

Учреждение образования
«Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина»

Менделеевские чтения 2017

Сборник материалов
Международной научно-практической конференции
по химии и химическому образованию

Брест, 24 февраля 2017 года

Под общей редакцией Н.С. Ступень

Брест
БрГУ имени А.С. Пушкина
2017

УДК 16+37+54+87+371+372+373+378+504+524+538+543+544+547+573+
576+577+581+592+621+628+669+678+691+712+762+811
ББК 24.1+24.2+24.4+24.5
М50

*Рекомендовано редакционно-издательским советом Учреждения образования
«Брестский государственный университет имени А. С. Пушкина»*

Рецензенты:

кандидат технических наук, доцент Э.А. Тур
кандидат биологических наук, доцент В.И. Бойко

Редакционная коллегия:

кандидат технических наук, доцент Н.С. Ступень
старший преподаватель В.В. Коваленко
доцент В.А. Халецкий

М 50 Менделеевские чтения 2017 : сб. материалов Междунар. науч.- практ. конф, по химии и хим. образованию, Брест, 24 февр. 2017 г. / Брест, гос. ун-т им. А. С. Пушкина ; редкол.: Н. С. Ступень, В. В. Коваленко, В. А. Халецкий ; под общ. ред. Н. С. Ступень. - Брест :БрГУ, 2017.-265 с.
ISBN 978-985-555-606-1.

В материалах сборника освещаются актуальные проблемы химии и экологии, а также отражен опыт преподавания соответствующих дисциплин в высших и средних учебных заведениях.

‘ Материалы могут быть использованы научными работниками, аспирантами, магистрантами, преподавателями и студентами высших учебных заведений, учителями химии и другими специалистами системы образования.

УДК 16+37+54+87+371+372+373+378+504+524+538+543+544+547+573+
576+577+581+592+621+628+669+678+691+712+762+811
ББК 24.1+24.2+24.4+24.5

(ЯШ 978-985-555-606-1

© УО «Брестский государственный
университет имени А.С. Пушкина», 2017

И.А. ИЛЬЮЧИК, В.Н. НИКАНДРОВ

Беларусь, Пинск, Полесский государственный университет

**ВЛИЯНИЕ ИОНОВ МАРГАНЦА *INVITRO*
НА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ
В СУПЕРНАТАНТАХ ГОМОГЕНАТОВ КЛЕТОК
*CHLORELLA VULGARIS***

Марганец является истинным незаменимым биоэлементом. Без него невозможны нормальный рост, развитие и продуктивность микроорганизмов, растений и животных.

«Сфера интересов» ионов и соединений марганца широка. Так, в растениях он выполняет функцию катализатора в кислород-выделяющем комплексе фотосистемы II [1]. Марганец входит в структуру или активирует ряд ферментов, участвующих в реакциях окисления-восстановления, декарбоксилирования и гидролиза. Здесь достаточно упомянуть Mn-содержащие супероксид-дисмутазу и пируваткарбоксилазу [2].

Mn-зависимая пероксидаза (Е.С. 1.11.1.13) – один из лигнолитических ферментов, синтезируемых грибами *Basidiomyces* [3]. Он участвует в азотистом обмене в восстановлении нитратов до аммиака. В связи с этим у растений, испытывающих недостаток марганца, затруднено использование нитратов в качестве источника азотного питания. Марганец связан с синтезом белка через регуляцию активности ДНК-полимеразы и РНК-полимеразы, а также активирует ферменты, участвующие в окислении важнейшего фитогормона – ауксина.

Mn способен активировать летальный токсин *Clostridium sordelli* и В токсин *Clostridium difficile* намного сильнее, чем Co^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} [4].

Вместе с тем избыточное поступление его приводит к развитию токсического эффекта – ингибированию биосинтеза хлорофилла, что сопряжено со снижением скорости фотосинтеза, увеличению накопления окисленных фенольных соединений в апопласте листьев, появлению некротических коричневых пятен на листьях, стеблях, побегах, сморщиванию (сминанию) самых молодых листьев, хлорозу [5].

Избыток марганца может ослаблять рост микроорганизмов. На *Streptococcus pneumoniae* показано, что аккумуляция Mn сопровождалась изменениями процесса дефосфорилирования белков клетки вследствие гиперактивации Mn-зависимой протеин-фосфатазы [6].

