

Хамитова К.К., Курбанова А.Б.,
Исмаилов Д.В.

Влияние тяжелых металлов на живые организмы

Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами на сегодняшний день является одним из наиболее вредных экологических факторов, оказывающих негативное воздействие на жизнедеятельность организмов. К сожалению, токсическое действие тяжелых металлов стоит наряду с фенолами, нефтепродуктами, нитратами, пестицидами, что ставит под угрозу существование цивилизации. Не имеющие полезной роли в биологических процессах металлы, например такие, как свинец и ртуть, определяются как токсичные металлы. Увеличивающийся масштаб присутствия тяжелых металлов в быту человека оборачивается ростом генетических мутаций, раковых, сердечно-сосудистых и профессиональных заболеваний, отравлений, дерматозов, снижением иммунитета и связанных с этим болезней. В статье представлены результаты наблюдения за воздействием различных концентраций ионов тяжелых металлов на естественные биологические материалы – куриный яичный белок, женское материнское молоко. На основании анализа выявлена закономерность воздействия металлов на белок в зависимости от их видов и концентраций.

Ключевые слова: белок, денатурация, концентрация, микроскопирование, тяжелые металлы.

Hamitova K.K., Kurbanova A.B.,
Ismailov D.V.

Effect of heavy metals on living organisms

Heavy metals are a group of chemical elements with a significant atomic weight or density. Heavy metals and their compounds in high concentrations may cause adverse effects on the human body. They can accumulate in the tissues and cause disease. Heavy metals and their compounds migrate from one habitat to another. Migration of the heavy metal compounds takes place in the form of organo-mineral component. Now pollution of heavy metals is one of the most harmful environmental factors, they have a negative impact on the life of organisms. Toxic effects of heavy metals, phenols, petroleum, nitrates, pesticides equally. This endangers the existence of civilization. The lead and mercury havenot beneficial roles in biological processes. They are toxic metals. Presence of heavy metals in the human life always increases. This leads to an increase in genetic mutations, cancer, cardiovascular diseases and occupational diseases, poisoning, dermatitis, decreased immunity and other diseases. The article presents the results of monitoring the impact of different concentrations of heavy metal ions on the natural biological materials – chicken protein, women's breast milk. It was found the dependence of the destruction of the protein from the metal concentration

Key words: protein, denaturation, concentration, microscopy, heavy metals.

Хамитова Қ.К., Құрбанова А.Б.,
Исмаилов Д.В.

Тірі организмдерге ауыр металдардың әсері

Ауыр металдар бұл ауыр атом салмағымен немесе тығыздығымен химиялық элементтер тобы болып табылады. Мысалы, темір, мыс, мырыш, молибден биологиялық процестерде тартылады. Олардың аз мөлшері өсімдіктерге, жануарларға және адамға қажет болады. Бірақ, ауыр металдардың және олардың қосылыстарының жоғары шоғырлануы адам организмiне зиянды әсер тудыруы мүмкін. Олар тiндерде жинақталады, содан соң ауруларды көп тудырады. Ауыр металдар және олардың қосылыстары сияқты басқа да химиялық қосылыстар қоршаған ортада қайта бөлінуге, жылжуға қабілетті. Қазіргі кезде ауыр металдармен ластану ең зиянды фактор болып табылады. Олар организмге зиянды әсерін тигізеді. Ауыр металдардың фенол, мұнай, нитрат, пестицидтер сияқты улы әсері бар. Бұл өркениеттің өмір сүруі үшін қатер төндіреді. Қорғасын, сынап биологиялық процестерге тиімді роль атқармайды. Олар улы металдар болады. Адам өмірінде ауыр металдардың әрқашан қатысы бар. Сондықтан, генетикалық мутация, онкологиялық, жүрек-қан тамырлары аурулары және кәсіби аурулар, уланулар, дерматит, төмен иммунитет және басқа да аурулар болады. Бұл мақалада табиғи биологиялық материалға (тауық ақуызға, әйел емшек сүтіне) металдардың әсері сипатталады. Ақуыздың тозуы және металдардың концентрациясы анықталады.

Түйін сөздер: ақуыз, денатурациясы, концентрациясы, микроскопия, ауыр металдар.

ВЛИЯНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА ЖИВЫЕ ОРГАНИЗМЫ

Введение

Загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами на сегодняшний день является одним из наиболее вредных экологических факторов, оказывающих негативное воздействие на жизнедеятельность организмов. К сожалению, токсическое действие тяжелых металлов стоит наряду с фенолами, нефтепродуктами, нитратами, пестицидами, что ставит под угрозу существование цивилизации (Зинина, 2001:99).

Несмотря на то, что тяжелые металлы могут поступать в окружающую среду в результате выветривания горных пород и минералов, вулканической деятельности и эрозийных процессов в почве, т.е. естественным путем (Прохорова, 1996:45); тем не менее, в подавляющем большинстве случаев первоисточником загрязнений является техногенное воздействие. Значительная часть тяжелых металлов образуется при добыче и переработке полезных ископаемых, движении транспорта, сжигании топлива и др., которая поступает в природную среду в виде тонких аэрозолей, переносится на значительные расстояния и вызывает глобальное загрязнение (Рыльский, 2009:34).

