

ПРОВ 98

ПРОВ 2010

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

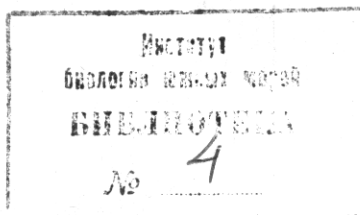
БИОЛОГИЯ МОРЯ

РЕСПУБЛИКАНСКИЙ МЕЖВЕДОМСТВЕННЫЙ СБОРНИК

Основан в 1965 г.

Выпуск 41

ВОПРОСЫ САНИТАРНОЙ ГИДРОБИОЛОГИИ
И ОКЕАНОГРАФИИ



КИЕВ «НАУКОВА ДУМКА» 1977

Таблица 3

Содержание свободных аминокислот в печени мерланга, мол. %

Аминокислота	Условия опыта		
	Контроль	Нефть	Фенол
Цистеин	+	+	+
Орнитин	+	+	+
Лизин	+	+	+
Гистидин			
Аспарагин	} 8,33±0,18	8,15±0,26	8,75±0,31
Аргинин			
Глутамин	} 9,08±0,27	8,61±0,42	9,83±0,39
Аспарагиновая кислота			
Серин	} 10,38±0,38	10,17±0,63	12,00±0,61
Глутаминовая кислота			
Глицин	} 11,05±0,51	10,50±0,43	9,33±0,50
Аланин			
Пролин	7,66±0,31	8,66±0,40	9,67±0,65
Тирозин	6,27±0,28	5,67±0,25	6,83±0,31
Валин	6,17±0,21	8,00±0,33	8,17±0,26
Метионин	} 6,33±0,16	6,33±0,28	6,17±0,19
Фенилаланин			
Изолейцин	+	+	+
Лейцин	} 9,22±0,40	8,00±0,32	7,50±0,21

Примечание. Знак + обозначает, что количественно на денситометре не определялись.

под действием сравнительно небольших концентратов токсикантов может отразиться на процессах построения нуклеиновых кислот или белка и нарушить передачу генетической информации, как за счет изменения структуры нуклеиновых кислот, так и за счет изменения регуляции ферментативных процессов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Спирин А. С.* Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот.— Биохимия, 1958, 23, № 5, с. 656—662.
2. *Нечаева Е. П.* К методике определения нуклеиновых кислот в молодых зеленых растениях.— Физиология растений, 1966, 13, № 5, с. 919—922.
3. *Спирин А. С., Белозерский А. Н.* Состав нуклеиновых кислот при экспериментальной изменчивости у бактерий кишечной группы.— Биохимия, 1956, 21, № 6, с. 768—778.

Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского АН УССР

Поступила в редколлегию
7.II 1975 г.

УДК 628.394:577.472

Т. Л. Щекатурина

МЕТОДЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ ФРАКЦИОННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ЧЕРНОМОРСКИХ МИДИЙ В ПРОЦЕССЕ ИХ РАЗЛОЖЕНИЯ

В связи с усилением загрязнения морской среды углеводородами большое значение приобретают исследования углеводородсодержащих компонентов в тканях морских организмов, в частности липидов. Известно [7, 10], что липиды в процессе трансформации могут стать источником

углеводородов в море, что может в ряде случаев имитировать загрязнение морской среды нефтью.

Методы. Хроматографическое исследование липидов, особенно хроматография в тонком слое адсорбента, получило широкое распространение благодаря простоте и хорошей результативности этого метода.

При исследовании липидов методом тонкослойной хроматографии можно выделить три этапа: экстракцию липидов из ткани, фракционирование и качественное и количественное определение. Наиболее распространенным является метод экстрагирования, которым фракциони-

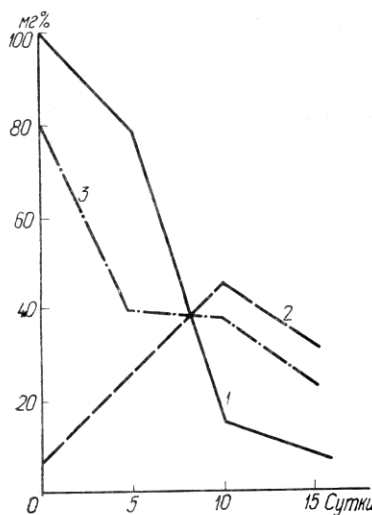


Таблица 1
Динамика изменения стерина и их эфиров (% суммы липидов) в процессе трансформации липидов мидиевого детрита в морской воде

Дата	Стерины	Эфиры стерина и углеводороды	Сумма липидов, мг %
22. V 1974 г.	5,5	0	202
27. V 1974 г.	4,2	5,8	164
1. VI 1974 г.	5,6	4,2	113
7. VI 1974 г.	15,4	8,6	83

Рис. 1. Изменение фракционного состава липидов нестерильного мидиевого детрита при инкубации 15 суток в зависимости от времени инкубации:

1 — триглицериды, 2 — жирные кислоты, 3 — фосфолипиды.

