

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра биохимии

КРАСНОВА
Алина Михайловна

**ИЗУЧЕНИЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ,
ХЕЛАТИРУЮЩЕЙ И АНТИОКСИДАНТНОЙ
АКТИВНОСТИ МЕЛАНИНОВЫХ ПИГМЕНТОВ
МАДАГАСКАРСКОГО ТАРАКАНА (*GROMPHADORHINA*
PORTENTOSA)**

Дипломная работа

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
доцент Д.А. Новиков

Допущена к защите
«__» _____ 2021 г.
Зав. кафедрой биохимии

Кандидат биологических наук, доцент
_____ И.В. Семак

Минск, 2021

РЕФЕРАТ

Дипломная работа, 46 страниц, 16 рисунков, 1 таблица, 41 источник.

МЕЛАНИНЫ, *GROMPHADORHINA* *PORTENTOSA*,
ХЕЛАТИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ, ТЯЖЕЛЫЕ МЕТАЛЛЫ,
АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА, ДМБД, ПЕРОКСИДАЗНОЕ
ОКИСЛЕНИЕ.

Объект исследования: меланиновые пигменты мадагаскарских тараканов (*Gromphadorhina portentosa*).

Цель исследования: Целью дипломной работы является анализ и систематизация данных литературы, посвященной биологическим свойствам меланиновых пигментов беспозвоночных; получение меланиновых пигментов из мадагаскарских тараканов (*Gromphadorhina portentosa*) и определение ряда его физико-химических свойств.

Методы исследования: спектрофотометрические, потенциометрические, статистические.

В результате работы были выделены, очищены и идентифицированы меланиновые пигменты мадагаскарских тараканов (*Gromphadorhina portentosa*). Результаты качественного анализа полученного порошка черного цвета с металлическим блеском свидетельствовали о его принадлежности к данному классу пигментов. При добавлении нескольких капель FeCl_3 в концентрации 1 мг/мл происходило выпадение хлопьевидного осадка, который растворялся при добавлении избытка хлорида. При добавлении перманганата калия окраска щелочных растворов изменялась с коричневой на коричнево-зеленую. Спустя сутки произошло частичное обесцвечивание раствора и выпадение осадка. В присутствии 10% перекиси водорода раствор окислился и обесцветился в течение суток. Тангенс угла наклона спектра поглощения 0,1 М раствора меланина составил 0,0045. Данные результаты подтвердили наличие в исследуемых полимерах хиноидных и фенольных структур.

Была изучена хелатирующая способность меланинов с использованием потенциометрического титрования. Титрование 1 М растворов меланина 0,1 М растворами солей тяжелых металлов показало, что 1 г меланина насекомых связывает 0,56 г ионов кадмия, 0,166 г свинца, 0,0157 г меди, 0,05 мг кобальта (320000, 51200, 15680, 54400 моль соответственно). Анализ полученных результатов указывает на то, что способность меланинов насекомых связывать ионы по массе уменьшается в ряду Cd^{+2} , Pb^{+2} , Co^{+2} , Cu^{+2} ; по химическому количеству: Cd^{+2} , Co^{+2} , Pb^{+2} , Cu^{+2} . Полученные данные свидетельствуют о преобладании процесса комплексообразования над

процессом сорбции, а также на устойчивость образуемых в результате реакций комплексов.

Антиоксидантные свойства меланиновых пигментов изучались на модели их влияния на процесс пероксидазного окисления диметилбензидина (ДМБД). При низких концентрациях меланина (0,01 – 0,03 мкМ) наблюдается различная глубина ингибирования пероксидазного окисления ДМБД. При минимальной концентрации меланина, равной 0,01 мкМ, степень ингибирования субстрата составила 9%, а изменение начальной скорости от присутствия в реакционной среде меланина составило 95,3% от исходного значения. С повышением концентрации (до 0,76 – 3,0 мкМ) процесс ингибирования шел с большей интенсивностью. Также при возрастающих концентрациях ингибитора наблюдался не линейный период индукции образования продуктов пероксидазного окисления, частично возобновляемый через определенный промежуток времени. Полученные данные свидетельствуют об ограниченных антиоксидантных возможностях меланиновых пигментов, а также о частичной инактивации катализатора радикальными продуктами пероксидазного окисления.

