

Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации

Технологический институт-филиал ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ю.Р. Гирфанова

БИОХИМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПРОДУКЦИИ

Методические указания



Димитровград -2021

УДК 581.19
ББК 28.57

Гирфанова Ю.Р. Биохимия сельскохозяйственной продукции: Методические указания / Ю.Р. Гирфанова - Димитровград: Технологический институт – филиал УлГАУ, 2021.- 59 с.

Рецензенты: Гафин Мунир Мазгутович, кандидат технических наук, доцент кафедры «Технология производства, переработки и экспертизы продукции АПК» ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Биохимия сельскохозяйственной продукции: Методические указания предназначены для подготовки бакалавров очной и заочной форм обучения по направлению подготовки 35.03.07 «Технология производства и переработки с/х продукции».

В методических указаниях приводятся указания по технике безопасности, методика выполнения лабораторных работ, контрольные вопросы для самопроверки, рекомендуемая литература к каждому занятию.

Утверждено
на заседании кафедры «Технология
производства, переработки и экспертизы
продукции АПК»
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ,
протокол № 10 от 11 мая 2021г.

Рекомендовано
к изданию методическим советом
Технологического
института – филиала
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ
Протокол № 10 от 11 мая 2021г.

© Гирфанова Ю.Р., 2021

© Технологический институт – филиал ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ, 2021

Биохимия с/х продукции является одной из важнейших дисциплин, составляющих теоретический фундамент для студентов обучающихся по направлению 35.03.07 «Технология производства и переработки с/х продукции»

Цель изучения дисциплины – получить знания о химической природе и биохимических превращениях веществ, входящих в состав живой материи.

Методические указания к лабораторным работам охватывают все основные темы курса.

Лабораторные работы основаны на методах качественного и количественного анализа химического состава и свойств биоорганических соединений и процессов их обмена.

После изучения данного курса студент должен владеть навыками постановки биохимического эксперимента, языком химических формул, иметь четкое представление о химическом составе живой материи и о процессах обмена веществ, лежащих в основе жизнедеятельности.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 1

АНАЛИЗ ГЛИКОГЕНА

Гликоген служит резервным углеводом животных и микроорганизмов. В организме животных гликоген содержится в печени. Значительно менее богата им мышечная ткань. В дрожжах содержание гликогена составляет до 30% (в сухом веществе). В организме гликоген существует в двух формах: прочно связанный с белками (и потому извлекается из тканей трудно) и слабо связанный с белками (легко экстрагируется горячей водой и растворами трихлоруксусной кислоты).

1. ВЫДЕЛЕНИЕ ГЛИКОГЕНА

1.1. ПРИНЦИП МЕТОДА

Существует два метода выделения гликогена. В первом случае биологический материал обрабатывают 30% раствором КОН на кипящей водяной бане. При такой жесткой обработке ткани распадаются, большинство веществ гидролизуется, но гликоген не изменяется и может быть осажден спиртом. Во втором случае гликоген извлекается 5% раствором уксусной кислоты. Но при этом трудно извлечь ту часть гликогена, который связан с белками.

1.2. ВЫДЕЛЕНИЕ ГЛИКОГЕНА

10 г пивных дрожжей размешивают в 200 мл 20% раствора сахарозы и инкубируют в термостате при 25°C 3 часа. Происходит интенсивное брожение, в процессе которого в дрожжевых клетках накапливается гликоген.

Затем процесс прерывают, дрожжи быстро отделяют центрифугированием и растирают в предварительно охлажденной ступке в течение 10 мин с 15 мл охлажденного до 0°C 10 % раствора трихлоруксусной кислоты с добавлением 5 г кварцевого песка (отмерять мерной ложкой).

Смесь центрифугируют 5 мин при 3000 об/мин. Кислый экстракт сливают в коническую колбу на 200 мл и хранят при температуре 0°C, осадок переносят в ступку и снова экстрагируют 10 мл охлажденной 5% трихлоруксусной кислотой. Эту операцию повторяют трижды. Все экстракты собирают в коническую колбу и фильтруют. Фильтр промывают двумя порциями по 3 мл 5% трихлоруксусной кислоты. Если экстракт не содержит твердых веществ, то фильтрование не проводят.

При высоком содержании гликогена экстракт опалесцирует. К экстракту добавляют двойной объем этанола, перемешивают и оставляют при 0°C на 30 мин, после чего осадок (гликоген) отделяют центрифугированием при 3000 об/мин в течение 5-10 мин. Надосадочную жидкость сливают, а осадок гликогена для его очистки растворяют в трех объемах подогретой воды, размешивают его стеклянной палочкой. Затем приливают двойной объем (по отношению к взятой воде) этанола, оставляют на 30 мин в холодильнике, после чего центрифугируют.

Осадок гликогена дважды промывают 5 мл 65% этанола, хорошо размешивают и каждый раз отделяют центрифугированием.

После чего гликоген промывают 5 мл 96% этанола и, наконец, 10 мл эфира. Гликоген количественно переносят в предварительно взвешенный бюкс,

высушивают в сушильном шкафу при 80°C и вновь взвешивают. Рассчитывают выход гликогена (в пересчете на сухое вещество дрожжей).

1.3 ИССЛЕДОВАНИЕ ГЛИКОГЕНА

1.3.1 КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ

Растворяют на предметном стекле небольшую часть гликогена в нескольких каплях воды и добавляют раствор Люголя. Фиксируют окраску, появляющуюся при охлаждении и исчезающую при нагревании.

1.3.2 ГИДРОЛИЗ ГЛИКОГЕНА

Небольшую часть гликогена гидролизуют и доказывают наличие в его составе глюкозы. Для этого к нему добавляют 3-4 мл 10% раствора HCl и кипятят 15-20 мин. Охлаждают и нейтрализуют смесь 10% раствором гидроксида натрия. Добавляют равные объемы Фелинговых жидкостей. Смесь нагревают до начала кипения. В присутствии глюкозы образуется осадок оксида меди красного цвета.

1.4 КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

- 1) Какое строение имеет гликоген?
- 2) Каков механизм синтеза гликогена?
- 3) Что служит исходным материалом для синтеза гликогена?
- 4) В каких случаях расходуется гликоген, для каких нужд организма?
- 5) Каков механизм распада гликогена?
- 6) Каковы конечные и промежуточные продукты распада гликогена?
- 7) Какое влияние оказывает различное содержание гликогена на состояние мышечной ткани при ее переработке?

- 8) В каких количествах содержится гликоген в различных органах?
- 9) Какие ферменты пищеварительного тракта действуют на дисахариды и полисахариды?
- 10) Каков механизм всасывания углеводов и какова сравнительная скорость всасывания отдельных гексоз и пентоз?
 - 1) Какой процесс называется гликогенолизом и в чем его отличие от гликолиза?
 - 2) Как осуществляется синтез глюкозы из неуглеводных компонентов?
 - 3) Как осуществляется окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты?
 - 4) Как распадается пировиноградная кислота в аэробных условиях?
 - 5) Каков полный энергетический эффект гликолитического расщепления глюкозы?

1.5. ЛИТЕРАТУРА

1. Рогожин В.В., Рогожина Т.В. Биохимия сельскохозяйственной продукции: Учебник для бакалавров.- СПб.: ГИОРД, 2014.- 544 с.
2. Горбатова, Ксения Константиновна. Биохимия молока и молочных продуктов: Рекомендовано в качестве учебника для студентов / К.К. Горбатова, П.И. Гунькова. - 4-е изд., перераб. и доп. - СПб.: ГИОРД, 2010. - 336 с

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 2

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛИПИДОВ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Липиды экстрагируют из биологического материала органическими растворителями, разделяют с помощью ТСХ на пластинках с закрепленным слоем силикагеля и определяют полуколичественно (по площади пятна).

ЭКСТРАКЦИЯ

В небольшую колбу с притертой пробкой помещают 5 г растительного или животного жира (жировой ткани) и заливают 25 мл смеси хлороформ:этанол (2 : 1) . Содержимое колбы энергично встряхивают в течение 3-5 мин и оставляют на 10 мин при комнатной температуре. Затем фильтруют через бумажный фильтр в фарфоровую чашку и упаривают досуха на бане при температуре не выше 80°C (под тягой). Остаток растворяют в 10 мл хлороформа и хранят в пробирке с притертой пробкой.

ПОДГОТОВКА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ КАМЕРЫ

Разделение липидов производят в системе (смеси растворителей) Н-гексан-диэтиловый эфир-ледяная уксусная кислота в соотношении 35:25:2 в любом герметически закрытом сосуде с плоским дном. Крышку нужно притереть к верхнему срезу сосуда смазкой. В камеру наливают смесь растворителей на высоту 0,5 см, плотно закрывают камеру и оставляют на 1 час для насыщения парами системы.

НАНЕСЕНИЕ ПРОБЫ НА ПЛАСТИНКУ

Экстракт липидов наносят на пластинку с помощью микропипетки (капилляра). Линия старта должна быть на расстоянии 1 см от нижнего края пластинки, расстояние между точками нанесения не менее 1 см. Пробу наносят очень маленькими каплями, не прикасаясь пипеткой к пластинке, в виде узкой горизонтальной полосы, капля к капле.

Общий объем наносимого экстракта – 0,05 мл.

ХРОМАТОГРАФИРОВАНИЕ

Пластинку помещают в камеру. Нижний край пластинки должен быть погружен в раствор на 0,5 см. Камеру герметично закрывают. Разгонка продолжается до тех пор, пока фронт растворителя не поднимется на 7 см. Пластинку высушивают на воздухе до исчезновения запаха растворителя, выдерживают в сушильном шкафу при температуре 80-100°C до появления синих пятен липидов.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЛИПИДОВ И РАСЧЕТ СОДЕРЖАНИЯ



Содержание отдельных фракций (в %) рассчитывают по площади пикетов с учетом поправочных коэффициентов: фосфолипиды – 2,5; стеринны – 0,06; Свободные жирные кислоты 2,0; триглицериды – 1,0; эфиры стериннов + углеводороды – 1,0. Сумму площадей принимают за 100%.