Тяжелые металлы также поступают в бессточные водоемы, где становятся источником вторичного загрязнения, т.е. образования опасных загрязнений в ходе физико-химических процессов, идущих непосредственно в среде. Также они имеют свойство накапливаться в почве, особенно в верхних гумусовых горизонтах, и медленно удаляться при выщелачивании, потреблении растениями, эрозии и выдувании почв (Соловьева, 2012:7). Загрязненная почва оказывает отрицательное влияние на здоровье человека. Попавшие в почву токсические химические загрязнители поступают в организм человека главным образом через контактирующие с почвой среды: воду, воздух и растения (Сенцова, 1985:227). Из почвы загрязнители вовлекаются в миграционный процесс и поступают в организм человека по биологическим цепочкам: «почва-растение-человек»; «почва-растение-животное-человек»; «почва-вода-человек»; «почва-атмосферный воздух-человек» (Илялетдинов, 1984:268). Также возможно прямое попадание почвы в организм человека при вдыхании ее частиц, а также при употреблении немых

овощей и фруктов, на поверхности которых содержатся частицы почвы (Обухова, 2012:67).

Многие тяжелые металлы, такие как железо, медь, цинк, молибден, участвуют в биологических процессах и в определенных количествах являются необходимыми для функционирования растений, животных и человека микроэлементами (Луковникова, 2004:74). Тем не менее, количество их, нужное организму, ничтожно мало. Сейчас все больше люди страдают от того, что тяжелые металлы попадают в организм человека в размере, многократно превышающем допустимую норму (Мур, 1987:120).

Токсины, тяжелые металлы проникают в организм через кожу, слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта, дыхательные пути. Затем они транспортируются в кровотоки и далее к печени, почкам. Они способны проникнуть в соединительную ткань и накапливаться в тканях несколько десятилетий.

Тяжелые металлы, кроме того, повреждают клетки иммунной системы, что приводит к уменьшению их количества и снижению их активности. Вследствие этого, развиваются аллергии различных форм и видов, иммунные заболевания (Никифорова, 2007:6).

Мешая передачи импульсов, тяжелые металлы наносят вред нервной системе. Это может привести к психическим или физическим проблемам, таким как депрессия, рассеянный склероз (Никаноров, 1991:8).

Во внеклеточном пространстве тяжелые металлы могут повредить клеточные стенки, ионные каналы. Если они преодолевают клеточную стенку и проникают во внутрь, то они сразу начинают воздействовать на ферменты и ферментные системы, которые необходимы для производства энергии и ее очищения. Также они могут быть включены и в другие клеточные компоненты. Все это приводит к дальнейшему повреждению клетки (нарушение синтеза балка, ДНК, потеря клеточной энергии) (Мудрый, 2002:120).

Целью данного исследования было наблюдение за воздействием различных концентраций ионов тяжелых металлов на естественные биологические материалы живых организмов.

Материал и методы исследования

Для проведения первого эксперимента были подготовлены модельные водные раство-

ры, содержащие ионы тяжелых металлов (Fe^{+3} , Cu^{+2} , Ni^{+2} , Pb^{+2} , Zn^{+2}) в разных концентрациях. Учитывая, что для каждого вещества рассчитано отдельное значение предельно-допустимой концентрации, не оказывающей негативное воздействие на организм, в работе мы ориентировались на среднее значение ПДК для всех металлов, которое равно 0,1 мкг/мл. Затем мы увеличили значение концентрации в 5 и 10 раз. Таким образом, концентрация каждого металла в модельных растворах составляла 0,1; 0,5 и 1 мкг/мл. Для сравнения реакций воздействия также был приготовлен модельный раствор щелочного металла Na^+ с такими же концентрациями.

Модельные растворы готовили, применяя несколько общих приемов техники лабораторных работ, обеспечивающих безопасность и правильность работы:

- растворение в нужном объеме дистиллированной воды навески сухого вещества, рассчитанной по соответствующей формуле, взятой на аналитических весах;

- в некоторых случаях разбавлением стандартного раствора, содержащего исследуемый металл более высокой концентрацией.

В качестве биологического материала в первом эксперименте использовали куриный яичный белок. Известно что, 90% яичного белка составляет вода, остальное – белки различного вида, такие как овальбумин, овомуцин, лизоцим и др. (Зобнина, 2009:129). Белки являются фундаментом организма, которые целиком построены из маленьких строительных блоков, называемых аминокислотами. Биологические свойства белков очень разнообразны. Они выполняют каталитические, регуляторные, структурные, двигательные, транспортные, защитные, запасные и другие функции. Исключительное свойство белков – самоорганизация структуры, то есть способность самопроизвольно создавать только данному белку структуру (Степуро, 2007:134).

