МЕЛІТОПОЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ БОГДАНА ХМЕЛЬНИЦЬКОГО

ХІМІКО-БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра хімії та хімічної освіти

ДИПЛОМНА РОБОТА

на здобуття ступеня вищої освіти «Магістр»

на тему

«Коагуляція яєчних альбумінів сульфатами, хлоридами та нітратами важких металів»

Виконала: здобувачка вищої освіти
групи М 222-х групи
спеціальності
014.06 Середня освіта (Хімія)
Григорова Юлія Євгенівна
Керівник: Галиця В.В., доктор хім. наук
Рецензент: Михальченко Є.К., доктор філософії, старший викладач



Запоріжжя, 2023

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ 3

ВСТУП 4

РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ УЯВЛЕННЯ ЩОДО ОСОБЛИВОСТЕЙ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТЕЙ БІЛКІВ

1.1. Будова глобулярних білків. Третинна структура та сили, які її стабілізують 7

1.2. Поведінка білків у розчинах 12

1.2.1. Кислотно-основні властивості білків 12

1.2.2. Розчинність білків 14

1.2.3. Визначення молекулярної маси білків з урахуванням їхнього складу 16

1.2.4. Розчини білків та ефект Фарадея–Тиндаля 17

1.2.5. Необоротне осадження білків 17

1.3. Денатурація та ренативація білків 19

1.4. Особливості взаємодії йонів важких металів з білками в організмі людини 21

Висновки до розділу 1 23

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Яєчний альбумін, сульфати, хлориди та нітрати 25

2.2. Потенціометричний метод 27

Висновки до розділу 2 29

РОЗДІЛ 3. ДОСЛІДЖЕННЯ НЕОБОРОТНОЇ КОАГУЛЯЦІЇ ЯЄЧНИХ АЛЬБУМІНІВ СУЛЬФАТАМИ, ХЛОРИДАМИ ТА НІТРАТАМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ПОТЕНЦІОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ

3.1. Необоротна коагуляція яєчних альбумінів розчинами сульфатів важких металів різної концентрації 30

3.2. Необоротна коагуляція яєчних альбумінів розчинами хлоридів важких металів різної концентрації 36

3.3. Необоротна коагуляція яєчних альбумінів розчинами нітратів важких металів різної концентрації 43

Висновки до розділу 3 51

ВИСНОВКИ 53

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 55

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

CAS-No – унікальний чисельний ідентифікатор хімічних сполук (Chemical Abstracts Service Number)

ЕРС – електрорушійна сила

ІЕТ – ізоелектрична точка

М.м. – молекулярна маса

ч.д.а. – чистий для аналізу

АНОТАЦІЯ

на кваліфікаційну (дипломну) роботу здобувачки освітнього рівня «Магістр»
спеціальності 014.06 Середня освіта (Хімія)
Григорової Юлії Євгенівни
на тему
«Коагуляція яєчних альбумінів сульфатами, хлоридами та нітратами важких металів»

Дипломна робота присвячена дослідженню необоротної коагуляції яєчних альбумінів при дії розчинів сульфатів, хлоридів та нітратів важких металів різної концентрації з використанням потенціометричного методу. Додавання певних реагентів, до яких належать солі важких металів, викликає осадження білків – необоротну коагуляцію, яка пов'язана з глибокими внутрішньомолекулярними змінами структури білка, що призводить до втрати ним нативних властивостей. Білок стає денатурованим, а процес денатурації білків є основою лікування отруєнь важкими металами, коли хворому вводять перорально молоко, сироватку або сирі яйця з тим, щоб метали денатуруючи ці білки, адсорбувалися на їхній поверхні та не пошкоджували білки слизової оболонки шлунка та кишечника, а також не всмоктувалися у кров, оскільки токсична дія йонів важких металів на живі організми пов'язана з витіснення необхідного металу з біокомплексу, зв'язування з макромолекулами білка та порушення їх біологічних функцій.

При цьому слід зазначити, що процес необоротної коагуляції білків солями важких металів вивчений не до кінця і залишається актуальним питанням сучасної медичної та біологічної хімії.

У ході проведення досліджень здобувачка Григорова Ю.Є. досягла поставленої мети та вирішила наступні задачі:

1. Визначила pH розчинів яєчних альбумінів при додаванні сульфатів, хлоридів та нітратів важких металів різної концентрації.
2. Визначила ЕРС електродної системи при коагуляції розчинів білків сульфатами, хлоридами та нітратами важких металів різної концентрації.
3. Визначила коагулюючої здатності сульфатів, хлоридів та нітратів важких металів з побудовою відповідних ліотропних рядів.
4. Встановила взаємозв'язок між концентрацією та впливом коагуляторів на стан білка в розчині.

Одержані в ході дослідження результати при подальшому вивченні можуть бути впроваджені у медичну практику при профілактиці отруєнь солями важких металів та зменшенню їх токсичної дії.