Токсичность Mn связывают также с дисфункцией митохондрий и увеличением генерирования активных форм кислорода [7].

Нарушения нормальной функции фотосинтетического аппарата обуславливает гибель организма, что, в частности, наблюдали на зеленой водоросли *Scenedesmus ecornis* при высоких концентрациях хлорида марганца в питательной среде [8].

Значение марганца в реализации биохимических и физиологических процессов изучается давно, однако механизм действия этих ионов еще далек от исчерпывающей ясности. В источниках литературы практически отсутствуют данные о влиянии Mn^{2+} на систему протеолиза – одного из универсальных регуляторов метаболизма, в частности, на протеолитические реакции в жизнедеятельности микроводорослей. Имеются лишь фрагментарного характера сообщения о действии этих катионов на казеинолитическую и гемоглобинолитическую активность отдельных сериновых протеиназ и папаина [9].

Цель настоящей работы – выявление особенностей изменения протеолитической активности супернатантов гомогенатов клеток хлореллы *in vitro* при добавлении MnCl_2 в широком диапазоне концентраций.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служила микроводоросль *Chlorella vulgaris*, штамм *IBCEC-19* из коллекции водорослей Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. В работе использовали фибриноген человека («Sigma», США), бактоагар («Melford», США), казеин по Гаммерстену и другие реактивы квалификации «хч» производства стран СНГ.

Ch. vulgaris выращивали в условиях периодической культуры на среде Тамия [10] при непрерывном барботаже суспензии клеток воздухом – 25 л/ч; температуре окружающей среды – 25–26 °С; освещенности на поверхности сосуда – 32 Вт/м²; фотопериоде (свет/темнота) – 12 ч/ 12 ч.

На 7-е сутки роста культуры, используя камеру Горяева, определяли концентрацию клеток, отбирали аликвоты культуры, содержащие по $65 \pm 0,38$ млн/мл клеток, центрифугировали в течение 20 мин при 3 000 об/мин, трижды отмывали дистиллированной водой.

Клетки гомогенизировали с бидистиллированной водой на льду, гомогенат центрифугировали в течение 10 мин при 8 000 об/мин и 4°C .

Протеолитическую активность полученных супернатантов определяли по лизису казеина или фибриногена в тонком слое агарового геля [11]. В качестве растворителя при приготовлении белок-агаровых пластин использовали 0,1 М трис-HCl буфер, pH 7,4; растворитель для MnCl_2 – бидистиллированная вода. Концентрация белков в белок-агаровой смеси – 10 г/л, агар-агара – 10 г/л. Объем наносимого образца на готовые белок-агаровые пластины супернатанта хлореллы с добавлением равных объемов раствора MnCl_2 до конечной концентрации соли от 10^{-8} до 10^{-2} М – 20 мкл. Время инкубирования пластин с нанесенными пробами при температуре 37°C – 20 ч. Зоны лизиса визуализировали обработкой белок-агаровых пластин 1 н хлорной кислотой.

Концентрацию белка в супернатантах определяли колориметрическим методом [12].

Все эксперименты выполнены не менее чем четырехкратно. Полученные результаты обработаны статистически с вычислением *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Супернатанты гомогенатов хлореллы обладают протеолитической активностью и способны расщеплять оба белка-субстрата. При этом активность по фибриногену превышает таковую на 39 % (таблица).

Таблица – Расщепление белков-субстратов супернатантами гомогенатов клеток *Ch. vulgaris* в присутствии ионов Mn^{2+}

Концентрация MnCl_2 , М	Площадь расщепления белков-субстратов, мм ²	
	казеина (n = 5)	фибриногена (n = 4)
Контроль (без добавок)	$100,4 \pm 3,2$	$139,1 \pm 3,9$
10^{-2}	$91,7 \pm 4,0$	$138,4 \pm 4,4$
10^{-3}	$87,7 \pm 4,0^*$	$124,2 \pm 4,2^*$
10^{-4}	$95,0 \pm 3,5$	$102,4 \pm 1,2^*$
10^{-5}	$88,3 \pm 2,0^*$	$120,1 \pm 2,4^*$
10^{-6}	$101,4 \pm 2,8$	$102,5 \pm 5,7^*$
10^{-7}	$94,5 \pm 3,4$	$107,0 \pm 2,1^*$
10^{-8}	$99,3 \pm 2,5$	$95,0 \pm 3,9^*$