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

1. Все органические растворители: гексан, хлороформ, этанол, диэтиловый эфир – в той или иной степени ядовиты и огнеопасны, поэтому работать с ними нужно в вытяжном шкафу и ни в коем случае не засасывать пипетку ртом – использовать для этого резиновую грушу.

2. Диэтиловый эфир легко воспламеняется, а пары его в воздухе образуют горючие смеси (летучие, температура кипения около 36°C), поэтому при работе с ним необходимо соблюдать **ОСТОРОЖНОСТЬ!**

3. При выполнении данной работы в лаборатории не должно быть открытого огня. **ГАЗОВЫЕ ГОРЕЛКИ НЕ ВКЛЮЧАТЬ!**

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

- 1) Определение понятия «липиды».
- 2) Биологическая роль липидов.
- 3) На чем основана классификация липидов?
- 4) От чего зависит жирнокислотный состав ацилглицериннов?
- 5) Характеристика фосфолипидов, какие свойства их используют при выделении?

- 6) Переваривание, всасывание липидов.
- 7) Какова химическая природа желчных кислот?
- 8) Каким образом глицерин включается в обмен углеводов?
- 9) Сущность процессов, протекающих при окислении липидов.
- 10) β - окисление жирных кислот. Какие ферменты катализируют этот процесс?
- 11) Приведите принципиальную схему синтеза ацилглицеринов.
- 12) Окисление ненасыщенных жирных кислот.
- 13) Каким путем синтезируются жирные кислоты в организме?
- 14) Биосинтез фосфоглицеридов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рогожин В.В., Рогожина Т.В. Биохимия сельскохозяйственной продукции: Учебник для бакалавров.- СПб.: ГИОРД, 2014.- 544 с.
2. Горбатова, Ксения Константиновна. Биохимия молока и молочных продуктов: Рекомендовано в качестве учебника для студентов / К.К. Горбатова, П.И. Гунькова. - 4-е изд., перераб. и доп. - СПб.: ГИОРД, 2010. - 336 с

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 3

ХИМИЧЕСКАЯ ПРИРОДА БЕЛКА. ВЫСАЛИВАНИЕ

ЦЕЛЬ И СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Целью работы является овладение методиками проведения цветных реакций на присутствие белка, изучение растворимости белков различных классов и процесса высаливания белков.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ

Белки (протеины) – высокомолекулярные соединения, построенные из остатков α -аминокислот, ковалентно связанных пептидной связью. В молекулах белков встречаются остатки в основном 20 аминокислот. Аминокислотная последовательность является специфической характеристикой данного белка. Различают простые и сложные белки. Простые белки дают при гидролизе только аминокислот, в состав сложных белков входят дополнительные атомные группы. Белки имеют трехмерную структуру, которая стабилизируется водородными, ионными и неполярными связями. Белки содержат большое число ионизирующихся групп и являются полиэлектролитами. Для каждого класса белков характерно чрезвычайное разнообразие функций. Белки выполняют такие важные функции, как каталитическую, структурную, транспортную, защитную, регуляторную, сократительную и другие.

ЦВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ.

Цветные реакции белков обуславливаются наличием в белковой молекуле определенных атомных групп, образующих с соответствующими реактивами окрашенные соединения. Цветные реакции дают возможность до некоторой степени судить о составе белков.

БИУРЕТОВАЯ РЕАКЦИЯ (ПИОТРОВСКОГО)

При добавлении к щелочному раствору белка раствора сернокислой меди жидкость приобретает красно-фиолетовое или сине-фиолетовое окрашивание. Реакция обусловлена присутствием в белке пептидных связей, которые с ионами меди образуют окрашенные солеобразные комплексные соединения.

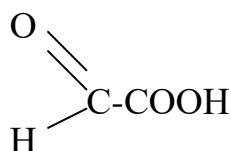
КСАНТОПРОТЕИНОВАЯ РЕАКЦИЯ БЕЛКОВ.

Белки при нагревании с крепкой азотной кислотой дают желтое окрашивание, которое после подщелачивания переходит в оранжевое. Реакция указывает на присутствие в белке циклических аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана) и основана на образовании нитропроизводных этих аминокислот.

Циклические аминокислоты при обработке концентрированной азотной кислотой подвергаются нитрованию.

РЕАКЦИЯ АДАМКЕВИЧА.

При добавлении к раствору белка незначительного количества глиоксильной кислоты:



в присутствии крепкой серной кислоты получается красно-фиолетовое окрашивание. Эта реакция связана с присутствием в молекуле белка аминокислоты триптофана и основана на способности триптофана в кислой среде вступать в реакцию с альдегидами, образуя при этом окрашенные продукты конденсации.

Глиоксильная кислота всегда присутствует в небольшом количестве в ледяной уксусной кислоте, поэтому последнюю используют как источник глиоксильной кислоты.

РЕАКЦИЯ ФОЛЯ.

При добавлении к раствору белка крепкой щелочи, уксуснокислого свинца и последующем кипячении раствор начинает темнеть, реакция обусловлена присутствием в белке серосодержащих аминокислот: цистина, цистеина и метионина. Эти аминокислоты при нагревании в присутствии крепкой щелочи разрушаются с образованием сернистого натрия.

РАСТВОРИМОСТЬ БЕЛКОВ.

Многие белки хорошо растворяются в воде, что обусловлено наличием на поверхности белковой молекулы свободных гидроксильных групп. Различные белки растворяются по-разному. Растворимость белка в воде зависит от

характера белка, реакции среды, присутствия катализатора. В кислой среде лучше растворяются белки, обладающие кислыми свойствами (альбумин, глобулин, проламин), щелочные белки (протамины и гистоны) лучше растворяются в щелочной среде.

ВЫСАЛИВАНИЕ БЕЛКОВ

Высаливанием белков называют выделение белков из водных растворов нейтральными растворами концентрированных солей щелочных и щелочноземельных металлов.

При добавлении достаточно больших концентраций этих солей к раствору белка происходит дегидратация белковых частиц и снятие заряда, при этом белок выпадает в осадок. Разные белки осаждаются при различных концентрациях солей, что зависит от ионной силы осадителя и размера частиц белковой молекулы. Например, глобулин, имеющий большой молекулярный вес, по сравнению с альбумином, легче выпадает в осадок, чем альбумин.

АППАРАТУРА И МАТЕРИАЛЫ:

1% р-р яичного белка, 10% р-р NaOH, 1% р-р CuSO₄, конц. HNO₃, конц. р-р аммиака или 30% р-р NaOH, конц. CH₃COOH, конц. H₂SO₄, 5% PB(CH₃COO)₂, неразведенный яичный белок, H₂O дист., 5% р-р NaCl, насыщ. р-р (NH₄)₂SO₄, порошок сернокислого аммония, Пробирки, воронки, фильтры, пипетки глазные, баночки, водяная баня, штативы.

УКАЗАНИЯ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ

Работы с концентрированными растворами кислот и щелочей проводить в вытяжном шкафу при включенной вентиляции.

Методика и порядок выполнения работы

БИУРЕТОВАЯ РЕАКЦИЯ. (ПИОТРОВСКОГО)

В пробирку наливают 5 капель 1%-го раствора яичного белка, добавляют 5 капель 10% раствора едкого натра и 1 каплю 1% раствора сернокислой меди. В пробирке появляется устойчивое красно-фиолетовое или сине-фиолетовое окрашивание.

КСАНТОПРОТЕИНОВАЯ РЕАКЦИЯ БЕЛКОВ.

В пробирку наливают 5 капель 1% раствора яичного белка, добавляют 3 капли концентрированной азотной кислоты (**ОСТОРОЖНО!**) и нагревают. Жидкость окрашивается в лимонно-желтый цвет. Пробирку охлаждают и после этого осторожно добавляют 10 капель концентрированного раствора аммиака или 30% раствора едкого натра. Желтая окраска переходит в оранжевую.

РЕАКЦИЯ АДАМКЕВИЧА.

В пробирку наливают 5 капель 1% раствора яичного белка, добавляют 5 капель концентрированной уксусной кислоты. Раствор сначала слегка нагревают и по стенке пробирки осторожно, чтобы жидкости не смешивались (подслаивание), приливают 10 капель концентрированной серной кислоты. При стоянии в пробирке на границе 2-х слоев жидкости наблюдается фиолетовое окрашивание в виде кольца. Появление окраски можно ускорить, поместив пробирку в кипящую водяную баню.

РЕАКЦИЯ ФОЛЯ.

В пробирку наливают 5 капель 1% раствора яичного белка, добавляют 5 капель 30% раствора едкого натра и 1 каплю 5% раствора уксуснокислого свинца. При интенсивном кипячении жидкость в пробирке темнеет, образуется черный осадок сернистого свинца.

РАСТВОРИМОСТЬ БЕЛКОВ.

В пробирку наливают 2 капли яичного белка и 20 капель воды, перемешивают. При этом яичный альбумин растворяется, а глобулин выпадает в осадок. В другую пробирку наливают две капли яичного белка и 20 капель 5% раствора хлористого натрия. Результаты внести в таблицу 2.1.

Таблица 2.1.

Название белка	Вода	5%-ный раствор NaCl	Образование осадка (+,-)

ВЫСАЛИВАНИЕ БЕЛКОВ

В пробирку наливают 20 капель не разведенного яичного белка, добавляют равный объем насыщенного раствора сернокислого аммония и перемешивают. Получается полунасыщенный раствор сернокислого аммония, при котором выпадает осадок (КАКОЙ БЕЛОК?). Через 5 минут осадок отфильтровывают. В фильтрате остается другой белок (КАКОЙ?). К фильтрату добавляют измельченный порошок сернокислого аммония до полного насыщения. Выпавший осадок отфильтровывается. Фильтрат проверяют на полноту осаждения, проделав биуретовую реакцию. Для этого к фильтрату добавляют несколько капель 10% едкого натра и 1% раствора сернокислой меди. Если прошло неполное высаливание белков, фильтрат приобретет красно-фиолетовое окрашивание, что свидетельствует о наличии белка. Результаты работы занести в таблицу 3.1.