Сырой яичный белок разливали по пробиркам по 20 мл в каждую. Оставив один образцовый раствор, в остальные пробирки последовательно добавляли по 10 мл готовых модельных растворов исследуемых металлов разной концентрации в порядке возрастания. Затем следили за развитием и изменением состояния белка от действия металлов за непродолжительный промежуток времени (рисунок 1 (а, б, в, г, д, е)).



Рисунок 1 – Воздействие на белок ионов металлов:
а) железа; б) меди; в) никеля; г) свинца; д) цинка; е) натрия

Аналогичный опыт провели и с образцами женского грудного молока комнатной температуры. Эксперименты проводили в пробирках и чашках Петри (рисунки 2 и 3). Для этого использовали соли меди, железа, цинка, олова и серебра концентрацией 1 мкг/мл металла в каждом. После внесения реактивов наблюдали первую реакцию молока на концентрированный раствор.

Проведенные эксперименты показали ярко выраженную денатурацию белков от воздействия тяжелых металлов. Поэтому, в целях наблюдения более детального нарушения структуры белков были подготовлены образцы для микроскопического анализа. Для этого белки подвергали воздействию солей тяжелых металлов (никеля, кадмия, кобальта, меди, цинка и натрия) концентрацией 1 мкг/мл и высушивали в течение

часа до твердого состояния в термической печи при температуре 100°C, затем измельчали до порошкообразного состояния.

Обзор литературы

Согласно исследованиям зарубежных ученых, денатурация белка происходит по нескольким причинам. Например, при воздействии высоких концентраций солей, повышении температур и



Рисунок 2 – Воздействие тяжелых металлов на грудное молоко
слева на право – медь, железо, цинк, олово, серебро

Денатурация происходит также за счет разрушения соединений, ответственных за вторичные структуры (водородные связи), что приводит к дальнейшему разрушению третичной структуры (JeffreyS., 2003:4). Поскольку реакции денатурации не достаточно сильны, для того чтобы разорвать пептидные связи, первичная структура (последовательность аминокислот) остается той же самой после окончания данного процесса. Денатурация нарушает нормальную форму альфа-спирали и бета-слоев в белке, раскручивая в случайную форму (рисунок 4) (Ophardt С.Е., 2003а:1). Наиболее распространенным наблюдением в процессе денатурации является осаждение или коагуляция белка (Patel, 2007:251)

В третичной структуре существуют четыре типа связи, оказывающих взаимодействия между «боковыми цепями», т.е. образование водородных связей, солевых мостиков, дисульфидных связей и неполярных гидрофобных взаимодействий (Rawlings 2003:38)

уровня кислотности (Thatcher 1981:105). Функция белка изменяется за счет деформации вдоль связей внутреннего взаимодействия и может быть на постоянной или временной основе (Patel 2007:251). Например, некоторые белки способны выдерживать воздействие высоких температур в течение нескольких минут и за этот промежуток времени способны сохранять первоначальную функцию и правильно работать с минимальными деформациями (RachanaS., 2013:4).

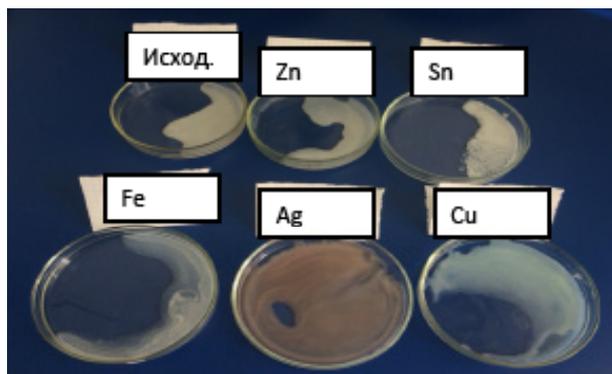


Рисунок 3 – Исследование воздействия солей тяжелых металлов на грудное молоко:
слева на право, 1 ряд – исходный материал, цинк, олово; 2 ряд – железо, серебро, медь

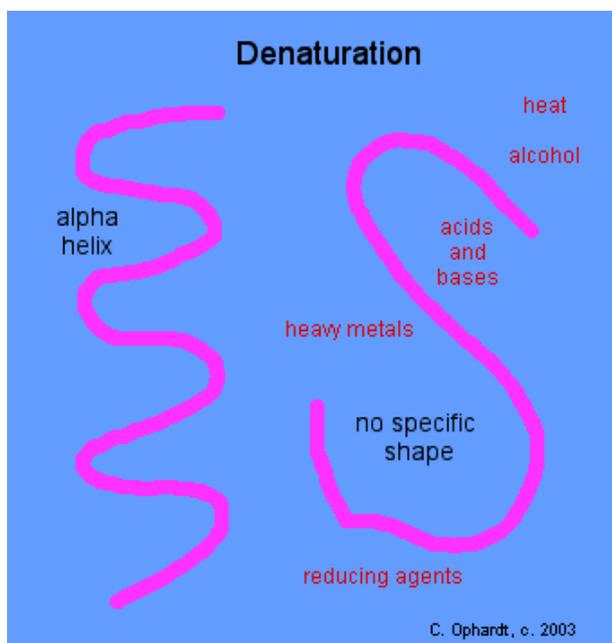


Рисунок 4 – Разрушение нормальных форм связей после денатурации

Соли тяжелых металлов, как правило, содержат ионы Hg^{2+} , Pb^{2+} , Ag^{+} и других металлов с высокой молекулярной массой. Так как данные соли являются ионными, они разрушают солевые мостики в белках (рисунок 5). Реакция солей тяжелых металлов с белком, как правило, приводит к образованию нерастворимых солей металлов (Ophardit C., 2003б:1).