ABSTRACT

for the qualification (diploma) thesis for obtaining the educational level «Master's Degree» specialty 014.06 Secondary Education (Chemistry)

Grygorova Yuliya Evgenivna

on the topic

«**Coagulation of egg albumins with sulfates, chlorides and nitrates of heavy metals**»

The thesis is devoted to investigation of irreversible coagulation of egg albumins with action of solutions of sulfates, chlorides and nitrates of heavy metals of different concentration with usage of potentiometric method.

Addition of certain reagents, which include salts of heavy metals, causes precipitation of proteins – irreversible coagulation, which associated with deep intramolecular changes in protein structure, which leads for loss of its native properties. A protein becomes denaturated, and the process of protein denaturation is the basis of treatment of heavy metals poisoning, in the case of which milk, whey or raw eggs enter orally to the patient so that the metals after denaturation of these proteins, were adsorbed on their surface and don't damage proteins of the mucous membrane of the stomach and intestines and also were not absorbed into the blood, since the toxic effect of ions of heavy metal on living organism is based with displacing of the necessary metal from the biocomplex, binding with macromoleculas of protein and disrupting of their biological functions.

At the same time it should be noted that the process of irreversible coagulation of proteins with salts of heavy metals has not been fully studied and remains an actual issue of modern medical and biological chemistry.

In the course of research, the applicant Grygorova Yu.E. achieved the aim and solved the following problems:

1. Determined the pH of egg albumin solutions with the addition of sulfates, chlorides and nitrates of heavy metals of different concentration.
2. Determined the EMF of the electrode system under coagulation of protein solutions with sulfates, chlorides and nitrates of heavy metals of different concentration.
3. Determined the coagulative ability of sulfates, chlorides and nitrates of heavy metals with the construction of appropriate lyotropic series.
4. Established the relation between the concentration and the effect of coagulants on the condition of protein in the solution.

The results obtained in the course of investigation may be implemented in medical practice in the prevention of poisoning with salts of heavy metals and decreasing of their toxic effects.

ВСТУП

Актуальність роботи. Фізико-хімічні властивості білків визначаються їхньою високомолекулярною природою, компактністю упаковки поліпептидних ланцюгів та взаємним розміщенням амінокислотних залишків. Найбільш дослідженими серед них є гідратація, дисоціація, розчинність та коагуляція. Особливою властивістю білків є їхня здатність виступати у якості амфотерних поліелектролітів. Це забезпечується за рахунок різних угрупувань, здатних до дисоціації, що входять до складу радикалів амінокислот. Наприклад, кислотні властивості білкам надають карбоксильні групи аспарагінової та глутамінової кислот, а основні – радикали аргініну, лізину та гістидину. Чим більше дикарбонових моноамінокислот містяться у білку, тим сильніше проявляються його кислотні властивості та навпаки. Ці угрупування мають електричні заряди, що формують загальний заряд білкової молекули. У білках, у яких переважають аспарагінова та глутамінова амінокислоти, заряд білка буде від'ємним, надлишок основних амінокислот надає позитивний заряд білковій молекулі. Водним розчинам білків притаманні певні особливості. Вони мають більшу спорідненість до води – гідрофільність, а це, у свою чергу, сприяє притяганню білковими молекулами як зарядженими частинками, диполів води, які розміщуються навкруги білкової молекули, утворюючи гідратну оболонку. Ця оболонка перешкоджає агрегації молекул білків та випадінню в осад. Величина гідратної оболонки залежить від структури білків. Наприклад, альбуміни більш легко зв'язуються з молекулами води та мають відносно велику гідратну оболонку на відміну від глобулінів, які приєднують воду гірше та гідратна оболонка їх значно менше. Отже, стійкість водного розчину визначається двома факторами: наявністю заряду білкової молекули та гідратної оболонки, яка знаходиться навколо неї. Розмір білкових молекул лежить у межах 1 мкм й до 1 нм, тобто за своїм ступенем дисперсності вони є колоїдними частинками, що утворюють у воді колоїдні розчини. Ці розчини характеризуються високою в'язкістю, здатністю розсіювати промені світла, не проходять через напівпроникні мембрани. Додавання певних реагентів викликає осадження білків – коагуляцію, яка може бути оборотною та

необоротною. Необоротна коагуляція пов'язана з глибокими внутрішньо молекулярними змінами структури білка, що призводить до втрати ним нативних властивостей. Білок стає денатурованим. А власне процес денатурації білків є основою лікування отруєнь важкими металами, коли хворому вводять перорально молоко або сирі яйця з тим, щоб метали денатуруючи ці білки, адсорбувалися на їхній поверхні та не пошкоджували білки слизової оболонки шлунка та кишечника, а також не всмоктувалися у кров. При цьому слід зазначити, що процес необоротної коагуляції білків солями важких металів вивчений не до кінця, є актуальним питанням сучасної медичної та біологічної хімії і потребує подальших досліджень.

Мета роботи – проведення потенціометричних досліджень водних розчинів яєчних альбумінів при їх коагуляції сульфатами, хлоридами та нітратами важких металів різної концентрації.