Таблица 3.1.

Название белка	Используемая соль	Степень насыщения	Образование осадка (+,-)

СОДЕРЖАНИЕ ОТЧЕТА И ЕГО ФОРМА

В отчет по работе включаются краткий конспект методики выполнения работы, наблюдения и выводы по каждому опыту, наблюдения по опытам 2 и 3 оформляются в виде таблиц 2.1. и 3.1.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАЩИТА РАБОТЫ

Для допуска к лабораторной работе:

- 1) Как связаны между собой аминокислоты в молекуле белка?
- 2) По какому признаку классифицируются аминокислоты?
- 3) Чем обусловлены цветные реакции на белки?
- 4) Написать трипептид из различных аминокислот.
- 5) На чем основано растворение белка?
- 6) Что такое высаливание белка?

Для защиты лабораторной работы необходимо знать теоретический материал по следующим темам:

- функции белков,
- характеристика аминокислот ,
- структура белков.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Рогожин В.В., Рогожина Т.В. Биохимия сельскохозяйственной продукции: Учебник для бакалавров.- СПб.: ГИОРД, 2014.- 544 с.
2. Горбатова, Ксения Константиновна. Биохимия молока и молочных продуктов: Рекомендовано в качестве учебника для студентов / К.К. Горбатова, П.И. Гунькова. - 4-е изд., перераб. и доп. - СПб.: ГИОРД, 2010. - 336 с

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 4

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ПРОСТЫХ БЕЛКОВ

ЦЕЛЬ И СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Целью работы является изучение реакций коагуляции белков под действием различных осадителей.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ

Реакции осаждения белков весьма разнообразны, однако их можно разделить на две группы:

а) практически необратимые реакции осаждения, при которых белки претерпевают глубокие изменения и не могут быть вновь растворены в первоначальном растворителе: в этом случае имеет место денатурация белка; к необратимым реакциям относятся осаждение белка солями тяжелых металлов, алкалоидными реактивами, минеральными, органическими кислотами и осаждение при нагревании;

б) обратимые реакции осаждения, при которых осаждаемые белки не подвергаются глубоким изменениям и поэтому могут быть растворены в первоначальном растворителе; молекулы белка при этом сохраняют свои первоначальные, включая биологические, свойства и не подвергаются денатурации.

К обратимым реакциям осаждения следует отнести реакции осаждения белков органическими растворителями (спиртом или ацетоном) и реакции высаливания белков (осаждение под влиянием концентрированных растворов нейтральных солей щелочных и щелочноземельных материалов).

ОСАЖДЕНИЕ БЕЛКА ПРИ НАГРЕВАНИИ

Почти все белки денатурируют при нагревании до температуры от 50°C до 55°C и выше. Механизм тепловой денатурации связан с перестройкой структуры белковой молекулы, в результате которой белок теряет свои нативные свойства и растворимость. Присутствие солей и концентрация водородных ионов играют важную роль в выпадении в осадок денатурированного при нагревании белка.

Наиболее полное осаждение происходит в изоэлектрической точке белка, т.е. при такой величине рН, когда коллоидные частицы белка наименее устойчивы.

ОСАЖДЕНИЕ БЕЛКА КОНЦЕНТРИРОВАННЫМИ МИНЕРАЛЬНЫМИ КИСЛОТАМИ

Осаждение белка концентрированными минеральными кислотами (кроме ортофосфорной кислоты) объясняется как явлениями дегидратации белковых частиц и нейтрализации их зарядов, так и рядом других причин (денатурацией, образованием солей).

В избытке серной или соляной кислот, а также при их длительном воздействии, выпавший осадок денатурированного белка растворяется, по-видимому, за счет перезарядки белка и частичного гидролиза. В избытке азотной кислоты этого растворения не происходит (возможно сопутствующий нитрат-ион мешает перезарядке белковой молекулы).

ОСАЖДЕНИЕ БЕЛКА ОРГАНИЧЕСКИМИ КИСЛОТАМИ

Механизм осаждения белков органическими кислотами объясняется дегидратацией белковой молекулы и снятием заряда.

ОСАЖДЕНИЕ БЕЛКА СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

При действии солей тяжелых металлов на растворы белка происходит денатурация белковой молекулы. Осаждение дегидратированного белка обусловлено адсорбцией тяжелого металла на поверхности белковой молекулы и образованием нерастворимых комплексов. Избыток некоторых солей ведет к растворению (пептизации) осадка белков.

АППАРАТУРА И МАТЕРИАЛЫ

1 % р-р яичного белка, 1% CH_3COH , 10 % CH_3COH , насыщенный раствор NaCl , 10 % NaOH , конценр. HCl , конц. H_2SO_4 , конц. HNO_3 , 10 % раствор сульфосалициловая кислота, 10% ТХУ, 7% Cu SO_4 , 5% $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, 5% AgNO_3 , неразведенный яичный белок, пробирки – 13 штук на человека, глазные пипетки для реактивов, баночки майонезные, водяная баня.

УКАЗАНИЯ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ

Работы с концентрированными растворами кислот и щелочей проводить в вытяжном шкафу при включенной вентиляции.

Методика и порядок выполнения работы

1. ОСАЖДЕНИЕ БЕЛКА ПРИ НАГРЕВАНИИ

В пять пронумерованных пробирок наливают по 10 капель 1%-го раствора яичного белка. Содержимое первой пробирки нагревают на газовой горелке. Жидкость мутнеет, так как частицы денатурированного белка несут заряд, они удерживаются во взвешенном состоянии (яичный альбумин является кислым белком и в нейтральной среде заряжается отрицательно).

Во вторую пробирку добавляют 1 каплю 1%-й уксусной кислоты и нагревают. Выпадает осадок белка вследствие того, что белок теряет заряд и находится в состоянии, близком к изоэлектрической точке.

В третью пробирку добавляют 1 каплю 10%-го раствора уксусной кислоты и содержимое нагревают. Осадка не образуется даже при кипячении, так как в кислой среде частицы белка перезаряжаются, приобретая положительный заряд.

В четвертую пробирку добавляют 1 каплю 10%-го раствора уксусной кислоты и 1 каплю насыщенного раствора хлористого натрия. Образуется осадок белка вследствие адсорбции ионов хлористого натрия (образование двойного изоэлектрического слоя) и нейтрализации положительного заряда на частицах белка.

В пятую пробирку добавляют 1 каплю 10%-го раствора едкого натра и нагревают. Осадка белка не образуется даже при кипячении, так как в щелочной среде отрицательный заряд на частице белка усиливается.

Результаты работы внести в таблицу 2.1

Таблица 2.1

Нейтральная среда	Слабокислая среда	Кислая среда	Кислая среда и электролит	Щелочная среда

2 ОСАЖДЕНИЕ БЕЛКА КОНЦЕНТРИРОВАННЫМИ МИНЕРАЛЬНЫМИ КИСЛОТАМИ

В три пробирки наливают по 15-20 капель концентрированной соляной, серной и азотной кислот. Затем, наклонив пробирки под углом 45°, осторожно

по стенке пробирки (чтобы жидкости не смешались) наливают равный объем раствора белка. На границе двух слоев жидкости появляется осадок белка в виде тонкой пленки. Осторожно встряхивая пробирки, обнаруживают растворение осадка белка.

3. ОСАЖДЕНИЕ БЕЛКА ОРГАНИЧЕСКИМИ КИСЛОТАМИ

В две пробирки наливают по 5 капель 1%-го раствора белка и по 1-2 капли 10%-го раствора сульфосалициловой и трихлоруксусной кислот. В обеих пробирках образуются осадки белка.

4. ОСАЖДЕНИЕ БЕЛКА СОЛЯМИ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

В три пробирки наливают по 5 капель 1%-го раствора яичного белка и по 1 капле: в первую – 7%-го раствора сернокислой меди, во вторую – 5%-го раствора уксуснокислого свинца, в третью – 5%-го раствора азотнокислого серебра. Наблюдается образование осадка во всех трех пробирках.

В первую пробирку добавляют еще 5-10 капель раствора сернокислой меди, во вторую – 5-20 капель уксуснокислого свинца, в третью – 5-10 капель азотнокислого серебра. Пронаблюдать, что происходит. Результаты работы внести в таблицу 2.2.

Таблица 2.2

Название групп осадителей	Употребляемые реактивы	Характер и цвет осадка	Чем обусловлена реакция

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

Для допуска к работе:

- 1) Что такое белок и какова его биологическая роль?
- 2) Как связаны аминокислоты между собой в молекуле белка?
- 3) В каких пределах варьируется молекулярный вес белков?
- 4) Физические свойства белковых веществ.
- 5) Какие свойства положены в основу классификации белков?
- 6) Какие существуют дополнительные связи (помимо пептидной), сохраняющие пространственную конфигурацию молекул белка?

- 7) Чем обусловлены реакции осаждения белков?
- 8) При каких температурных условиях возможно осаждение белков?
- 9) Что такое изоэлектрическая точка? Почему она различна для разных белков?
- 10) Назвать белки основного и кислотного характера.
- 11) Что такое денатурация?
- 12) Чем может быть вызвана денатурация белков?
- 13) От чего зависит заряд белка в водном растворе?

Для защиты работы знать теоретический материал по следующим темам:

- свойства белков,
- методы выделения белков из биологического материала,
- классификация простых белков.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Рогожин В.В., Рогожина Т.В. Биохимия сельскохозяйственной продукции: Учебник для бакалавров.- СПб.: ГИОРД, 2014.- 544 с.
2. Горбатова, Ксения Константиновна. Биохимия молока и молочных продуктов: Рекомендовано в качестве учебника для студентов / К.К. Горбатова, П.И. Гунькова. - 4-е изд., перераб. и доп. - СПб.: ГИОРД, 2010. - 336 с

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 5

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА СЛОЖНЫХ БЕЛКОВ

ЦЕЛЬ И СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Целью работы является изучение состава сложных белков некоторых классов – нуклео-, глико- и фосфопротеинов, и овладение методиками определения их компонентов.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ

Сложные белки при гидролизе распадаются на простые белки и небелковую часть, называемую простетической группой. В качестве простетической группы в состав сложных белков могут входить нуклеиновые кислоты, углеводы, фосфорная кислота и другие.