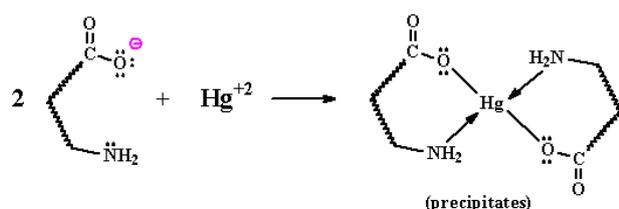


Рисунок 5 – Взаимодействие ионов ртути с белком с последующим образованием нерастворимых в воде солей

Дисульфидные связи образуются за счет окисления сульфгидрильных групп нацистеин (Ono 2009:14745). Различные белковые цепи или петли в пределах одной цепи удерживаются вместе сильными ковалентными дисульфидными связями (Manetto G.D., 2005:263). Тяжелые металлы могут также разрушить дисульфидные связи за счет взаимодействия с серой, что также приводит к денатурации (рисунок 6) (Dayan A.D., 2001:439).

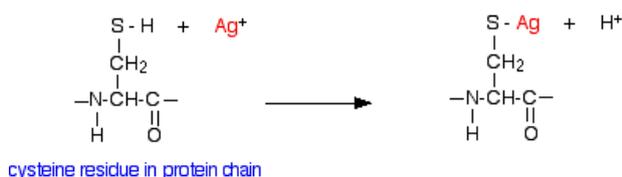


Рисунок 6 – Реакция смещения вызывает разрушение дисульфидных связей

Таким образом, механизм воздействия тяжелых металлов на денатурацию белков может быть поэтапно представлен следующим образом:

- срыв солевых мостиков, которые стабилизируют структуру белка;
- срыв дисульфидных связей, которые стабилизируют структуру благодаря высокому сродству тяжелых металлов с серой (реакция замещения);
- формирование нерастворимых в воде солей металлов белка (Hudson T.L., 1999: 20).

В своих экспериментах мы разрушали структуру белка за счет воздействия солей тяжелых металлов. Похожие исследования денатурации белков проводились зарубежными учеными. Например, проводилось наблюдение за денатурацией с помощью температурного градиент гелиевого электрофореза. Гели имели специальный состав, состоящий из борной кислоты и мочевины. Результаты показали необратимость теплового перехода (Arakawa T., 1993:255). Принимая во внимание принципы данного метода, были проведены попытки систематизации температурного градиент гелиевого электрофореза белков, а именно, анализ зависимостей кислотной среды гелиевого раствора от температуры (Vigmes A., 1990:795). Исследования данного метода проводят в специальных приборах, состоящих из электрически изолированной металлической пластины, которая нагревается на одном краю, а охлаждается на другом (Riesner D., 1989:377).

По результатам наблюдений термической денатурации белков осуществляют классификацию WPN, которая дает косвенное указание на денатурацию и агрегацию сывороточных белков и, таким образом, степени тяжести термических обработок (Hasmukh, 2007:251).

Точные измерения незначительных изменений вязкости очень разбавленных растворов белков, подвергающихся денатурации, можно произвести на дифференциальном вискозиметре. Преимуществами использования дифференцированного вискозиметра вместо обычного стеклянного капиллярного являются повышенная чувствительность, точность, скорость и простота управления, что позволяет производить измерения вязкости раствора от низких концентраций до 1, 2 мкг чистых белков. Результаты показывают, что гидрохлорид гуанидина, тепло- и водородный показатель выступают в качестве денатурирующих агентов и изменяют внутренние вязкости сывороточного альбумина (Dutta P.K., 1991:536).

Задачами исследований мы ставили изучение перехода степени разрушения белка в зависимости от увеличения количества ионов тяжелых металлов, а также микроскопическое сканирование данного процесса с помощью современного оборудования.

Результаты и их обсуждения

При проведении первого эксперимента наблюдалось полное или частичное разрушение структуры белка от воздействия тяжелых

металлов, тогда как щелочной металл натрий никак не повлиял на структуру биологического материала (рисунок 1). Это подтверждает разрушительное действие тяжелых металлов на живые организмы. Причем воздействие каждого вида металла имеет разный характер, например, железо и никель затрагивают почти весь объем белкового материала в пробирке, но не полностью меняют его структуру. Тогда как цинк, медь, свинец полностью сворачивают верхний слой белка, не затрагивая нижнюю часть, т.е. происходят необратимые реакции, связанные с денатурацией белков. На рисунке 7 представлены кривые зависимости степени разрушения объема белкового сырья от вида и концентрации тяжелых металлов.

