

Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Романчук Иван Сергеевич
Должность: Ректор
Дата подписания: 12.01.2026 08:54:01
Уникальный программный ключ:
6319edc2b582ffda6ea443801d5779368d0957ac34f5cd074d81181530452479

КОВАЛЬ Е.В.

ПРАКТИКУМ ПО БИОХИМИИ



Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Государственный аграрный университет Северного Зауралья»
Агротехнологический институт
Кафедра общей биологии

Е.В. Коваль

В соответствии с Федеральным законом от 29.12.2012 № 273-ФЗ
«Об образовании в Российской Федерации» ТюмГУ является
правопреемником ГАУ Северного Зауралья и продолжает
реализовывать образовательные программы по соответствующим
видам, уровням и условиям обучения, в том числе с сохранением
всех существующих форм и условий обучения

ПРАКТИКУМ ПО БИОХИМИИ

Тюмень

Государственный аграрный университет Северного Зауралья

2023

УДК 581.192:542.2

ББК 28.072

К 56

Рецензенты:

Барабанщикова Л.Н., к.б.н., доцент кафедры общей химии им. И.Д. Комиссарова ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья».

Петухов Д.В., к.х.н., старший преподаватель кафедры ФХМО ИнХимЭк ФГБОУ ВО «Вятский государственный университет».

Е.В. Коваль

К 56 Практикум по биохимии: учебное пособие/ Е.В. Коваль.- Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2023.- 141 с.- Текст электронный.

Практикум охватывает разделы курса «Высокомолекулярные соединения», «Низкомолекулярные соединения и вторичные метаболиты». Представленные лабораторные работы разной сложности объединяют полученные знания по химии, биологии, учат работе с лабораторной посудой и реактивами, различными методиками биохимического анализа, умению анализировать полученную информацию, делать выводы по работе.

Предназначен для подготовки обучающихся по дисциплинам «Биохимия», «Биохимия сельскохозяйственной продукции» и «Биохимия растений» основных образовательных программ высшего образования по направлениям бакалавриата: 06.03.01 – Биология, 19.03.02 – Продукты питания из растительного сырья, 35.03.07 – Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции, 35.03.03 – Агрохимия и агропочвоведение, 35.03.05 – Садоводство, 35.03.04 – Агрономия.

Учебно-методическое пособие рекомендовано к изданию методической комиссией Агротехнологического института ГАУ Северного Зауралья (протокол №2 от 25.10.23).

ISBN

© Е.В. Коваль, 2023

© ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА	6
Методические рекомендации для студентов	7
ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ В ЛАБОРАТОРИИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ	9
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	12
ЧАСТЬ 1. ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ	13
Раздел 1. Липиды	13
Теоретическая часть	13
Практическая часть	18
Лабораторная работа 1. <i>Химические особенности жиров</i>	18
Лабораторная работа 2. <i>Определение качественных показателей масла (констант жира)</i>	23
Раздел 2. Углеводы	28
Теоретическая часть	28
Практическая часть	34
Лабораторная работа 3. <i>Качественные реакции на углеводы</i>	34
Лабораторная работа 4. <i>Количественное определение содержания крахмала и его гидролиз</i>	39
Лабораторная работа 5. <i>Количественное определение пектина в плодах и овощах и оценка их желеобразующей способности</i>	42
Лабораторная работа 6. <i>Определение сырой клетчатки</i>	45
Раздел 3. Нуклеиновые кислоты	48
Теоретическая часть	48
Практическая часть	51
Лабораторная работа 7. <i>Выделение нуклеопротеидов из дрожжей и их гидролиз</i>	51
Раздел 4. Белки	55
Теоретическая часть	55

Практическая часть	61
Лабораторная работа 8. <i>Качественные реакции белков</i>	61
Лабораторная работа 9. <i>Реакции осаждения и денатурации белков</i>	64
Раздел 5. Ферменты	69
Теоретическая часть	69
Практическая часть	71
Лабораторная работа 10. <i>Изучение влияния различных факторов на активность амилазы слюны</i>	71
ЧАСТЬ 2. ВИТАМИНЫ И ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ	76
Раздел 6. Витамины	76
Теоретическая часть	76
Практическая часть	78
Лабораторная работа 11. <i>Качественные реакции на витамины</i>	78
Лабораторная работа 12. <i>Количественное определение аскорбиновой кислоты в растительных тканях</i>	82
Раздел 7. Вторичные метаболиты растений	85
Теоретическая часть	85
Практическая часть	87
Лабораторная работа 13. <i>Определение содержания танина и кофеина в чае</i>	87
Лабораторная работа 14. <i>Количественное определение антоцианов в растениях спектрофотометрическим способом</i>	91
Лабораторная работа 15. <i>Качественное и количественное определение соланина картофеля</i>	95
Раздел 8. Органические кислоты	99
Теоретическая часть	99
Практическая часть	100
Лабораторная работа 16. <i>Определение общей и активной кислотности плодов и ягод</i>	100
Раздел 9. Минеральные вещества	106

Теоретическая часть	106
Практическая часть	109
Лабораторная работа 17. <i>Определение содержания минеральных веществ в растительном и животном сырье</i>	109
ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ	114
Задачи по разделам	114
Темы рефератов и вопросы для самостоятельного изучения	119
Приготовление растворов и реактивов	120
Уравнения реакций из опытов лабораторных работ	125
Глоссарий	129
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	137

ПОЯСНИТЕЛЬНАЯ ЗАПИСКА

Биохимия – фундаментальная наука, изучающая химический состав и свойства веществ, составляющих живые системы, их взаимопревращения в процессе метаболизма, а также роль обменных процессов в функционировании различных органов и тканей в норме и при патологии.

Отделившись от биологии в начале XX века, биохимия на сегодняшний день является одной из самых прогрессивных и быстроразвивающихся наук. Данная наука имеет колоссальное прикладное значение для многих сфер жизни человека: медицины и фармакологии, производства, хранения и переработки продуктов питания, сельского хозяйства, выращивания растений и животных, в частности, пищевой промышленности, экологии. В этих сферах необходимо постоянно совершенствовать производственные технологии, ведь они основываются на биохимических процессах, сходных с протекающими в биоте (гидролиз органических соединений, брожение, дыхание и др.). Вопросы и задачи, предложенные в данном практикуме, призваны акцентировать внимание обучающихся на главных вопросах учебных дисциплин «Биохимия», «Биохимия сельскохозяйственной продукции» и «Биохимия растений».

Для оценки качественного и количественного состава сельхозпродукции, количественного учета содержания питательных веществ в продуктах, оценки состояния живых организмов под действием различных факторов в биохимии применяются разнообразные методы исследования: спектрофотометрия, колориметрия, рефрактометрия, титрование, электрофорез, новые методы – ПЦР, ИФА, вестерн-блот и другие. Основы работы с некоторыми из данных методов описаны в лабораторных работах практикума. Предложенные лабораторные работы можно выполнять имея необходимый минимум лабораторной посуды, реактивов и оборудования.

Для более углубленного изучения курса биохимии в практикуме приведены различные наглядные материалы: таблицы, схемы, рисунки, уравнения реакций. Контрольные вопросы и задачи после каждого раздела направлены на лучшее закрепление учебного материала.

В ходе подготовки данного практикума не было задачи описать все разделы современной биохимии. Главная цель пособия – сформировать у обучающихся представление о молекулярном уровне основ жизни, стимулировать интерес будущего специалиста-агряря к углублению знаний о сути биохимических изменений в организме или продукции, понимать, возможно ли устранить данные отклонения, а также освоение основных лабораторных биохимических методов и трактовка полученных результатов.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ДЛЯ СТУДЕНТОВ

В данном практикуме представлены разработки лабораторных и практических работ в соответствии с учебными рабочими программами дисциплин «Биохимия», «Биохимия сельскохозяйственной продукции» и «Биохимия растений» для обучающихся направлений подготовки направлений подготовки 06.03.01 – Биология, 19.03.02 – Продукты питания из растительного сырья, 35.03.07 – Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции, 35.03.05 – Садоводство, 35.03.04 – Агрономия, 35.03.03 – Агрохимия и агропочвоведение, правила техники безопасности и первой медицинской помощи при работе в лаборатории биохимии, также контрольные вопросы, задачи и примерные темы рефератов для организации самостоятельной работы обучающихся.

В пособии каждый раздел состоит из теоретической части, с помощью которого обучающийся должен подготовиться к занятию, а также практической части, где собраны лабораторные работы по качественному или количественному анализу. Каждая лабораторная работа включает цель, необходимое оборудование, реактивы и ход работы. Также пособие содержит раздел «Дополнительные учебно-методические материалы», где можно найти уравнения реакций к лабораторным работам, схемы приготовления необходимых растворов веществ различной концентрации, глоссарий, где собраны все термины, встречающиеся в пособии, а также задачи и темы рефератов для самостоятельной работы. При изучении темы лабораторные работы и опыты из предложенных в практикуме выбираются преподавателем.

При обучении биохимии и, в частности, для выполнения лабораторных работ и заданий для самостоятельной работы обучающийся обязан иметь тетрадь для записей. Тетрадь должна быть подписана (ФИО, № группы студента, название дисциплины).

Записи лабораторных работ предполагают указание:

1. Даты, номера и названия работы (без сокращений);
2. Цели работы, перечня необходимого оборудования и реактивов;
3. Хода работы;
4. При проведении каждого опыта должен быть указан химизм (уравнение реакции), подписаны названия веществ, вступающих в реакцию и продуктов реакции, фиксируются видимые изменения, происходящие в ходе процесса с объяснением.
5. Решение задач должно быть выполнено аккуратно, последовательно, по действиям. Должны присутствовать объяснения всех действий, подписаны размерности в ответе. Все физические величины приводим согласно международной системе СИ.

6. Выводы должны быть отмечены под каждым опытом и в целом после лабораторной работы.

Выполнение записей в тетради производят лаконично, аккуратно, непосредственно после проведения опытов.

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ В ЛАБОРАТОРИИ БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Правила работы в лаборатории биологической химии

1. При освоении курса биохимии обучающийся имеет свое постоянное место для выполнения работ, которое он должен поддерживать в чистоте.
2. При подготовке к лабораторной работе внимательно изучите методику проведения опытов, обратив внимание на безопасность их проведения, заранее изучите основные физико-химические свойства веществ, с которыми вам предстоит работать (взрывоопасность, токсичность, огнеопасность и т.д.).
3. Пользоваться лабораторным оснащением можно только после изучения правил работы с ним и разрешения преподавателя.
4. При выполнении лабораторных работ нужно быть внимательным, не допускать попадания химикатов на одежду и кожные покровы. Для этого обучающиеся должны носить на лабораторные и практические занятия химический защитный халат.
5. Выполняя эксперименты, не трогайте лицо и глаза руками! После каждого опыта рекомендовано мыть руки с мылом.
6. В лаборатории запрещено употреблять пищу, пить воду из лабораторной посуды, пробовать вещества на вкус, а также набирать их руками (используйте специальные ложки и шпатели). Запрещено набирать ртом в пипетку щелочи, кислоты и прочие химические вещества.
7. Нюхать вещества можно лишь аккуратно направляя потоки воздуха рукой к себе.
8. **Категорически запрещается** проводить эксперименты в лаборатории в одиночестве.
9. Рекомендуются пользоваться только сухой, чистой и целой посудой (без повреждений и трещин). В ходе опытов нельзя использовать загрязненную посуду.
10. Необходимо беречь лабораторное оснащение и экономно расходовать химические реактивы и материалы.
11. Пары и газы органических веществ в смеси с воздухом могут взрываться, поэтому следите, чтобы такие смеси не образовывались!
12. Работать с большинством органических соединений (особенно их нагревание), кислотами и щелочами нужно в вытяжном шкафу, либо в хорошо проветриваемом помещении. Работать с концентрированными кислотами и щелочами нужно в защитных перчатках и очках.

13. Остатки реактивов необходимо обезвреживать (разбавлять) и сливать в специальные емкости.

14. При нагревании пробирок с растворами первые должны быть наполнены не более, чем на треть. Несколько раз проводим пламенем горелки вдоль всего раствора, прогреваем всю пробирку, затем можно нагревать непосредственно раствор, при этом направляя пробирку от себя и других людей в помещении.

15. Запрещено зажигать спиртовку от спиртовки, тушить спиртовку можно только колпачком.

16. Запрещается хаотично смешивать реактивы и проводить опыты, не связанные с программой обучения и в отсутствии преподавателя.

17. Запрещено наклоняться над посудой, в которую наливают химические реактивы.

18. При разбавлении концентрированных кислот необходимо вливать **кислоту в воду!**

19. Запрещено включать в сеть неисправные приборы, включать приборы мокрыми руками и прикасаться к токоведущим деталям. Дежурный после окончания занятия должен проверить, чтобы все приборы были отключены от сети.

20. Запрещается **преднамеренная** порча оборудования в лаборатории.

21. Перед началом курса необходимо ознакомиться с техникой безопасности, расписаться в журнале. После проведения лабораторной работы необходимо сдать оборудование и реактивы лаборанту или дежурному.

Первая помощь при несчастном случае

1. Отравление парами и газами.

Немедленно вывести пострадавшего на свежий воздух, дать занять комфортное положение (сесть или лечь). При сильном отравлении и потере сознания сделать искусственное дыхание и вызвать скорую медицинскую помощь.

2. Порезы острыми предметами и осколками стекол.

При порезе стеклом не рекомендуется промывать рану водой. Следует обработать ее края любым антисептиком и наложить повязку.

3. Попадание реактивов внутрь организма с пищей или водой.

При попадании химических веществ в желудок рекомендуется выпить большое количество воды, после чего выпить взвесь мела или раствор пищевой соды (при отравлении кислотой), либо слабый раствор уксусной кислоты (при

отравлении щелочами). Также рекомендуется употребить насыщенный раствор поваренной соли, после чего вызвать рвоту и обратиться к врачу.

4. Возникновение химического ожога.

Поврежденный участок кожи необходимо обильно промыть под проточной водой, затем обработать 2–3% раствором: уксусной кислоты – при ожоге щелочами, пищевой соды – при ожоге кислотами. Ожоги от брома обрабатывают этиловым спиртом и 1–2% раствором метиленовой сини. После обработки наложить стерильную повязку. В случае химического ожога глаз щелочами и кислотами необходимо промыть их соответствующими растворами борной кислоты и гидрокарбоната натрия. При невозможности открыть глаза самостоятельно, это должны сделать окружающие силой. Наложить повязку и обратиться к врачу.

5. Возникновение термических ожогов.

Поврежденный участок охлаждаем под струей холодной воды, затем обработать 5% раствором перманганата калия и наложить повязку. В случае воспламенения одежды незамедлительно нужно набросить на пострадавшего халат, пиджак, одеяло и др. Не давать ему бежать, так как это только усилит пламя. При возникновении пожара нужно отключить электроэнергию и вентиляцию. Вызвать пожарную охрану при необходимости. При воспламенении таких органических веществ как бензин, бензол, эфир **запрещается** тушить их водой (тушить песком, асбестовым одеялом) вследствие безрезультатности процесса!

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АК – аскорбиновая кислота

АТФ – аденозинтрифосфат

ВВП – вещества вторичного происхождения

ВМС – высокомолекулярные соединения

Г-1,6-дФ – глюкоза-1,6-дифосфат

ИУК – индолилуксусная кислота

ИФА – иммуноферментный анализ

КоА – коэнзим А

КФ – класс фермента

НАД – кофермент никотинамидадениндинуклеотид

НАДФ – никотинамидадениндинуклеотидфосфат

НМС – низкомолекулярные соединения

ОВР – окислительно-восстановительные реакции

ПВК – пировиноградная кислота

ПЦР – полимеразная цепная реакция

РЗЭ – редкоземельные элементы

УДФ-глюкоза – уридиндифосфат глюкоза

УМФ – урацилмонофосфат

ФАД – кофермент флавинадениндинуклеотид

ФМН – флавинмононуклеотид

ЦМФ – цитидинмонофосфат

Часть 1

ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ

Раздел 1. ЛИПИДЫ

1.1 Теоретическая часть

Липиды — разнообразные по химической структуре вещества, объединенные в один класс из-за сходства физико-химических свойств. Все представители этого класса — *гидрофобные* или *амфифильные* (содержащие гидрофильные и гидрофобные участки) соединения, выполняющие разнообразные функции.

Классификация липидов

В научной и образовательной литературе можно встретить различные классификации липидов, в зависимости от того, в какой сфере хозяйства исследуют их роль. Это также связано с крайне высоким разнообразием соединений, входящих в данный класс. В медицинской биохимии и, например, биохимии растений акценты можно расставить на разные компоненты класса липидов. Применительно к липидам хотелось бы выделить 2 классификации, которые схожи по сути, но все же имеют ряд различий. Однако и первая и вторая классификация являются верными. Липидная фракция содержит вещества различных типов, которые могут быть классифицированы следующим образом:

Стоит запомнить!

Не все липиды являются жирами, но все жиры являются липидами.

