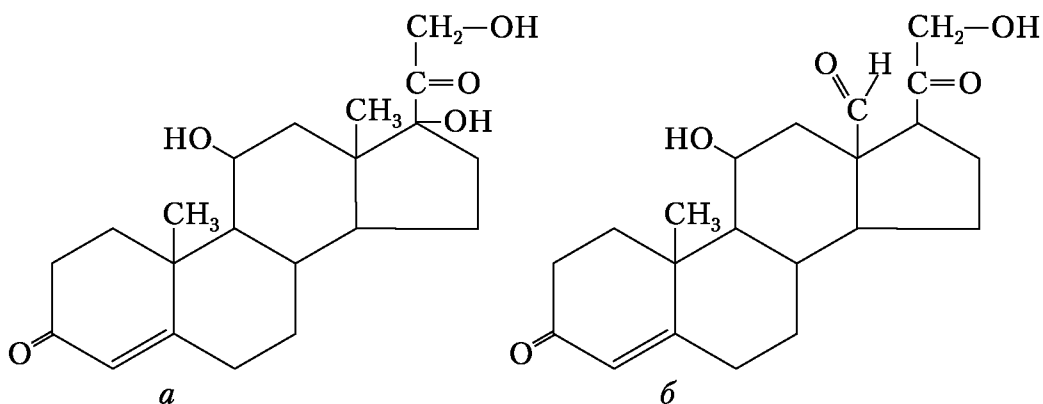


Рис. 8.4. Гормоны коры надпочечников:

*a* — кортизол; *б* — альдостерон

вый обмена. Минералокортикоиды поддерживают уровень  $\text{Na}^+$  и  $\text{K}^+$  в организме. Наиболее активный минералокортикоид — *альдостерон*. Он влияет на водно-солевой обмен, с одной стороны, задерживая  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  и воду в тканях, с другой стороны, выводя  $\text{K}^+$  и  $\text{NH}_4^+$  через почки, кишечник, слюнные и потовые железы.

### 8.5.5. Половые железы

Половые железы вырабатывают мужские и женские гормоны. Общим их источником служит холестерин, а многие стадии синтеза совпадают, поэтому некоторые количества мужских и женских гормонов присутствуют у особей противоположного пола.

Женские гормоны — *эстрогены* и *прогестерон* (рис. 8.5, *a*). Они синтезируются периодически в разные фазы цикла. Эстрогены секретируются до овуляции в яичниках и обеспечивают развитие вторичных половых признаков, создают оптимальные условия для оплодотворения яйцеклетки, а также вызывают развитие молочных протоков в молочной железе<sup>1</sup>. Прогестерон синтезируется желтым телом после овуляции и стимулирует развитие секреторного эпителия. Если происходит оплодотворение яйцеклетки, прогестерон способствует закреплению оплодотворенного яйца в матке и нормальному протеканию беременности.

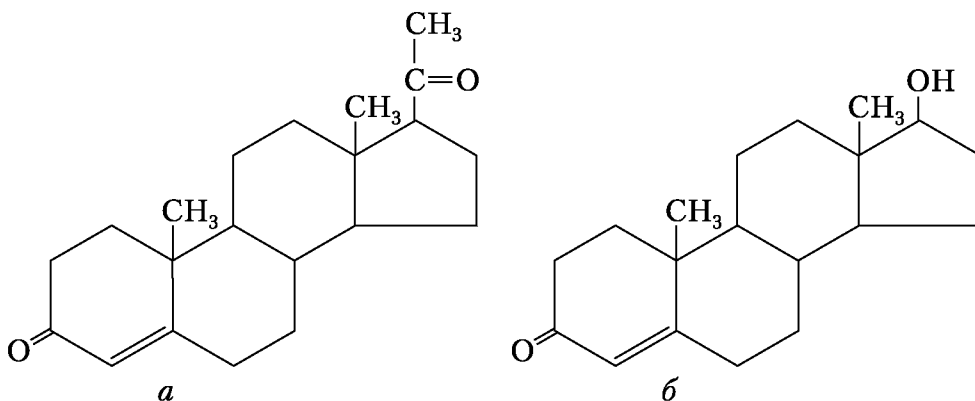


Рис. 8.5. Половые гормоны:

*a* — прогестерон; *б* — тестостерон

<sup>1</sup> Каримова Ш. Ф., Султанов Р. Г., Зиямутдинова З. К. Указ. соч.