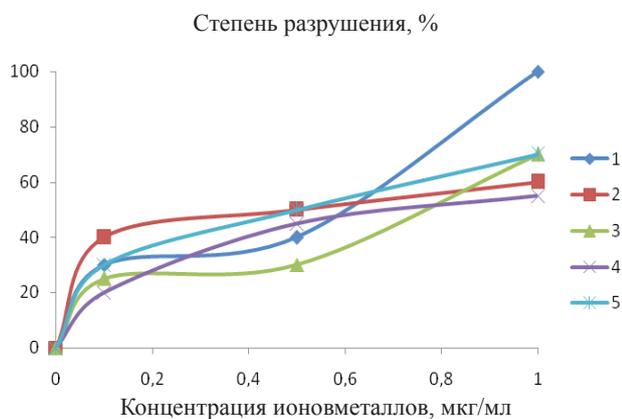


Рисунок 7 – Кривые зависимости степени разрушения объема жидкости белка от концентрации тяжелых металлов: 1) железа; 2) меди; 3) никеля; 4) свинца; 5) цинка

По кривым рисунка 7 видно, что максимальное воздействие на весь объем исследуемого материала (100%) наблюдается от воздействия ионов железа концентрацией 1 мкг/мл, причем кривая имеет вогнутый характер. Схожий характер воздействия виден также у никеля, тогда как в остальных случаях кривая имеет форму параболы. Данные кривые свидетельствуют о том, что при попадании в организм железо и никель имеют свойство накапливаться. Тогда как, согласно математической формуле построения параболы, степень воздействия меди, свинца, цинка прямо пропорциональна квадратному значению их концентрации. То есть металлы

начинают напрямую воздействовать на организм при внутреннем попадании.

При воздействии тяжелых металлов на грудное молоко наблюдаются свертываемость, нарушение плотности, текстуры жидкости, медь и серебро, даже заметно ее окрашивают в соответствующий цвет (рисунки 2, 3).

Микроскопические снимки денатурации белков (рисунок 8) были сняты в Национальной нанотехнологической лаборатории открытого типа КазНУ им. аль-Фараби на оптическом микроскопе Leica DM 6000m. На снимках хорошо видны процессы разрушения белка в виде густого скопления частиц белого цвета, причем более плотно наблюдается у кобальта, кадмия, меди, а у никеля менее выраженный характер воздействия. Натрий же, в свою очередь, кристаллизуется на поверхности белка.

Заключение

Тяжелые металлы опасны тем, что они обладают способностью накапливаться в живых организмах, вмешиваться в метаболический цикл, образуя высокотоксичные металлосодержащие органические соединения. Они быстро изменяют свою химическую форму при переходе из одной природной среды в другую, не подвергаясь биохимическому разложению. Белковые вещества составляют основу и структуру живых организмов, поэтому нами было изучено влияние на них тяжелых металлов. К группе тяжелых металлов относятся более 50 видов. В экспериментах были использованы несколько из них в разных концентрациях. По кривым рисунка 4 видно, что во всех случаях, при увеличении концентрации ионов металлов увеличивается и их разрушительное действие. Соли тяжелых металлов осаждают и денатурируют белки, создавая нерастворимые комплексы, тогда как соль натрия не оказывает существенного воздействия.

Полученные результаты доказывают опасность проникновения, накопления в живом организме тяжелых металлов. Особенно остро воздействуют ионы свинца, меди, кобальта, кадмия. Поэтому необходимо контролировать поступление металлов в организм человека. В дальнейшем планируется продолжить исследование в заданном направлении на других металлах и других биологических объектах.