- I. Жирные кислоты;
- II. Глицеринсодержащие липиды:
 - а) нейтральные жиры:
 - 1) моно-, ди- и триацилглицерины,
 - 2) простые эфиры глицерина,
 - 3) гликозилглицериды,
 - б) фосфоглицериды:
 - 1) фосфатиды,
 - 2) дифосфатидилглицериды и фосфоинозитиды;
- III. Липиды, не содержащие глицерин:

а) сфинголипиды:

- 1) церамиды,
- 2) сфингомиелины,
- 3) гликосфинголипиды,

б) алифатические спирты и воска,

в) терпены,

г) стероиды;

IV. Липиды, связанные с веществами других классов:

- а) липопротейны,
- б) протеолипиды,
- в) фосфатидопептиды,
- г) липоаминокислоты,
- д) липополисахариды.

Также схематично можно выделить еще одно деление липидов на группы, которое тоже имеет место быть. Основное отличие в том, что в данной классификации из группы жирных кислот выносят эйкозаноиды в отдельную категорию, а также то, что набор групп липидов несколько сужен (рис. 1).

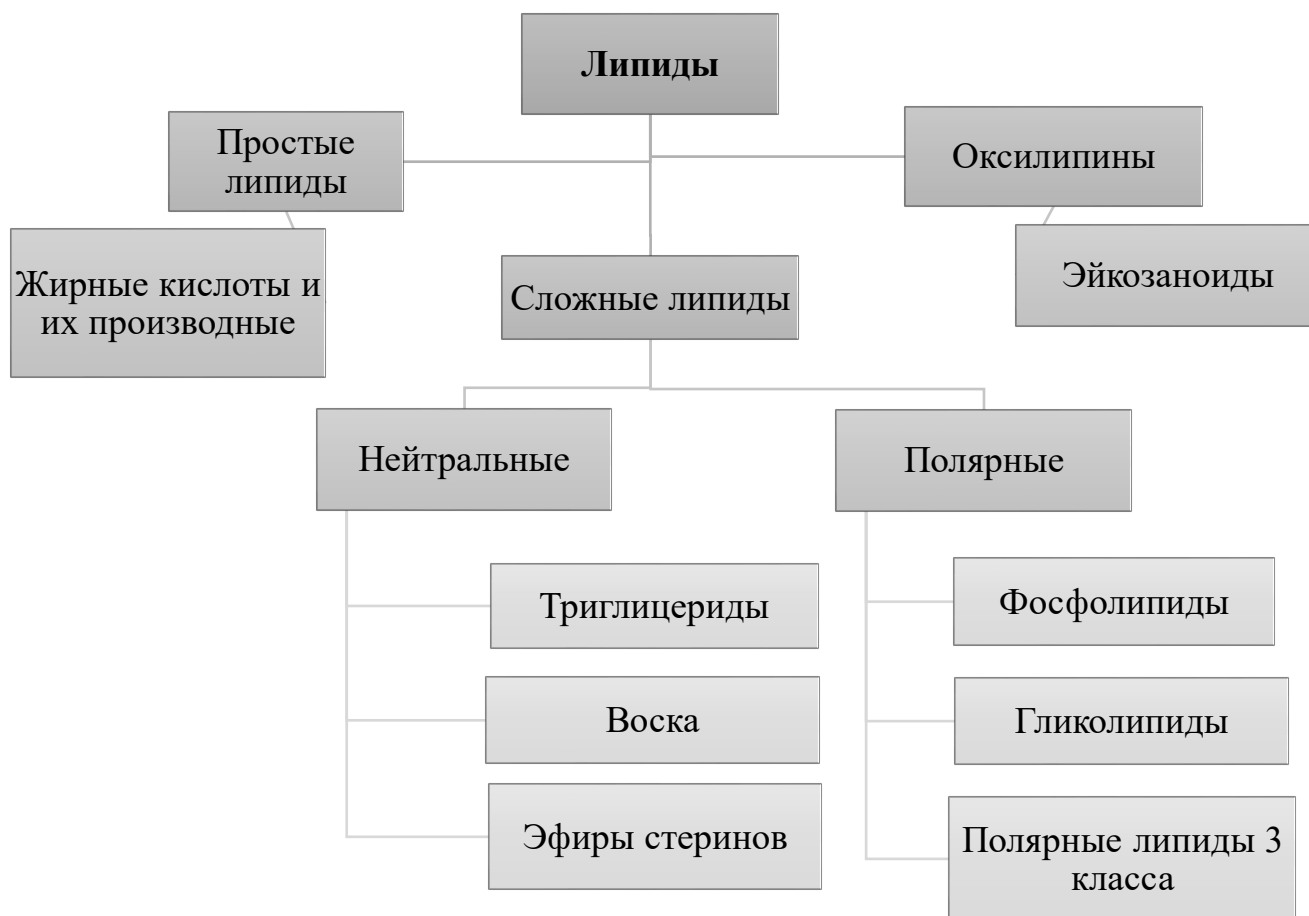


Рис. 1. Классификация липидов

Жирные кислоты – это, как правило, монокарбоновые кислоты, содержащие одну ионизируемую карбоксильную группу и неполярную ациклическую неразветвленную углеводородную цепь. Жирные кислоты являются слабыми кислотами и диссоциируют в водных растворах, значения констант диссоциации для всех насыщенных жирных кислот очень близки между собой ($pK=4,85$), а также соответствуют константе уксусной кислоты ($pK=4,76$). В составе жирных кислот обычно четное число атомов углерода, хотя в природе встречаются также и жирные кислоты с нечетным числом углеродных атомов.

По количеству в составе двойных связей жирные кислоты делят на: предельные (насыщенные) – без двойных связей и непредельные (ненасыщенные) – с одной или несколькими двойными связями (табл. 1).

Таблица 1

Наиболее распространенные карбоновые кислоты, входящие в состав жиров

Число атомов углерода в цепи	Тривиальное название	Систематическое название	Формула
Предельные кислоты			
4	Масляная	Бутановая	$CH_3-(CH_2)_2-COOH$
12	Лауриновая	Додекановая	$CH_3-(CH_2)_{10}-COOH$
14	Миристиновая	Тетрадекановая	$CH_3-(CH_2)_{12}-COOH$
16	Пальмитиновая	Гексадекановая	$CH_3-(CH_2)_{14}-COOH$
18	Стеариновая	Октадекановая	$CH_3-(CH_2)_{16}-COOH$
20	Арахидиновая	Эйкозановая	$CH_3-(CH_2)_{18}-COOH$
22	Бегеновая	Докозановая	$CH_3-(CH_2)_{20}-COOH$
Непредельные кислоты			
<i>Моноеновые (1 двойная связь)</i>			
16	Пальмитолеиновая	9-гексадеценовая	$CH_3-(CH_2)_5-CH=CH-(CH_2)_7-COOH$ 10 9
18	Олеиновая	9-октадеценовая	$CH_3-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_7-COOH$ 10 9
22	Эруковая	13-докозеновая	$CH_3-(CH_2)_7-CH=CH-(CH_2)_{11}-COOH$ 14 13
<i>Диеновые кислоты (2 двойные связи)</i>			
18	Линолевая	9, 12-октадекадиеновая	$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_7-COOH$ 13 12 10 9
<i>Триеновые кислоты (3 двойные связи)</i>			
18	Линоленовая	9,12,15-октадекатриеновая	$CH_3CH_2CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_3COOH$ 16 15 13 12 6 5
<i>Тетраеновые кислоты (4 двойные связи)</i>			

20	Арахидоновая	Эйкоза-5,8,11,14-тетраеновая кислота	¹⁵ ¹⁴ ¹² ¹¹ ⁹ ⁸ ⁶ ⁵ CH ₃ (CH ₂) ₃ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH- (CH ₂) ₃ COOH
----	--------------	--------------------------------------	--

Нейтральные жиры — наиболее распространенная в природе группа липидов. Образуются в ходе реакции этерификации гидроксидных групп глицерина жирными кислотами, т.е. являются эфирами жирных кислот и глицерина (рис. 2б). При этерификации одной, двух или трех гидроксидных групп глицерина (рис. 2а) образуются моно-, ди- и триацилглицерины соответственно.



Рис. 2. Формула глицерина (а) и общая формула жиров (б);

Прим.: -O-CO-R₁, -O-CO-R₂, -O-CO-R₃ – остатки одинаковых или разных жирных кислот, связанных с глицерином сложноэфирной связью

В зависимости от количества жирных кислот, этерифицирующих гидроксогруппы глицерина выделяют простые (один тип жирных кислот в составе) или смешанные триацилглицеролы (несколько жирных кислот в составе) (рис. 3).

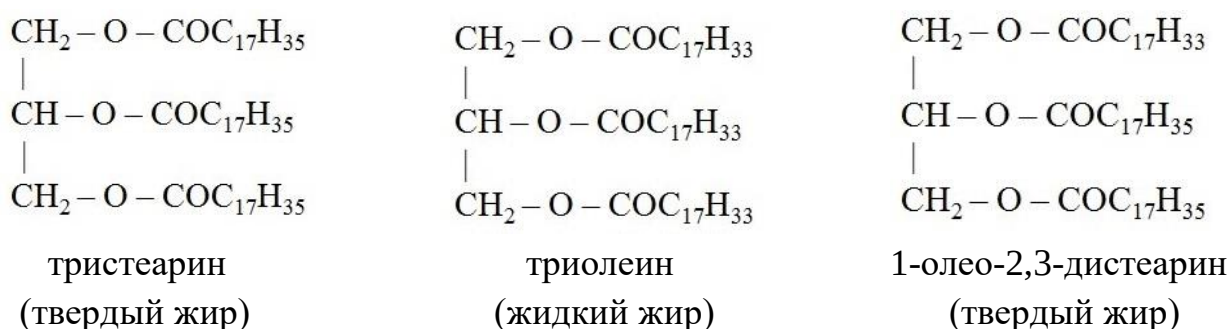


Рис. 3. Строение и номенклатура жиров

Жидкие жиры превращают в твердые путем реакции **гидрогенизации (гидрирования)**. При этом водород присоединяется по двойной связи, содержащейся в углеводородном радикале молекул масел (рис. 4).

Продукт гидрогенизации масел – твердый жир (искусственное сало, *саломас*) используют для производства пищевого продукта – маргарина и для технических целей. *Маргарин* – пищевой жир, состоит из смеси гидрогенизированных масел (подсолнечного, кукурузного, хлопкового и др.), животных жиров, молока и вкусовых добавок (соли, сахара, витаминов и др.). За

счет гидрогенизации можно придать необходимые свойства жирам. Например, срок хранения жиров зависит от степени насыщенности: полиненасыщенные жиры склонны к самоокислению, тогда как насыщенные жиры, будучи практически инертными на воздухе, имеют очень длительный срок хранения.

В ходе гидрогенизации меняется конфигурация молекул: цис-ненасыщенные жирные кислоты в составе жира переходят в транс-форму. В отличие от трансжиров природного происхождения, трансжиры, образующиеся в результате гидрогенизации, состоят из множества изомеров. При нагревании (варке) некоторые ненасыщенные жиры меняют свою обычную геометрию на транс. Скорость изомеризации ускоряется свободными радикалами.

Цис-жиры обладают более крепкой взаимосвязью между соседними молекулами жиров, что обеспечивает более устойчивую и гибкую мембрану клетки. Через оболочку из цис-жиров проходят хорошо сигналы, питание. Транс-жиры выглядят практически также как цис-жиры и клетка "принимает" их, как и любой другой жир, но эти молекулы более плотные и через них хуже проходит питание, сигналы. Есть данные, что транс-жиры также могут влиять на экспрессию генов, что может приводить к изменению образца экспрессии генов, связанного с различными заболеваниями, такими как диабет, атеросклероз и даже рак.



Рис. 4. Влияние гидрогенизации на конфигурацию молекул жира

Функции липидов

Липиды представляют собой разнородную по химическому строению группу природных органических соединений, которые объединяет то, что они плохо растворимы в воде и хорошо растворимы в неполярных растворителях. Они играют важные роли в жизнедеятельности растительной, животной и бактериальной клетки:

- *Запасающая.* Ее выполняют жиры. У 90% видов растений основным запасным веществом является жир, т.е. это масличные культуры. У животных

северные виды отличаются массивными жировыми накоплениями для поддержания температурного баланса тела. Поэтому можно сказать, что жир осуществляет регуляторную и теплоизолирующую функции.

- **Энергетическая.** Отложение жира в запас является энергетически выгодным. При окислении 1 г жира образуется 39 кДж энергии и 1,07 г воды, что важно для прорастания семян. В животных тканях при окислении 1 г липидов выделяется 9,3 ккал энергии.

- **Структурная.** Ее выполняют в основном фосфолипиды, которые образуют в цитоплазме липопротеиды и входят в состав биологических мембран, определяющих метаболизм клетки.

- **Защитная.** Например, воска, находящиеся на поверхности листьев и стеблей растений защищают их от избыточных солнечных лучей, паразитов. Подкожный и висцеральный жир защищают внутренние органы животных от механических повреждений.

С основными химическими свойствами липидов вы сможете познакомиться в практической части.

1.2 Практическая часть

Лабораторная работа 1. Химические особенности жиров

Цель работы: провести основные химические реакции на глицериды для усвоения их свойств; выработать навыки работы с химической посудой, реактивами, наведения растворов; получить опыт самостоятельной работы в поиске справочной информации для написания отчета и выводов по лабораторной работе.

Оборудование: штатив с пробирками, воронки, фильтры бумажные, водяная баня, трубки-холодильники, стеклянные палочки и дозаторы, спиртовки.

Реактивы и материалы: различные растительные масла (рафинированные/нерафинированные), 40%-ный спиртовой раствор гидроксида калия (KOH), 2%-ный раствор сульфата меди (II) (CuSO_4), 10%-ный раствор гидроксида калия, 1%-ный раствор мыла, бензол, бензин, эфир (диэтиловый или петролейный), ацетон, азотная кислота концентрированная, 10%-ная азотная кислота, раствор яичного белка, желчь, дистиллированная вода, спиртовой раствор иода.

Опыт 1. Реакции галогенирования

Общая информация

Реакции галогенирования (присоединения галогена) жирных кислот или масел относятся к реакциям по двойным связям, как и реакции присоединения водорода и реакции окисления различными реагентами.

Галогены (например, Br_2 или I_2) легко присоединяются по двойным связям жирных кислот и их эфиров. В подходящих растворителях эта реакция протекает самопроизвольно и в большинстве случаев до конца.

Реакции галогенирования с иодом можно использовать для открытия ненасыщенных жирных кислот в глицеридах.

Ход эксперимента:

1. В пробирке наведите раствор иода средней интенсивности окраски (3–4 капли спиртового раствора иода на пробирку воды).
2. Разлейте на 2 равные части: одна часть будет служить контролем окраски, а во вторую прилейте 1 мл растительного масла. Пробирку сильно встряхните.

Задание:

- А. Что наблюдаете в ходе реакции?
- Б. Напишите уравнение данной реакции и сделайте вывод по работе.

Опыт 2. Гидролиз жира (омыление) и открытие его составных частей

Общая информация

При гидролизе нейтральных жиров образуются три молекулы жирной кислоты и одна молекула глицерина. Процесс протекает медленно в кипящей воде, но значительно ускоряется каталитическими концентрациями H^+ или OH^- . В тканях животных и растений гидролиз глицеридов катализируется энзимами эстеразами (в целом липиды) или липазами (жиры).

Омыление – это процесс превращения сложных эфиров жирных кислот в мыла и спирты под действием растворов щелочей. Освобождающиеся в результате реакции карбоксилатные ионы ($\text{R}-\text{COO}^-$) в присутствии катионов Na^+ и K^+ образуют мыла. В качестве заменителя щелочи можно использовать золу, которая содержит карбонат калия, так делали во время войны и до сих пор делают некоторые малые народы.

Реакция необратима; карбоксилатные ионы не вступают в реакцию рекомбинации с гидроксидными группами глицерина. Конечные продукты реакции – мыла и глицерин – растворимы в воде и нерастворимы в неполярных

растворителях, например, в эфире. Это обстоятельство часто используется в химии липидов при разделении смеси веществ. Омыляемая фракция определяется как часть суммарного липида, которая после обработки горячей щелочью становится растворимой в воде и нерастворимой в эфире. Нейтральные жиры, таким образом, являются омыляемыми.

Опыт 2.1 Омыление масла

Ход эксперимента:

1. В колбу прилить 5 мл растительного масла.
2. После прилить равный объем 40%-ного спиртового раствора гидроксида калия или натрия. Вы можете добавить еще 5 мл дистиллированной воды, чтобы избежать слишком густой консистенции мыла.
3. Все аккуратно смешайте до прозрачного состояния соломенного цвета, закройте пробкой со стеклянной трубкой (холодильником) и поставьте на кипящую водяную баню.
4. Варите до образования мыла – поверхностно активного вещества, которое можно идентифицировать по устойчивой пене. Мыло можно выделить, вылив реакционную смесь в насыщенный раствор соли. Оно свернется и его можно будет отфильтровать.