Мужской половой гормон — *тестостерон* (рис. 8.5, б) вырабатывается в семенниках. Он обуславливает появление вторичных половых признаков и созревание спермы.

8.5.6. Гормоны желудочно-кишечного канала

Желудочно-кишечный канал подобно поджелудочной железе обладает двумя функциями: пищеварительной, так как синтезирует ферменты, участвующие в переваривании пищи, и эндокринной, поскольку секретирует ряд гормонов (табл. 8.7).

При этом следует отметить отличительные особенности гормональной системы желудочно-кишечного канала. Ее клетки не локализованы в одном месте, а распределены по разным отделам.

Все гормоны желудочно-кишечного канала имеют пептидную природу, а по структуре и свойствам относятся к двум семействам: *гастрина* и *секретина*.

Таблица 8.7

Характеристика гормонов пищеварительного канала

Гормон и место синтеза	Эффект
Гастрин синтезируется в желудке при поступлении белков	Провоцирует образование: <ul style="list-style-type: none"><li>• HCl (необходима для активации пепсина, подавления нежелательной микрофлоры и гнилостных процессов);</li><li>• пепсиногена — предшественника пепсина</li></ul>
Секретин синтезируется в двенадцатиперстной кишке	Провоцирует выделение в поджелудочной (панкреатической) железе и поступление в кишечник: <ul style="list-style-type: none"><li>• ферментов;</li><li>• гидрокарбонатов (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)</li></ul>
Холецистокинин синтезируется в тонком кишечнике при поступлении пептидов	Провоцирует секрецию ферментов поджелудочной (панкреатической) железой с оптимумом pH 7,5—8,0

8.6. Гормоноподобные соединения

Гормоноподобные соединения, или *гормоноиды*, иначе называют **простагландины**, так как впервые были обнаружены в экстрактах предстательной железы — простаты. В отличие от истинных гормонов синтезируются по месту действия, поэтому их называют *местными регуляторами в клетке*. Участвуют в поддержании гомеостаза организма, влияя на сокращение гладких мышц, воспалительные реакции и другие процессы.

По химической природе — это полинепредельные кислоты C<sub>20</sub>, имеющие пятичленный цикл. Конформация напоминает шпильку (рис. 8.6). Одним из общих предшественников является арахидоновая кислота.

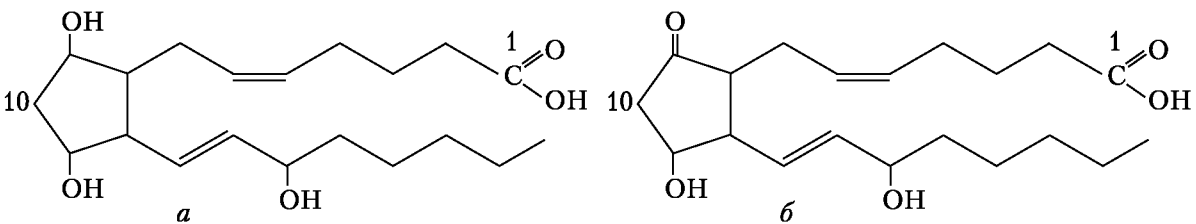


Рис. 8.6. Примеры простагландинов:

а — PGF<sub>2</sub> содержит OH-группу в положении 9 циклопентанового кольца;  
б — PGE<sub>2</sub> — в этом положении содержит карбонильный атом

Простагландины классифицируют по числу двойных связей на PG<sub>1</sub>, PG<sub>2</sub>, PG<sub>3</sub>, а также по виду и положению заместителей в циклопентановом кольце на А, В, С, D, Е и F.