Примечание: * – изменения статистически достоверны при $P \leq 0,05$

Ранее, основываясь на результатах исследования протеолитической активности штаммов микроорганизма *Pseudomonas aeruginosa*, уже отмечали, что казеин по Гаммерстону далеко не всегда является подходящим субстратом при исследовании протеолиза [13].

Однако в данном конкретном случае использование казеина наряду с другим белком позволило выявить своеобразную картину. Добавление катионов Mn^{2+} обусловило совершенно разные изменения протеолитической активности по двум использованным белкам-субстратам. Как было отмечено выше, в отсутствие добавки катионов марганца интенсивность расщепления фибриногена заметно превосходила таковую казеина. При минимальной концентрации ионов металла разницы в расщеплении двух белков практически не наблюдалось (таблица). Однако с увеличением концентрации Mn^{2+} интенсивность расщепления казеина изменялась не более чем на 12 % (рисунок).

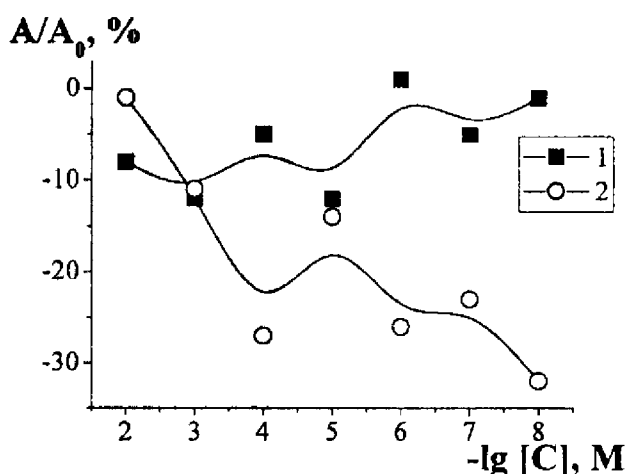


Рисунок – Влияние ионов марганца на расщепление экстрактами *Ch. vulgaris* казеина (1) и фибриногена (2) в 0,1 М трис-НСI буфере, рН 7,4

В то же время расщепление фибриногена резко усиливалось, причем кривая графика зависимости имела двухфазный характер: первая фаза в диапазоне концентраций 10^{-8} – 10^{-4} М (подавление активности на 27–35 %) и вторая – при концентрации $> 10^{-5}$ М (угнетение активности не превышало 27 %, а при максимальной концентрации незначительно отличалось от контроля) (рисунок).

Здесь может быть два объяснения:

1. Либо в супернатанте присутствуют, по меньшей мере, две протеиназы, одна из которых Mn-независимая, а вторая подавляется этим катионом в низких концентрациях. Учитывая, что гомогенизация проведена в гипотонической среде, вполне вероятно разрушение мембран внутриклеточных структур с выходом содержимого в растворимую фазу. Цитозоль и органеллы клетки вполне могут иметь несколько различных протеиназ.

2. Либо имеет место разное взаимодействие катионов марганца с казеином и фибриногеном. Этот вариант кажется более реальным, поскольку снижение интенсивности расщепления фибриногена начинает уменьшаться при концентрации $Mn^{2+} > 10^{-5}$ М. Вместе с тем нельзя исключить и возможность конформационных изменений молекул энзимов.

Прояснение этого достаточно интересного и значимого для раскрытия особенностей биохимии клеток хлореллы момента требует проведения исследований с более широким набором белков-субстратов, при различном значении рН и ингибиторного анализа с группспецифическими ингибиторами протеиназ, что составляет достаточно объемную задачу в перспективе.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schmidt, S. B. Manganese deficiency in plants: the impact photosystem II / S. B. Schmidt, P. E. Jensen, S. Husted // Trends Plant Sci. – 2016. – Vol. 21, № 7. – P. 622–632.