Для досягнення поставленої мети було визначено такі **задачі**:

5. Визначення pH розчинів яєчних альбумінів при додаванні сульфатів, хлоридів та нітратів важких металів різної концентрації.
6. Визначення ЕРС електродної системи при коагуляції розчинів білків сульфатами, хлоридами та нітратами важких металів різної концентрації.
7. Визначення коагулюючої здатності сульфатів, хлоридів та нітратів важких металів з побудовою відповідних ліотропних рядів.
8. Встановлення взаємозв'язку між концентрацією та впливом коагуляторів на стан білка в розчині.

Об'єкт дослідження – коагуляція яєчних альбумінів солями важких металів.

Предмет дослідження – потенціометричне дослідження необоротної коагуляції яєчних альбумінів розчинами сульфатів, хлоридів та нітратів важких металів різної концентрації.

Метод дослідження: електрохімічні (потенціометричний).

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше одержані дані щодо потенціометричних досліджень коагулюючої здатності розчинів сульфатів, хлоридів та нітратів важких металів різної концентрації при дії на яєчний альбумін. Визначена найбільш виражена коагулююча дія серед розчинів солей, встановлений

взаємозв'язок «концентрація – вплив коагулятора на стан білка в розчині», досліджена зміна заряду білкової молекули при утворенні альбумінатних комплексів з катіонами важких металів. За результатами досліджень побудовано ліотропний ряд катіонів за їх коагулюючою здатністю.

Практичне значення одержаних результатів. Одержані в ході дослідження результати при подальшому вивченні можуть бути впроваджені у медичну практику при профілактиці отруєнь солями важких металів та зменшенню їх токсичної дії.

Особистий внесок здобувача. Здобувач самостійно підібрав та проаналізував наукову літературу з даної теми. Самостійно провів експериментальні дослідження коагуляції яєчних альбумінів розчинами сульфатів, хлоридів та нітратів важких металів різної концентрації потенціометричним методом, особисто виконав розрахунки та побудував графічні залежності. Обговорення та інтерпретація одержаних результатів проводилося здобувачем спільно з науковим керівником.

Апробація отриманих результатів. Результати досліджень, що включені до дипломної роботи, оприлюднені на X Міжнародній науково-практичній конференції «MODERN PROBLEMS OF SCIENCE, EDUCATION AND SOCIETY» 4-6.12.2023 року, м. Київ, Україна.

Публікації. Григорова Ю.Є. Дослідження коагулюючої здатності сульфатів важких металів різної концентрації на водні розчини овальбуміну (яєчного альбуміну) / Ю.Є. Григорова, В.В. Галиця, Ю.В. Ніколаєва, В.В. Арестенко. Збірник матеріалів X Міжнародної науково-практичної конференції «MODERN PROBLEMS OF SCIENCE, EDUCATION AND SOCIETY» 4-6.12.2023 року, м. Київ, Україна. 2800 с., С.112-118 (ISBN 978-966-8219-87-0).

Структура та обсяг роботи. Робота викладена на 57 сторінках, складається зі вступу, трьох розділів, висновків до кожного розділу, загальних висновків, списку використаних джерел (34 найменування). Робота ілюстрована 3 таблицями, 12 рисунками.

ВИСНОВКИ

Дослідження присвячено актуальній проблемі сучасної медичної та біологічної хімії – вивченню процесів необоротної коагуляції яєчних альбумінів розчинами сульфатів, хлоридів та нітратів важких металів різної концентрації з використанням потенціометричного методу аналізу. У роботі теоретично обґрунтована та експериментально вивчена коагуляція яєчного альбуміну (овальбуміну) солями важких металів, встановлена доцільність застосування одержаних результатів при лікуванні отруєнь, викликаних потраплянням важких металів в організм людини. Одержані результати підтвердили досягнення мети, засвідчили вирішення поставлених задач та дають підстави сформулювати такі висновки.

1. У всіх випадках необоротних реакцій осадження білків відбувалася денатурація із втратою яєчним альбуміном нативних властивостей за рахунок адсорбції на поверхні білкових молекул катіонів важких металів та подальшим утворенням комплексів – альбумінатів. Утворення останніх також супроводжувалося виникненням координаційних зв’язків між катіонами та характеристичними групами поліпептидних ланцюгів білкових молекул.
2. При дослідженні необоротної коагуляції розчинами сульфатів важких металів різної концентрації яєчного альбуміну з використанням потенціометричного методу побудовано ліотропний ряд катіонів за їх коагуляційною здатністю: $Cu^{2+} > Fe^{2+} > Hg^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} > Co^{2+} > Mn^{2+} > Ni^{2+}$. Найсильніша коагулююча дія серед сульфатів була притаманна розчинам купрум(II) сульфату, а утворення альбумінатного комплексу мало найбільш виражений характер, відбувалося переміщення гідрофобних структур на поверхню білкової молекули з середини – а це, у свою чергу призводило до втрати безумовної гідрофільності та зникненню гідратної оболонки, що підтверджувалося миттєвою коагуляцією з утворенням конгломератів у всьому об’ємі.
3. При дослідженні коагуляції сульфатами також встановлена закономірність утворення альбумінатних комплексів з виникненням міцних хімічних зв’язків між альбуміном та катіонами Cu^{2+}, Fe^{2+}, Cd^{2+}, Zn^{2+}.