## 8.7. Экзогенные гормоны

Как следует из предыдущего материала и определения гормонов, эти соединения синтезируются внутри организма. Относительно недавно установлено, что вещества, обладающие регуляторным действием, подобным гормональному, могут поступать в организм и с пищевыми продуктами. Например, при переваривании белков молока, пшеницы и некоторых других в пищеварительном канале человека образуются низкомолекулярные пептиды, обладающие гормональным действием.

Исследование таких пептидов молока показало, что они образуются при частичном гидролизе β-казеина и обладают опиоидным эффектом, т.е. болеутоляющим и успокаивающим. Поэтому их называют *агонистичными*, т.е. схожими с опиоидными пептидами. Поскольку первым выделенным опиоидом был морфин, то пептиды, образующиеся из казеина, называют *казоморфины* или *β-казоморфины*.

Первым был изучен β-казоморфин, имеющий длину семь аминокислотных остатков, соответствующий фрагменту β-казеиновой последовательности 60—77. Его структура включает следующие аминокислоты: Тир-Про-Фен-Про-Гли-Про-Иле. Позднее его назвали β-казоморфин-7 (β-КМ-7).

Исследования, проведенные в Российском государственном медицинском университете (РГМУ, г. Москва) и Научном центре психического здоровья РАМН, обнаружили, что вся последовательность от 60-го до 70-го остатка обладает таким эффектом. Из нее по мере гидролиза образуются пептиды разной длины: β-КМ-5, β-КМ-4, β-КМ-6 и β-КМ-7, расположенные в порядке убывания опиоидной активности. Пептиды большей длины цепи β-КМ-8 — β-КМ-10 дольше противостоят действию ферментов, а значит, гарантированно достигают клеток-мишеней.

Сравнение данных пептидов с другими опиоидными пептидами выявило общие особенности их структур:

- N-концевой Тир, обладающий сродством к опиоидным рецепторам;
- гидрофобный «хвост», содержащий остатки Про, в результате чего он устойчив к действию протеолитических ферментов.

Установлено, что β-казоморфины образуются в молоке млекопитающих, детеныши которых рождаются с открытыми глазами и развитым слухом. Очевидно, данные пептиды помогают нервной системе адаптироваться к действию стрессов и влиянию окружающей среды<sup>1</sup>.

Гормональным действием обладают и другие пептиды, образующиеся из белков молока.

Во-первых, опиоидный эффект может быть как подобным (агонистическим), так и противоположным (антагонистическим) (табл. 8.8). Пептиды с *антагонистическим* действием называют *казооксинами*.

Во-вторых, опиоидные пептиды образуются при гидролизе и казеина и сывороточных белков.

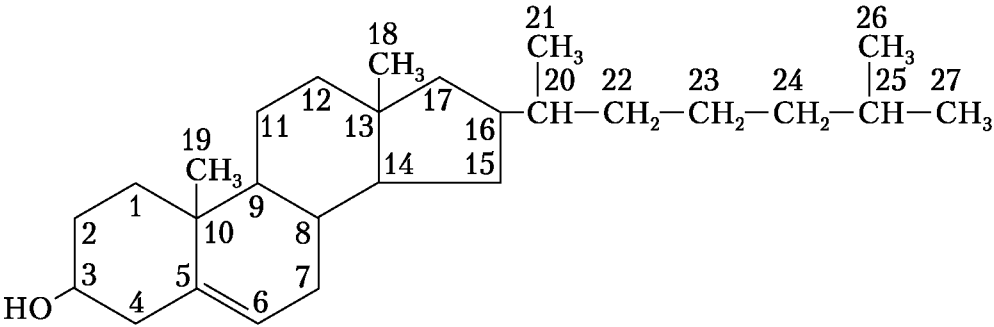
<sup>1</sup> Опиоидные пептиды экзогенного происхождения — β-казоморфины и питание детей грудного возраста / И. Г. Михева [и др.] // Педиатрия. 2003. № 5. С. 1—5.