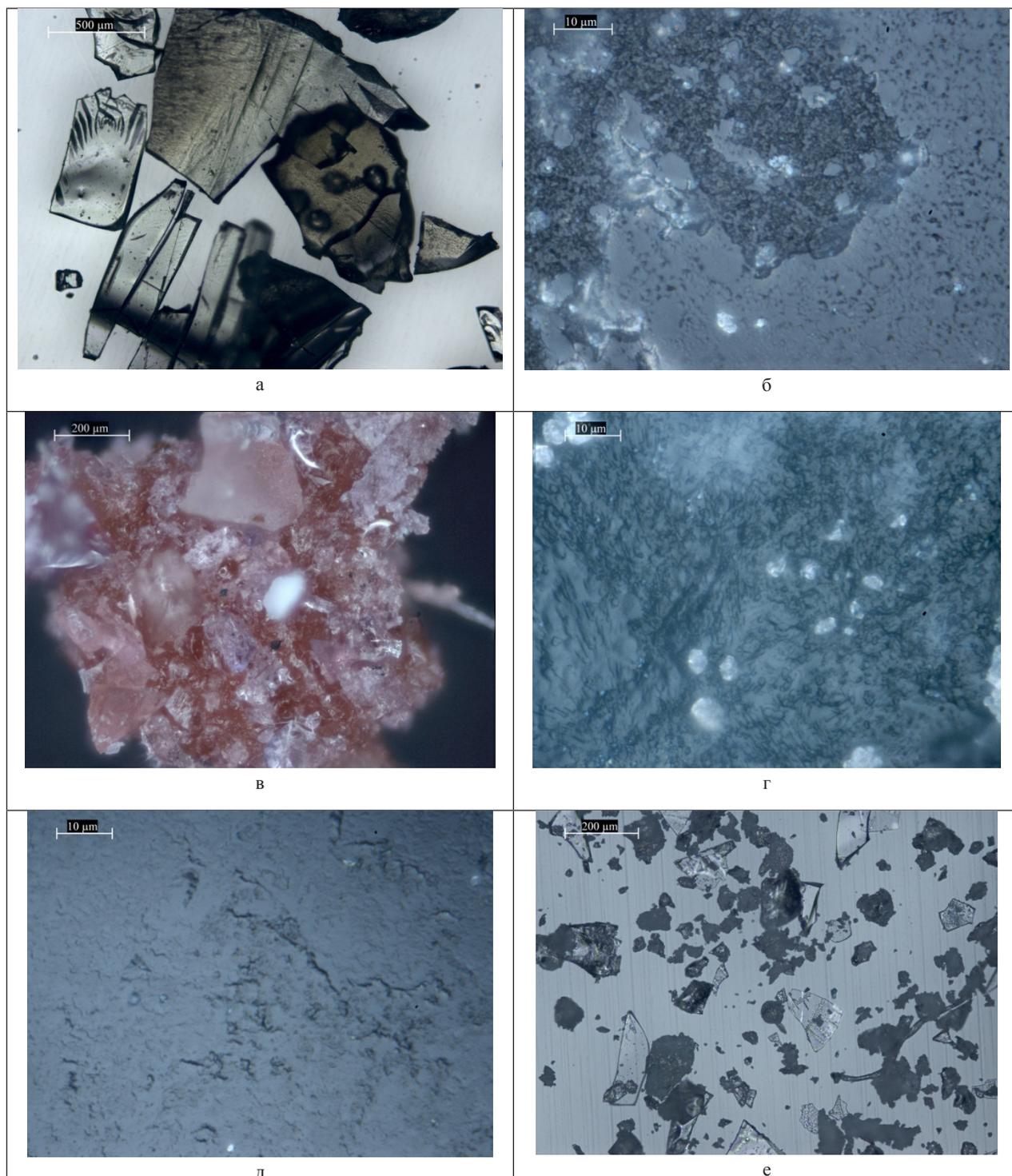


Рисунок 8 – Микроскопические снимки воздействия на структуру белка металлов:
а) никеля; б) кадмия; в) кобальта; г) меди; д) цинка; е) натрия