Область применения результатов исследования: биохимия, медицина, зоология.

РЕФЕРАТ

Дыпломная работа, 46 старонак, 16 малюнкаў, 1 табліца, 41 крыніца.

МЕЛАНІНЫ, *GROMPHADORHINA PORTENTOSA*, ХЕЛАТНАЯ ЗДОЛЬНАСЦЬ, ЦЯЖКІЯ МЕТАЛЫ, АНТИАКСИДАНТНЫЯ УЛАСЦІВАСЦІ, ДМБД, ПЕРАКСІДАЗНАЕ АКІСЛЕННЕ.

Аб'ект даследавання: меланінавыя пігменты мадагаскарскіх тараканаў (*Gromphadorhina portentosa*).

Мэта даследавання: мэтай дыпломнай работы з'яўляецца сістэматызацыя і аналіз крыніц літаратуры, якія прысвечаны біялагічным уласцівасцям меланінавых пігментаў бесхрыбтовых; атрыманне меланінавых пігментаў з мадагаскарскіх тараканаў, (*Gromphadorhina portentosa*) вызначэнне часткі іх фізіка-хімічных уласцівасцей.

Метады даследавання: спектрафотаметрычныя, патэнцыяметрычныя, статыстычныя.

У выніку работы былі вылучаны, ачышчаны і ідэнтыфіцыраваны меланіны мадагаскарскіх тараканаў (*Gromphadorhina portentosa*). Якасны аналіз атрыманага чорнага парашка з металічным бляскам сведчыў аб яго прыналежнасці да дадзенага класа пігментаў. Пры даданні некалькіх кропель FeCl_3 (1 мг/мл) выпадаў камяковы асадок, які раствараўся ў лішку хларыду. Пры даданні перманганата калія колер шчолачнага раствору змяняўся з карычневага на карычнева-зялёны. Праз суткі раствор страціў колер і таксама выпаў у асадок. У прысутнасці 10% раствору перакісу вадароду раствор меланіна акісліўся і страціў колер на працягу сутак. Тангенс вугла нахілу спектра паглынання 0,1 М раствору меланіна склаў 0,0045. Дадазеныя вынікі пацвердзілі наяўнасць у доследных палімерах хіноідных і фенольных структур.

Пры выкарыстанні патэнцыяметрычнага тытравання былі даследаваны хелатныя здольнасці меланінаў. Тытраванне 1 М раствораў меланіна 0,1 М растворамі соляў цяжкіх металаў паказала, што 1 г. меланіна насыкомых звязвае 0,56 г. іонаў кадмія, 0,166 г. свінцу, 0,0157 г. медзі, 0,05 мг. кобальту (320000, 51200, 15680, 54400 моляў адпаведна). Аналіз вынікаў указвае на тое, што здольнасць меланінаў насыкомых звязваць іоны па масе памяншаецца ў шэрагу Cd^{+2} , Pb^{+2} , Co^{+2} , Cu^{+2} ; па хімічнай колькасці: Cd^{+2} , Co^{+2} , Pb^{+2} , Cu^{+2} . Атрыманыя вынікі сведчаць пра перавагу працэсу комплекстварання над працэсам сорбцыі, а таксама аб ўстойлівасці ўтвораных у выніку рэакцый комплексаў.