Задание:

- А. Засеките время, за которое ваше мыло сварилось. Отметьте это в отчете.
 - Б. Запишите уравнение реакции.
5. Оцените консистенцию вашего гидролизата: если мыло получилось слишком густым, добавьте 10–15 мл дистиллированной воды и аккуратно, без резких движений размешайте (чтобы не образовалось чрезмерное количество пены).
 6. Разлейте гидролизат на 2 равные части: половину в одну пробирку, а вторую половину – во вторую пробирку, предварительно отфильтровав.

Опыт 3. Открытие жирных кислот

Ход эксперимента:

1. В первую пробирку с неотфильтрованным гидролизатом по каплям добавьте 10%-ный раствор азотной кислоты. При необходимости встряхните.

Задание:

- А. Запишите в отчет наблюдаемое явление.

Б. Запишите уравнение реакции.

В. Подумайте, за счет чего происходит наблюдаемая реакция.

Запишите вывод.

Опыт 4. Открытие глицерина

Дегидратация глицерина

Ход эксперимента:

1. Несколько капель (5–10) фильтрата перенесите в сухую чистую пробирку.

2. Аккуратно нагрейте на спиртовке до появления запаха.

Задание:

А. Запишите в отчет наблюдаемое явление.

Б. За счет чего происходит наблюдаемая реакция? Запишите вывод и уравнение реакции.



Главный продукт дегидратации глицерина – ненасыщенный альдегид акролеин (пропаналь).

Он может образовываться при пережаривании пищи, от его присутствия зависит резкий, удушливый запах кухонного чада.

Качественная реакция на глицерин

Ход эксперимента:

1. К 2–3 мл фильтрата из опыта 2 прилить 10–15 капель 10%-ного раствора гидроксида калия.

2. По каплям добавьте 2%-ный раствор сульфата меди (II) до желаемого вами цвета.

3. Потрясите пробирку.

Задание:

А. Запишите в отчет наблюдаемое явление.

Б. За счет чего происходит наблюдаемая реакция? Запишите вывод и уравнение реакции.

Опыт 5. Растворимость и эмульгирование жиров

Растворимость жира

Ход эксперимента и задание:

1. Возьмите 8 пробирок.

2. В каждую прилейте по 1 мл масла.

3. Прилейте по 2 мл следующих растворителей: вода, спирт, раствор мыла, бензин, гидроксид калия, азотная кислота, ацетон, эфир.

4. Заполните следующую таблицу:

+ 1 мл масла								
+ 2 мл:	воды	спирта	1% раствора мыла	бензина	10%-ный раствора КОН	HNO_3	ацетона	эфира
Растворимость (+/-)								

5. Подумайте и сделайте вывод в каких веществах растворимы масла?

Эмульгирование жира



Образование эмульсий происходит за счет того, что в поверхностный водный слой, окружающий жировые капельки, устремляются поверхностно-активные частички эмульгаторов, которые не дают капелькам жира слипаться. Чем меньше поверхностное натяжение на границе раздела фаз, тем легче идет образование эмульсии.

Эмульсия считается стойкой, если через 5 минут не произошло расслоение жидкостей на масло и эмульгатор.

Ход эксперимента и задание:

1. Возьмите 6 пробирок и прилейте по 3–5 капель масла в каждую, 1 мл дистиллированной воды и по 1–2 капли реактивов, обозначенных в таблице ниже.

2. Проведите эксперимент и заполните таблицу:

по 3–5 капель растительного масла						
+ 1 мл дистиллированной воды						
+ по 1-2 капли:	1% раствора КОН	1% раствора мыла	1% раствора HNO_3	Раствора яичного белка	неразведе нной желчи	воды
взболтать						
засеките 5 минут для определения стойкости эмульсии						
Эмульсия (+/-)						
Стойкая/ нестойкая						

3. Сделайте вывод о том, какие вещества способны образовывать стойкие эмульсии с маслами, а какие нет.

Лабораторная работа 2. Определение качественных показателей масла (констант жира)

Цель работы: изучить основные константы жира, освоить методики их определения; выработать навыки работы с химической посудой, реактивами; получить опыт самостоятельной работы в поиске справочной информации для написания отчета и выводов по лабораторной работе.

Оборудование: аналитические весы, конические колбы на 250, 50 и 100 мл с пришлифованной пробкой, пипетки, водяная баня, штатив с пробирками и пробками для них.

Реактивы и материалы: различные растительные масла (рафинированные/нерафинированные), 0,2 н раствор иода, дистиллированная вода; 0,1 н раствор тиосульфата натрия, 1% раствор крахмала, смесь спирта и эфира (1:1), фенолфталеин; 0,1 н спиртовой раствор гидроксида калия; 0,5 н соляная кислота, ледяная уксусная кислота, хлороформ, 1%-ный крахмал, 0,01 н раствор гипосульфита.

Опыт 1. Определение иодного числа

Общая информация

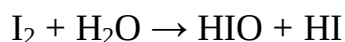
Реакции галогенирования (присоединения галогена) жирных кислот или масел относятся к реакциям по двойным связям, как и реакции присоединения водорода и реакции окисления различными реагентами.

Галогены (например, Br₂ или I₂) легко присоединяются по двойным связям жирных кислот и их эфиров. В подходящих растворителях эта реакция протекает самопроизвольно и в большинстве случаев до конца.

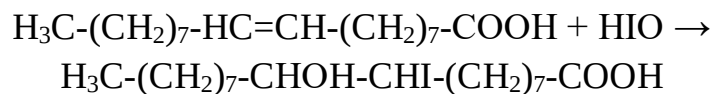
Реакции галогенирования с иодом можно использовать для открытия ненасыщенных жирных кислот в глицеридах.

Существует множество методов определения иодного числа, мы в рамках данной лабораторной работы освоим метод Маргошеса (ГОСТ 2070-50).

Метод заключается в проведении реакции между спиртовым раствором иода и спиртовым раствором исследуемого масла в присутствии избытка воды. При реакции с водой иод дает иодноватистую кислоту:



Иодноватистая кислота реагирует с ненасыщенными соединениями масел быстрее, чем сам иод, присоединяясь в места двойных связей:



Избыток иода необходимо оттитровать тиосульфатом натрия. Все этапы эксперимента необходимо соблюдать быстро с соблюдений всех условий.

Ход эксперимента:

1. На предметное стеклышко капнуть 3–4 капли масла, взвесить и перенести его в колбу на 250 мл.
2. Прилить 25 мл спирта для растворения навески (100 кратный объем от навески масла). Для лучшего растворения можно нагреть смесь на водяной бане при 40-50 °С.
3. Параллельно приготовьте «слепой» (контрольный) вариант без добавления масла.
4. В обе колбы необходимо прилить по 12,5 мл 0,2 н раствора иода и по 100 мл дистиллированной воды.
5. Встряхнуть и оставить в темном месте на 5 минут.
6. Оттитруйте 0,1 н раствором тиосульфата натрия сначала до появления слабозеленого окрашивания, а потом, прилив 1 мл раствора крахмала, титруем до исчезновения синей окраски.
7. Для расчетов используется весь объем тиосульфата, т.е. после добавления крахмала раствор тиосульфата в бюретке не стоит доливать, а нужно продолжить титрование.
8. Проводим и контрольный опыт без масла.

Задание:

А. Рассчитайте иодное число (и. ч.) масла, используя формулу:

$$\text{И. ч. (г)} = \frac{(V_{\text{контр.}} - V_{\text{опыт}}) \cdot 0,0127 \cdot 100}{m (\text{масла})}$$

0,0127 – титр тиосульфата по иоду.

Опыт 2. Определение числа омыления

Ход эксперимента:

1. В опытную колбу емкостью 50 мл внести 0,5 г масла, а в контрольную колбу – 0,5 мл воды.

2. В обе колбы добавить из бюретки по 15 мл 0,5 н спиртового раствора гидроксида калия.

3. Колбы закрыть пробками с обратными воздушными холодильниками и греть на водяной бане до образования мыльной пены, периодически встряхивая. Следите, чтобы жидкость внутри колб слабо кипела, при этом верхняя часть трубки не нагревалась.

4. По окончании омыления в каждую из колб прилить 15–20 мл воды и 3–4 капли фенолфталеина.

5. Титровать 0,5 н соляной кислотой до исчезновения розового окрашивания.

Задание:

Проведите расчет числа омыления (ч. о.) по формуле ниже, принимая во внимание, что 1 мл 0,5 н раствора гидроксида калия соответствует 28 мг.

$$\text{Ч. о.} = \frac{(V_{\text{контр.}} \cdot (HCl) - V_{\text{оп.}} \cdot (HCl)) \cdot 28}{m \text{ (жира)}}$$

Опыт 3. Определение кислотного числа масла

Ход эксперимента:

1. Навеску масла (0,2–0,3 г) залить 15 мл этанола.
2. Прилить 2–3 капли фенолфталеина.
3. Титровать масло 0,2 н спиртовым раствором щелочи (KOH).
4. Проводим аналогичные манипуляции с «холостой» пробой (контроль) без добавления масла.

Задание:

А. Рассчитайте кислотное число (к. ч.) (мг) для данного масла по формуле:

$$\text{К. ч.} = \frac{56,11 \cdot T \cdot (V_{\text{контр.}}(KOH) - V_{\text{оп.}}(KOH))}{m \text{ (жира)}}$$

Где:

T – поправка к титру;

56,11 – молекулярная масса KOH.

Б. Результаты занесите в таблицу и сделайте вывод:

Опыт	m (масла), г	V _{контроль} KOH, мл	V _{опыт} KOH, мл	К. ч., мг

В. Рассчитайте эфирное число и сделайте вывод по всей работе.

Опыт 4. Определение перекисного числа

Ход эксперимента:

- 1) В опытную коническую колбу (150–200 мл) поместите 1 г жира.
- 2) В контрольную колбу вместо жира поместите 2–3 мл воды.
- 3) Обе колбы залейте 10 мл хлороформа до полного растворения жира.
- 4) Прилейте в обе колбы по 20 мл ледяной уксусной кислоты и по 1 мл свежего насыщенного раствора иодистого калия. Тщательно перемешайте и оставьте на 3 минуты для протекания реакции.
- 5) Оттитруйте выделившийся иод 0,01 н раствором гипосульфита.
- 6) Титруйте до появления желтой окраски, после чего в колбы нужно добавить по 1 мл 1%-ного раствора крахмала и титровать до исчезновения голубой окраски.

Задания

Вычислите перекисное число (п. ч.) по формуле:

$$\text{П. ч.} = \frac{(a - b) \cdot T \cdot 0,001269 \cdot 100}{m}$$

Где:

П. ч. – перекисное число,

а – количество 0,01 н гипосульфита, израсходованное на титрование иода, мл,

в – количество 0,01 н гипосульфита, израсходованное в контрольном определении, мл,

Т – поправка к титру раствора гипосульфита,

m – масса жира.

Вопросы для самоконтроля:

1. Что объединяет все вещества столь разнообразного класса липидов?
2. Какова биологическая роль липидов в природе?
3. Приведите классификацию основных групп жиров?
4. Что является источником липидов для питания и прочих нужд человека?
5. Приведите основные способы сохранения жиров и масел?

6. Укажите различия в структуре и свойствах предельных и непредельных жирных кислот. Приведите примеры.
7. Перечислите основные химические свойства липидов.
8. Какие числа характеризуют состав и строение липидов?
9. Чем опасно и полезно потребление липидов?
10. Приведите формулу глицерина. К какой группе веществ он относится по своей природе? Отметьте качественную реакцию на глицерин.

Раздел 2. УГЛЕВОДЫ

1.2 Теоретическая часть

Углеводы – это класс органических молекул, состоящих из молекул углерода и воды. Углеводы (сахара) – это самый распространенный класс органических веществ в природе, так на долю углеводов приходится до 90% сухой массы растений. Углеводы содержат карбонильную группу и несколько гидроксильных групп.

Соединения, имеющие одну и ту же структурную формулу, но различающиеся по пространственной конфигурации, называются **стереоизомерами**. Образование таких изомеров оказывается возможным при вхождении в состав молекулы асимметрических атомов углерода (к которым присоединены четыре различных атома или группы). Число возможных изомеров соединения зависит от числа асимметрических атомов углерода (n) и равно 2^n . Глюкоза с четырьмя асимметрическими атомами углерода имеет, следовательно, 16 изомеров. Ниже указаны наиболее важные типы изомеров глюкозы.

1. Оптическая стереоизомерия. **D и L изомеры:** L – зеркальное отражение D формы. Принадлежность к D- или L-ряду определяется ориентацией групп –H и –ОН при атоме углерода, соседнем с концевым атомом углерода, содержащим первичную спиртовую группу (в молекуле глюкозы – ориентацией групп –H и –ОН при атоме углерода 5). Если группа –ОН при этом углероде находится справа, сахар принадлежит к D-ряду, если же она стоит слева, сахар относится к L-ряду (рис. 5). Большинство моносахаридов в организме млекопитающих имеют D-конфигурацию – именно к этой конфигурации специфичны ферменты, ответственные за их метаболизм.

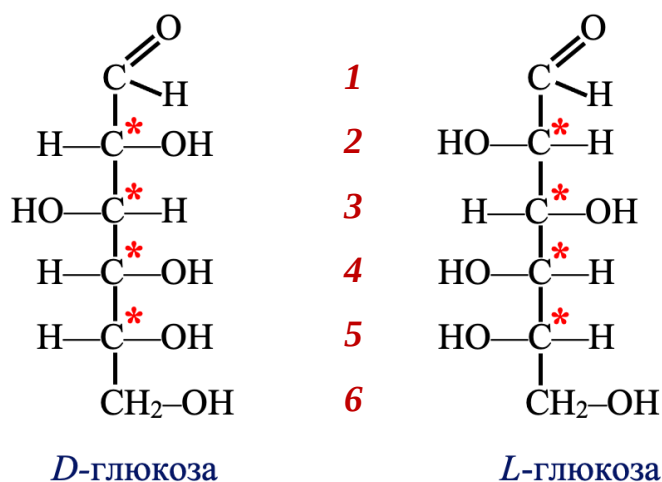


Рис. 5. D и L формы глюкозы

2. **Эпимерия.** Изомеры, различающиеся по конфигурации положением групп –H и –ОН при втором, третьем и четвертом атомах углерода, называются эпимерами. Биологически наиболее важными эпимерами глюкозы являются: D-манноза (по C2) и D-галактоза (по C4), а также D-аллоза (по C3) (рис. 6).

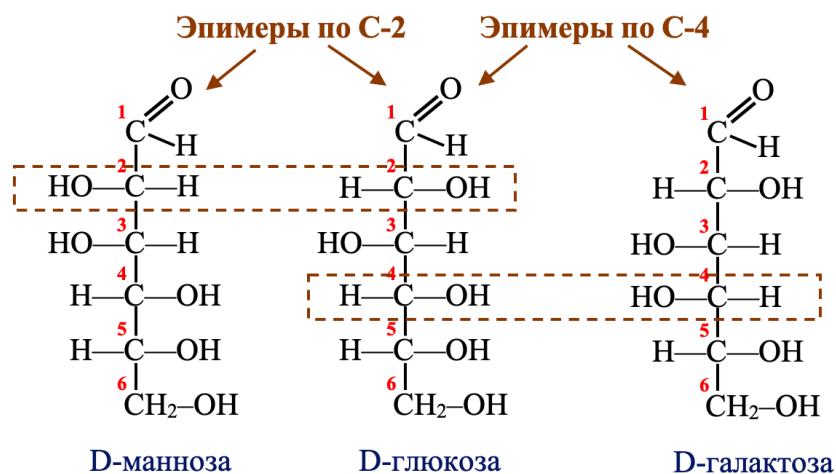


Рис. 6. Эпимеры глюкозы

3. **Пиранозные и фуранозные кольцевые структуры.** Альдегидные или кетонные группировки легко реагируют со спиртовыми, образуя полуацетальные или полукетальные группировки, чаще всего это происходит внутри молекулы, и, следовательно, происходит циклизация моносахарида, в результате образуется модифицированный гетероцикл, содержащий атом кислорода. Наиболее устойчивы пяти и шестичленные циклы. Пятичленные циклы углеводов сходны с молекулой фурана, поэтому это фуранозная форма, шестичленные с молекулой пирана – пиранозная форма (рис. 7). Все гидроксильные группы, расположенные справа оказываются под циклом, а те, что слева – над циклом. Кольцевую структуру могут принимать и кетозы (например, D-фруктофураноза или D-фруктопираноза). В растворе глюкозы более 99% молекул находится в пиранозной форме и менее 1 % – в фуранозной форме.