Сложные белки подразделяются на подгруппы в зависимости от характера простетических групп. К важнейшим сложным белкам относятся: нуклеопротеины, гликопротеины, фосфопротеины, хромопротеины, липопротеины. Они выполняют в организме различные функции. К сложным белкам относятся и некоторые ферменты.

Нуклеопротеины – сложные белки, простетической группой которых являются нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК).

В дезоксирибонуклеинопротеинах и рибонуклеинопротеинах нуклеиновые кислоты связаны с белками ионными (солевыми) связями, которые легко могут диссоциировать при выделении нуклеопротеинов.

Выделение нуклеопротеинов возможно следующими способами :

- извлечение дистиллированной водой с последующим осаждением нуклеопротеинов слабой кислотой (например, уксусной кислотой);
- экстракция слабым щелочным раствором с последующим действием уксусной кислотой;
- экстракция растворами солей средней концентрации из которых нуклеопротеины осаждаются при разбавлении экстракта;
- ультрацентрифугирование в градиенте плотности сахарозы;
- фильтрование через гель сефадекса или другие декстраны.

Гликопротеины – сложные белки, содержащие в качестве простетической группы углеводы и их производные (глюкозамин, глюкуроновую кислоту). Из гликопротеинов наиболее распространены муцин и мукоиды, входящие в состав всех тканей и жидкостей организма. Муцин содержится в слюне и других слизистых выделениях желез, мукоиды – в хрящах, связках и др. Гликопротеины не растворимы в воде, хорошо растворяются в щелочах, в кислой среде выпадают в осадок. При добавлении к муцину раствора α -нафтола и концентрированной серной кислоты появляется фиолетовое кольцо на границе раздела жидкостей.

Реакция обусловлена образованием оксиметилфурфуrolа из глюкозы, входящей в состав муцина. В присутствии концентрированной серной кислоты оксиметилфурфуrol, конденсируясь с α -нафтолом дает окрашенный продукт.

Фосфопротеины – сложные белки, в состав которых входит ортофосфорная кислота. К фосфопротеинам относятся казеины молока.

АППАРАТУРА И МАТЕРИАЛЫ

Дрожжи (10 грамм на человека ,прессованные), H_2SO_4 10 % Фелинг – 1, Фелинг – 2, молибденовый реактив, концентрированный раствор аммиака, аммиачный раствор Ag_2O , конц. CH_3COOH , 1% р-р (спиртов.), конц. H_2SO_4 , казеин (варить из молока), молибдат аммония в HNO_3 , 10% $NaOH$, 1% $CuSO_4$, большие пробирки – 3 шт., воздушный холодильник – 3 шт., водяная баня, пробирки – по 7 шт., пенициллиновые пузырьки, глазные палочки (стеклянные), глазные пипетки.

УКАЗАНИЯ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ

1. Работу с огнеопасными веществами (эфир) и концентрированными кислотами проводить под тягой.

2. При центрифугировании пробирки размещать друг против друга, предварительно уравновесив их.

1. При проведении гидролиза обязательно закреплять пробирку в штативе, установив воздушный холодильник, длина которого должна быть не менее 70-80 мм.

Методика и порядок выполнения работы

1. ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА НУКЛЕОПРОТЕИНОВ

1.1. ВЫДЕЛЕНИЕ РИБОНУКЛЕОПРОТЕИНОВ ИЗ ДРОЖЖЕЙ

10 г дрожжей смешивают в ступке со смесью из 2 мл эфира и 1 мл воды, добавляют 5 г песка и растирают, приливая к растертой массе небольшими порциями 40-50 мл 0,4% раствора едкого натра. Продолжают растирать суспензию еще в течение 15 минут. После этого осадок отделяют путем центрифугирования (или фильтрования). Фугат сливают в стакан центрифуги и добавляют небольшими порциями раствор 10% уксусной кислоты до слабокислой реакции по лакмусу. Полученный осадок нуклеопротеинов отделяют центрифугированием.

Примечание: прессованные дрожжи (2,5 грамм) можно залить 20 мл. 10% H_2SO_4 и сразу поставить на гидролиз.

1.2. ГИДРОЛИЗ НУКЛЕОПРОТЕИНОВ

В большую широкую пробирку с обратным воздушным холодильником помещают полученный осадок нуклеопротеинов и заливают 20 мл 10% серной кислоты. Пробирку закрепляют в штативе, смесь кипятят на сетке в течение 1 часа при слабом кипении.

Гидролизат охлаждают, фильтруют и в фильтрате открывают продукты гидролиза нуклеопротеинов (полипептиды, гетероциклические основания, углеводы, фосфорную кислоту).

1.3. КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОДУКТОВ ГИДРОЛИЗА НУКЛЕОПРОТЕИНОВ

1.3.1. Полипептиды открывают биуретовой реакцией.

1.3.2. Углеводы (рибозу и дезоксирибозу) определяют Фелинговой пробой. К 5-7 каплям гидролизата добавляют по 5 капель Фелинга 1 и Фелинга 2, тщательно перемешивают и нагревают пробирку до кипения. Отмечают образование осадка и его цвет.

1.3.3. Фосфорную кислоту определяют по молибденовой пробе. К 5 каплям гидролизата добавляют 10 капель молибденового реактива, кипятят на пламени горелки. В присутствии фосфорной кислоты жидкость окрашивается в лимонно-

желтый цвет. Пробирку охлаждают под струей воды и наблюдают выпадение осадка фосфорномолибденовокислого аммония.



1.3.4. Гетероциклические основания обнаруживают по их реакции с аммиачным раствором оксида серебра. К 2 мл гидролизата приливают по каплям концентрированный раствор аммиака до щелочной реакции по лакмусу и добавляют равный объем аммиачного раствора оксида серебра. Отмечают образование осадка.

2. ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ГЛИКОПРОТЕИНОВ

2.1. ВЫДЕЛЕНИЕ МУЦИНА ИЗ СЛЮНЫ

В пробирку берут около 2 мл слюны и по каплям прибавляют концентрированную уксусную кислоту (4-5 капель). Выпадает осадок муцина. Сгусток муцина вынимают стеклянной палочкой и помещают в чистую пробирку

2.2. НАФТОЛОВАЯ ПРОБА НА УГЛЕВОДНЫЙ КОМПОНЕНТ ГЛИКОПРОТЕИНОВ

К сгустку муцина добавляют 1-2 капли 1% раствора (спиртового) а-нафтола или тимола, перемешивают, а затем по стенке осторожно приливают 1 мл концентрированной серной кислоты. На границе 2-х слоев жидкостей появляется фиолетово-красное кольцо (хорошо заметно на белом фоне).

3. ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ФОСФОПРОТЕИНОВ

3.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОСФОРНОЙ КИСЛОТЫ В КАЗЕИНЕ.

К 1 мл раствора казеина добавляют 2 мл раствора молибдата аммония в азотной кислоте. Смесь слегка нагревают. Образуется осадок фосфорномолибденовокислого аммония $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3$.

3.2. ПРОБА НА ПОЛИПЕПТИДНЫЙ КОМПОНЕНТ КАЗЕИНА

Проба на полипептидный компонент казеина проводится по биуретовой реакции.

Контрольные вопросы

- 1) Что такое нуклеопротеины, из каких компонентов они состоят?
- 2) Структура нуклеиновых кислот.
- 3) К какой группе сложных белков относится гемоглобин, из каких компонентов построены его молекулы?
- 4) Какие белки относятся к фосфопротеинам и какова их роль в организме?
- 5) Что представляют собой гликопротеины и какова их роль в организме?
- 6) Какие белки относятся к липопротеинам и где они встречаются?
- 7) Хромопротеины и их роль в организме.
- 8) Какое строение имеет гем в гемоглобине и миоглобине?
- 9) Каков характер связи между простетической группы и белком в сложных белках?

Для защиты работы знать теоретической материал по темам:

- классификация сложных белков,
- строение и функции нуклеиновых кислот.

Литература:

1. Рогожин В.В., Рогожина Т.В. Биохимия сельскохозяйственной продукции: Учебник для бакалавров.- СПб.: ГИОРД, 2014.- 544 с.
2. Горбатова, Ксения Константиновна. Биохимия молока и молочных продуктов: Рекомендовано в качестве учебника для студентов / К.К. Горбатова, П.И. Гунькова. - 4-е изд., перераб. и доп. - СПб.: ГИОРД, 2010. - 336 с

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 6

ОБЩИЕ СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ. ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ ОТДЕЛЬНЫХ КЛАССОВ

ЦЕЛЬ И СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Целью работы является изучение влияния на активность ферментов основных факторов – температуры, рН, активаторов, ингибиторов, а также исследование действия ферментов отдельных классов.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ

При повышении температуры скорость ферментативных реакций возрастает так же, как скорость большинства химических реакций: с ростом температуры на 10 градусов скорость реакции увеличивается в 2-4 раза. Но такое увеличение скоростей для ферментативных реакций наблюдается в узком интервале температур. Температура, при которой отмечается максимальная скорость реакции, называется оптимальной и для большинства ферментов животного происхождения, она находится в пределах 37-40°C. После достижения оптимальной температуры скорость большинства ферментативных процессов начинает падать и при 100°C все ферменты теряют каталитические свойства. Это объясняется тепловой денатурацией белковой молекулы фермента.

Скорость ферментативных реакций зависит от содержания водород-ионов в среде. Концентрация ионов водорода, при которой наблюдается максимальная скорость реакции, называется оптимальной (оптимум рН). При небольшом отклонении от оптимума рН скорость ферментативной реакции замедляется, при резком отклонении – реакция прекращается полностью.

Влияние рН на активность ферментов объясняется тем, что белковая молекула фермента является амфотерным полиэлектролитом, каталитический эффект которого зависит от степени ионизации функциональных групп, которые входят в активный центр.

Гидролазы – ферменты, ускоряющие реакции гидролиза различных соединений. К классу гидролаз относится липаза – гидролаза эфиров глицерина. Она гидролизует триацилглицерины.