2. Polyphenolic extract of *Euphorbia supina* attenuates manganese-induced neurotoxicity by enhancing antioxidant activity through regulation of ER stress and ER stress-mediated apoptosis / E. Bahar [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2017. – Vol. 18, № 2. – 10, 3390 / ijms 18020300.

3. Induction of laccase, lignin peroxidase and manganese peroxidase activities in white-rot fungi using copper complexes / M. Vrsanska [et al.] // Molecules. – 2016. – Vol. 21. – P. 1553.

4. Genth, H. Metal ion activation of *Clostridium sordelli* lethal toxin and *Clostridium difficile* toxin B / H. Genth, I. Schelle, I. Just // Toxins. – 2016. – Vol. 8, № 4. – P. 109.

5. Manganese toxicity in sugarcane plantlets grown on acidic soil of Southern China / Y. L. Huang [et al.] // PLoS One. – 2016. – Vol. 11, № 3. – e0148956.

6. Perturbation of manganese metabolism disrupt cell division in *Streptococcus pneumoniae* / J. E. Martin [et al.] // Mol. Microbiol. – 2017. – 10.1111.

7. Manganese ions enhance mitochondrial H₂O₂ emission from Krebs cycle oxidoreductases by unducing permeability transition / E. Bonke [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2016. – Vol. 99. – P. 43–53.

8. Ильючик, И. А. Влияние ионов марганца (II) на рост и казеинолитическую активность микроводоросли *Scenedesmus cornis* / И. А. Ильючик, О. Н. Жук, В. Н. Никандров // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: Междунар. науч. конф.; Двенадцатый съезд Белорус. обществ. объединен. фотобиологов и биофизиков, Минск, 28–30 июня 2016 г : сб. ст. Ч. 2. / редкол.: И. Д. Волотовский [и др.]. – Минск : Изд. центр БГУ, 2016. – С. 161–164.

9. Никандров, В. Н. Особенности влияния ионов Ni(II) и Mn(II) на расщепление белков-субстратов протеиназами / В. Н. Никандров, В. Н. Ильюкевич, Е. И. Петрова // Актуальные проблемы экологии : материалы X Междунар. науч.-практ. конф., Гродно, 1–3 окт. 2014 г. : в 2 ч. / ГрГУ им. Я. Купалы ; редкол.: В.Н. Бурдь [и др.]. – Гродно, 2014. – Ч. 1. – С. 181–183.

10. Каталог генетического фонда хозяйственно полезных видов водорослей / сост. С. С. Мельников [и др.]. – Минск : Беларус. навука, 2011. – 101 с.

11. Никандров, В. Н. Методы исследования протеолиза / В. Н. Никандров, Н. С. Пыжова // Современные проблемы биохимии. Методы исследований. – Минск : Выш. шк., 2013. – Гл. 5. – С. 132–157.

12. Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M. M. Bradford // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.

13. Пыжова, Н. С. Особенности набора «нейтральных» протеиназ патогенных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* / Н. С. Пыжова, В. Н. Никандров // Современные проблемы инфекционной патологии человека : сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, РНПЦ эпидемиологии и микробиологии ; под ред. Л. П. Титова. – Минск : ГУ РНМБ, 2014. – Вып. 7. – С. 216–223.