4. **α- и β-аномеры.** При циклизации образуется гидроксильная группа при полуацетальной или полукетальной группировке, полуацетальный или полукетальный гидроксил, эта группа может располагаться под циклом, в результате образуется α-аномер, а может располагаться над циклом, тогда образуется β-аномер (рис. 7). Циклическая структура сохраняется и в растворе, но при этом происходит аномеров глюкозы образование изомеров относительно положения альдегидного и кетонного атома углерода, что приводит к образованию смеси α - глюкопиранозы (36%) и β - глюкопиранозы (63%); оставшийся 1% представлен в основном α- и β- аномерами глюкофуранозы. Описанное выше установление равновесия сопровождается так называемой мутаротацией: полуацетальное кольцо раскрывается и вновь замыкается, при

этом может изменяться положение групп –Н и –ОН при углероде 1. Предполагают, что в ходе этого процесса образуется промежуточная гидратированная линейная (ациклическая) молекула, хотя по данным полярографии на долю ациклической формы глюкозы приходится всего 0,0025%. В растворе глюкоза является правовращающей; этим объясняется еще одно ее название – декстроза (декстро – правый), часто употребляемое в клинической практике.

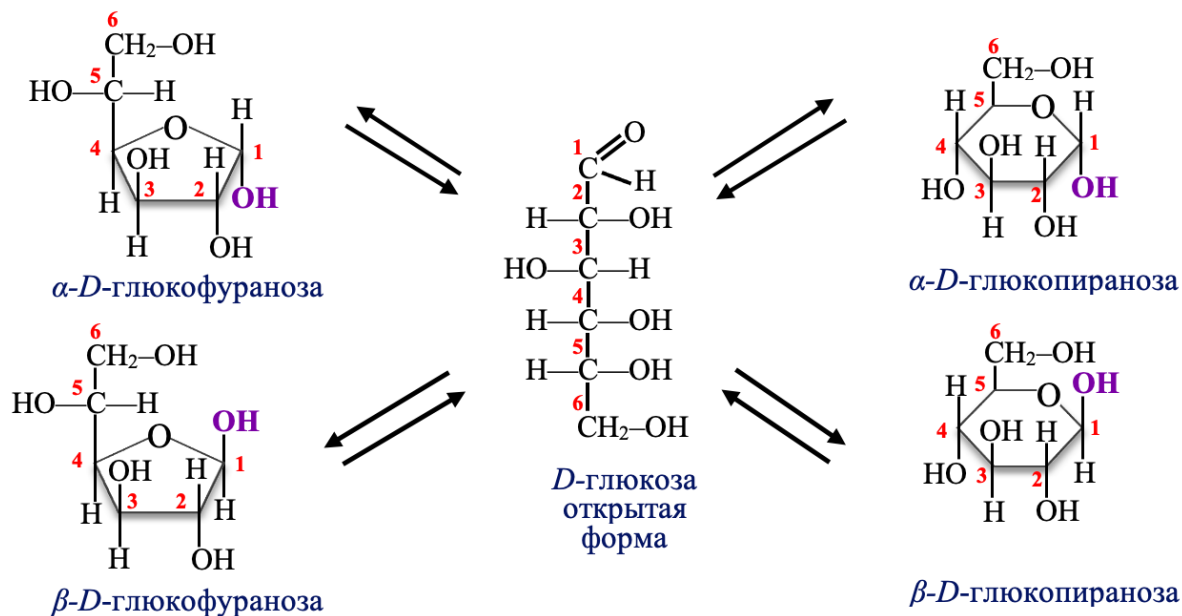


Рис. 7. Таутомерия глюкозы

5. **Альдо-, кето- изомеризация.** Фруктоза имеет ту же химическую формулу, что и глюкоза, но отличается по структурной формуле, поскольку фруктоза содержит потенциальную кетогруппу в положении 2, а глюкоза – потенциальную альдегидную группу в положении 1. Данная группа называется карбонильной и от ее положения зависят химические свойства веществ:

Карбонильная группа: >C=O

Кетон: $\text{R}_1-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_2$

Альдегид: $\text{R}-\text{C}(=\text{O})-\text{H}$

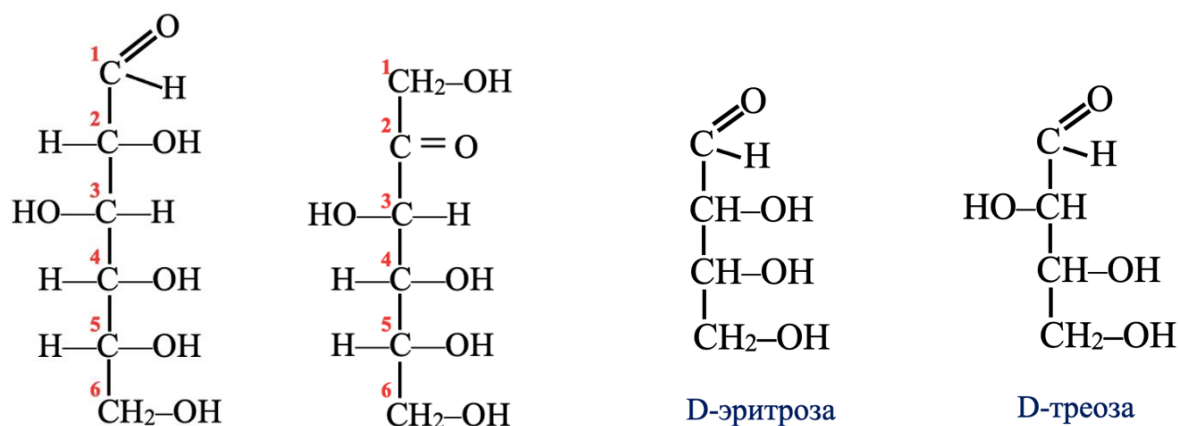
Классификация углеводов

По химическому составу углеводы разделяют на четыре основные группы (табл. 2).

Классификация углеводов

Моносахариды	Олигосахариды	Полисахариды
Основной мономер углеводов. Название зависит от количества С в углеродном скелете вещества	Содержат 2–8 (10) остатка моносахаридов, соединенных гликозидной связью	Содержат свыше 10 остатков моносахаридов, соединенных гликозидной связью
<i>Триозы</i> : глицеральдегид, диоксиацетон	Дисахариды: сахароза, лактоза, мальтоза, изомальтоза, трегалоза Трисахариды: рафиноза, мальтотриоза	Гомополисахариды: крахмал, гликоген, целлюлоза, хитин
<i>Тетрозы</i> : эритрозы, эритрулозы	Тетрасахариды: маннеотетроза	
<i>Пентозы</i> : рибоза, дезоксирибоза, рибулоза, арабиноза, ксилоза, ксилулоза	Пентосахариды: мальтопентоза и т.д.	Гетерополисахариды: гликопротеины, гликолипиды, глюкозаминогликаны (гиалуроновая кислота, пектин, гепарин, хондроитинсульфаты)
<i>Гексозы</i> : глюкоза, галактоза, фруктоза, манноза, глюкуроновая кислота, глюконовая кислота		
<i>Гептозы</i> и др.		

На рис. 8 представлены основные представители класса углеводов (моносахариды).



D-эритроза

D-треоза

D(+)-глюкоза (природная) D(-)-фруктоза (природная)

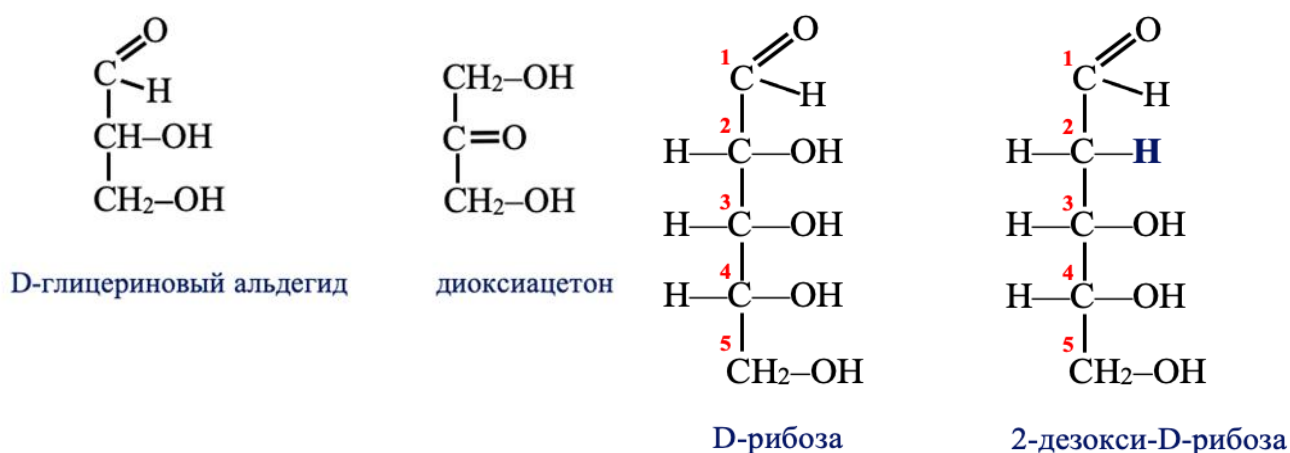


Рис. 8. Примеры строения моносахаридов

Функции углеводов

В живых организмах углеводы могут выполнять самые разнообразные функции. Ряд функций схож для растительных и животных организмов (энергетическая, например), однако есть и уникальные роли, выполняемые уникальными сахарами. Ниже рассмотрим важнейшие функции углеводов, выполняемые в живых организмах, а также роли некоторых сахаридов.

– **энергетическая функция.** Углеводы – это главный вид клеточного топлива как у растений, так и у животных. На их долю приходится более 50 % от суточного количества необходимых калорий. При окислении 1 грамма углеводов выделяются 4,1 ккал энергии и 0,4 г воды. Лидеры в энергетическом обмене – глюкоза и гликоген;

– **запасающая функция.** Запасные питательные вещества живые организмы накапливают в форме углеводов: гликоген – у животных и грибов; крахмал, инулин – у растений. Ученые пытаются работать над созданием сортов растений, листья которых были бы богаты сахарами, а не только запасающие органы. С помощью этого возможно повысить питательную ценность кормов. Есть успешные примеры создания нового пула гликогеноподобных полимеров в цитозоле клеток листа, когда были использованы изоформы гликогенсинтазы/синтазы крахмала, которые могли бы использовать цитозольный пул УДФ-глюкозы. Подобная технология описана в работах Eicke et al., 2017.

– **структурная и опорная функция.** Как отмечалось ранее, на долю сухого вещества растений может приходиться до 90% углеводов, у животных – 2-3% сухой массы. Опорная функция реализуется в построении опорных структур. Так, жесткая клеточная стенка растений состоит из целлюлозы, гемицеллюлозы и пектина, хитин – основной компонент клеточных стенок грибов и экзоскелета ракообразных и насекомых, муреин – защитный клеточный слой многих бактерий. У животных углеводы в форме гликозаминогликанов входят в состав

соединительной ткани. Углеводы – это также обязательный компонент большинства внутриклеточных структур (пластическая функция), например, пентозы в нуклеотидах и нуклеиновых кислотах, углеводы гликопротеинов и гликолипидов входят в состав межклеточного матрикса; мембран;

– **осмотическая функция.** В крови присутствует 100–110 мг/% глюкозы, которая принимает участие в регуляции осмотического давления в животном организме;

– **защитная функция** реализуется в синтезе внутриклеточных молекул (иммуноглобулины, участвующие в поддержании иммунитета животных, глюкуроныды – в процессах детоксикации эндогенных ядов и ксенобиотиков), а также внешних защитных образований, так, некоторые растения имеют специальные выросты (шипы, колючки), состоящие из клеточных стенок мёртвых клеток;

– **метаболическая функция.** из углеводов в организме могут синтезироваться соединения других классов, в частности, липиды и некоторые аминокислоты;

– **рецепторная функция.** Олигосахариды входят в состав гликопротеинов, гликолипидов – воспринимающей части многих клеточных рецепторов или молекул-лигандов.

Отдельные сахара могут играть важное значение для здоровья человека, если регулярно потреблять их с продуктами питания. Например, D-манноза, D-арабиноза, D-ксилоза – это компоненты гликопротеинов, встречаются в сливовой и вишневой мякоти, в составе древесных смол, в частности гуммиарабика, камедей. D-рибоза входит в состав нуклеотидов, коферментов и РНК, является промежуточным соединением пентозофосфатного пути, как и D-рибулоза. D-лихсоза – компонент ликсофлавина, выделяемого сердечной мышцей. D-глюкоза, которая входит в состав всех фруктовых соков, крахмала, сахарозы, мальтозы и лактозы, участвует в энергетическом обмене. D-Фруктоза (мед, сахароза, инулин) и D-галактоза (лактоза, гликопротеины и гликолипиды) способны превращаться в случае необходимости в глюкозу и также участвовать в ее метаболических путях.

Ни один животный организм не способен переваривать целлюлозу (отсутствует β -амилаза). Даже в организме короедов, термитов за выработку фермента – разрушителя целлюлозы – целлюлазы отвечают микроорганизмы пищеварительного тракта. За переваривание углеводов в пищеварительном тракте человека отвечают ферменты: α -амилазы слюны, α -амилаза, амило-1,6-глюкозидаза, олиго-1,6-глюкозидаза поджелудочной железы (панкреатического сока), ферменты тонкого кишечника. Перевариваются у нас в основном

полисахариды – крахмал из растительной пищи, и гликоген из пищи животного происхождения.

2.2 Практическая часть

Лабораторная работа 3. Качественные реакции на углеводы

Цель работы: овладеть методиками проведения качественного анализа на углеводы разных групп, закрепить представление об особенностях строения молекул углеводов, получить навык использования химической посуды, реактивов, выработать навыки работы со справочной литературой.

Оборудование: штатив с пробирками, пробиркодержатель, спиртовая горелка, водяная баня, микроскопы, предметные стекла.

Реактивы: 5%-ный раствор глюкозы; 1%-ные растворы фруктозы, сахарозы, мальтозы, лактозы; 15%-ный раствор гидроксида натрия (калия), 4%-ный раствор сульфата меди (II); реактив Селиванова (раствор резорцина в разбавленной соляной кислоте), 1 н раствор серной кислоты, 1%-ный раствор крахмала, раствор иода.

1. Реакции на моносахариды

Опыт 1. Открытие гидроксильной группы

Ход эксперимента:

1. В пробирку необходимо налить 1 мл раствора глюкозы (5%) и 0,5 мл раствора гидроксида натрия 15%.
2. По каплям прилить 4% раствор сульфата меди (II).
3. Встряхните пробирку.

Задание:

Опишите наблюдаемые явления. Сделайте вывод по опыту и напишите уравнение реакции.

Примечание: если вы оставите пробирку на некоторое время, то увидите смену синей окраски на красную. Почему так происходит?

Опыт 2. Реакция Троммера (открытие альдегидной группы)

Ход эксперимента:

1. Возьмите 2 пробирки. В первую прилейте 1 мл раствора глюкозы, а во вторую – 1 мл раствора фруктозы.
2. В каждую пробирку прилейте 0,5 мл гидроксида натрия, а затем по каплям – медный купорос.

3. Пробирки осторожно нагрейте.

Задание:

Отметьте наблюдаемые явления. Запишите уравнения реакции.

Наблюдается переход окраски: голубая – зеленая – желтая – красная, т.к. сначала образуется желтый осадок гидроксида меди (I), который при нагревании разлагается с образованием оксида меди (I) красного цвета. При этом глюкоза окисляется до глюконовой кислоты. Данную реакцию дают **только альдозы.**

Опыт 3. Реакция Селиванова (открытие кетогруппы)

Ход эксперимента:

1. В 2 пробирки прилить по 1 мл реактива Селиванова.
2. В первую добавить 5 капель раствора фруктозы, во вторую – 5 капель раствора глюкозы.
3. Поместите на водяную баню (80 °С) на 8 минут.

Задание:

Отметьте наблюдаемые явления и напишите уравнение реакции.

Опыт 4. Химический «светофор». Глюкоза – восстановитель красителя

Ход эксперимента:

1. Взять колбу на 250 мл, прилить 200 мл воды и растворить в ней пару ложек глюкозы (около 2–3 г).
2. В этом растворе растворить 0,5 ложки щелочи (3–5 г) (раствор №1).
3. Взять новую колбу, прилить туда 50 мл воды и растворить в ней индигокармин на кончике шпателя (0,05 г). Получаем раствор ярко синего цвета. Если переборщили с индикатором, то раствор лучше разбавить.
4. Добавляем 100 мл первого раствора глюкозы.
5. В начале раствор окрасился в зеленый цвет, затем в красный и теперь он желтый, поэтому опыт называется «химический светофор».

Данная реакция не бесконечная, она будет идти до тех пор, пока в растворе есть глюкоза и доступ кислорода. Смысл данной реакции в том, что как только к глюкозе в щелочной среде мы добавляем индикатор, глюкоза – окисляется, а индикатор восстанавливается и меняет свой цвет. Когда мы встряхиваем раствор, индикатор реагирует с кислородом, который содержится в воздухе, и назад окисляется.