Опиоидные пептиды молока (по А. Тепелу)

Агонистические		Антагонистические	
Пептид	Источник (фрагмент последовательности)	Пептид	Источник (фрагмент последовательности)
Казоморфин	$\alpha_{s1}$ -казеин (90–96)	Казооксин	$\kappa$ -казеин (33–38)
Казоморфин	$\beta$ -казеин (60–70)	Лактоферроксин	Лактоферрин (318–323)
$\alpha$ -лакторфин	$\alpha$ -лактальбумин (50–54)		
$\beta$ -лакторфин	$\beta$ -лактоглобулин (102–105, 101–112)		

8.8. Практические примеры

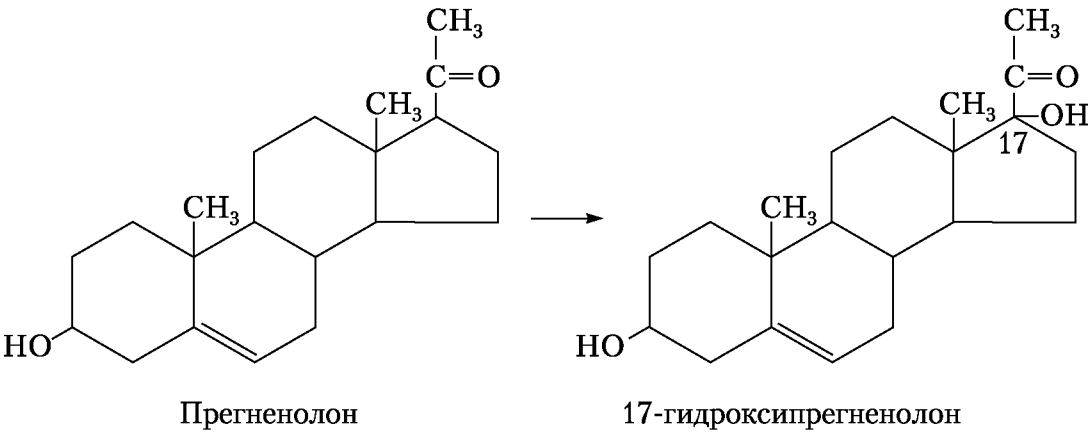
I. Биосинтез стероидных гормонов включает стадии окисления при участии гидроксилаз (см. подпараграф 6.7.1). Общим предшественником является холестерин, углеродные атомы которого нумеруют в определенной последовательности:



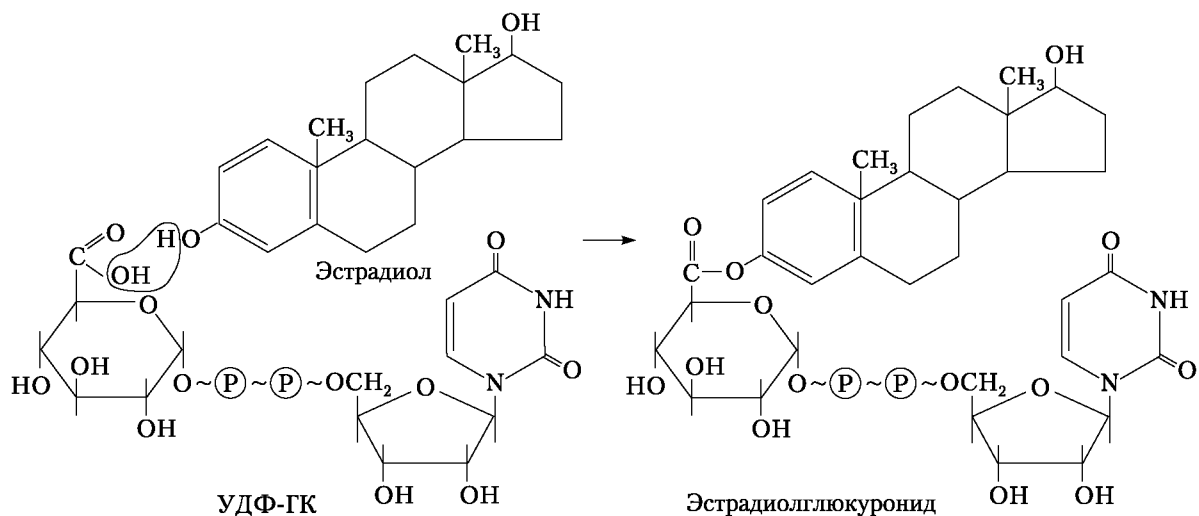
Такая нумерация очень удобна для обозначения протекающих изменений и для указания общего числа углеродных атомов в молекуле.