СОДЕРЖАНИЕ

НАУЧНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ ХИМИИ

<i>Артемук Е.Г.</i> Содержание нитратов в продукции растениеводства приусадебных участков д. Тельмы Брестского района	3
<i>Арчибасова Я.В., Колбас Н.Ю.</i> Влияние структуры brassinosterоидов на их биологическую активность.....	6
<i>Бокшиц Ю.В., Третья Е.В., Паршикова Е.А., Шевченко Г.П.</i> Получение методом соосаждения сложнозамещенных соединений $Y_3-XLaXAL_5-YGaYO_{12}:Ce$ со структурой граната.....	10
<i>Бондарь К.В., Яловая Н.П.</i> Потенциометрическое определение нитратов в химических добавках для бетона.....	15
<i>Васильева Н.Г.</i> Синтез 3-(пиперидин-1-ил)-2-алканоил-2-циклогексенонов.....	19
<i>Воробьева Т.Н., Кудако А.А.</i> Процессы гидролиза и окисления соединений олова(II) в электролите осаждения сплава Ni–Sn	22
<i>Воробьева Т.Н., Галуза М.Г., Врублевская О.Н.</i> Фазовые превращения в порошковых сплавах Cu-Sn, получаемых осаждением из растворов.....	28
<i>Гайдук Ю.С., Савицкий А.А., Ломоносов В.А.</i> Структура и газочувствительные свойства гетерогенной оксидной композиции $W_2O_3-Co_3O_4$	33
<i>Гвоздева Н.А., Пиц И.В.</i> Синтез керамических пигментов с кристаллической структурой мервинита по ресурсосберегающей технологи.....	38
<i>Демидчик А.В.</i> Морфология поверхности быстрозатвердевших фольг висмут-сурьмянистых и железо-никелевых сплавов, полученных прокаткой.....	41
<i>Дервяго А.А., Суханкина Н.В.</i> Значение химического анализа почвы для определения ее плодородия.....	44
<i>Елисеев С.Ю.</i> Ферромагнитная жидкость на основе бромидов железа	48
<i>Зданевич Ю.А., Секержицкий В.С.</i> О пионном конденсате тяжелых атомных ядер.....	51
<i>Зубец И.В.</i> Изучение способности биополимеров к разложению биологическим путем	54
<i>Зуенок Т.В., Козлова-Козыревская А.Л.</i> Проблемы анализа производственных газообразных выбросов.....	58
<i>Ильючик И.А., Никандров В.Н.</i> Влияние ионов марганца <i>in vitro</i> на протеолитическую активность в супернатантах гомогенатов клеток <i>Chlorella vulgaris</i>	61

Кадырова Э.М., Рустамова У.Н., Рафиева Х.Л., Гаджиева Х.Ф., Самадова Т.А. Абсорбция нефтезагрязненных вод.....	67
Климашевич Н.В., Ступень Н.С. Совместное влияние фосфатов и сульфатов на степень коррозии цементного клинкера.....	71
Ковалевич В.А. Процесс экстракции липоевой кислоты и методика ее определения	74
Козлова-Козыревская А.Л. Анализ почв в рамках проведения студенческого химического эксперимента: определение макро- и микроэлементов	78
Колбас А.П., Качанович П.В., Синчук О.В. Эффективность различных способов борьбы с инвазивными минерами (<i>cameraria ohridella</i> , <i>parectora robinella</i>).....	81
Колбас Н.Ю. Кинетические параметры реакции автоокисления адреналина в условиях <i>in vitro</i>	85
Корзюк О.В., Бутко Е.А. Рострегулирующее действие стероидных гликозидов на бобовые культуры	89
Корзюк О.В. Адаптогенное действие наномикроэлементов при воздействии ионов кадмия на растения люпина узколистного.....	93
Левчук Н.В., Василевская М.В. Исследование адсорбционных свойств волокон базальтовой фибры при умягчении воды.....	96
Лениско С.М., Киристюк Ю.В. О потенциальных возможностях расширения спектра действия брассиностероидов.....	100
Матусевич Н.М., Жигар М.П. Физиолого-биохимические особенности зимостойкости некоторых сортов голубики садовой	105
Пыжова Н.С., Никандров В.Н. О выявлении действия эффекторов на активность «нейтральных» протеиназ патогенных штаммов <i>pseudomonas aeruginosa</i> различной метаболической направленности.....	109
Новиков Л.С. Синтез и гетероциклизация непредельных карбонильных соединений на основе 1,5 диарил-2-изобутенил-3-изопропил-1,5-дикетонов.....	115
Секерджицкий В.С., Хомич Е.М. О фазовых состояниях сверхплотного замагниченного водорода	118
Сорока А.В., Гапонюк А.Н., Брыль Е.А., Антонюк А.С. Оценка химического состава бесподстилочного навоза современных животноводческих молочно-товарных ферм и комплексов предприятий АПК Брестской области	122
Ступень Н.С., Азымов С. Исследование влияния реакции среды на агрессивность хлорид-ионов в цементном камне и стальной арматуре	126
Сулейманов Г.З., Байрамов Г.И., Кадырова Э.М., Шарифова Н.Ш. Синтез циклических карбинолов	129