6. Чтобы обратить реакцию вспять, нужно перемешать раствор.
7. Если хотите получить более насыщенные цвета – добавьте немного индикатора.
8. В другой стаканчик наливаем 50 мл воды и добавляем немного метиленового синего.
9. Приливаем остаток раствора с глюкозой №1.
10. Размешайте и дайте немного постоять.
11. Раствор обесцвечивается. Реакция идет по такому же принципу, как и с индигокармином. На поверхности, где раствор пересекается с кислородом воздуха остается синяя полоска.
12. После перемешивания, синий цвет раствора возвращается.
13. Слейте вместе 2 раствора с индигокармином и с метиленовым синим.
14. Опишите какие цвета мы наблюдаем?

Опыт 5. Реакция «серебряного зеркала». Качественная реакция на альдегиды

Ход эксперимента:

1. В пробирку прилить 1 мл раствора нитрата серебра (5%), 1 мл щелочи (5%) водный раствор аммиака (10%) по каплям! до растворения осадка.
2. К содержимому пробирки добавить 3 мл 10% раствора глюкозы, перемешать и нагревать на горелке до появления бурой окраски.
3. Наблюдать появление металлического серебра в виде черного осадка или его осаждение на стенках пробирки в виде зеркального налета.

Задание

Сделать вывод о восстанавливающих свойствах глюкозы и написать уравнение реакции.

2. Реакции на ди- и олигосахариды

Опыт 6. Качественные реакции на восстанавливающие (редуцирующие) сахара

Ход эксперимента:

- 1) В 3 пробирки прилейте по 2 мл следующих реактивов:



Раствор сахарозы



Раствор мальтозы



Раствор лактозы

- 2) Со всеми тремя проведите реакцию Троммера (опыт 2).

Задание:

Сделайте выводы по наблюдаемым явлениям. Напишите уравнение реакции на примере любого дисахарида.

Опыт 7. Качественные реакции на фруктозу

Ход эксперимента:

- 1) В 3 пробирки прилейте по 2 мл следующих реактивов:



Раствор сахарозы



Раствор мальтозы



Раствор лактозы

- 2) Со всеми тремя проведите реакцию Селиванова.

Задания:

А. Сделайте выводы по наблюдаемым явлениям.

В. Проиллюстрируйте процесс уравнением реакции

Опыт 8. Кислотный гидролиз сахарозы

Ход эксперимента:

1. В пробирку налейте 4 мл раствора сахарозы и прилейте раствор сильной кислоты.
2. Прокипятите в течение 2 минут. В присутствии кислоты дисахариды гидролизуются: сахароза – на фруктозу и глюкозу.
3. Докажите это, проведя реакцию Троммера.

Задания:

А. Сделайте выводы по наблюдаемым явлениям.

В. Проиллюстрируйте процесс уравнением реакции

3. Реакции на полисахариды

Опыт 9. Микроскопирование разных видов крахмала

Ход эксперимента:

1. Приготовьте взвесь картофельного крахмала и воды. Нанесите каплю взвеси на предметное стекло и накройте покровным.
2. Рассмотрите препарат в микроскоп на увеличении $\times 10$ (или $\times 8$).

Задание

Зарисуйте зерна картофельного крахмала.

3. Разотрите в фарфоровой ступке зерна злаков (пшеница, овес, пшено, горох и т.д.).
4. На предметное стекло добавьте каплю воды и внесите препаровальной иглой немного перетертой массы. Накройте покровным стеклом.
5. Повторите пункт 2.

Задание:

- А. Зарисуйте зерна крахмала злаков.
- В. Сделайте вывод, отметив разность крахмальных зерен разных видов растений.

Опыт 10. Качественная реакция крахмала с иодом

Общая информация

В ходе взаимодействия крахмала и иода происходит образование ярких (сине-фиолетовых) комплексов. Однако образование этих комплексов не связано с химическими связями. Здесь скорее дело в физических взаимодействиях спирализованных и неспирализованных участков молекулы крахмала. Ионы иода, оказавшись в «нитях» амилопектина и амилозы крахмала, формируют с ними комплексы адсорбционного типа – клатраты. Относительно формирования окраски клатратов амилопектина и амилозы вы можете прочитать в разделе общей информации в лабораторной работе №4. Подумайте, почему иногда комплексы имеют более синюю, а иногда более фиолетовую окраску?

Ход эксперимента:

1. В пробирку прилить 2 мл раствора крахмала (0,1%). Затем, 1–2 капли раствора Люголя. Перемешайте. *Отметьте наблюдаемое явление.*

2. Разлейте содержимое на 2 части. Ко второй части прилейте 1 мл раствора 10% гидроксида натрия. *Что при этом наблюдаете?*

3. Первую часть окрашенного раствора нагрейте на водяной бане.

Задание:

Отметьте явления, которые происходят при нагревании и охлаждении пробирки? Сделайте вывод.

Лабораторная работа 4. Количественное определение содержания крахмала и его гидролиз

Цель работы: овладеть навыками определения количественного содержания крахмала в растительном сырье и оценки его свойств.

Оборудование: штатив с пробирками, пробиркодержатель, спиртовая горелка, водяная баня, сахариметр (поляриметр), колбы мерные на 100 мл, пипетки, воронки, бумажные фильтры, конические колбы на 100–150 мл; часы, пипетки редуцированные.

Реактивы: 1%-ный раствор HCl, 30%-ный раствор ZnSO₄, 15%-ный раствор калия железосинеродистого; HCl концентрированная, 1%-раствор крахмала, 15%-ный раствор гидроксида натрия.

Общая информация

Крахмал – это основной резервный полисахарид высших растений. Состоит из остатков глюкозы. Для различных растений характерна различная форма зерен крахмала. Молекула крахмала состоит из амилозы (15–20% молекулы) и амилопектина (до 80% молекулы) и внешне напоминает дерево с разветвленной кроной (амилопектин) и прямым стволом (амилоза). Амилопектин отвечает за клейкие свойства крахмала: при добавлении горячей воды он превращается в клейстер, а амилоза растворяется. Также амилопектин окрашивается в фиолетовый цвет при реакции с иодом, а амилоза – в синий.

Под действием неорганических кислот промежуточным продуктом гидролиза крахмала являются декстрины. Строение молекул декстринов меньше, чем молекулы крахмала, поэтому меньше и их молекулярная масса, кроме того, они растворимы в воде. Конечным продуктом гидролиза является глюкоза. Применение декстринов востребовано при приготовлении клеящих средств, а также в пищевой, легкой промышленности и литейном производстве. Одна из

главных целей процесса хлебопечения состоит в превращении нерастворимого крахмала в растворимые и легче усваиваемые организмом декстрины.

При проведении ферментативного гидролиза, например, амилазами слюны, распад крахмала происходит до мальтозы через стадию декстринов. Полная схема продуктов гидролиза крахмала представлена на схеме (рис. 9).



Рис. 9. Продукты распада крахмала и их качественное изменение окраски под действием иода

Опыт 1. Определение крахмала в зерне методом Эверса

Ход эксперимента:

1. Измолоть в ступке навеску зерна любого злака (около 10 г).
2. Свежеизмолотое зерно (2–3 г) переносят в мерную колбу на 100 мл и приливают 12,5 мл раствора соляной кислоты.
3. Хорошо перемешать, после чего добавить еще 12,5 мл раствора кислоты.
4. Установить колбу в водяную баню с сильным кипением на 15 минут, постараться сделать так, чтобы кипение не прекращалось при внесении колбы.
5. Содержимое колбы постоянно помешивать.

Задание:

Отметьте, какие процессы при этом происходят в колбе?

6. Через 15 минут прилить в колбу 30 мл дистиллированной воды и охладить колбу в холодной воде до 20 °С.

7. Для осаждения белковой составляющей прилить 2 мл раствора сульфата цинка, перемешать, после чего прилить 2 мл раствора железосинеродистого калия и вновь перемешать.

8. Довести общее количество раствора в колбе до метки дистиллированной водой.

9. Содержимое колбы хорошо взболтать и отфильтровать через складчатый фильтр в сухую колбу, сливая первую мутную порцию фильтрата.

10. Фильтратом заполнить трубку поляриметра (сахариметра) таким образом, чтобы при повороте трубки в вертикальное положение раствор выступал над краями трубки в виде выпуклого мениска. Закрыть трубку покровным стеклом, выдавив пузырьки воздуха, и досуха протереть трубку снаружи.

11. Проверьте нулевую точку на шкале поляриметра, затем вложите трубку с раствором в желоб поляриметра и закройте крышку.

12. Раствор поляризуют, добиваясь однородности окраски поля. В момент достижения однородности окраски поля снимите показания шкалы поляриметра (сахариметра). Повторность опыта – трехкратная, на порциях фильтрата из одной колбы, при этом желательно, чтобы расхождения между крайними значениями отсчетов не превышали 0,1 градуса шкалы.

Задание:

А. Рассчитайте результат, используя формулу:

$$X = \frac{100 \cdot A \cdot 100 \cdot 0,9}{[a]D \cdot L \cdot M}, \text{ где}$$

X – содержание крахмала в зерне или продуктах его переработки (X) в пересчете на сухое вещество в процентах;

100 – объем экстракта;

A – показание поляриметра или сахариметра, градус шкалы;

100 – коэффициент для перевода в %;

0,9 – коэффициент перевода глюкозы в крахмал;

$[a]D$ – удельное вращение гидролизатов крахмала, коэффициент (для картофеля – 195,4; ржи – 184,0; пшеницы – 182,7, ячменя – 181,5; овса – 191,4; проса – 181,8; риса – 186,6; кукурузы – 187,9; гречихи – 180,5; вики, гороха и чечевицы – 1,747);

L – длина трубки поляриметра (дм);

M – масса навески анализируемого материала.

В. Сделайте вывод по работе.

Опыт 2. Гидролиз крахмала

Ход эксперимента:

1. В 2 пробирки прилить по 5 мл 1% раствора крахмала. Первая пробирка остается контрольной.
2. Во вторую прилить 2–3 капли соляной кислоты (конц.) и кипятить на водяной бане 15 минут.
3. Разделите содержимое 1 и 2 пробирки на 2 равные части на глаз (всего у вас получится 4 пробирки – 2 контрольные и 2 – опытные).
4. Проведите реакцию Троммера с содержимым пробирок 1 и 3.
5. Проведите реакцию с иодом с пробирками 2 и 4.

Задание:

Отметьте результаты эксперимента и сделайте вывод по опыту.

Лабораторная работа 5. Количественное определение пектина в плодах и овощах и оценка их желеобразующей способности

Цель работы: овладеть методом выделения растворимого пектина из растительного сырья, его количественной оценкой, а также научиться давать оценку его желеобразующей способности.

Оборудование: свежие яблоки (свекла), водяная баня, фарфоровые ступки с пестиком, конические колбы, мерные цилиндры, химические стаканы, весы, центрифуга, сушильный шкаф, воронки, бюксы, пипетки и бумажные фильтры.

Реактивы: сахароза, винная кислота, 1 н раствор уксусной кислоты, 2 н раствор CaCl_2 , AgNO_3 .

Общая информация

Пектин – это полисахарид с длинной спиралевидно-скрученной цепью повторяющихся остатков молекул полигалактуроновой кислоты, звенья которой связаны гликозидной α -(1→4)-связью. Это молекулы с большой молекулярной массой, обладающие свойствами лиофильного коллоида. В отличие от других природных коллоидов (желатин, агар-агар) золи пектина переходят в гель только в присутствии сахара и кислоты или поливалентных металлов. Высушенный пектин, выделенный из растений, – это порошок без запаха от белого до серо-коричневого цвета в зависимости от источника получения и степени очистки, слизкий на язык.

Пектин растворяется в воде, особенно в теплой, осаждается органическими растворителями и спиртом. При температуре свыше 100 °С пектин разлагается. Быстрое разложение наступает в присутствии ионов хлора.

В пищевой промышленности пектин получают из яблочных и цитрусовых выжимок, свекловичного жома, соцветий-корзинок подсолнечника, створок плодов-коробочек хлопчатника. Промышленные пектины, используемые в качестве пищевых добавок, являются гетерополисахаридами, содержащими не менее 65% (по массе) остатков галактуроновой кислоты, которые могут быть представлены в виде свободной кислоты, ее метилового эфира или в амидированных пектинах амида кислоты.

Высокоэтерифицированные пектины применяют в качестве студнеобразователя при производстве кондитерских (мармелад, пастила, зефир, желе, конфеты) и консервных (желе, джем, конфитюр, фрукты в желе) изделий; в качестве стабилизаторов при производстве молочных напитков, майонеза, маргарина, аналогов сливочного масла, соусов, мороженого, рыбных консервов; в качестве средства, замедляющего черствение в производстве хлебобулочных изделий; в качестве загустителей при производстве фруктовых соков и киселей. Низкоэтерифицированные пектины применяют при изготовлении овощных желе, паштетов, студней, сыров и пищевых продуктов детского, лечебного и профилактического питания.

Опыт 1. Оценка желирующей способности пектина яблок

Ход эксперимента:

1. Растереть навеску свежего яблока (10 г) в ступке до однородности и перенести в колбу на 200 мл.
2. Прилить 40 мл теплой (45 °С) дистиллированной воды и греть на водяной бане в течение 30 минут при этой же температуре, периодически встряхивая колбу.
3. Закрывать колбу крышкой и интенсивно вручную или на лабораторном шейкере взбалтывать колбу в течение 15–20 минут.
4. После содержимое колбы отцентрифугировать, осадок удалить, а прозрачный центрифугат (раствор пектина) перелить в чистую емкость.
5. Для определения желирующей способности взять 20 мл испытуемой жидкости и нагреть на водяной бане до 70–80 °С.
6. Когда раствор нагреется прилить к нему свежеприготовленный сироп из сахарозы, воды и винной кислоты, взятых в пропорции 60:20:0,8. Перемешивают.
7. Оставить полученную смесь на 3 часа настаиваться.

Задание:

- А. Опишите, что вы увидели в стаканчике с пектином спустя 3 часа?
- Б. Сделайте вывод о качестве пектина вашего яблока.

При достаточном количестве пектиновых веществ в плодах образуется густой студень, напоминающий мармелад. По плотности желе судят о желеобразующей способности пектинов.

Опыт 2. Определение количественного содержания пектина в растительной продукции

Ход эксперимента:

1. Приготовьте раствор пектина по схеме, описанной в опыте 1.
2. Перелейте пипеткой 25 мл раствора пектина в коническую колбу и прилейте к нему 100 мл раствора гидроксида натрия. Дайте настояться 30 минут.

При этом происходит омыление растворимого пектина, который переходит в натриевую соль пектиновой кислоты.

3. К полученному настою добавить раствор уксусной кислоты и получают свободную пектиновую или полигалактуроновую кислоту.
4. После аккуратно прилейте раствор CaCl_2 и оставьте на 1 час.
5. Выпавший после отстаивания осадок нужно промыть нагретой до 60°C водой. Осадок промывают пока не произойдет нейтрализация реакции на ион хлора каплями AgNO_3 .

Задание:

По ходу выполнения опыта с этого пункта заполните таблицу:

№ опыта	Масса сухого фильтра, г	Масса сухого фильтра с осадком, г	Масса осадка, г	Содержание пектиновой кислоты, %

6. Осадок вместе с фильтром необходимо поместить в бюкс и высушить при 110°C до постоянной массы.

Задание:

- А. Рассчитайте содержание пектиновой кислоты в растительном сырье по формуле:

$$X = \frac{m \cdot V_1 \cdot 92}{M \cdot V_2}, \text{ где}$$

X – содержание пектиновой кислоты (%);

m – масса пектата кальция, г;

V₁ – начальный объем водной вытяжки (мл);

92 – коэффициент пересчета в 100%;

M – навеска исследуемого материала (г);

V₂ – объем фильтрата, взятый для осаждения и омыления пектата кальция (мл).

При расчете массы осадка необходимо учитывать массу кальция и внести поправку на 8%.

Б. Сделайте вывод по работе.

Лабораторная работа 6. *Определение сырой клетчатки*

Цель работы: освоить метод определения нерастворимой клетчатки.

Оборудование: бюксы фарфоровые, нож канцелярский, ступка и пестик, колбы на 250 мл, стакан на 200–300 мл, стеклянные палочки, мерные цилиндры, восковой карандаш, фильтры бумажные, плита электрическая, вытяжной шкаф.

Реактивы: 4%-ная серная кислота, 20%ный раствор КОН, 1%-ная соляная кислота, этиловый спирт (96%), диэтиловый эфир.

Общая информация

Клетчатка – это пищевые волокна, состоящие из разнообразных углеводов. Относится к одним из важнейших компонентов рациона человека. Клетчатка не способна перевариваться пищеварительными ферментами организма человека, но перерабатываемая микрофлорой кишечника. Химический состав клетчатки не является постоянным и одинаковым для всех видов пищевых волокон и зависит от ее источника. В отличие от других углеводов клетчатка не может быть расщеплена на усваиваемые молекулы глюкозы, но воздействует на пищеварительные органы, раздражая их стенки и стимулируя сокращение.

Виды клетчатки:

1. Растворимая. Она содержится во фруктах, овощах (мякоти), бобовых, ячмене, овсе, морских водорослях. В воде данный вид клетчатки превращается в желе, которое служит отличной средой для обитания полезных бактерий. В желудке она набухает, что способствует чувству сытости. Это, например, пектин, камедь, лигнин.