Липаза содержится в небольшом количестве в желудке, главным образом она входит в состав сока поджелудочной железы. Желудочная липаза может действовать только на предварительно эмульгированные жиры (например, на жир молока).

АППАРАТУРА И МАТЕРИАЛЫ

Концентрированный желудочный сок, 0,5 раствора крахмала, р-р I_2 в КJ, буферные растворы, 5% NaCl, 7% Cu SO₄, молоко, вытяжка, поджелудочной железы, 5% панкреатин, 1 % фенолфталеин, 1% Na₂CO₃, дист. вода, пробирки – 22 шт., лед, баня), банки майонезные, термостат, кипящая баня, стекла микробиологические, бюретки для буферов, (5 шт.), фильтры.

УКАЗАНИЯ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ

При работе в лаборатории соблюдать правила обращения со стеклом, химической посудой и реактивами, при работе с электроприборами - правила электробезопасности.

Методика и порядок выполнения работы

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

В 4 пробирки (1, 2, 3, 4) вносят по 10 капель 0,5% раствора крахмала. В 4 другие пробирки (5, 6, 7, 8) вносят по 10 капель разведенной в 10 раз слюны. Пробирки 1 и 5 помещают на 10 мин в лед. 2 и 6 оставляют при комнатной температуре, 3 и 7 ставят в термостат при температуре 37°C, 4 и 8 – в кипящую воду. Через 10 мин сливают вместе (попарно) содержимое пробирок, тщательно перемешивают и оставляют стоять 10 мин. Затем из каждой пробирки отбирают несколько капель (3-5) жидкости и проделывают на стекле реакцию с йодом. Если окраска получается синей, оставляют раствор еще на 10 мин и после этого повторяют реакцию с йодом на стекле до появления красновато-оранжевой окраски.

Полученные результаты занести в таблицу 4.1.

Таблица 4.1.

Номер пробирок	Температура, °С	Окраска с йодом
1 и 5	0	
2 и 6	20	
3 и 7	37	
4 и 8	100	

2. ЗАВИСИМОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ ОТ РЕАКЦИИ СРЕДЫ pH

Готовят 5 буферных растворов с pH от 5,5 до 7,8. К 10 мл приготовленных смесей добавляют по 1 мл слюны, разбавленной водой в 100 раз и 1 мл крахмала. Содержимое пробирок тщательно перемешивают и ставят в термостат при 37°C на 10 мин. После чего из пробирки 3 отбирают несколько капель жидкости и на стекле смешивают с I₂ (в KI). Если получается синее окрашивание, то реакцию с йодом повторяют каждые 5 мин до тех пор, пока не будет красного или оранжевого окрашивания, которое указывает на близкий конец гидролиза. Через 2-3 мин после появления подобной окраски все пробирки вынимают из термостата и помещают в стакан со льдом. После этого быстро добавляют в каждую пробирку по 2-3 капли раствора йода, перемешивают и отмечают окраску. Оптимальная pH для амилазы слюны будет в той пробирке, в которой крахмал полностью расщепился (при реакции с йодом окраска будет желтой). Фиолетовое, красно-фиолетовое и бурое окрашивание показывает меньшую степень расщепления крахмала.

Результаты опыта занести в таблицу 4.2

Таблица 4.2.

Номер пробирок	pH среды	Количество 0,5%-го раствора крахмала, мл	Количество слюны, 1:100. мл	Окраска с йодом
1	5,6	1	1	
2	6,4	1	1	
3	6,8	1	1	
4	7,2	1	1	
5	7,8	1	1	

Таблица для приготовления буферных растворов

Таблица 5.3.

рН	Количество 0,2 М раствора Na_2HPO_4 , мл	Количество 0,1 М раствора лимонной кислоты, мл
5,6	5,8	4,2
6,4	6,9	3,1
6,8	7,7	2,3
7,2	8,7	1,3
7,8	9,6	0,4

3. АКТИВАЦИЯ И ИНГИБИРОВАНИЕ АМИЛАЗЫ

В две пробирки вносят по 1 мл раствора хлорида натрия, сульфата меди, а в 3 пробирку – дистиллированную воду. Во все пробирки добавляют по 2 мл раствора крахмала и по 1 мл раствора разбавленной слюны. Все 3 пробирки одновременно помещают в водяную баню при 38°C.

Через 10-15 минут все пробирки одновременно охлаждают под струей воды и помещают в стакан со льдом (ледяной водой). Во все пробирки добавляют раствор йода. По окраске судят о скорости гидролиза крахмала.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАЩИТА РАБОТЫ

Для допуска к работе:

- 1) Какие вещества называются ферментами? Их химическая природа.
- 2) Различие в действии ферментов и неорганических катализаторов.
- 3) Какие известны общие свойства ферментов и факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций?
- 4) Какие существуют теории, объясняющие механизм действия ферментов?
- 5) Какие активаторы и ингибиторы ферментов известны?
- 6) Какие существуют способы выделения и очистки ферментов?
- 7) Строение ферментов.
- 8) Что представляет собой активный центр ферментов?

- 9) На чем основана классификация ферментов?
- 10) Какие ферменты относятся к классу оксидоредуктаз, Как они подразделяются?
- 11) Какие ферменты относятся к классу гидролаз и на какие группы они подразделяются?
- 12) Какова химическая природа никотинамидных (пиримидиновых), флавиновых и геминовых ферментов?

Для защиты лабораторной работы необходимо знать теоретический материал по теме «Ферменты».

Литература:

1. Рогожин В.В., Рогожина Т.В. Биохимия сельскохозяйственной продукции: Учебник для бакалавров.- СПб.: ГИОРД, 2014.- 544 с.
2. Горбатова, Ксения Константиновна. Биохимия молока и молочных продуктов: Рекомендовано в качестве учебника для студентов / К.К. Горбатова, П.И. Гунькова. - 4-е изд., перераб. и доп. - СПб.: ГИОРД, 2010. - 336 с

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 7

КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ВИТАМИНОВ

ЦЕЛЬ И СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Целью работы является изучение качественных реакций водо- и жирорастворимых витаминов, методов их количественного определения в биологических объектах и электрофоретического разделения.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ

Витамины – незаменимые для жизни органические вещества разнообразной структуры, являющиеся биологическими катализаторами химических реакций или реагентами фотохимических процессов, протекающих в клетке и участвующие в обмене веществ, как правило, в соединении со специфическими белками в составе ферментных систем.

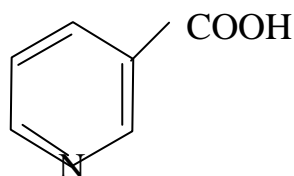
Тиамин (витамин В₁) – водорастворимый витамин. Наряду с аминогруппой витамин В₁ содержит атом серы и поэтому он получил название тиамин. В химической структуре он содержит 2 кольца пиримидиновое и тиазоловое, соединенные метиленовой (-CH₂) группой.

Тиамин (витамин В₁) – солянокислая соль.

При недостаточности тиамина развивается тяжелое заболевание бери-бери. В настоящее время уже имеются данные для подтверждения мнения, что это заболевание представляет собой комбинированный авитаминоз, при котором организм испытывает потребность и в других витаминах – рибофлавине, пиридоксине, витаминах РР, С и др. Из биохимических нарушений при авитаминозе В₁ следует отметить развитие отрицательного азотистого баланса, увеличение выделения с мочой аминокислот и креатина, а также резкое увеличение в крови концентрации α-кетокислот (в основном пировиноградной). Доказано, что содержание тиамина в сердечной мышце и печени у больных бери-бери в 5-6 раз ниже нормы. Тиамин широко распространен в природе. Содержится в пшеничном хлебе, сое, горохе, а также в продуктах животного происхождения - в печени, почках, мозге. Суточная потребность от 1,3 до 1,9 мг.

При действии железосинеродистого калия тиамин окисляется с образованием желтого пигмента тиохрома.

Никотиновая кислота (витамин РР) – витамин, относящийся к комплексу витамина В, необходимый человеку и многим другим млекопитающим. В виде амида никотиновая кислота входит в состав коферментов дегидрогеназ – НАД и НАДФ.

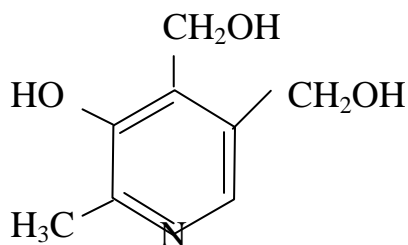


никотиновая кислота

Содержится в продуктах растительного и животного происхождения (молоко, мясо, рыба, дрожжи). Никотиновая кислота может синтезироваться в организме некоторых животных из триптофана. Суточная потребность человека в никотиновой кислоте – 15-20 мг.

При нагревании никотиновой кислоты с раствором уксуснокислой меди образуется синий осадок медной соли никотиновой кислоты.

Пиридоксин – витамин В₆. Термин «витамин В₆» применяется ко всем трем производным 3-оксипиридина, которые обладают витаминной активностью: пиридоксину, пиридоксалу, пиридоксамину.



пиридоксин

Витамин В₆ широко распространен в продуктах растительного и животного происхождения. Источником этого витамина для человека могут

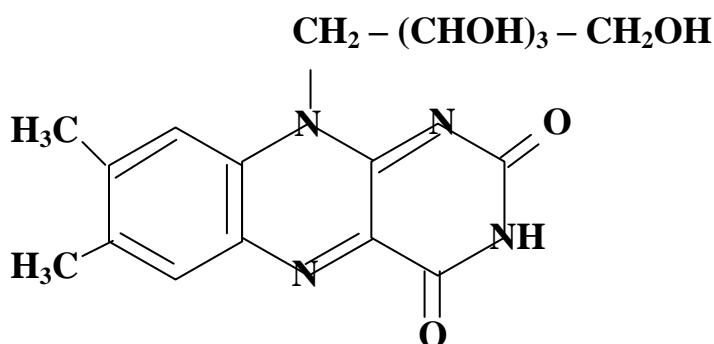
быть: горох, фасоль, хлеб, картофель, мясо. Суточная потребность для человека точно не установлена, т.к. он синтезируется микрофлорой кишечника.