4. Сульфати та хлориди Мангану(II) й Нікелю(II) слабо впливали на процеси коагуляції альбуміну з розчинів, а коагулююча дія нікель(II) сульфату, незважаючи на його високу токсичність, зводилася до переходу білка в ізоелектричний стан з його мінімальною розчинністю при pH = 7,20, що підтверджувалося потенціометричною фіксацією (EPC = 0).
5. При проведенні досліджень необоротної коагуляції яєчного альбуміну розчинами хлоридів важких металів побудувано ліотропний ряд катіонів за їх коагуляційною здатністю: $Fe^{3+} > Hg^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} > Fe^{2+} > Ni^{2+} > Mn^{2+}$. Найбільша коагуляційна здатність притаманна катіонам Fe^{3+}, що не суперечить правилу Шульце–Гарді.
6. За результатами вивчення необоротної коагуляції яєчного альбуміну розчинами нітратів важких металів також побудовано ліотропний ряд: $Hg^{2+} > Cu^{2+} > Pb^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} > Co^{2+} > Mn^{2+} > Fe^{2+} > Ni^{2+}$. Але у даному випадку враховується ще синергічна дія нітрат-йонів при руйнуванні ароматичних та гетероциклічних амінокислот поліпептидних ланцюгів.
7. Катіони Cd^{2+} та Zn^{2+} у складі всіх досліджуваних солей викликають помірну коагуляцію з приблизно однаковим її проявом при низьких концентраціях. При збільшенні їх концентрації відбувалися більш глибокі порушення структури білкових молекул, їх агрегація мала виражений характер.
8. Узагальнюючи та порівнюючи результати досліджень всіх солей з урахуванням особливостей взаємозв'язку «концентрація – вплив коагулятора на стан білка в розчині» можна побудувати ліотропний ряд двовалентних катіонів за їхньою коагуляційною здатністю на яєчні альбуміни: $Cu^{2+} > Hg^{2+} > Pb^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} > Fe^{2+} > Co^{2+} > Mn^{2+} > Ni^{2+}$.
9. Під час виконання експериментальних досліджень мету досягнуто, поставлені задачі виконано. Водночас, одержані результати не вичерпують можливостей розв'язання всіх аспектів цієї проблеми, і при подальших дослідженнях можуть бути впроваджені у медичну практику при лікуванні отруєнь солями важких металів та зменшенню їх токсичної дії.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Amiri M, Jankeje K, Albani JR. Characterization of human serum albumin forms with pH. Fluorescence lifetime studies. J. Pharm. Biomed. Anal. 2010; 51(5):1097-1102.
2. Belitz, H.B. Food Chemistry, forth revised and extended edition / H.B. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 2009. 1070 p.
3. Davies CL, Dux EL, Duhme-Klair AK. Supramolecular interactions between functional metal complexes and proteins. Dalton Trans. 2009; (46):10141-10154.
4. Haque, E. Biofunctional properties of bioactive peptides of milk origin / E. Haque, R. Chand, S. Kapila // Food Reviews International. 2009. V. 25, No1. P. 28-43.
5. Hewitt SH, Wilson AJ. Metal complexes as “protein surface mimetics”. Chem. Commun. 2016; 52(63):9745-9756.
6. Ishikawa, S.I. Egg yolk protein and egg yolk phosvitin inhibit calcium, magnesium, and iron absorptions in rats / S.I. Ishikawa, S. Tamaki, K. Arihara, M. Itoh // Journal of Food Science. 2007. V. 72. P. 412–419.
7. Kibangou, I.B. Milk Proteins and Iron Absorption: Contrasting Effects of Different Caseinophosphopeptides / I.B. Kibangou, S. Bouhallab, G. Henry et al. // Pediatric Research. 2005. V. 58, No 4. P. 731-734.
8. Kovacs-Nolan, J. Heavy-Metal-Binding Proteins. In: Mine Y., Shahidi F. [eds.]. Nutraceutical Proteins and Peptides in Health and Disease. Nutraceutical Science and Technology / J. Kovacs-Nolan, Y. Mine. New Your, USA: CRC Precc, 2006. P. 69-80.
9. Losytskyy MY, Kovalska VB, Varzatskii OA, Sergeev AM, Yarmoluk SM, Voloshin YZ. Interaction of the iron(II) cage complexes with proteins: protein fluorescence quenching study. J. Fluoresc. 2013; 23(5):889-895.
10. Lopukhin YM, Dobretsov GE, Gryzunov YA. Conformational changes in albumin molecule: a new response to pathological process. B Exp. Biol. Med. 2000; 130(1): 615- 619.
11. McKee T., McKee J. Biochemistry: The Molecular Basis of Life. 3-rd ed. McGraw-Hill, 2004. 774 p.
12. Möller, N.P. Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects /

N.P. Möller, K.E. Scholz-Ahrens, N. Roos, J. Schrezenmeir // Europ. J. Nutr. 2008. V. 47, N 4. P. 171-182.