2. Нерастворимая. Включают различные шелуха и кожура, бобовые, зерновые. В жидкости не растворяется, в желудке не набухает. Ускоряет процесс

опорожнения кишечника, выводит токсичные вещества, излишки желчи и холестерина. К нерастворимой клетчатке относится целлюлоза и гемицеллюлоза.

Суточная доза потребления клетчатки для человека, рекомендуемая ВОЗ, составляет 30 г.

Ход эксперимента:

1. Пробы ягод измельчить на пластинки (ломтики) толщиной до 0,8 см и высушить (не менее 10 г). Высушивание проб проводят в сушильном шкафу при температуре 60–75 °С до воздушно-сухого состояния. Воздушно-сухую пробу измельчить в ступке.

2. Довести до кипения 150 мл 4% серной кислоты.

3. Навеску высушенной испытуемой пробы массой около 1 г, помещают в стакан на 300–400 мл, приливают 100 мл 4% раствора серной кислоты, предварительно нагретой до кипения, и тщательно перемешивают стеклянной палочкой. Уровень жидкости в стакане фиксируют восковым карандашом.

4. Смесь тщательно перемешать стеклянной палочкой и кипятить на электрической плитке. Кипячение продолжают 10 мин., считая от начала кипения, при периодическом помешивании палочкой. Кипение должно быть слабым; при сильном кипении под стакан подкладывают слой асбеста.

5. Стакан снять с плитки, смыть со стенок с помощью стеклянной палочки приставшие частицы, следя за тем, чтобы уровень жидкости в стакане дошел до метки, но не превысил ее (смыть со стенок кислотой).

6. Прилить 28 мл раствора 20% КОН, перемешать палочкой и вновь кипятить в течение 10 мин.

7. После кипячения осадок отстаивают и остывший раствор фильтруют декантацией через бумажный фильтр.

8. Осадок из стакана перенести на фильтр (**взвесить фильтр!**) раствором 1%-й соляной кислоты, и на фильтре промыть этим же раствором 2 раза по 20 мл.

9. После чего фильтр и клетчатку промыть до нейтральной реакции (3–4 раза) горячей водой и примерно 10 мл этилового спирта, затем 10 мл диэтилового эфира.

10. Промытый осадок высушить бумажным фильтром (промокают фильтровальной бумагой), а затем клетчатку высушить в сушильном шкафу при температуре 160 °С до постоянной массы. Осадок охладить в эксикаторе и взвесить на лабораторных весах с точностью до 0,01 г.

Задание:

Вычислите массовую долю клетчатки в процентах (или в г на кг сухого вещества) в испытуемой пробе по формуле:

$$X = m_1/m_2 \cdot 100$$

m_1 — масса осадка,

m_2 — масса воздушно-сухой навески.

Вопросы для самоконтроля:

1. Дайте определение понятию углеводы и приведите классификацию основных групп углеводов?
2. Какие функции выполняют углеводы в различных живых организмах?
3. В чем отличие химических и физических свойств моно-, ди- и полисахаридов?
4. Какой моносахарид является самым распространенным на Земле (в составе полисахаридов в том числе)?
5. Опишите реакцию Троммера и ее назначение.
6. Дайте понятие редуцирующим и восстанавливающим сахарам.
7. Из каких мономеров состоят молекулы сахарозы, лактозы и мальтозы?
8. Как можно повысить желирующую способность пектина?
9. За счет чего происходят видимые эффекты в реакции иода с крахмалом? Какие?
10. Напишите формулы фруктозы, глюкозы, сахарозы и мальтозы.

Раздел 3. НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

3.1 Теоретическая часть

Нуклеиновые кислоты – линейные биополимеры, мономерами которых являются нуклеотиды.

Каждая нуклеиновая кислота состоит из цепочки нуклеотидов. Строение нуклеотида (рис. 10) предполагает наличие:

- 1 – гетероциклического азотистого основания, являющегося производным пурина или пиримидина,
- 2 – пентозы (рибозы или дезоксирибозы),
- 3 – остатка (-ов) фосфорной кислоты (фосфат).

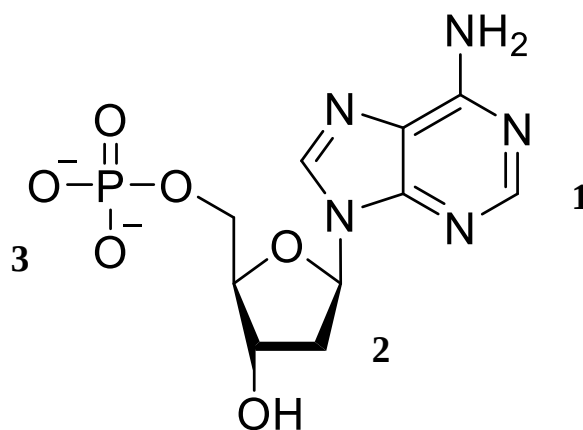


Рис. 10. Строение нуклеотида

Нуклеотид без фосфатной части называется нуклеозид.

В состав нуклеиновых кислот входят два производных пурина: аденин и гуанин, и три производных пиримидина: цитозин, урацил (в РНК) и тимин (в ДНК) (рис. 11). Кроме главных азотистых оснований в нуклеиновых кислотах присутствуют небольшие количества нетипичных (минорных) оснований (псевдоуридин, дигидроуридин, метиладенозин и др.).

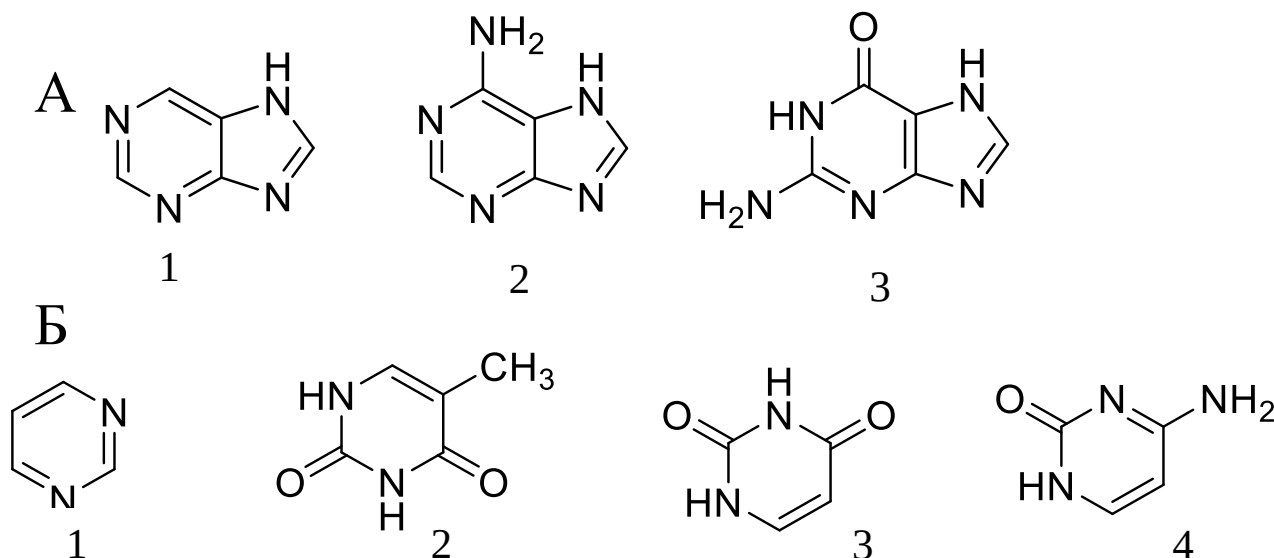


Рис. 11. Строение производных пурина и пиримидина: А – производные пурина: 1 – пурин, 2 – аденин, 3 – гуанин; Б – производные пиримидина: 1 – пиримидин, 2 – тимин, 3 – урацил, 4 – цитозин.

Классификация нуклеиновых кислот

Существует 2 вида нуклеиновых кислот – ДНК и РНК (рис. 12).

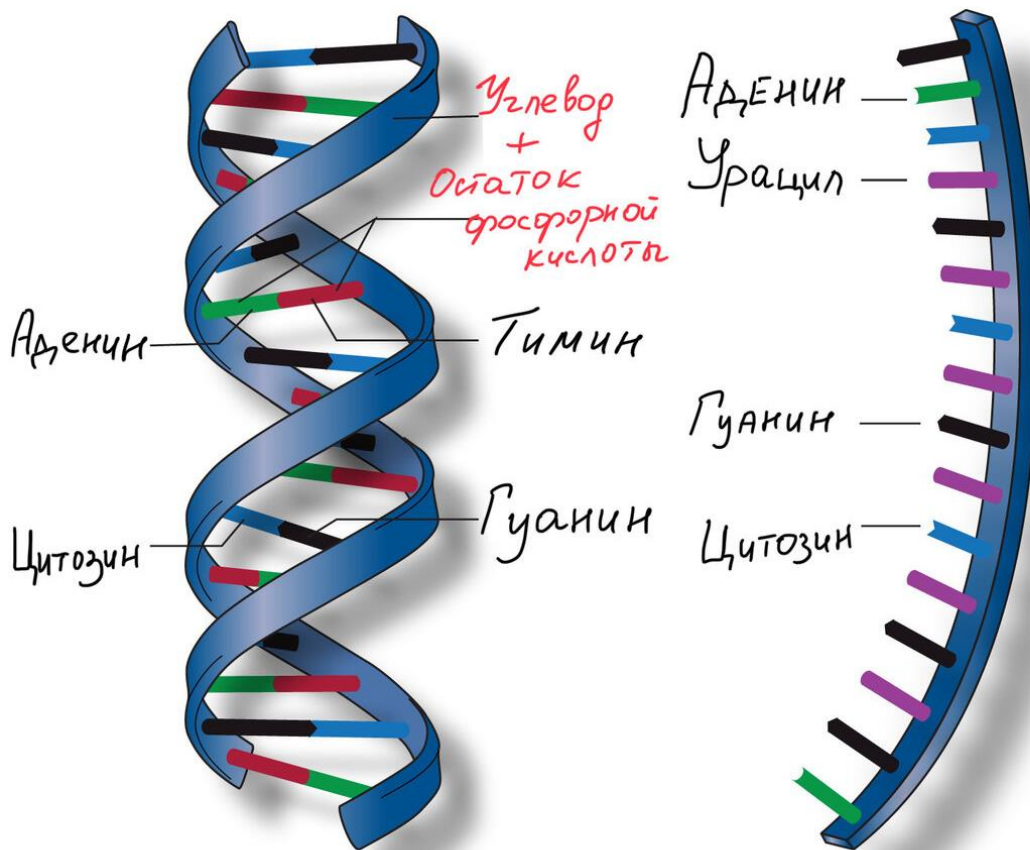


Рис. 12. Пространственная структура ДНК (слева) и РНК (справа) с комплементарными основаниями

РНК, в зависимости от первичной структуры, размера молекул и функций в клетках подразделяется на 3 типа:

- **матричная РНК (мРНК)**, или информационная (иРНК). Самая малочисленная группа, составляют 2–4% всей РНК клетки. Однако, они крайне разнообразны по первичной структуре и их количество соответствует числу белков в организме, так как каждая молекула мРНК является матрицей в синтезе соответствующего белка. В организме человека, например, свыше 18 тысяч протеинов. Локализуется иРНК в цитоплазме клетки, образуя комплексы с субъединицами рибосом;

- **транспортная РНК (тРНК)** является молекулой-адаптором, у которой к 3' концу присоединяется аминокислота, а к участку антикодона — мРНК. Группа тРНК насчитывает более 30 различных по первичной структуре молекул,

состоящих примерно из 80 нуклеотидов. тРНК содержат 10–20% модифицированных или минорных нуклеотидов, в состав которых входят метилированные или восстановленные азотистые основания, нуклеотиды с С–С связью между азотистым основанием и рибозой, а также некоторые другие варианты. Вторичная структура тРНК описывается структурой «клеверного листа», где наряду с 70% спирализованных участков цепи имеются одноцепочечные петлеобразные фрагменты. Третичная структура молекул за счет дополнительной компактизации приобретает Г-образную конформацию. На долю тРНК приходится около 15% всей РНК клетки;

• **рибосомальная РНК (рРНК).** Локализуется в рибосомах и в ядрышке, образуя комплексы с белками. Численность – около 80% от всех РНК клетки. Эукариотические рибосомы насчитывают 4 типа рРНК с разной константой седиментации (КС) – скоростью оседания в ультрацентрифуге, которая выражается в единицах Сведберга (S). Комплекс большой и малой субъединиц рибосомы образует компактную частицу с КС 80 S. рРНК имеют многочисленные спирализованные участки и специфически связаны с разнообразными белками, каждый из которых входит в определенную субъединицу рибосомы в количестве одной копии. Прокариотические рибосомы мельче, для них характерен КС=70 S. Митохондриальные рибосомы значительно мельче цитоплазматических рибосом (55 S) и их структура сходна со структурой рибосом у прокариотов.

Функции нуклеиновых кислот

Безусловно, главной функцией нуклеиновых кислот является хранение, передача и воспроизводство генетической информации в процессе филогенеза и онтогенеза. Реализуется эта информация в форме белков. Например, структурная роль белков, как главного молекулярного компонента мышц реализуется благодаря соблюдению строгой последовательности биохимических реакций синтеза белка с участием белков и нуклеиновых кислот: информация о структуре белка хранится в ДНК, иРНК считывает эти генетические данные, по паролю которой идет сборка белков и аминокислот с помощью тРНК.

Нуклеотиды, из которых состоят нуклеиновые кислоты, в свою очередь могут выполнять самые разнообразные функции в организме:

- ✓ участвуют во множестве биохимических процессов;
- ✓ играют важную роль в качестве молекул-предшественников при биосинтезе РНК и ДНК;
- ✓ пуриновые рибонуклеотиды выполняют функции универсальных источников энергии (например, АТФ), регуляторных сигналов;
- ✓ входят в состав коферментов (ФАД, НАД, НАДФ);

- ✓ служат переносчиками метальных групп (S-аденозилметионин);
- ✓ пиримидиновые нуклеотиды функционируют в качестве макроэргических интермедиатов в углеводном обмене и в синтезе липидов;
- ✓ синтетические аналоги природных нуклеотидов, способные замещать их в структуре нуклеиновых кислот и оказывать ингибирующее действие на синтез РНК и ДНК, что нашло применение в химиотерапии рака. Для подавления роста опухолевых клеток или определенных вирусов используют 5-фторурацил, 5'-иодо-2-дезоксинуридин, арабинозилцитозин, 6-тиогуанин, 6-меркаптопурин, 6-азауридин. Аллопуринол – синтетический аналог пурина, используется в лечении подагры.

3.2 Практическая часть

Лабораторная работа 7. Выделение нуклеопротеидов из дрожжей и их гидролиз

Цель работы: провести кислотный гидролиз нуклеопротеидов пекарских дрожжей, изучить продукты гидролиза и с помощью качественных реакций открыть их компоненты, закрепить полученные знания по строению нуклеиновых кислот и познакомиться с качественными реакциями, подтверждающими состав продуктов гидролиза.

Оборудование: фарфоровые ступки с пестиками, штатив с пробирками, бумажные фильтры, химические стаканы, лакмусовая бумага, центрифуга, колба с пробкой-обратным холодильником, водяная баня, спиртовая горелка.

Реактивы: дрожжи, водно-эфирная смесь (1:1), кварцевый песок, 0,4%-ный раствор гидроксида натрия, 10%-ный раствор гидроксида натрия, 1%-ный раствор сульфата меди (II), концентрированный раствор аммиака, аммиачный раствор оксида серебра, 10%-ный раствор уксусной кислоты, раствор молибдата аммония в азотной кислоте, магниевая смесь, 10%-ный раствор серной кислоты.

1. Выделение и гидролиз нуклеопротеидов

Опыт 1. Выделение нуклеопротеидов

Ход эксперимента:

1. Поместите в ступку 10 г дрожжей. Прилейте 4 мл водно-эфирной смеси и перемешайте.
2. Следом добавьте 5 г кварцевого песка и тщательно разотрите. При этом постепенно вливайте 50 мл 0,4%-ного раствора гидроксида натрия. Растирайте не менее 15 минут.

3. Затем массу отфильтруйте через бумажный фильтр или центрифугируйте.

4. Осадок утилизируйте, а центрифугат (фильтрат) перелейте в стаканчик и медленно вливайте 10%-ный раствор уксусной кислоты (5–6 мл).

5. После каждой дозы кислоты проверяйте смесь лакмусовой бумагой до появления кислой среды. Рибонуклеопротеиды в кислой среде выпадают в осадок.

6. Суспензию центрифугируйте для получения осадка рибонуклеопротеидов.

Задание:

Сделайте вывод о проделанной работе и опишите видимые эффекты.