Пиридоксаль (витамин В₆) – альдегидное производное пиридоксина.

В виде фосфорного эфира – пиридоксальфосфата входит в состав ряда ферментов, катализирующих реакции переаминирования и декарбоксилирования α-аминокислот.

При прибавлении к раствору витамина В₆ раствора хлорного железа, жидкость окрашивается в красный цвет вследствие образования комплексного соединения типа фенолята железа.

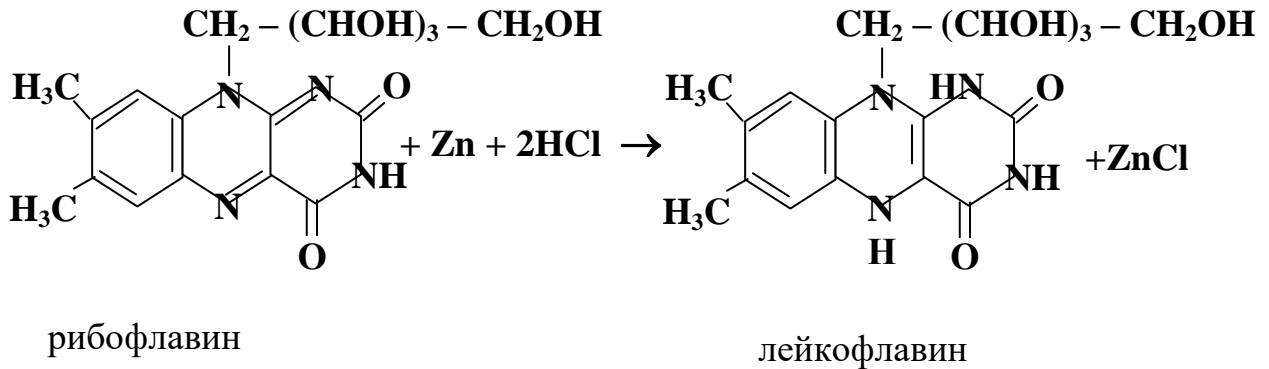
Рибофлавин (витамин В₂) – водорастворимый витамин. В основе его строения лежит система изоаллоксазина, в боковой цепи – пятиатомный спирт-рибитол:



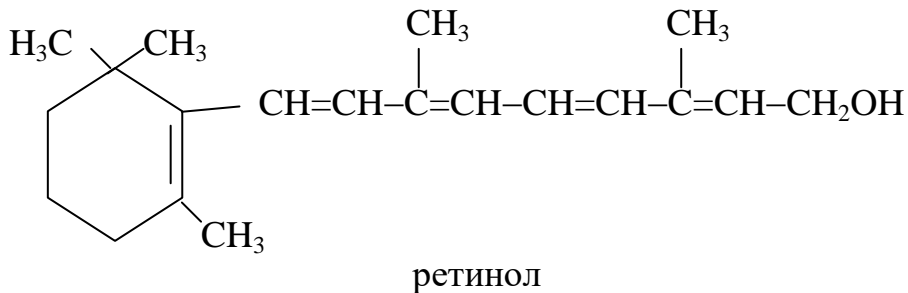
рибофлавин

Биологическая активность рибофлавина определяется его окислительно-восстановительными свойствами. Рибофлавин, присоединя два атома водорода, обратимо восстанавливается, переходя в бесцветное соединение – лейкофлавин. Входит в состав флавиновых дегидрогеназ. Из пищевых продуктов рибофлавином богаты: хлеб, (из муки грубого помола), семена злаков, яйца, молоко, мясо, свежие фрукты, овощи. В печени и почках животных рибофлавин связан с белками в составе ФМН и ФАД. Из организма человека и животных рибофлавин выделяется с мочой в свободном виде. Суточная потребность человека 2-4 мг.

При добавлении к раствору рибофлавина концентрированной соляной кислоты и металлического цинка происходит бурное выделение водорода и в конце реакции желтая окраска жидкости меняется. Реакция обусловлена восстановлением рибофлавина сначала в родофлавин (промежуточное соединение), а затем в лейкофлавин.

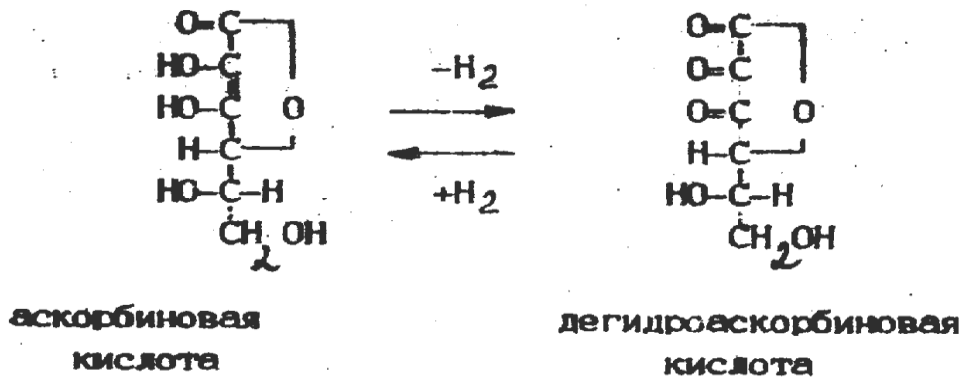


Ретинол (витамин А) – жирорастворимый витамин, молекула которого состоит из β -ионового ядра и боковой изопреноидной цепи:



Ретинол обладает высокой специфичностью строения. Изменения боковой цепи приводят к снижению или полной потере витаминной активности у полученных производных. Действие света, нагревание раствора, плавление кристаллов ретинола, контакт с поверхностно-активными веществами приводит к цис- транс- изомерным переходам. Провитаминами ретинола являются каротиноиды. Витамин необходим для нормального роста молодых организмов, обладает противомикробным действием, участвует в процессе восприятия света и выполняет ряд других биологических функций. Содержится в больших количествах в жире печени морских рыб и наземных животных. Наибольшее содержание каротиноидов в моркови, абрикосах, перце, томате.

Хлороформный раствор рыбьего жира, содержащий ретинол, при добавлении концентрированной серной кислоты, приобретает красное окрашивание, переходящее в красно-бурое.

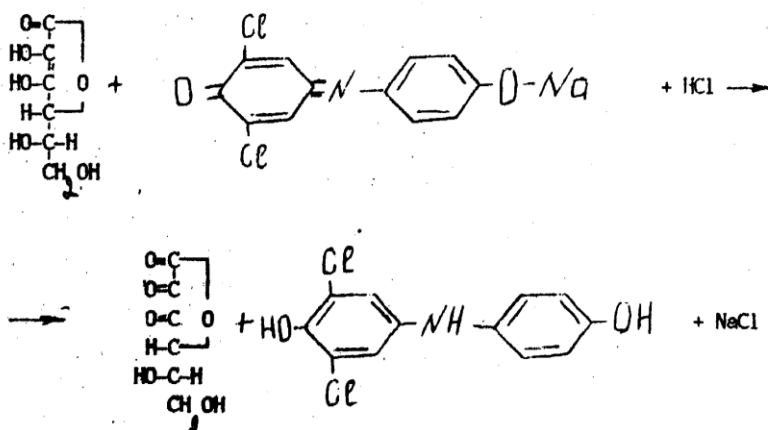


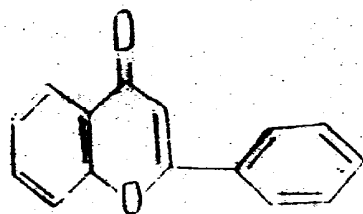
Эргокальциферол (витамин D₂) – жирорастворимый витамин, в основе строения которого лежит циклогексанпергидрофенантроновое ядро. При облучении ряда стероидов (7-дегидрохолестерина, эргостерина) УФ лучами образуются соответствующие витамины группы D. Рыбий жир, содержащий эргокальциферол, при добавлении раствора брома меняет окраску.

Витамин С (антискорбутный витамин) представляет собой аскорбиновую кислоту. Характерным свойством аскорбиновой кислоты является ее способность к окислению.

Она окисляется в дегидроаскорбиновую кислоту.

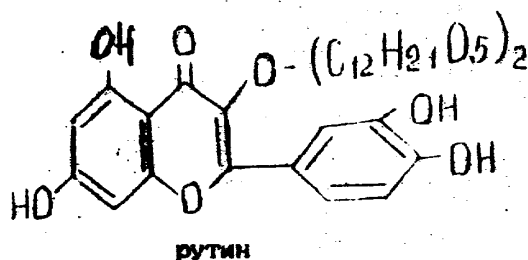
Способность витамина С к окислению используется для его количественного определения. Он может восстанавливать 2,6-дихлорфенолиндофенол, превращая его в бесцветное соединение: В нейтральной и щелочной среде водный раствор натриевой соли 2,6-





Флавои

дихлорфенолиндофенола окрашен в синий, в кислой среде – имеет розовую окраску, при рН 4,0-5,0 – фиолетовую.



рутин

Известно несколько соединений, обладающих Р-витаминной активностью. В основе их лежит скелет флавоиа. Наиболее изучены строение и свойства рутина.

Рутин – кристаллическое вещество желто-оранжевой окраски. Содержится во всех продуктах, в которых обнаруживается витамин С. Много его в чае, фруктах, ягодах (бруснике, клюкве, сливе, винограде).

Рутин участвует в окислительно-восстановительных процессах. Его присутствие усиливает окислительно-восстановительный эффект витамина С. Суточная потребность в витамине Р составляет около 50 мг. Витамином Р обогащают некоторые пищевые продукты.

Количественное определение рутина основано на его способности окисляться перманганатом калия.

В качестве индикатора применяют индигокармин, который вступает в реакцию с перманганатом после полного окисления всего рутина. Экспериментально установлено, что 1 мл 0,1 N раствора перманганата калия окисляет 6,4 мкг рутина.

ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ СМЕСИ ВИТАМИНОВ В₂ И В₁₂ НА БУМАГЕ.