13. Sharma, S. Bioactive Peptides: A Review / S. Sharma, R. Singh, S. Rana // Int. J. Bioautomation. 2011. V. 15, No 4. P. 223-250.
14. Авдеева Л.В., Алейникова Т.Л., Андрианова Л.Е. Биохимия: учебник / под ред. Е.С. Северина. М.: ГЭОТАР-МЕД, 2013. 768 с.
15. Авцин А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А, Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека, (этиология, классификация, органопатология). М., 1991. 180 с.
16. Антропов Л.І. Теоретична електрохімія. К.: Либидь, 1993. 544 с.
17. Біохімія: Підручник / за загальною редакцією проф. Зайгайка А.Л. та проф. Александрової К.В. Харків: Форт, 2014. 728 с.
18. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. М.: Высшая школа, 2007. 710 с.
19. Гомонай В.І. Фізична та колоїдна хімія. Ужгород, УжНУ, 2007. 496 с.
20. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини: Підручник. Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. 750 с.
21. Губський Ю.І. Біологічна хімія: Підручник. К.: Укрмедкнига, 2000. 508 с.
22. Дамаскин Б.Б. Електрохимия. М.: Высшая школа, 1987. 295 с.
23. ДСТУ 7274:2012. Хімічні реактиви. Реактиви, розчини для аналізу та матеріали допоміжні.
24. Ершов Ю.А. Биохимия человека. 2-е изд., пер. и доп. Люберцы: Юрайт, 2016. 374 с.
25. Костржицький А.І. Фізична і колоїдна хімія. К.: ЦУЛ, 2008. 496 с.
26. Лендєл В.Г., Балог І.М., Хрипак Н.П. Біоорганічна хімія: Навч. посібн. Видан. друге, перероб. та доп. Ужгород: ВАТ «Патент», 2008. 360 с.
27. Ленинджер А. Основы биохимии: В 3-х томах. Т.1. Пер. с англ. М.: Мир, 1985. 367 с.
28. Механізми біохімічних реакцій: навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. / За ред. Н.О. Сибірної. Львів: Видавничий центр ЛНУ ім. І. Франка, 2009. 316 с.
29. Металлопротеины как диагностический маркер токсического действия тяжелых

металлов на организм / В.П. Мищенко, С.В. Тимофеева, О.А. Горбатенко [и др.] // Междунар. мед. журн. 1999. № 5(4). С. 128- 131.

30. Мчедлов-Петросян І.П. Колоїдна хімія: підручник / М.О. Мчедлов-Петросян, В.І. Лебідь, О.М. Глазкова, О.В. Лебідь; за ред. проф. М.О. Мчедлова-Петросяна. 2-ге вид., випр. і доп. Харків: ХНУ імені В.Н. Каразіна, 2012. 500 с.
31. Николаев А.Я. Биологическая химия. 3-е изд. перераб. и доп. М.: Мед. информац. агентство, 2004. 496 с.
32. Павлоцька Л., Дуденко Н., Левітин Є. Біологічна хімія: Підручник. Суми: Університетська книга, 2019. 513 с.
33. Цвєткова Л.Б. Колоїдна хімія: навч. посібн. Л.: «Магнолія–2006», 2009. 292 с.
34. Чиркин А.А., Данченко Е.О. Биохимия. М.: Высшая школа, 2010. 624 с.

РЕФЕРАТ

кваліфікаційної (дипломної) роботи
«Коагуляція яєчних альбумінів сульфатами, хлоридами та нітратами важких металів»

здобувачки освітнього рівня «Магістр»
спеціальності 014.06 Середня освіта (Хімія)

Григорової Юлії Євгенівни

Актуальність роботи. Фізико-хімічні властивості білків визначаються їхньою високомолекулярною природою, компактністю упаковки поліпептидних ланцюгів та взаємним розміщенням амінокислотних залишків. Найбільш дослідженими серед них є гідратація, дисоціація, розчинність та коагуляція. Особливою властивістю білків є їхня здатність виступати у якості амфотерних поліелектролітів. Це забезпечується за рахунок різних угрупувань, здатних до дисоціації, що входять до складу радикалів амінокислот. Наприклад, кислотні властивості білкам надають карбоксильні групи аспарагінової та глутамінової кислот, а основні – радикали аргініну, лізину та гістидину. Чим більше дикарбонових моноамінокислот містяться у білку, тим сильніше проявляються його кислотні властивості та навпаки. Ці угрупування мають електричні заряди, що формують загальний заряд білкової молекули. У білках, у яких переважають аспарагінова та глутамінова амінокислоти, заряд білка буде від'ємним, надлишок основних амінокислот надає позитивний заряд білковій молекулі. Водним розчинам білків притаманні певні особливості. Вони мають більшу спорідненість до води – гідрофільність, а це, у свою чергу, сприяє притяганню білковими молекулами як зарядженими частинками, диполів води, які розміщуються навкруги білкової молекули, утворюючи гідратну оболонку. Ця оболонка перешкоджає агрегації молекул білків та випадінню в осад. Величина гідратної оболонки залежить від структури білків. Наприклад, альбуміни більш легко зв'язуються з молекулами води та мають відносно велику гідратну оболонку на відміну від глобулінів, які приєднують воду гірше та гідратна оболонка їх значно менше. Кількість води, що може зв'язуватися з білком, досягає 30–50 г на 100 г білка. Гідрофільних полярних груп (й відповідно зв'язаної з ними води) значно більше на поверхні білкової глобули, ніж у глибині. Більшість білків мають гідрофільну поверхню, хоча зустрічаються і гідрофобні, поверхня яких утворена переважно гідрофобними радикалами амінокислот. Отже, стійкість водного розчину визначається двома факторами: наявністю заряду білкової молекули та гідратної оболонки, яка знаходиться навколо неї. Розмір білкових молекул лежить у межах 1 мкм й до 1 нм, тобто за своїм ступенем дисперсності вони є колоїдними частинками,