Например, первое превращение холестерина  $C_{27}$  в этапе синтеза гормонов связано с укорочением боковой цепи и образованием прегненолона  $C_{21}$  (см. рис. 11.46), молекула которого содержит 21 атом углерода, а не 27, как исходный холестерин.

Дальнейшее превращение прегненолона  $C_{21}$  зависит от вида образуемого гормона. При этом в названиях ферментов указывают номер углеродного атома, участвующего в катализируемой реакции. Известно, что прегненолон  $C_{21}$  может окисляться до 17-гидроксипрегненолона  $C_{21}$  под действием 17-гидроксилазы. Это значит, что атом кислорода вводится в положение 17 стерола:



**II. Выведение стеролов из организма.** В организме человека нет ферментов, разрушающих полициклическую структуру стерана, поэтому стероидные гормоны выводятся в виде глюкуронидов — соединений с глюкуроновой кислотой (см. рис. 10.13). Реакция протекает в печени и катализируется глюкуронилтрансферазой (УДФ-ГК-трансферазой). При этом уридиндифосфоглюкуроновая кислота (УДФ-ГК) может соединиться с любой ОН-группой гормона. Например, один из женских половых гормонов, эстрадиол, выводится из организма в виде эстрадиолглюкуронида, который образуется по схеме



### Задания для самостоятельной работы

**I.** Среди возможных вариантов выберите единственное верное завершение фразы.

**1.** В группу пептидных гормонов входят:

- а) гормоны поджелудочной железы;
- б) гормоны надпочечников;
- в) гормоны половых желез;
- г) гормоноподобные соединения;
- д) адреналин и норадреналин.

**2.** Производными аминокислот являются гормоны:

- а) альдостерон;
- б) прогестерон;
- в) кортизон;
- г) тироксин и трийодтиронин;
- д) тестостерон.

**3.** Рецепторы пептидных гормонов расположены:

- а) в цитоплазме;
- б) в ядре клетки;
- в) на мембране клетки;
- г) на мембране ЭПС;
- д) во внутренней мембране митохондрий.

**4.** Механизм действия стероидных гормонов основан на взаимодействии:

- а) с цитоплазматическими рецепторами клеток-мишеней;
- б) с мембранными рецепторами клеток-мишеней;
- в) с аденилатциклазой;

г) с рецепторами ЭПС;

д) с ферментами ЭТЦ.

5. В группу гипофизарных гормонов входят:

а) тиролиберин, трийодтиронин, тетраиодтиронин;

б) альдостерон, адренокортикотропин, адреналин;

в) паратирин, кальцитонин, тиреотропин;

г) соматолиберин, тиролиберин, кортиколиберин;

д) соматотропин, тиреотропин, адренокортикотропин.

6. Для поддержания баланса электролитов важен:

а) тироксин;

б) холестерин;

в) глюкагон;

г) кортикостерон;

д) адреналин.

7. Гормоны щитовидной железы тетраиодтиронин (тироксин) и трийодтиронин:

а) имеют пептидную природу;

б) имеют стероидную природу;

в) влияют на общую скорость метаболизма;

г) влияют на работу  $\text{Na}^+$ -,  $\text{K}^+$ -насоса;

д) контролируют осмотическое давление крови.