Литература

- 1 Arakawa T, Hung L, Pan V and other. (1993) Analysis of the heat-induced denaturation of proteins using temperature gradient gel electrophoresis. *Anal Biochem.*, no 208(2), pp. 255-259.
- 2 Birmes A, Sättler A, Maurer Kh. And other. (1990) Analysis of the conformational transitions of proteins by temperature-gradient gel electrophoresis. *Electrophoresis.*, no 11 (10), pp. 795-801.
- 3 Dayan AD, Paine AJ. (2001) Mechanisms of chromium toxicity, carcinogenicity and allergenicity: review of the literature from 1985 to 2000. *Hum Exp Toxicol.*, no 20(9), pp. 439-451.
- 4 Dutta P.K. (1991). Analysis of protein denaturation by high-performance continuous differential viscometry. *Journal of Chromatography A.*, no 536., pp. 113-121.
- 5 Hudson T.L, Fox F.D., Plumlee G.S. (1999) *Metal Mining and the Environment. The American Geosciences Institute Environmental Awareness Series.*, pp. 20-27.
- 6 Jeffrey S. (2003) *Analysis of Protein Denaturation Through Dynamic Light Scattering.* William Fulbright College of Arts and Sciences., p.4
- 7 Илялетдинов А.Н. Микробиологические превращения металлов / Академия Наук КазССР. Институт Микробиологии. – 1984. – С. 268.
- 8 Луковникова Л.В. Металлы в организменной среде, проблемы мониторинга // Эффективная терапия. – 2004. – Т. 10. – С. 74-79.
- 9 Manetto, G. D., La Rosa, C., Grasso, D. M., and Milardi, D. (2005) Evaluation of thermodynamic properties of irreversible protein thermal unfolding measured by DSC. *J Therm Anal Calorim.*, no 80, pp. 263-270
- 10 Мудрый И.В., Короленко Т.К. Тяжелые металлы в окружающей среде и их влияние на организм // Врачебное дело. – 2002. – С. 120.
- 11 Мур Дж., Рамамурзи С. Тяжелые металлы в природных водах // Мир. – 1987. – С. 286.
- 12 Никаноров А.М. Биомониторинг металлов в пресноводных экосистемах // Мир. – 1991. – С. 312.
- 13 Никифорова Л.О., Белопольский Л.М. Влияние тяжелых металлов на процессы биоклиматического окисления органических веществ // Логос. – 2007. – С. 6.
- 14 Обухова О.В. Влияние солей тяжелых металлов на рост и факторы патогенности условно-патогенных бактерий // Гигиена и санитария. – 2011. – № 1. – С. 67-71.
- 15 Ono, K., Condron, M. M., and Teplow, D. B. (2009) Structure-neurotoxicity relationships of amyloid beta-protein oligomers. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, no. 106, pp. 14745-14750
- 16 Ophardit C. E. (2003). Denaturation of proteins. *Elmhust College.*, p.1
- 17 Ophardit C. E. (2003). Heavy metal salts disrupt disulfide bonds. *Elmhust College.*, p.1
- 18 Patel H. A., Anema S. G., Holroyd S. E. and other. (2007) Methods to determine denaturation and aggregation of proteins in low-, medium- and high-heat skim milk powders. *INRA Editions*, no 87 (4-5), pp.251-268.
- 19 Прохорова Н.В., Матвеев В. Тяжелые металлы в почвах и растениях в условиях техногенеза / Вестник ГРАУ. – 1996. – № 6. – С. 45-51.
- 20 Rachana S., Susmita G., Furhatun N. and other. (2013) Denaturation of proteins. *Biochemistry and Gellular Biology.*, pp. 4-11.
- 21 Rawlings, D.E., Dew, D., du Plessis, C. (2003) Biomineralization of Metal-Containing Ores and Concentrates. *TRENDS in Biotechnology.*, no 21, pp. 38-44 .
- 22 Riesner D., Steger G, Zimmat R. and other. (1989) Temperature-gradient gel electrophoresis of nucleic acids: analysis of conformational transitions, sequence variations, and protein-nucleic acid interactions., *Electrophoresis.*, no 10, pp. 377-389.
- 23 Рыльский А.Ф. Действие тяжелых металлов на пигментсинтезирующие грамотрицательные бактерии. – 2009. – С. 34.
- 24 Сентсова О.В., Максимова В.Н. Действие тяжелых металлов на микроорганизмы: учебник микробиологии. – 1985. – С. 227-252.
- 25 Соловьева О.А., Прохорова В.Н. Тяжелые металлы в почвах больших городов. – 2012.
- 26 Степура М.В., Лобанов В.Г. Роль функциональных свойств белков в пищевой промышленности // Известия ВУЗов. – 2007. – №5-6. – С. 134.
- 27 Thatcher D.R., Hodson B. (1981) Denaturation of proteins and nucleic acids by thermal-gradient electrophoresis. *Biochem J.*, no 197 (1), pp.105-114.
- 28 Трошина Е.Н. Загрязнение почв тяжелыми металлами на территории крупного промышленного центра // Медицина труда и промышленная экология. – 2008. – №12. – С. 17.
- 29 Зинина О.Т. Влияние некоторых тяжелых металлов и микроэлементов на биологические процессы в организме человека // Избранные вопросы судебно-медицинской экспертизы. – 2001. – №4. – С. 99-105.
- 30 Зобнина Л.С., Прошко Л.А., Машанов А.И. Белоксодержащие добавки и белковые препараты // Вестник КГАУ. – 2009. – С. 129-132.