що утворюють у воді колоїдні розчини. Ці розчини характеризуються високою в'язкістю, здатністю розсіювати промені світла, не проходять через напівпроникні мембрани. Додавання певних реагентів викликає осадження білків – коагуляцію, яка може бути оборотною та необоротною. Необоротна коагуляція пов'язана з глибокими внутрішньомолекулярними змінами структури білка, що призводить до втрати ним нативних властивостей. Білок стає денатурованим. А власне процес денатурації білків є основою лікування отруєнь важкими металами, коли хворому вводять перорально молоко або сирі яйця з тим, щоб метали денатуруючи ці білки, адсорбувалися на їхній поверхні та не пошкоджували білки слизової оболонки шлунка та кишечника, а також не всмоктувалися у кров, оскільки токсична дія йонів важких металів на живі організми пов'язана з витіснення токсичним йоном необхідного металу з біокомплексу, зв'язування з макромолекулами білка та порушення їх біологічних функцій.

При цьому слід зазначити, що процес необоротної коагуляції білків солями важких металів вивчений не до кінця, є актуальним питанням сучасної медичної та біологічної хімії і потребує подальших досліджень.

Мета роботи полягала у проведенні потенціометричних досліджень водних розчинів яєчних альбумінів при їх коагуляції сульфатами, хлоридами та нітратами важких металів різної концентрації.

Для досягнення поставленої мети було визначено такі **задачі**:

9. Визначення pH розчинів яєчних альбумінів при додаванні сульфатів, хлоридів та нітратів важких металів різної концентрації.
10. Визначення ЕРС електродної системи при коагуляції розчинів білків сульфатами, хлоридами та нітратами важких металів різної концентрації.
11. Визначення коагулюючої здатності сульфатів, хлоридів та нітратів важких металів з побудовою відповідних ліотропних рядів.
12. Встановлення взаємозв'язку між концентрацією та впливом коагуляторів на стан білка в розчині.

Для вирішення вищезазначених задач застосовували потенціометричний метод. Потенціометричні дослідження властивостей водних розчинів яєчних альбумінів при їх необоротній коагуляції розчинами сульфатів, хлоридів та нітратів важких металів було проведено за допомогою pH-метру універсального pH-150МИ, призначеного для вимірювання показника активності Гідроген(+1)-йонів, ЕРС та температури водних розчинів. Вимірювання проводили з використанням комбінованого електроду (ЕСК-10603/7 (К 80.7)) та терморезистору. Експерименти виконано у п'яти повторностях з кожним розчином коагулятора. Усі вимірювання проводилися при температурі 25°С.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше одержані дані щодо потенціометричних досліджень коагулюючої здатності розчинів сульфатів, хлоридів

та нітратів важких металів різної концентрації при дії на яєчний альбумін. Визначена найбільш виражена коагулююча дія серед розчинів солей, встановлений взаємозв'язок «концентрація – вплив коагулятора на стан білка в розчині», досліджена зміна заряду білкової молекули при утворенні альбумінатних комплексів з катіонами важких металів. За результатами досліджень побудовано ліотропний ряд катіонів за їх коагулюючою здатністю.

Практичне значення одержаних результатів. Одержані в ході дослідження результати при подальшому вивченні можуть бути впроваджені у медичну практику при профілактиці отруєнь солями важких металів та зменшенню їх токсичної дії.

Апробація отриманих результатів. Результати досліджень, що включені до дипломної роботи, оприлюднені на X Міжнародній науково-практичній конференції «MODERN PROBLEMS OF SCIENCE, EDUCATION AND SOCIETY» 4-6.12.2023 року, м. Київ, Україна (публікація тез доповіді, сертифікат).

Григорова Ю.Є. Дослідження коагулюючої здатності сульфатів важких металів різної концентрації на водні розчини овальбуміну (яєчного альбуміну) / Ю.Є. Григорова, В.В. Галиця, Ю.В. Ніколаєва, В.В. Арестенко. Збірник матеріалів X Міжнародної науково-практичної конференції «MODERN PROBLEMS OF SCIENCE, EDUCATION AND SOCIETY» 4-6.12.2023 року, м. Київ, Україна. 2800 с., С.112-118 (ISBN 978-966-8219-87-0).