Антиаксидантныя ўласцівасці меланінавых пігментаў вывучаліся на мадэлі іх уплыву на працэс пераксідазнага акіслення дыметылбензыдына

(ДМБД). Пры нізкіх канцэнтрацыях меланіну (0,01 - 0,03 мкм) назіраецца розная глыбіня інгібіравання пероксидазнага акіслення ДМБД. Пры мінімальнай канцэнтрацыі меланіну, роўнай 0,01 мкм, ступень інгібіравання субстрату склала 9%, а змена пачатковай хуткасці ад прысутнасці ў рэакцыйнай сумесі меланіну склала 95,3% ад зыходнага значэння. З павышэннем канцэнтрацыі (да 0,76 -3,0 мкм) працэс інгібіравання ішоў з большай інтэнсіўнасцю. Таксама пры ўзрастаючых канцэнтрацыях інгібітару назіраўся не лінейны перыяд індукцыі ўтварэння прадуктаў пераксідазнага акіслення, часткова аднаўляльны праз пэўны прамежак часу. Атрыманыя вынікі сведчаць аб абмежаваных антыаксідантных магчымасцях меланінавых пігментаў, а таксама аб частковай інактывацыі каталізатара радыкальнымі прадуктамі пераксідазнага акіслення.

Вобласць выкарыстання вынікаў даследавання: біяхімія, медыцына, заалогія.

ESSAY

Thesis, 46 pages, 1 table, 41 sources.

MELANINS, *GROMPHADORHINA PORTENTOSA*, CHELATING ABILITY, HEAVY METALS, ANTIOXIDANT PROPERTIES, O-TOLIDINE, PEROXIDASE OXIDATION.

Object of study: melanin extracts of Madagascar cockroaches (*Gromphadorhina portentosa*).

The purpose of the study: The purpose of the thesis was to analyze and systematize of literature data about biological properties of invertebrates melanin pigments; isolation melanin pigments from Madagascar cockroaches (*Gromphadorhina portentosa*); definition of several physical and chemical properties.

Research methods: spectrophotometric, potentiometric, statistical.

As a result of the work, we isolated, purified and identified melanin pigments from Madagascar cockroaches (*Gromphadorhina portentosa*). After the qualitative analysis of the black powder with a metallic luster we have determined it as eumelanin. Addition a few drops of FeCl_3 (1 mg/ml) led to flocculation. The precipitate was dissolved by adding an excess of chloride. Addition of potassium permanganate changed color from brown to green one. A day later, there was a partial discoloration of the solution and precipitation. After addition of H_2O_2 (10%) the solution is oxidized and discolored within 24 hours. The slope of the absorption spectrum of a 0.1 mg/ml melanin extract was 0.0045. These results confirmed the presence of quinoid and phenolic structures in the studied polymers.

We studied chelating ability of melanins using potentiometric titration. Titration of 1 M melanin extracts with 0.1 M solutions of heavy metals showed that 1 g. of insect melanin binds 0.56 g. of cadmium, 0.166 g of lead, 0.0157 g of copper, 0.05 mg of cobalt ions (320000, 51200, 15680, 54400 mol, respectively). The ability of insect melanins to bind ions by weight decreases in the series Cd^{+2} , Pb^{+2} , Co^{+2} , Cu^{+2} ; by chemical amount: Cd^{+2} , Co^{+2} , Pb^{+2} , Cu^{+2} . The data indicate the predominance of the complexation over the sorption and about the stability of the formed complexes.

We studied antioxidant properties using model of the influence of melanins on the process of peroxidase oxidation of O-tolidine. At low concentrations of melanin (0.01 - 0.03 μM) we observed different degrees of inhibition of peroxidase oxidation. At a minimum melanin concentration (0.01 μM) the degree of substrate inhibition was 9%; change in initial speed was 95.3%. With an increase in concentration (up to 0.76 – 3.0 μM) the inhibition process proceeded with greater intensity. Also, at increasing concentrations of the inhibitor we observed a non-

linear period of induction of the formation of peroxidase oxidation products. It was partially renewed after a certain period of time. The data have demonstrated the limited antioxidant capabilities of melanin pigments and the partial inactivation of the catalyst by radical products of peroxidase oxidation.

The scope of the research results: biochemistry, medicine, zoology.