рование проводят в тонком слое адсорбента при использовании различных систем растворителей.

Для качественного определения липидных фракций используются свидетели, специфические цветные реакции, а также сведения из литературных источников и методических руководств по тонкослойной хроматографии.

Основные методы количественного определения липидов можно по их принципу разделить на три группы: непосредственно на хроматограмме (проявление с последующим количественным определением на денситометре [8] и микрофотометре [9]); в растворе (элюирование, образование окрашенных комплексов с помощью характерных цветных реакций, сжиганием с серной кислотой и последующим измерением на ФЭК, СФ и т. п. [2, 4]) и весовым методом.

В связи с тем, что в литературе публикуются данные, полученные при использовании различных методик, возникают затруднения при их сравнении. В настоящей работе мы пользовались колориметрическим методом с использованием ФЭК-56.

Фосфолипиды анализировали по содержащемуся в них фосфору методом Фиске — Суббароу [1], холестерин и его эфиры реакцией Либермана — Бурхарда [3], неэстерифицированные жирные кислоты методом Хольца [12], триглицериды методом Штерн, Шапиро [3]. Кроме того, была сделана попытка сравнить результаты колориметрического и денситометрического методов определения липидов. Последним методом количественное определение проводили на денситометре ЭПИ-65 с помощью интегрирующего устройства. Липиды экстрагировали методом Фолча [11].

Разделение на фракции проводили на силикагеле марки КСК, активированном при 110° в течение 40 мин в системе гексан: диэтиловый

эфир: ледяная уксусная кислота (73:25:2). Проявляли хроматограммы 50% H_2SO_4 или параамида.

Объектом исследования являлся детрит, полученный из черноморских мидий. Мидий освобождали от раковин и вносили в опытные колбы по 10 г измельченной массы. Эксперименты проводили в трех вариантах: 1 — материал инкубировали в проточной морской воде в течение 15 суток при $t=15-16^\circ$; 2 — ткани мидий автоклавировали при 1 атм в течение 20 мин с последующим добавлением накопительной культуры нефтеокисляющих микроорганизмов; 3 — извлеченный хлороформ-метанолом экстракт липидов из 10 г тканей мидий стерилизовали в тех же условиях, вносили в стерильную морскую воду с нефтеокисляющими микроорганизмами. В двух последних вариантах параллельно ставили контрольные колбы без добавления микроорганизмов. Колбы инкубировали при температуре 27° пять суток.

Результаты исследования.

Исследования нестерильного мидиевого детрита с инкубацией 15 суток показали, что триглицериды и фосфолипиды катаболизируются на 91 и 73,8% соответственно (рис. 1). Количество жирных кислот в первые 10 суток резко возрастает, а в последующие пять уменьшаются. Вероятно, увеличение содержания жирных кислот связано с гидролизом триглицеридов и фосфолипидов, как наиболее доступных субстратов для микроорганизмов [6].

Количество холестерина через 15 суток (табл. 1) в процессе трансформации липидов увеличивается от 5,5 до 15,4%. По-видимому, это связано с тем, что стерины подвергаются катаболизму в меньшей степени, чем другие фракции, как вещества химически инертные, поэтому при уменьшении суммы липидов (от 20,2 до 8,37%) процент их возрастает. Вероятно, с этим же связано и увеличение количества эфиров холестерина и углеводов, что может быть обусловлено образованием углеводов в процессе трансформации липидных фракций.

Такой же характер трансформации липидов наблюдался через пять суток и в случае со стерильным детритом, и с экстрактом липидов с добавлением накопительной культуры нефтеокисляющих микроорганизмов (рис. 2). Разница лишь в степени трансформации отдельных фракций, что, по-видимому, связано со специфичностью накопительной культуры или с тем, что потребность микроорганизмов в факторах роста не является постоянной; она может меняться в зависимости от условий культивирования [6].