У першому розділі – **«Сучасні уявлення щодо особливостей будови та властивостей білків»** – розглянуті питання, що описані у вітчизняній та зарубіжній літературі щодо конформації поліпептидних ланцюгів різних типів білків, дослідження глобулярних білків, представником яких є яєчний альбумін, методом рентгеноструктурного аналізу, утворення третинної структури білків та сил, які її стабілізують. Окремо описана поведінка білків у розчинах, а саме: кислотно-основні властивості, розчинність білків та її залежність від різних факторів, оптичні властивості та необоротне осадження білків. Окрема увага приділена процесам денатурації та ренативації білків, факторам денатурації та механізмам відновлення просторової будови, наведені особливості взаємодії йонів важких металів з білками в організмі людини з утворенням стабільних комплексів (альбумінатів) та прояв токсичної дії окремих представників важких металів.

У другому розділі – **«Матеріали та методи дослідження»**, наведено матеріали (яєчний альбумін, Ovopol EU) та реактиви (24 солі двовалентних металів, 1 сіль тривалентного), необхідні для виконання експериментальної частини дослідження та їхня характеристика. Описано потенціометричний метод та принцип роботи приладу pH-метру 150МИ із застосуванням комбінованого електроду з термокомпенсацією.

У третьому розділі – **«Дослідження необоротної коагуляції яєчних альбумінів сульфатами, хлоридами та нітратами важких металів**

потенціометричним методом» – виконано експериментальні дослідження необоротної коагуляції яєчних альбумінів окремо з кожною групою солей (сульфатами, хлоридами, нітратами) різної концентрації із зазначенням зміни pH та ЕРС електродної системи. Описано та порівняно вплив коагуляторів на стан білка в розчині та зміну його заряду як в межах однієї групи, так і між собою. Визначено характерні зміни, які відбувалися з розчинами білка при додаванні солей різної концентрації. Розглянуто випадки коагуляції за умов перебування білка в ізоелектричному стані та при критичних станах, коли коагуляція відбувалася з дуже помітною швидкістю. Підтверджена здатність катіонів важких металів не лише адсорбуватися на поверхні білкових молекул з утворенням альбумінатів зі зміною сумарного заряду білка, а у окремих випадках ще й зв'язування з тіольними та дисульфідними групами амінокислот, які входять до складу поліпептидних ланцюгів. Встановлена синергічна дія аніонів.

Для кожної групи солей окремо наведено ліотропний ряд катіонів за їхньою коагуляційною здатністю, та ліотропний ряд у загальному вигляді після порівняння впливу коагуляторів різних груп на стан білка в розчині.

Експериментальна робота була виконана протягом 2022–2023 рр.

У роботі, присвяченій дослідженню коагуляції яєчних альбумінів сульфатами хлоридами та нітратами важких металів, одержані результати підтвердили досягнення мети, засвідчили вирішення поставлених задач та дають підстави сформулювати таки **висновки**.

10. У всіх випадках необоротних реакцій осадження білків відбувалася денатурація із втратою яєчним альбуміном нативних властивостей за рахунок адсорбції на поверхні білкових молекул катіонів важких металів та подальшим утворенням комплексів – альбумінатів. Утворення останніх також супроводжувалося виникненням координаційних зв'язків між катіонами та характеристичними групами поліпептидних ланцюгів білкових молекул.

11. При дослідженні необоротної коагуляції розчинами сульфатів важких металів різної концентрації яєчного альбуміну з використанням потенціометричного методу побудовано ліотропний ряд катіонів за їх коагуляційною здатністю: $Cu^{2+} > Fe^{2+} > Hg^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} > Co^{2+} > Mn^{2+} > Ni^{2+}$. Найсильніша коагулююча дія серед сульфатів була притаманна розчинам купрум(II) сульфату, а утворення альбумінатного комплексу мало найбільш виражений характер, відбувалося переміщення гідрофобних структур на поверхню білкової молекули з середини – а це, у свою чергу призводило до втрати безумовної гідрофільності та зникненню гідратної оболонки, що підтверджувалося миттєвою коагуляцією з утворенням конгломератів у всьому об'ємі.

12. При дослідженні коагуляції сульфатами також встановлена закономірність утворення альбумінатних комплексів з виникненням міцних хімічних зв'язків

між альбуміном та катіонами Cu^{2+}, Fe^{2+}, Cd^{2+}, Zn^{2+}.

13. Сульфати та хлориди Мангану(II) й Нікелю(II) слабо впливали на процеси коагуляції альбуміну з розчинів, а коагулююча дія нікель(II) сульфату, незважаючи на його високу токсичність, зводилася до переходу білка в ізоелектричний стан з його мінімальною розчинністю при pH = 7,20, що підтверджувалося потенціометричною фіксацією (EPC = 0).

14. При проведенні досліджень необоротної коагуляції яєчного альбуміну розчинами хлоридів важких металів побудувано ліотропний ряд катіонів за їх коагуляційною здатністю: $Fe^{3+} > Hg^{2+} > Cu^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} > Fe^{2+} > Ni^{2+} > Mn^{2+}$. Найбільша коагуляційна здатність притаманна катіонам Fe^{3+}, що не суперечить правилу Шульце–Гарді.