References

1. Arakawa T, Hung L, Pan V and other. (1993) Analysis of the heat-induced denaturation of proteins using temperature gradient gel electrophoresis. *Anal Biochem.*, no 208(2), pp. 255-259.
2. Birmes A, Sättler A, Maurer Kh. And other. (1990) Analysis of the conformational transitions of proteins by temperature-gradient gel electrophoresis. *Electrophoresis.*, no 11 (10), pp. 795-801.
3. Dayan AD, Paine AJ. (2001) Mechanisms of chromium toxicity, carcinogenicity and allergenicity: review of the literature from 1985 to 2000. *Hum Exp Toxicol.*, no 20(9), pp. 439–451.
4. Dutta P.K. (1991). Analysis of protein denaturation by high-performance continuous differential viscometry. *Journal of Chromatography A.*, no 536., pp. 113-121.
5. Hudson T.L, Fox F.D., Plumlee G.S. (1999) *Metal Mining and the Environment. The American Geosciences Institute Environmental Awareness Series.*, pp. 20-27.
6. Jeffrey S. (2003) *Analysis of Protein Denaturation Through Dynamic Light Scattering.* William Fulbright College of Arts and Sciences., p.4
7. Ilyaitdinov A.N.(1984) *Mikrobiologicheskiye prevrashcheniya metallov [Microbiological transformation of metals]* Academy of Sciences of the Kazakh SSR, Institute of Microbiology and Virology., p. 268
8. Lukovnikova L.V. (2004) *Metally v okruzhayushchey srede, problemy monitoring –Metals in the Environment, monitoring problems*, Efferentnaya terapiya., V.10, pp. 74-79
9. Manetto, G. D., La Rosa, C., Grasso, D. M., and Milardi, D. (2005) Evaluation of thermodynamic properties of irreversible protein thermal unfolding measured by DSC. *J Therm Anal Calorim.*, no 80, pp. 263-270
10. Mudryy I.V., Korolenko T.K. (2002) *Tyazhelyye metally v okruzhayushchey srede i ikh vliyaniye na organism –Heavy metals in the environment and their impact on organism*, Vrachebnoye delo, pp.120
11. Mur Dzh., Ramamurti S.(1987) *Tyazhelyye metally v prirodnykh vodakh –Ramamurthy Heavy metals in natural waters*, Mir, pp. 286
12. Nikanorov A.M.(1991) *Biomonitoring metallov v presnovodnykh ekosistemakh –B iomonitoring of metals in freshwater ecosystems*, pp.312.
13. Nikiforova L.O., Belopol'skiy L.M. (2007) *Vliyaniye tyazhelykh metallov na protsessy biokhimicheskogo okisleniya organicheskikh veshchestv –The impact of heavy metals on the process of biochemical oxidation of organic substances*, p.6
14. Obukhova O.V. (2011) *Vliyaniye soley tyazhelykh metallov na rost i faktory patogennosti uslovno-patogennykh bakteriy. –Influence of heavy metals on the growth factors and pathogenicity of opportunistic bacteria* Hygiene and Sanitation, no 1, pp. 67-71
15. Ono, K., Condron, M. M., and Teplow, D. B. (2009) Structure-neurotoxicity relationships of amyloid beta-protein oligomers. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, no. 106, pp. 14745-14750
16. Ophardit C. E. (2003). *Denaturation of proteins.* Elmhust College., p.1
17. Ophardit C. E. (2003). *Heavy metal salts disrupt disulfide bonds.* Elmhust College., p.1
18. Patel H. A., Anema S. G., Holroyd S. E. and other. (2007) *Methods to determine denaturation and aggregation of proteins in low-, medium- and high-heat skim milk powders.* INRA Editions, no 87 (4-5), pp.251-268.
19. Prohorova N.V., Matveev. (1996) *Tyazhelyye metally v pochvakh i rasteniyakh v usloviyakh tekhnogeneza.–Heavy metals in soils and plants in the conditions of technogenic* Vestnik GRAU, no 6, pp. 45-51
20. Rachana S., Susmita G., Furhatun N. and other. (2013) *Denaturation of proteins.* *Biochemistry and Cellular Biology.*, pp. 4-11.
21. Rawlings, D.E., Dew, D., du Plessis, C. (2003) *Biomining of Metal-Containing Ores and Concentrates.* *TRENDS in Biotechnology.*, no 21, pp. 38-44 .
22. Riesner D., Steger G, Zimmat R. and other. (1989) *Temperature-gradient gel electrophoresis of nucleic acids: analysis of conformational transitions, sequence variations, and protein-nucleic acid interactions.*, *Electrophoresis.*, no 10, pp. 377-389.
23. Ryl'skiy A.F.(2009) *Deystviye tyazhelykh metallov na pigmentsinteziruyushchiye gramotritsatel'nyye bakterii.–Effect of heavy metals on pigment synthesizing Gram-negative bacteria*, pp.34.
24. Sentsova O.V., Maksimova V.N.(1985) *Deystviye tyazhelykh metallov na mikroorganizmy.– The action of heavy metals on microorganisms.* Uspekhi mikrobiologii., pp.227-252.
25. Solov'yeva O.A., Prokhorova V.N. (2012) *Tyazhelyye metally v pochvakh bol'shikh gorodov.– Heavy metals in the soils of the big cities*
26. Stepuro M.V., Lobanov V.G. (2007) *Rol' funktsional'nykh svoystv belkov v pishchevoy promyshlennosti –The role of the functional properties of the proteins in the food industry* Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy, no 5-6, pp.134.
27. Thatcher DR, Hodson B. (1981) *Denaturation of proteins and nucleic acids by thermal-gradient electrophoresis.* *Biochem J.*, no 197 (1), pp.105-114.
28. Troshina Ye.N. (2008) *Zagryazneniye pochvy tyazhelymi metallami na territorii krupnogo promyshlennogo tsentra –Soil contamination by heavy metals in the territory of a large industrial center* Meditsina truda i promyshlennaya ekologiya, no 12, pp. 17.
29. Zinina O.T. (2001) *Vliyaniye nekotorykh tyazhelykh metallov i mikroelementov na biokhimicheskiye protsessy v organizme cheloveka [Influence of some heavy metals and trace elements on the biochemical processes in the human body].* *Izbrannyye voprosy sudebno-meditsinskoy ekspertizy.*, no 4, pp. 99-105.
30. Zobnina L.S., Proshko L.A., Mashanov A.I. (2009) *Beloksoderzhashchiye dobavki i belkovyye preparaty. –The protein-containing drugs and protein supplements* Vestnik KGAU, pp. 129-132.