Опыт 2. Гидролиз нуклеопротеидов

Ход эксперимента:

1. Полученный в опыте 1 осадок перенесите в стеклянную колбу и прилейте 20 мл 10%-ной серной кислоты.

2. Закройте колбу крышкой с обратным холодильником и кипятите на малом огне в течение 1 часа.

3. Отфильтруйте гидролизат.

2. Качественные реакции на наличие продуктов гидролиза

Общая информация

В ходе гидролиза образуются стандартные компоненты молекулы РНК: азотистое основание, фосфат, пентоза, сопутствующие белки и пептиды. В работе описаны качественные реакции для определения азотистых пуриновых оснований, фосфата, белков, однако выполнение качественной реакции на пентозу – достаточно сложный процесс, требующий дорогостоящих реактивов. Самым известным способом качественного открытия рибозы является метод Молиша, основанный на дегидратации пентоз концентрированными кислотами с образованием фурфурола, который дает с тимолом, α -нафтолом и орцином окрашенные соединения. Данную работу вы можете выполнить самостоятельно при наличии упомянутых расходных материалов.

Опыт 3. Определение белков и пептидов

Ход эксперимента:

1. Универсальной качественной реакцией для выявления белков в системе является биуретовая реакция. В чистую пробирку внесите 10 капель гидролизата из опыта 2.

2. Прилейте 10 капель 10%-ного раствора щелочи и 2 капли 1%-ного раствора сульфата меди. Перемешайте.

Задание:

А. Опишите видимый эффект реакции.

Б. Сделайте вывод.

Опыт 4. Определение пуриновых оснований

Ход эксперимента:

1. В чистую пробирку прилейте 10 капель гидролизата из опыта 2. Осторожно, по каплям, внесите концентрированный раствор аммиака до получения щелочной реакции (контролируйте лакмусовой бумагой).

2. При достижении щелочной реакции среды добавьте 8–10 капель аммиачного раствора оксида серебра. Через некоторое время вы увидите серебряные соли пуриновых оснований.

Задание:

А. Опишите видимый эффект реакции.

Б. Напишите уравнение реакции и сделайте вывод.

Опыт 5. Обнаружение фосфорной кислоты

Ход эксперимента:

1. В чистую термостойкую пробирку прилейте 10 капель гидролизата из опыта 2 и добавьте к ним 20 капель раствора молибдата аммония в азотной кислоте.

2. Кипятите на водяной бане до появления лимонно-желтого цвета жидкости.

3. Достаньте пробирку с гидролизатом из водяной бани и быстро охладите ее в холодной воде.

Задание:

- А. Опишите видимый эффект реакции.
- Б. Напишите уравнение реакции.

4. В новую пробирку добавьте 10 капель гидролизата из опыта 2 и приливайте постепенно концентрированный раствор аммиака до появления резкого запаха.

5. Добавьте 10 капель магниальной смеси.

Задание:

- А. Опишите видимый эффект реакции.
- Б. Напишите уравнение реакции и сделайте выводы по опыту и по работе.

Вопросы для самоконтроля:

- 1. Что входит в состав молекул ДНК и РНК?
- 2. Назовите какие типы РНК вам известны, охарактеризуйте их.
- 3. При помощи каких качественных реакций обнаруживают продукты гидролиза нуклеиновых кислот: белков, азотистых оснований, фосфата, пентоз?
- 4. Какие ферменты участвуют в процессе синтеза ДНК?
- 5. Как называется биологический синтез ДНК и РНК?
- 6. Какие азотистые основания являются комплементарными друг другу?
- 7. Какие уровни организации нуклеиновых кислот вам известны?
- 8. Что подразумевается под правилом Чаргафа?
- 9. Какие азотистые основания относятся к производным пурина, а какие к производным пиримидина?
- 10. Перечислите функции нуклеиновых кислот и нуклеотидов.

Раздел 4. БЕЛКИ

4.1 Теоретическая часть

Белки – важнейший класс высокомолекулярных соединений, которые при гидролизе дают набор α -аминокислот L-ряда, многообразие которых объясняется различиями аминокислотного состава и порядка чередования разных аминокислот в цепи полимера.

Класс белков крайне разнообразен. Через белки реализуются все признаки и отличия живых организмов. Именно поэтому белки имеют ряд основных свойств:

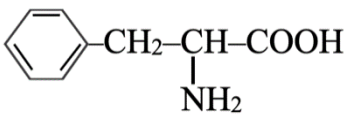
1. Отличаются высокой видовой специфичностью и разнообразием структур.
2. Динамичность структур молекул обеспечивается благодаря способности белков к различным внутримолекулярным взаимодействиям.
3. Способность вступать в разнообразные химические и физические взаимодействия как друг с другом, так и с другими соединениями (липидами, нуклеиновыми кислотами, полисахаридами и др.), образуя надмолекулярные комплексы
4. Белки способны под влиянием различных воздействий обратимо и закономерно изменять конфигурацию молекул.
5. Ряд белков являются биологическими катализаторами, ускоряющие химические реакции в организме.
6. Наличие биологической активности дает возможность белкам играть разнообразные роли в жизни живых организмов.

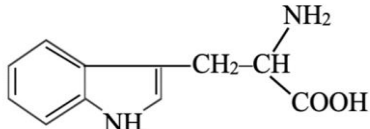
Белки образованы *аминокислотами*. Всего известно около 500 различных аминокислот, однако всего их можно разделить на 2 группы по встречаемости в белках.

1. **Постоянно встречающиеся** – 18 аминокислот и 2 амида – аспарагиновой и глутаминовой кислот (аспарагин и глутамин).
2. **Иногда встречающиеся**: орнитин, α -аминоизомасляная, γ -карбоксиглутаминовая кислоты и ряд других производных постоянно встречающихся аминокислот.

В таблице 3 представлены некоторые важнейшие аминокислоты для всех живых организмов.

Некоторые важнейшие аминокислоты

Аминокислота		Формула
Тривиальное название	Систематическое название	
Глицин	аминоуксусная кислота	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$
α-Аланин	α -аминопропионовая кислота	$\text{CH}_3-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
Валин	γ -аминоизовалериановая кислота	$\text{CH}_3-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
Лейцин	α -амино- γ -метил-валериановая кислота	$\text{CH}_3-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
Изолейцин	α -амино- β -метил-валериановая кислота	$\text{CH}_3-\text{CH}_2-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
Фенилаланин	α -амино- β -фенил-пропионовая кислота	
Аспарагиновая кислота	аминоянтранная кислота	$\text{HOOC}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{COOH}$
Глутаминовая кислота	α -аминоглутаровая кислота	$\text{HOOC}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$
Лизин	α , ϵ -диаминокапроновая кислота	$\text{NH}_2-(\text{CH}_2)_4-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
Серин	α -амино- β -гидрокси-пропионовая кислота	$\text{HO}-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
Треонин	α -амино- β -гидроксимасляная кислота	$\text{CH}_3-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$

Цистеин	α -амино- β -тиопропионовая кислота	$\begin{array}{c} \text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{SH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$
Метионин	α -амино- γ -метилтио-масляная кислота	$\text{CH}_3-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{COOH}$
Тирозин	α -амино- β -(<i>p</i> -гидрокси-фенил)-пропионовая кислота	$\text{HOOC}-\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}-\text{CH}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$
Триптофан	α -амино- β -индолил-пропионовая кислота	

Давайте разберемся, что значит « α -аминокислоты L-ряда». D и L формы – это вещества – оптические изомеры. D, L отражают конфигурацию вещества, относительно опорного соединения. В случае аминокислот L форма отличается тем, что аминогруппа у нее слева (рис. 13).

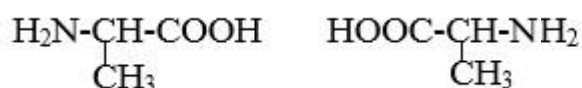


Рис. 13. Аминокислоты: L-аланин (слева) и D-аланин (справа)

Что означает α -аминокислоты? Как вы можете видеть из общей формулы аминокислот на примере аланина (рис. 13), аминогруппа ($-\text{NH}_2$) и карбоксильная группа ($-\text{COOH}$), присоединяются к одному и тому же атому углерода, который находится во втором положении. Углерод в данном положении называется α , поэтому и вещества с таким строением называют α -аминокислотами.

Как подсчитать общее число аминокислотных остатков в молекулах белков, если оно изменяется в широких пределах? Точное количество аминокислот и точную молекулярную массу белка мы сможем вычислить, если будет доподлинно известна вся последовательность аминокислот, однако белки зачастую обладают колоссальной молекулярной массой. В таком случае используют примерное значение массы и вычисляют ее по **коэффициенту поликонденсации**.

В живых организмах встречаются только L-аминокислоты, кроме *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*)

Для вычисления коэффициента поликонденсации (КП), а значит и количества аминокислот в белке принимают условную среднюю массу аминокислотного остатка равной 115:

$$M_{г,ср.}(аминокислотного\ остатка) = 115.$$

Для вычисления коэффициента поликонденсации белка с молекулярной массой равной 46000, мы должны массу разделить на $M_{г,ср.}$:

$$M = 46000; \text{КП} = 46000/115 = 400.$$

Ответ: 400 аминокислотных остатка входят в состав белка.

Обратите внимание! Если в ответе вы получили дробное число, окончательным и верным ответом будет *целое число* вашего ответа. Белок не может содержать дробное количество аминокислотных остатков. Например,

$$M = 17000; \text{КП} = 17000/115 = 147,82.$$

Ответ: 147 аминокислотных остатка входят в состав белка.

Свойства белка в значительной мере определяются набором и соотношением в нем аминокислот.

Классификация белков

В связи с невероятным разнообразием белков их подразделяют по многим параметрам: форме молекул, химическим и физическим свойствам, выполняемым функциям и др.

I По степени сложности:

- простые белки (протеины). Они дают при гидролизе только аминокислоты.
 - 1) Альбумины
 - 2) Глобулины
 - 3) Проламины
 - 4) Глютелины
 - 5) Гистоны
 - 6) Склеропротеины
 - 7) Протамины
 - 8) Протеиноиды
- сложные белки (протеиды). Состоят из протеина и добавочной группы, по составу которой их делят на:
 - 1) Хромопротеины (гемоглобин, цитохромы, каталаза, хлорофилл).
 - 2) Липопротеины (компонент мембран, липопротеины крови, сфинголипиды в сером веществе мозга).
 - 3) Гликопротеины (кутикулярный гликопротеин – структурный материал покровных тканей насекомых, муцин – компонент слюны, протеогликановые агрегаты в хрящевых тканях).
 - 4) Нуклеопротеины (вирусы, хроматин, рибосомы).

5) Металлопротеины (цитохромоксидаза, церулоплазмин крови – Cu; лактоферрин молока, трансферрин крови, ферритин селезенки – Fe).

6) Фосфопротеины (казеин молока, вителлин и фосфитин яичного желтка, ихтулин икры рыб).

7) Флавопротеины, добавочная группа – ФАД или ФМН (компонент дыхательной цепи).

II По форме частиц:

- фибриллярные (волоконистые) белки (фиброин шелка, кератин волос, коллаген кожи);
- глобулярные (корпускулярные) белки (шаровидные) (рис. 14).

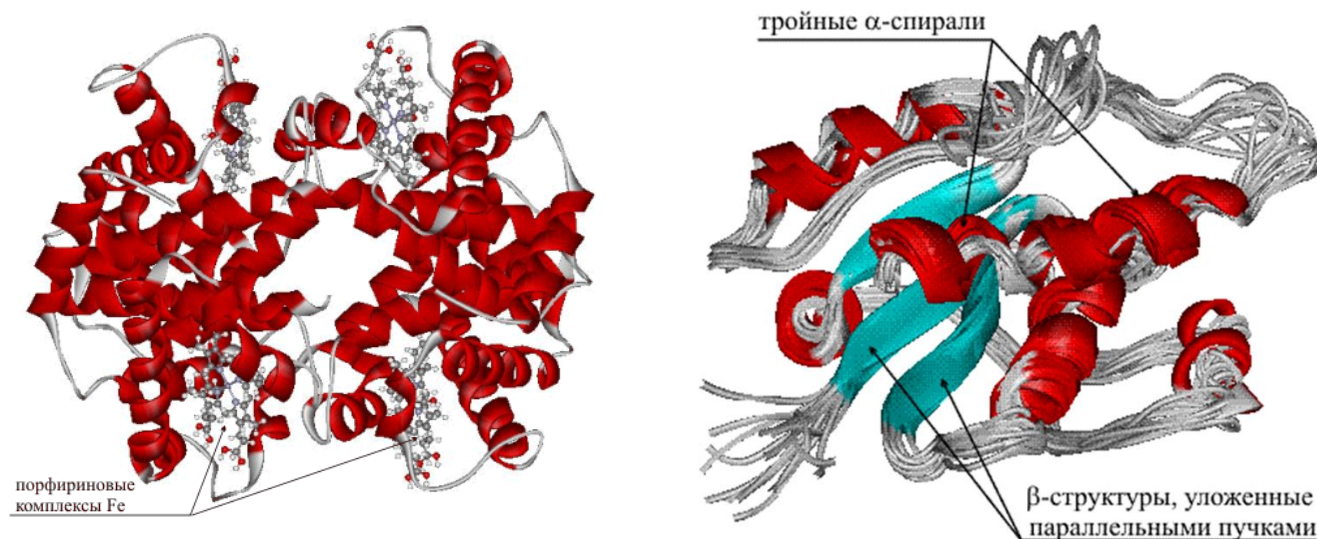


Рис. 14. Форма белковой молекулы: глобулярная – слева (гемоглобин), фибриллярная – справа (коллаген)

III По растворимости:

- протеиноиды (склеропотеины) – нерастворимы в обычных растворителях – почти все фибриллярные белки;
- альбумины – хорошо растворимы в воде и крепких растворах солей (50%-ном сульфате аммония), содержат, как правило, много глицина – альбумины крови, яиц, молока;
- глобулины – нерастворимы в воде, но растворимы в солевых растворах умеренных концентраций – белки семян (легумин гороха, фазеолин фасоли), антитела, фибрин;
- проламины – растворимы в 60–80%-ном растворе этанола, содержат, как правило, много глутаминовой кислоты и пролина – семена злаков (глиадин ржи и пшеницы, гордеин ячменя, зеин кукурузы).

IV По аминокислотному составу:

- протамины – содержат 80–90% аргинина, простейшие белки, растворяются в слабых кислотах – белки половых клеток (сальмин молок семги);

- гистоны – высокое содержание аргинина, лизина и гистидина (не менее 30%), растворимы в слабых кислотах, 0,2 н HCl, осаждаются спиртом и аммиаком – содержатся в ядрах клеток;
- глютелины – много глутаминовой кислоты, растворяются в щелочных растворах (0,2–2%-ном NaOH) – содержатся в семенах злаков (клейковина), зеленых частях растений.

V По выполняемым функциям:

- структурные белки – компоненты клеточных мембран, органелл; коллаген соединительной ткани; кератин волос, ногтей; эластин в сосудистых стенках и др.;
- каталитически активные белки (ферменты);
- сократительные белки: миксомиозин; белки микротрубочек; миозино- и актомиозиноподобные белки фибриллярного аппарата амебы; белки микрофибрилл, жгутиков и ресничек простейших, жгутиков сперматозоидов;
- транспортные белки – сывороточный альбумин; церулоплазмин; трансферрин; β -липопротеин; гемоглобин; транспортные белки мембран
- защитные белки: антитела (иммуноглобулины); белки системы свертывания крови (фибриноген, тромбин, фибрин, факторы свертывания); интерфероны и др.
- токсические белки: токсины змей, скорпионов, пчел, ос и др. – в основном нейротоксины; токсины микроорганизмов и растений (дифтерийный, холерный, токсин шигеллы и др.);
- белки-гормоны (инсулин, глюкагон и др.)
- регуляторные белки (гистоны; негистоновые белки хроматина; белковые факторы репликации ДНК, транскрипции РНК, синтеза белка; стрессовые белки и др.)
- резервные белки (овальбумины яиц, белки молока – казеин)
- рецепторные белки: рецептор ацетилхолина; фоторецепторный белок опсин; сладкочувствительный белок вкусовых рецепторов; обонятельный белок дубового шелкопряда; холинорецепторные белки звуковых рецепторов
- белки-ингибиторы ферментов
- белки вирусных оболочек (вирус табачной мозаики, бактериофаги и др.)
- белки с иными функциями (гемоглобины, фибриллярные белки, рибосомальные белки и т. п.).

Функции белков

Функции белков напрямую связаны с их свойствами, поэтому более подробно эти свойства и конкретные белки, выполняющие ту или иную функцию, были описаны выше.

- 1) Структурная функция;
- 2) Каталитическая;
- 3) Транспортная,
- 4) Двигательная,
- 5) Защитная,
- 6) Регуляторная,
- 7) Резервная,
- 8) Рецепторная,
- 9) Специальная (белки-гормоны, белки-ингибиторы ферментов, белки вирусных оболочек и др.)
- 10) Энергетическая (при окислении 1 г белка выделяется 4,1 ккал энергии (17,2 кДж)).