15. За результатами вивчення необоротної коагуляції яєчного альбуміну розчинами нітратів важких металів також побудовано ліотропний ряд: $Hg^{2+} > Cu^{2+} > Pb^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} > Co^{2+} > Mn^{2+} > Fe^{2+} > Ni^{2+}$. Але у даному випадку враховується ще синергічна дія нітрат-йонів при руйнуванні ароматичних та гетероциклічних амінокислот поліпептидних ланцюгів.

16. Катіони Cd^{2+} та Zn^{2+} у складі всіх досліджуваних солей викликають помірну коагуляцію з приблизно однаковим її проявом при низьких концентраціях. При збільшенні їх концентрації відбувалися більш глибокі порушення структури білкових молекул, їх агрегація мала виражений характер.

17. Узагальнюючи та порівнюючи результати досліджень всіх солей з урахуванням особливостей взаємозв'язку «концентрація – вплив коагулятора на стан білка в розчині» можна побудувати ліотропний ряд двовалентних катіонів за їхньою коагуляційною здатністю на яєчні альбуміни: $Cu^{2+} > Hg^{2+} > Pb^{2+} > Cd^{2+} > Zn^{2+} > Fe^{2+} > Co^{2+} > Mn^{2+} > Ni^{2+}$.

18. Під час виконання експериментальних досліджень мету досягнуто, поставлені задачі виконано. Водночас, одержані результати не вичерпують можливостей розв'язання всіх аспектів цієї проблеми, і при подальших дослідженнях можуть бути впроваджені у медичну практику при лікуванні отруєнь солями важких металів та зменшенню їх токсичної дії.

РЕЦЕНЗІЯ

на кваліфікаційну (дипломну) роботу здобувачки освітнього рівня «Магістр»
спеціальності 014.06 Середня освіта (Хімія)
Григорової Юлії Євгенівни

на тему

«Коагуляція яєчних альбумінів сульфатами, хлоридами та нітратами важких металів»

Накопичення важких металів в організмі та отруєння ними у зв'язку з їх підвищеним вмістом в оточуючому середовищі в результаті техногенної діяльності людини набуває все більшої актуальності. Особливої уваги при цьому заслуговують процеси зв'язування важких металів речовинами білкової природи шляхом їх необоротної коагуляції. Необоротна коагуляція пов'язана з глибокими внутрішньомолекулярними змінами структури білків, руйнуванням гідратної оболонки, що призводить до втрати нативних властивостей – денатурації. Процес денатурації безпосередньо є основою лікування отруєнь важкими металами за рахунок їх адсорбції на поверхні білків яєць та молока, при пероральному введенні постраждалим, з утворенням нерозчинних комплексів (альбумінатів) з метою захисту слизових оболонок внутрішніх органів та попередження всмоктування токсикантів у кров.

Григорова Юлія провела експериментальне дослідження щодо коагуляції яєчних альбумінів розчинами сульфатів, хлоридів та нітратів важких металів різної концентрації із застосуванням потенціометричного методу аналізу. У роботі теоретично обґрунтовано та експериментально доведено вплив солей важких металів різної концентрації на коагуляцію яєчних альбумінів.

Студентка проявила високий рівень теоретичних знань з фізичної, колоїдної та біологічної хімії, практичні уміння та навички у проведенні експериментального дослідження. У роботі вперше наведено застосування потенціометричного методу при дослідженні коагуляції яєчних альбумінів солями важких металів різної концентрації, встановлений взаємозв'язок між концентрацією коагулятора та його впливом на стан білка у розчині. Усі дослідження супроводжуються відповідними фіксаціями зміни ЕРС

електродної системи та pH розчинів при додаванні відповідних коагуляторів. Наведено ліотропні ряди катіонів за їх коагуляційною здатністю як для кожної групи солей (сульфати, хлориди тощо), так і в узагальненому вигляді.

Під час виконання роботи автор проявила всебічну обізнаність в основних питаннях як теоретичної (літературний огляд про сучасні уявлення щодо особливостей будови та властивостей білків), так і практичної частини досліджень, показала себе як висококваліфікований фахівець при виконанні експериментів. Результати досліджень представлені у вигляді таблиць та графіків, проведено детальний аналіз результатів дослідження, зроблені висновки.

Робота може зацікавити викладачів хімії, біохіміків, працівників біологічної та медичної галузі. Результати досліджень можна використовувати при вивченні біологічної та медичної хімії в педагогічних та медико-фармацевтичних закладах вищої освіти, клініко-діагностичних лабораторіях. Матеріали роботи можуть бути використанні при написанні курсових, магістерських робіт, наукових статей, а при проведенні подальших розширених досліджень впроваджені у терапевтичну практику при лікуванні отруєнь солями важких металів

Робота оформлена згідно з вимогами, а її автор заслуговує оцінку «відмінно».

Старший викладач закладу
вищої освіти
кафедри біологічної хімії
Запорізького державного
медико-фармацевтичного
університету, доктор філософії Євген Михальченко

Власноручний підпис
ЗАТВЕРДЖУЮ
Начальник відділу кадрів Запорізького державного медико-фармацевтичного університету
2013 р. Підпис
О. Павлов