Метод основан на способности органических веществ, обладающих свободным электрическим зарядом, двигаться по смоченной буферным раствором фильтровальной бумаге, через которую пропускается постоянный электрический ток.

В электрическом поле молекулы перемещаются к тому полюсу, заряд которого противоположен их собственным. Скорость перемещения молекул будет различной, в зависимости от величины их заряда. Это свойство лежит в основе разделения органических смесей методом электрофореза. На степень электрофоретического разделения веществ влияет и ряд других факторов: молекулярный вес, характер материала, на котором происходит разделение, напряжение электрического поля и др.

АППАРАТУРА И МАТЕРИАЛЫ

Витамин В₁ – тиамин (порошок или раствор), 5 % железосинеродистый калий, 10% NaOH, порошок никотиновой кислоты – вит. РР, 10% CH₃COOH, 5% Cu (CH₃COO)₂, вит. В₆ пиридоксин – р-р 5%, 5% FeCl₃, вит. В₂ – 0,025 % р-р, конц. HCl, Zn, молоко, насыщенный р-р NaCl,

0,001 н р-р 2,6 дихлофенолиндофенола, различные виды чая, кипяток, индигокармин, 0,05 н. раствора KMnO₄ или смесь вит. В₂ и В₁₂ в любой концентрации, буфер ацетатный рН 3,8, пробирки – 4 шт., глазные пипетки, баночки майонезные, варианты молока в баночках, фильтры, фильтров. бумаги разм. 40 x 300 мм., электрофорез, термостат, коническая колбочки, микробюретки – 2, водяная баня, ультрафиолетовый аппарат.

УКАЗАНИЯ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ

1. При проведении электрофореза не включать напряжение при снятой крышке камеры.
2. Работу с концентрированными кислотами проводить в вытяжном шкафу.

Методика и порядок выполнения работы

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИАМИНА

К 1-2 мг порошка тиамин добавляют 1-2 капли 5% раствора железосинеродистого калия. 10 капель едкого натра (10% раствор) и перемешивают. При нагревании жидкость окрашивается в желтый цвет, вследствие превращения тиамин в тиохром. При освещении ультрафиолетовыми лучами тиохрома видна голубая флуоресценция.

2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ

5-10 мг никотиновой кислоты растворяют при нагревании в 10-20 каплях 10% раствора уксусной кислоты. К нагретому до кипения раствору добавляют равный объем 5% раствора уксуснокислой меди. Жидкость окрашивается в голубой цвет, а при стоянии выпадает синий осадок медной соли никотиновой кислоты.

3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПИРИДОКСИНА

К 5 каплям раствора витамина В₆ прибавляют 1 каплю 5% раствора хлорного железа. Встряхивают, жидкость приобретает красную окраску.

4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ РИБОФЛАВИНА

В пробирку наливают 10 капель взвеси рибофлавина в воде (0,025%), добавляют 5 капель концентрированной соляной кислоты и опускают зернышко металлического цинка. Начинается бурное выделение водорода и идет изменение окраски. Отметить изменение окраски в начале и в конце реакции.

5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ РЕТИНОЛА

В сухую пробирку с 1 мл рыбьего жира в хлороформе вносят 1 каплю концентрированной серной кислоты. Жидкость окрашивается в красный цвет.

6. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭРГОКАЛЬЦИФЕРРОЛА

В сухую пробирку вносят 1-3 капли рыбьего жира и 2-4 капли раствора брома в хлороформе. Отметить изменение окраски.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ ВИТАМИНОВ

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С

К 50 мл молока приливают 4 мл насыщенного раствора щавелевой кислоты. После взбалтывания приливают 10 мл насыщенного раствора

хлористого натрия, перемешивают и фильтруют. 25 мл фильтрата переносят в коническую колбу и титруют из микробюретки 0,001 N раствором 2,6 дихлорфенолиндофенола до розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 секунд. Если результаты титрования параллельных проб не совпадают, производят еще титрование двух проб.

1 мл 0,001 N раствора 2,6 дихлорфенолиндофенола соответствуют 0,088 мг аскорбиновой кислоты.

2. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА Р (РУТИНА) В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ

К 100 мг чая (или другого воздушно-сухого материала) приливают 50 мл горячей воды и проводят экстракцию в течение 5 мин.

10 мл экстракта отмеривают в колбу для титрования (емкостью 50-100 мл), добавляют 10 мл дистиллированной воды и 10 капель индигокармина. Титруют 0,05 N раствором перманганата калия до появления устойчивой желтой окраски.

Содержание рутина (в мг%) определяют по формуле:

$$X = (3,2 \cdot A \cdot 50 \cdot 100) / (10 \cdot 0,1 \cdot 1000), \text{ где}$$

A – количество 0,05 N раствора перманганата калия, пошедшего на титрование;

0,1 – масса навески, г;

10 – количество экстракта, взятого для анализа, мл;

50 – количество экстрагента (воды), мл;

10 и 1000 – переводные коэффициенты (в % и мкг в г).

3. ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЕ РАЗДЕЛЕНИЕ СМЕСИ ВИТАМИНОВ В₂ И В₁₂ НА БУМАГЕ.

После ознакомления с прибором и принципом его работы, вырезают полосу фильтровальной бумаги 40 x 300 мм и отмечают простым карандашом место нанесения смеси витаминов. Смесь наносят на бумагу у анодного (+) конца на расстоянии 100 мм от внутреннего края камеры. В кислой среде положительно заряженные молекулы разделяемых витаминов движутся к катоду. Полосу бумаги смачивают ацетатным буфером (рН 3,8) и просушивают

между двумя листами фильтровальной бумаги. Затем эту полосу помещают в камеру для электрофореза, накладывая ее без перекосов, а концы опускают до дна кюветы. В точки, отмеченные карандашом через прорези, с помощью микропипетки наносят по 0,01 мл смеси витаминов в виде поперечной полосы не более 5 мм. В кюветы заливают по 500 мл ацетатного буфера с pH 3,8. Уровень его в правой и левой кювете выравнивают нажатием кнопки, которую необходимо застопорить рычагом. После выравнивания уровней кнопку освобождают, камеру закрывают крышкой и герметизируют. Затем включают ток и устанавливают напряжение 380 В.

После окончания электрофореза, который длится 3-4 ч, ток выключают и бумажные полосы извлекают из прибора. Концы полос, которые были погружены в буферный раствор, обрезают. Затем электрофореграмму подвешивают в вертикальном положении и помещают в сушильный шкаф на 15 мин при температуре 105-115°C.

На электрофореграмме будут четко различимы окрашенные полосы, которые находятся в разном состоянии от места старта. Первая из этих полос (ярко-красного цвета) – витамин В₁₂. Вторая (бледнее по окраске и менее интенсивная) – псевдокобаламин, третья и четвертая полосы – факторы А и В.

Витамин В₁₂ – полоса желтого цвета, четко ограниченная и тянущаяся от места нанесения (старта) к полосе витамина В₁₂.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ И ЗАЩИТА РАБОТЫ

Для допуска к работе:

- 6) Что такое витамины? Когда и кем они открыты?
- 7) Какие витамины относятся к группе жирорастворимых?
- 8) Какова структура витаминов группы «А» и их физико-химические свойства?
- 9) Какие из известных провитаминов обладают наибольшей активностью витамина А и как они используются в организме?
- 10) Витамин D и его химическое строение. биологическая роль, источники и провитамины.

11) Какие стерины и при каких условиях синтезируются в витамины группы «D» в организме?

12) Каковы физико-химические свойства никотиновой кислоты?

13) Каково строение рибофлавина? Его распространение в природе и участие в обмене веществ.

14) Какова химическая природа тиамина? Пищевые источники этого витамина.

15) В состав каких ферментов входит пиридоксин? Какова его химическая природа?

11) Какие свойства аскорбиновой кислоты и 2,6-дихлорфенолиндофенола лежат в основе количественного определения витамина С?

12) Почему титрование витамина С ведут в кислой среде?

13) Какие продукты образуются при окислении витамина С?

14) На чем основано разделение витаминов методом электрофореза?

15) В чем заключается принцип метода количественного определения витамина Р?

16) Какова суточная потребность в витаминах С, В₂, В₁₂, Р?

17) В чем состоит биологическая роль водорастворимых витаминов?

Для защиты лабораторной работы знать теоретический материал по теме «Витамины».

Литература

1. Рогожин В.В., Рогожина Т.В. Биохимия сельскохозяйственной продукции: Учебник для бакалавров.- СПб.: ГИОРД, 2014.- 544 с.

2. Горбатова, Ксения Константиновна. Биохимия молока и молочных продуктов: Рекомендовано в качестве учебника для студентов / К.К. Горбатова, П.И. Гунькова. - 4-е изд., перераб. и доп. - СПб.: ГИОРД, 2010. - 336 с

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 8 ОБЩИЕ СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ. ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ ОТДЕЛЬНЫХ КЛАССОВ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

При повышении температуры скорость ферментативных реакций возрастает так же, как скорость большинства химических реакций: с ростом температуры на 10 градусов скорость реакции увеличивается в 2-4 раза. Но такое увеличение скоростей для ферментативных реакций наблюдается в узком интервале температур. Температура, при которой отмечается максимальная скорость реакции, называется оптимальной и для большинства ферментов животного происхождения, она находится в пределах 37-40°C. После достижения оптимальной температуры скорость большинства ферментативных процессов начинает падать и при 100°C все ферменты теряют каталитические свойства. Это объясняется тепловой денатурацией белковой молекулы фермента.

В 4 пробирки (1, 2, 3, 4) вносят по 10 капель 0,5% раствора крахмала. В 4 другие пробирки (5, 6, 7, 8) вносят по 10 капель разведенной в 10 раз слюны. Пробирки 1 и 5 помещают на 10 мин в лед. 2 и 6 оставляют при комнатной температуре, 3 и 7 ставят в термостат при температуре 37°C, 4 и 8 – в кипящую воду. Через 10 мин сливают вместе (попарно) содержимое пробирок, тщательно перемешивают и оставляют стоять 10 мин. Затем из каждой пробирки отбирают несколько капель (3-5) жидкости и проделывают на стекле реакцию с йодом. Если окраска получается синей, оставляют раствор еще на 10 мин и после этого повторяют реакцию с йодом на стекле до появления красновато-оранжевой окраски.