В стерильном детрите липидные фракции почти не увеличиваются или увеличиваются незначительно (на 18—20%) (рис. 2). В этом случае было замечено изменение пигментной окраски экстракта из красноватой в желтоватую, в отличие от опыта с культурой микроорганизмов,

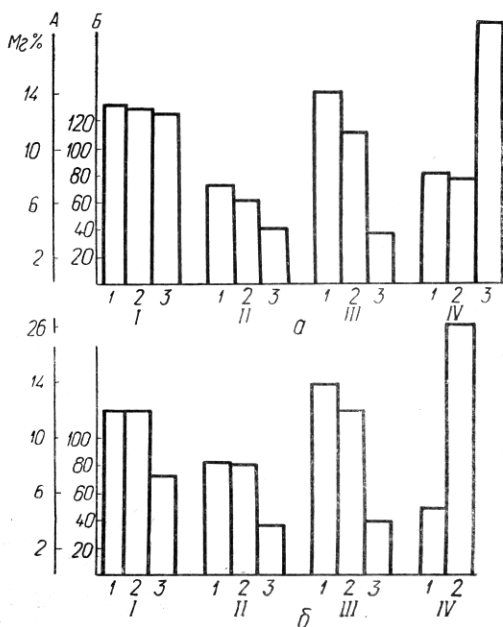


Рис. 2. Изменение фракционного состава липидов стерильного мидиевого детрита (а) и липидного экстракта (б) при инкубации 5 суток: А — холестерин (II) и жирные кислоты (IV). Б — триглицериды (I) и фосфолипиды (III); 1 — исходный мидиевый детрит, 2 — мидиевый детрит без микроорганизмов, 3 — мидиевый детрит с добавлением микроорганизмов.

когда пигментная окраска не изменяется. Предполагается, что в данном случае проявляется одно из свойств каротиноидов как антиоксидантов, которые (в случае исключения других факторов), окисляясь, предохраняют липиды от окисления.

Сравнение двух методов количественного определения липидов показало, что в большинстве случаев они дают близкие результаты. Однако определение липидных фракций на денситометре не требует допол-

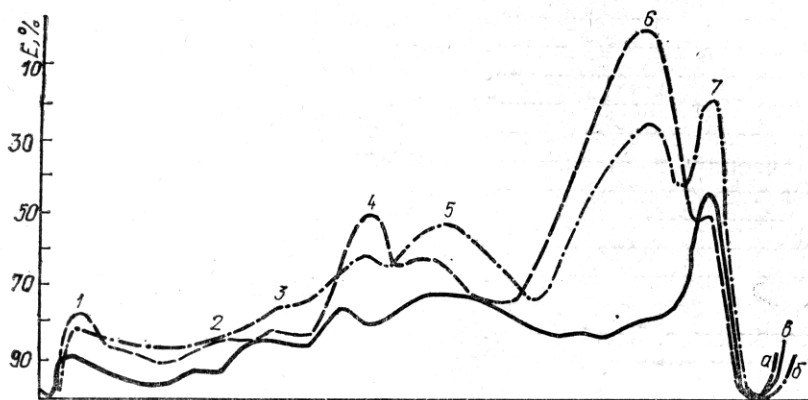


Рис. 3. Изменение фракционного состава липидов нестерильного мидиевого детрита при инкубации 5 (б), 10 (а) суток и хроматограмма исходного мидиевого детрита (а).

Липидные фракции: 1 — фосфолипиды, 2, 3 — неидентифицировано, 4 — холестерин, 5 — жирные кислоты, 6 — триглицериды, 7 — эфиры холестерина.

нительных процедур, экономит время. Результатом такого определения являются графики, по которым без предварительного количественного подсчета прослеживается динамика трансформации липидных фракций (рис. 3).

Таблица 2

Сравнительные данные колориметрического (I) и денситометрического (II) методов определения липидных фракций мидиевого детрита (по отношению к исходному)

Опытный материал	Метод	Триглицериды	Фосфолипиды	Холестерин	Жирные кислоты	Эфиры холестерина
Мидиевый детрит после инкубации 10 суток	I	0,18	0,48	0,63	4,2	3,5
	II	0,26	0,54	0,67	3,1	5,0
Мидиевый детрит с накопительной культурой нефтеокисляющих микроорганизмов после инкубации 5 суток	I	Не изменялись	0,29	0,54	1,8	—
	II	То же	0,37	0,50	2,3	1,6

Таким образом, процесс трансформации липидов имеет свои закономерности и сопровождается катаболизмом триглицеридов, фосфолипидов и жирных кислот, накоплением холестерина и его эфиров и углеводов. Описанная динамика трансформации липидов мидиевого детрита аналогична таковой планктонного детрита, липидов в осадках и, возможно, осуществляется теми микроорганизмами, которые способны использовать углеводороды в качестве единственного источника углерода и энергии [2, 5].