8. Гормоны паращитовидной железы влияют на:

а) уровень  $\text{Ca}^{2+}$  и фосфатов в организме;

б) работу  $\text{Na}^+$ -,  $\text{K}^+$ -насоса;

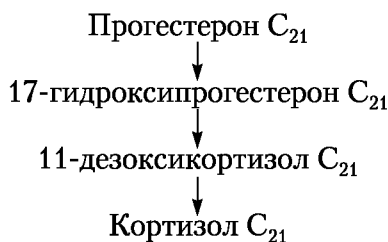
в) уровень сахара в крови;

г) общую скорость метаболизма;

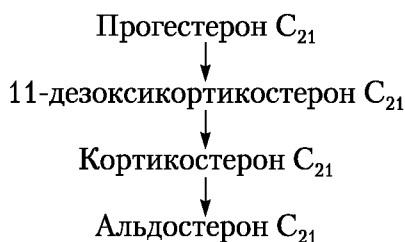
д) содержание жидкости в организме.

II. Дайте аргументированный ответ, сопровождая его при необходимости расчетами и соответствующими превращениями.

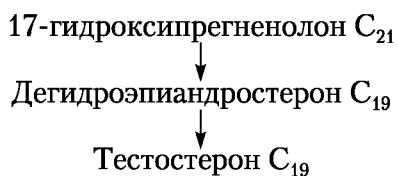
1. Покажите уравнения реакций превращения прогестерона  $\text{C}_{21}$  в кортизол  $\text{C}_{21}$ , если известно, что они катализируются ферментами 17-гидроксилазой, 21-гидроксилазой и 11-гидроксилазой и протекают по схеме



2. Покажите уравнения реакций превращения прогестерона  $\text{C}_{21}$  в альдостерон  $\text{C}_{21}$ , если известно, что они катализируются ферментами 21-гидроксилазой, 11-гидроксилазой и 18-гидроксилазой, 18-гидроксидегидрогеназой и протекают по схеме



**3.** Покажите уравнения реакций превращения 17-гидроксиpregненолона  $C_{21}$  в тестостерон  $C_{19}$ , если известно, что они катализируются ферментами 17—20-лиазой и 11-дегидрогеназой и протекают по схеме



**4.** Напишите уравнения реакции биосинтеза: а) тестостеронглюкуронида; б) кортизолглюкуронида; в) альдостеронглюкуронида; г) прогестеронглюкуронида.

**5.** Рассчитайте процентное содержание кислорода в молекуле прогестерона и тестостерона. Какой из гормонов является более окисленным соединением?



**Наши книги можно приобрести:**

**Учебным заведениям и библиотекам:**  
в отделе по работе с вузами  
тел.: (495) 744-00-12, e-mail: [vuz@urait.ru](mailto:vuz@urait.ru)

**Частным лицам:**  
список магазинов смотрите на сайте [urait.ru](http://urait.ru)  
в разделе «Частным лицам»

**Магазинам и корпоративным клиентам:**  
в отделе продаж  
тел.: (495) 744-00-12, e-mail: [sales@urait.ru](mailto:sales@urait.ru)

**Отзывы об издании присылайте в редакцию**  
e-mail: [red@urait.ru](mailto:red@urait.ru)

**Новые издания и дополнительные материалы доступны**  
**в электронной библиотечной системе «Юрайт»**  
**[biblio-online.ru](http://biblio-online.ru)**

*Учебное издание*

**Новокшанова Алла Львовна**

# **БИОХИМИЯ ДЛЯ ТЕХНОЛОГОВ**

## **Часть 1**

**Учебник и практикум для СПО**

Формат 70×100<sup>1</sup>/<sub>16</sub>.  
Гарнитура «Charter». Печать цифровая.  
Усл. печ. л. 16,37.

**ООО «Издательство Юрайт»**  
111123, г. Москва, ул. Плеханова, д. 4а.  
Тел.: (495) 744-00-12. E-mail: [izdat@urait.ru](mailto:izdat@urait.ru), [www.urait.ru](http://www.urait.ru)