Полученные результаты занести в таблицу 6.1.

Таблица 6.1.

Номер пробирок	Температура, °С	Окраска с йодом
1 и 5	0	
2 и 6	20	
3 и 7	37	
4 и 8	100	

ЗАВИСИМОСТЬ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ ОТ РЕАКЦИИ СРЕДЫ pH

Скорость ферментативных реакций зависит от содержания водород-ионов в среде. Концентрация ионов водорода, при которой наблюдается максимальная скорость реакции, называется оптимальной (оптимум pH). При небольшом отклонении от оптимума pH скорость ферментативной реакции замедляется, при резком отклонении – реакция прекращается полностью.

Влияние pH на активность ферментов объясняется тем, что белковая молекула фермента является амфотерным полиэлектролитом, каталитический эффект которого зависит от степени ионизации функциональных групп, которые входят в активный центр.

Готовят 5 буферных растворов с pH от 5,5 до 7,8. К 10 мл приготовленных смесей добавляют по 1 мл слюны, разбавленной водой в 100 раз и 1 мл крахмала. Содержимое пробирок тщательно перемешивают и ставят в термостат при 37°C на 10 мин. После чего из пробирки 3 отбирают несколько капель жидкости и на стекле смешивают с I₂ (в KI). Если получается синее окрашивание, то реакцию с йодом повторяют каждые 5 мин до тех пор, пока не будет красного или оранжевого окрашивания, которое указывает на близкий конец гидролиза. Через 2-3 мин после появления подобной окраски все пробирки вынимают из

термостата и помещают в стакан со льдом. После этого быстро добавляют в каждую пробирку по 2-3 капли раствора йода, перемешивают и отмечают окраску. Оптимальная рН для амилазы слюны будет в той пробирке, в которой крахмал полностью расщепился (при реакции с йодом окраска будет желтой). Фиолетовое, красно-фиолетовое и бурое окрашивание показывает меньшую степень расщепления крахмала.

Результаты опыта занести в таблицу 6.2

Номер пробирок	рН среды	Количество 0,5%-го раствора крахмала, мл	Количество слюны, 1:100. мл	Окраска с йодом
1	5,6	1	1	
2	6,4	1	1	
3	6,8	1	1	
4	7,2	1	1	
5	7,8	1	1	

Таблица для приготовления буферных растворов

Таблица 6.3.

рН	Количество 0,2 М раствора Na_2HPO_4 , мл	Количество 0,1 М раствора лимонной кислоты, мл
5,6	5,8	4,2
6,4	6,9	3,1
6,8	7,7	2,3
7,2	8,7	1,3
7,8	9,6	0,4

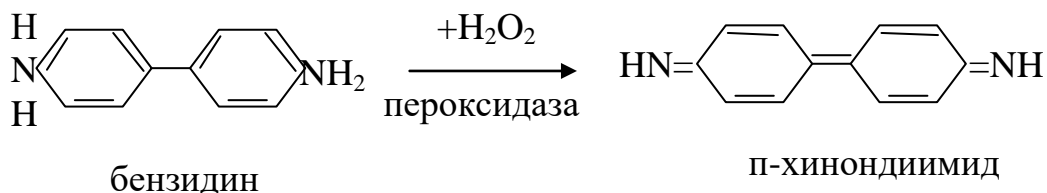
АКТИВАЦИЯ И ИНГИБИРОВАНИЕ АМИЛАЗЫ

В две пробирки вносят по 1 мл раствора хлорида натрия, сульфата меди, а в 3 пробирку – дистиллированную воду. Во все пробирки добавляют по 2 мл раствора крахмала и по 1 мл раствора разбавленной слюны. Все 3 пробирки одновременно помещают в водяную баню при 38°C.

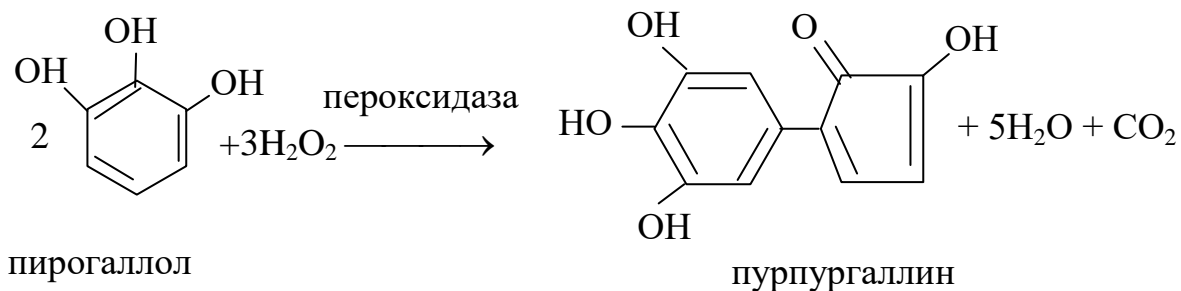
Через 10-15 минут все пробирки одновременно охлаждают под струей воды и помещают в стакан со льдом (ледяной водой). Во все пробирки добавляют раствор йода. По окраске судят о скорости гидролиза крахмала.

ОКИСЛЕНИЕ БЕНЗИДИНА И ПИРОГАЛЛОЛА ПЕРЕКИСЬЮ ВОДОРОДА В ПРИСУТСТВИИ ПЕРОКСИДАЗЫ

Пероксидаза активирует перекиси, в том числе и перекись водорода. Под действием перекиси происходит окисление различных фенолов и ароматических аминов. Этот фермент очень широко распространен в тканях растительного и животного происхождения. По химической природе пероксидаза – геминный фермент. Она содержит одну гематиновую группу. Пероксидаза способна катализировать окисление бензидина с образованием окрашенного соединения парахинондиимида



Пирогаллол окисляется при участии пероксидазы с образованием пурпургаллина красного цвета.



Навеску в 1 г корня хрена, редьки или др. корнеплодов растирают в ступке и переносят в химический стакан, смывая водой. Общий объем вытяжки не должен превышать 10 мл. Вытяжку фильтруют через складчатый фильтр.

1. В колбу на 25 мл наливают 2 мл 1% раствора бензидина, 2 мл 1% раствора перекиси водорода и 1 мл приготовленной вытяжки, содержимое несколько раз взбалтывают. Отметить изменение цвета раствора бензидина (чем оно вызвано?).

2. В пробирку наливают 2 мл вытяжки из редьки, кипятят и охлаждают. В 4 пронумерованные пробирки наливают по 1 мл 2% раствора пирогаллола и добавляют: в 1 и 4 – 1 мл свежей вытяжки из редьки, во 2 – 1 мл прокипяченной и охлажденной вытяжки, в 3 -1 мл дистиллированной воды. Затем в пробирки 1, 2, 3 добавляют 2-3 капли 1% раствора перекиси водорода, взбалтывают и наблюдают образование осадка (пурпургаллина).

Результаты опытов 6.4.1. и 6.4.2. занести в таблицу 6.4.

Таблица 6.4.

Название фермента	Хим. природа простетич. группы	Биологический материал, содержащий фермент	Донор Н ₂	Акцептор Н ₂	Продукты реакции, окраска

5. ГИДРОЛАЗЫ

Гидролазы – ферменты, ускоряющие реакции гидролиза различных соединений. К классу гидролаз относится липаза – гидролаза эфиров глицерина. Она гидролизует триацилглицерины.

Липаза содержится в небольшом количестве в желудке, главным образом она входит в состав сока поджелудочной железы. Желудочная липаза может действовать только на предварительно эмульгированные жиры (например, на жир молока).

5.1. ГИДРОЛИЗ МОЛОЧНОГО ЖИРА ЛИПАЗОЙ СОКА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

В 2 пробирки наливают по 10 капель молока. В 1 пробирку добавляют 5 капель вытяжки поджелудочной железы, в 2 – такое же количество воды, а затем в обе пробирки добавляют по 1 капле 1% раствора фенолфталеина и по каплям 1% раствора карбоната натрия, до появления бледно-розовой окраски (избегать прибавления избытка карбоната натрия!). Пробирки помещают в термостат при температуре 38°C на 30 мин. Наблюдают изменение окраски. Данные занести в таблицу 6.5.

Таблица 6.5.

№ пробирки	Фермент	Субстрат	Окраска по фенолфталеину

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Какие вещества называются ферментами? Их химическая природа.
2. Различие в действии ферментов и неорганических катализаторов.
3. Какие известны общие свойства ферментов и факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций?

4. Какие существуют теории, объясняющие механизм действия ферментов?
5. Какие активаторы и ингибиторы ферментов известны?
6. Какие существуют способы выделения и очистки ферментов?
7. Строение ферментов.
8. Что представляет собой активный центр ферментов?
9. На чем основана классификация ферментов?
10. Какие ферменты относятся к классу оксидоредуктаз, Как они подразделяются?
11. Какие ферменты относятся к классу гидролаз и на какие группы они подразделяются?
12. Какова химическая природа никотинамидных (пиримидиновых), флавиновых и геминовых ферментов?

Литература:

1. Рогожин В.В., Рогожина Т.В. Биохимия сельскохозяйственной продукции: Учебник для бакалавров.- СПб.: ГИОРД, 2014.- 544 с.
2. Горбатова, Ксения Константиновна. Биохимия молока и молочных продуктов: Рекомендовано в качестве учебника для студентов / К.К. Горбатова, П.И. Гунькова. - 4-е изд., перераб. и доп. - СПб.: ГИОРД, 2010. - 336 с

Гирфанова Юлия Рамилевна

БИОХИМИЯ С/Х ПРОДУКЦИИ:

Методические указания

для подготовки бакалавров очной и заочной форм обучения по направлению подготовки 35.03.07 «Технология производства и переработки с/х продукции» -
Димитровград: Технологический институт – филиал УлГАУ, 2021.- 51 с.