ЛИТЕРАТУРА

1. Асатиани В. С. Биохимический анализ. Ч. 1. Тбилиси, Грузмедиздат, 1953. 941 с.
2. Беляева А. Н. Состав свободных липидов донных осадков западной части Тихого и южной части Атлантического океанов.— Океанология, 1974, 19, № 1, с. 77—82.
3. Прохорова М. И., Туникова З. Н. Большой практикум по углеводному и липидному обмену. Изд-во ЛГУ, 1965. 220 с.
4. Романкевич Е. А., Батраков С. Г. Изменение состава свободных липидов при диагенезе осадков сев.-зап. части Тихого океана.— Геохимия, 1971, № 11, с. 1353—1360.
5. Миронов О. Г., Щекатурина Т. Л. О трансформации липидов в морской воде нефтеокисляющими микроорганизмами.— Биология моря, Владивосток, 1975, вып. 2, с. 58—63.
6. Роуз Э. Химическая микробиология. М., «Мир», 1971. 291 с.
7. Смирнов Б. А. К проблеме биохимического происхождения нефти.— Изд. АН СССР. Сер. биол., 1969, № 4, с. 523—545.
8. Шеллард Э. Количественная хроматография на бумаге и в тонком слое. М., «Мир», 1971. 325 с.
9. Шепкин В. Я. Сравнительная характеристика липидов печени и мышц ставриды и скарпены.— Биол. науки, 1972, № 2, с. 36—40.
10. Clark H. T., Mazur A. The lipids of diatoms.— J. Biol. Chem., 1941, N 1, с. 141—143.
11. Folch J., Ascoli J., Lees M., Meath J. A., Le Baron F. N. Preparation of lipid extracts from brain tissue.— J. Biol. Chem., 1951, 191, N 2, p. 833—841.
12. Holtz M. Erfahrungen über die Bestimmung der Unveresterten Fettsäuren mit einer Kobalt-Verbindung. Dtsch.— Gesundheitswesen, 1972, 27, N 10, S. 57—65.

Институт биологии южных морей
им. А. О. Ковалевского АН УССР

Поступила в редколлегию
7.II 1975 г.

УДК 628.394:577.472

Н. Ю. Миловидова, И. Н. Каргополова,
Т. Л. Щекатурина

ОБ ИЗМЕНЕНИИ КОЛИЧЕСТВА НЕКОТОРЫХ ЛИПОИДОВ У ЧЕРНОМОРСКИХ МОЛЛЮСКОВ И КРЕВЕТОК В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО НЕФТЯНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Нефтяное загрязнение морей — новый экологический фактор, действие которого на живые организмы требует всестороннего изучения. Наиболее сильно подвержены нефтяному загрязнению изолированные от моря бухты и порты — места стоянки судов. В таких районах выживает ограниченное число видов донных животных, которые можно использовать для изучения действия нефти на организм.

В экспериментальной токсикологии «хроническим опытом» считается опыт продолжительностью один — три месяца. Более длительные опыты связаны с рядом методических трудностей. Истинно «хроническим опытом» являются природные наблюдения над популяциями малоподвижных донных организмов, которые на протяжении всего своего индивидуального развития находились в условиях постоянного нефтяного загрязнения. Контролем могут служить организмы тех же видов, выросшие в чистом районе, аналогичном первому по другим экологическим условиям.

Целью настоящей работы было определение влияния хронического загрязнения на количественный состав некоторых липоидов в теле морских донных организмов.

Материал собран в феврале 1975 г. одновременно в двух бухтах, одна из которых является местом стоянок большого количества судов, а вторая практически чистая. Содержание хлороформрастворимых веществ в донных осадках первой бухты на два порядка выше, чем второй.

Исследовали содержание некоторых липидов — триглицеридов, холестерина, жирных кислот и каротиноидов в теле моллюсков *Tritia reticulata*, *Cerastoderma glaucum* и креветки *Palaemon adspersus*.