4.2 Практическая часть

Лабораторная работа 8. Качественные реакции белков

Цель работы: изучить некоторые физические и химические свойства аминокислот, познакомиться с побочными процессами, происходящими в ходе проведения качественных реакций на белки.

Оборудование: штатив с пробирками, спиртовая горелка, спички, водяная баня, химическая посуда.

Реактивы: неразбавленный яичный белок или растительный белок, раствор яичного белка, 30%-ный и 10%-ный растворы гидроксида натрия или калия, 1%-ный раствор сульфата меди (II), концентрированные серная и азотная кислоты, ледяная уксусная кислота, глиоксиловая кислота, 1%-ный раствор сульфаниловой кислоты в 5%-ной соляной кислоте, 1%-ный раствор нингидрина в 95%-ном растворе ацетона, 0,2%-ный спиртовой раствор α -нафтола, раствор гипобромита натрия, 0,5%-ный раствор нитрита натрия, 10%-ный раствор карбоната натрия, реактив Миллона.

Задание:

А. Заполните таблицу в ходе работы, пользуясь описанием опытов ниже:

№	Название реакции	Схема реакции	Результат реакции (цвет/осадок/газ и т.п.)	Указать универсальная реакция на белок или на конкретные аминокислоты
1	Реакция Сакагучи			
2	Реакция Миллона		1. 2.	
3	Ксантопротеиновая реакция		1. 2. 3.	
4	Реакция Паули			
5	Биуретовая реакция		1.	
6	Нингидриновая реакция			
7	Реакция Адамкевича			
8	На присутствие серы			

Б. Ниже по возможности приведите уравнения реакции, которые вам понятны.

Опыт 1. Биуретовая реакция

См. лабораторную работу 7, опыт 3 (стр. 53).

Опыт 2. Ксантопротеиновая реакция

Реакция протекает лишь при наличии остатков ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана) с образованием нитросоединений. При изменении кислой среды на щелочную происходит образование хромофорной группы, вследствие чего происходит изменение цвета.

Ход эксперимента:

1. К 1 мл раствора яичного белка прилейте 5 капель концентрированной азотной кислоты до появления белого осадка свернувшегося белка.

2. Нагрейте пробирку, но не доводите до кипения.
3. Охладите смесь и осторожно добавьте, не взбалтывая, избыток концентрированного раствора щелочи (по каплям!).

Опыт 3. Нингидриновая реакция

Ход эксперимента:

1. В пробирку с 2–3 мл разбавленного белка прилейте 3–4 капли раствора нингидрина в ацетоне.
2. Перемешайте смесь и поставьте на водяную баню при 70 °С на несколько минут.

Опыт 4. Реакция Сакагучи

Реакция характерна для белков, имеющих в составе остатки аргинина.

Ход эксперимента:

1. 2–3 мл раствора белка смешать с 1 мл 10%-ным раствором гидроксида натрия.
2. Добавить несколько капель 0,2%-ного спиртового раствора α-нафтола. Перемешать.
3. Прилить 0,5 мл гипобромита натрия. Перемешать.

Опыт 5. Реакция Миллона

Реакция характерна для белков, имеющих в составе остатки тирозина.

Ход эксперимента:

1. К концентрированному яичному белку прилейте двойной объем реактива Миллона.
2. Нагрейте пробирку.

Опыт 6. Реакция Адамкевича

Реакция характерна для белков, имеющих в составе остатки триптофана.

Ход эксперимента:

1. В пробирку добавьте несколько капель концентрированного яичного белка и 2 мл ледяной уксусной кислоты с примесью глиоксиловой.
2. Смесь нагрейте до появления осадка.
3. Охладите пробирку со смесью, а затем аккуратно наклонив пробирку, чтобы площадь поверхности жидкости стала максимальна, по стенке

пробирки прилейте 1 мл концентрированной серной кислоты. 2 жидкости не должны смешиваться.

Опыт 7. Реакция Паули

Реакция характерна для белков, имеющих в составе остатки гистидина.

Ход эксперимента:

1. К 1 мл раствора сульфаниловой кислоты в соляной прилейте 2 мл раствора нитрита натрия и сильно встряхните.
2. Следом быстро прилейте 2 мл раствора белка. Перемешайте.
3. Прилейте 6 мл 10%-ного раствора карбоната натрия. Встряхните пробирку.

Опыт 8. На наличие в составе серы

Реакция характерна для белков, имеющих в составе остатки серосодержащих аминокислот.

Ход эксперимента:

1. 1 мл раствора белка смешать в пробирке с 2 мл раствора гидроксида натрия.
2. Кипятить в течение нескольких минут (1–2).
3. Прилить 1 мл раствора ацетата свинца и вновь нагреть.

Лабораторная работа 9. Реакции осаждения и денатурации белков

Цель работы: познакомиться с методами осаждения белков, изучить эффекты от действия различных реагентов на белки.

Оборудование: штатив с пробирками, спиртовая горелка, спички, водяная баня, химическая посуда, бумажные фильтры.

Реактивы: неразбавленный яичный белок, насыщенный раствор сульфата аммония, 1%-ный и 10%-ный раствор уксусной кислоты, насыщенный раствор хлорида натрия, 30%-ный раствор гидроксида натрия или калия, концентрированная азотная, соляная и серная кислоты, 5%-ный раствор трихлоруксусной кислоты, 1%-ный раствор сульфата меди (II), раствор ацетата свинца, 10%-ный раствор таннина, 5%-ный раствор соляной кислоты, 5%-ный раствор гексацианоферрата(II)калия, водный раствор фенола и формалин.

Задание:

А. Проведите предложенные эксперименты и заполните таблицу, отражающую, что происходит с белками при воздействии различных факторов на них:

№	Реакция	Краткая схема реакции	Результат реакции (цвет/осадок/газ и т.п.), вывод.
1	Свертывание при нагревании		<u>Перечислить 5 эффектов</u>
2	Осаждение белка солями тяжелых металлов		
3	Осаждение белка концентрированными минеральными кислотами		
4	Осаждение белка спиртом		
5	Высаливание сульфатом аммония		
6	Осаждение органическими кислотами		
7	Осаждение белков алкалоидами		
8	Осаждение белков фенолом и формалином		<u>Где осадок выпал быстрее?</u>

Б. В конце работы сделайте общий вывод и ответьте на вопросы для самоконтроля 1–4.

Опыт 1. Осаждение белков спиртом

Спирт отнимает гидратные оболочки белков, что приводит к выпадению последних в осадок. **Реакция обратима**, если быстро прекратить действие спирта на белок.

Ход эксперимента:

1. К 1 мл раствора белка добавьте пару кристалликов соли.

2. Влейте 5–6 мл этилового спирта.

Опыт 2. Осаждение белков фенолом и формалином

Ход эксперимента:

В 2 пробирки, содержащие 1–2 мл белка прилейте равные объемы фенола и формалина.

Опыт 3. Осаждение белка органическими кислотами

Для эксперимента выбрана трихлоруксусная кислота, так как она является чувствительным и специфическим реактивом на белок

Ход эксперимента:

В пробирку с 2–3 мл раствора белка прилить несколько капель раствора трихлоруксусной кислоты.

Опыт 4. Осаждение белка солями тяжелых металлов

Ход эксперимента:

В 2 пробирки с 1 – 2 мл раствора белка прилейте, постоянно встряхивая:



+ раствор сульфата меди (II)
(по каплям!)



+ раствор ацетата свинца (по каплям!)

Обратите внимание! При избытке растворов осадок растворится.

Опыт 5. Осаждение белков алкалоидами и реактивами на алкалоиды

Ход эксперимента:

В 2 пробирки с 1–2 мл раствора белка прилейте:



+ 1–2 капли уксусной кислоты;
+ раствор таннина (по каплям!).



+ 1–2 капли уксусной кислоты;
+ несколько капель 5%-ной соляной кислоты;
+ раствор гексацианоферрата(II)калия (по каплям!).

Обратите внимание! При избытке раствора осадок растворится

Опыт 6. Осаждение белков сильными минеральными кислотами

Концентрированные сильные кислоты вызывают удаление у белка гидратной оболочки и заряда, своеобразных факторов устойчивости, что приводит к денатурации. Однако, при действии избытка серной кислоты выпавший осадок белка растворяется, чего не происходит при действии азотной кислоты. Возможно, серная кислота способствует перезарядке молекул белка и частичного их гидролиза, что и вызывает подобный эффект.

Ход эксперимента:

1. В три сухие пробирки прилейте по 1–2 мл концентрированных кислот: серной, азотной и соляной.
2. Наклоните каждую пробирку, чтобы увеличить площадь поверхности жидкости, по стенке прилейте в них по 0,5 мл раствора белка, чтобы они не смешивались.
3. Опишите видимый эффект.
4. Встряхните пробирки. Наблюдайте, что происходит.

Опыт 7. Высаливание белка сульфатом аммония

Осаждение белка солями – процесс обратимый, при добавлении воды белки снова растворяются.

Ход эксперимента:

1. К раствору белка (1–2 мл) добавьте равный объем насыщенного раствора сульфата аммония. Встряхните.
2. Глобулины выпадают в осадок и появляется взвесь, которую нужно отфильтровать через складчатый фильтр.
3. Фильтрат разделите на 2 равные части и первую из них нагрейте. Отметьте видимый эффект.
4. Ко второй части добавьте немного порошка сульфата аммония и перемешайте. Сравните эффект с исходным фильтратом.

Опыт 8. Влияние температуры на процесс денатурации белка

Общая информация:

Известно, что большинство белков уже при температуре выше 45–55 °С денатурируют. При тепловой денатурации разрушаются гидратные оболочки белка, разрываются стабилизационные молекулы связи. Наиболее быстро и полно белки денатурируют, если их заряд равен 0 (изоэлектрическая точка). Белки с кислыми свойствами осаждаются в слабокислой среде, а белки с основными – в слабощелочной. При этом, если белок, прошедший термическую

денатурацию, добавить в сильноокислую или сильнощелочную среду, его частицы перезаряжаются и в осадок он не выпадает.

Ход эксперимента:

Последовательность действий представлена на схеме ниже:

1		2		3		4		5	
+ 2 мл белка									
Нагреть	+ 1 капля 1%-ной уксусной кислоты		+ 0,5 мл 10%-но уксусной кислоты		+ 0,5 мл 10%-но уксусной кислоты		+ 0,5 мл раствора гидроксида натрия		
	Нагреть до кипения		Нагреть		+ несколько капель NaCl		Нагреть		
					Нагреть				

Вопросы для самоконтроля:

1. Перечислите возможности практического применения цветных реакций на белки (где и зачем используются).
2. Напишите определения понятий «осаждение» и «денатурация».
3. При каких условиях идет денатурация белка? Обратимы ли процессы осаждения и денатурации?
4. Практическая значимость и использование в промышленности и в быту процессов осаждения и денатурации белков?
5. Какие структуры белка вам известны?
6. Каковы функции белков в живых организмах?
7. Перечислите постоянно встречающиеся аминокислоты.
8. Что такое изоэлектрическая точка белка?
9. Приведите несколько примеров природных пептидов, как они используются в хозяйственной деятельности человека?
10. Какие типы связей есть в молекуле белков?

Раздел 5. ФЕРМЕНТЫ

5.1 Теоретическая часть

Ферменты (энзимы) – специфические и высокоэффективные катализаторы химических реакций, протекающих в живой клетке.

К основным особенностям ферментов относятся:

- **Большая эффективность** по сравнению с обычными химическими катализаторами. Для примера, гидролиз белка в присутствии кислот или щелочей при температуре свыше 100°C протекает за несколько часов, а при участии ферментов при температуре 30–40°C – за десятки минут.
- Проявляют высокую каталитическую активность в **очень мягких условиях** клеток живого организма (температура, давление, кислотность среды).
- **Высокая специфичность действия.** Ее пределы различны у разных ферментов.
- **Кооперативность** и жесткая **запрограммированность** этапов действия ферментов в пространстве и времени.

Строение ферментов предполагает наличие субстратного и каталитического центров, вместе образующих активный центр фермента (рис. 15). С помощью данного центра – «кармашка», способного захватывать и удерживать субстрат, происходят деформации, способствующие процессу катализа.

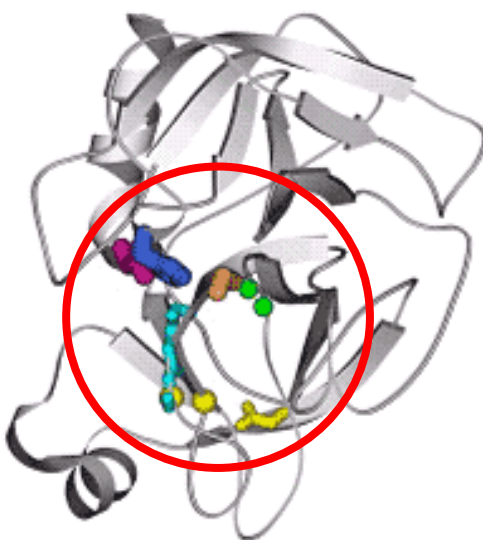


Рис. 15. Строение фермента: красным овалом выделен активный центр

Ферменты делятся на простые (состоящие лишь из белковой части) и сложные (имеющие в составе небелковые компоненты). Белковая часть называется *апофермент*, добавочная группа сложных ферментов называется

коферментом или *простетической группой*. Простетические группы — это вид кофакторов. Отличие их от коферментов в том, что простетические группы постоянно связаны с ферментами ковалентной связью, а коферменты связаны с ферментами непостоянно нековалентными межмолекулярными силами.

Коферментами могут выступать: витамины (Е, К, Q, В₁, В₂, В₆, В₁₂, С, Н и др.), соединения, построенные с участием витаминов (коА, НАД, ФАД и др.), HS-глутатион, нуклеотиды и их производные (УМФ, ЦМФ), фосфорные эфиры моносахаридов (Г-1,6-ДФ), ионы металлов (Fe²⁺, Cu²⁺ и др.).

Классификация ферментов

В 1961 году в Москве прошел V Международный биохимический конгресс, где были определены шифры ферментов и выделены их основные классы (6 классов). В августе 2018 г. учеными Университета Маккуори (Macquarie University, Австралия) был предложен 7-й класс ферментов – транслоказы.

КФ 1. Оксидоредуктазы – ускоряют ОВР (перенос электронов). Примеры: каталаза, алкогольдегидрогеназа.

КФ 2. Трансферазы – ускоряют реакции переноса функциональных групп и молекулярных остатков от одного соединения к другому. Например, киназы, переносящие фосфатную группу, как правило, с молекулы АТФ, аминотрансферазы – ускоряют реакции переаминирования аминокислот с кетокислотами.

КФ 3. Гидролазы ускоряют реакции гидролиза органических соединений. Пример: эстеразы (липаза), протеиназы (пепсин, трипсин), гликозидазы (амилаза, сахараза), липопротеинлипаза.

КФ 4. Лиазы ускоряют реакции негидролитического распада органических соединений. Например, С-С-лиазы (альдолаза), С-О-лиазы (фумаратгидратаза), С-Р-лиазы и др.

КФ 5. Изомеразы ускоряют геометрические или структурные изменения в пределах одной молекулы. Например, рацемазы, эпимеразы, цис-транс-изомеразы (ретинол-изомераза), мутазы, внутримолекулярные оксидоредуктазы.

КФ 6. Лигаза ускоряют присоединение друг к другу двух молекул с образованием химических связей С-С, С-S, С-О и С-N между субстратами за счёт реакций конденсации, сопряжённых с гидролизом АТФ. Пример: ДНК-лигаза.

КФ 7. Транслоказы ускоряют перенос ионов или молекул через мембраны или их разделение в мембранах. Пример, АТФ-синтаза.

Функции ферментов

Безусловно, основной функцией фермента является ускорение биохимической реакции. Известно 2 основных способа ускорить химическую реакцию. Во-первых, повысить температуру, тем самым повысить тепловое движение молекул. При этом возрастает доля молекул, обладающих достаточной внутренней энергией для достижения переходного состояния.

Согласно правилу Вант-Гоффа, повышение температуры на 10 °C вызывает ускорение химической реакции в 2

Во-вторых, можно добавить катализатор. Катализаторы снижают энергию активации системы, позволяя молекулам преодолевать активационный барьер на более низком энергетическом уровне. Ферменты работают также. Сначала происходит связывание субстрата с активным центром фермента ковалентными, ионными, водородными или другими менее прочными связями с образованием фермент-субстратного комплекса. Затем происходит преобразование первичного фермент-субстратного комплекса в переходный активированный комплекс. Активный центр захватывает субстрат таким образом, чтобы та часть молекулы, на которую нацелено действие фермента оказалась в нужной ориентации к каталитическому центру энзима. После этого молекула субстрата переходит в «напряженную», «деформированную форму», меняется длина связи и валентный угол межатомных связей комплекса. За счет этого перехода и происходит снижение энергии активации реакции. Место деформации после отсоединения продукта (бывшего субстрата) от фермента легко атакуется другим субстратом, например, водой. Химическое равновесие при этом не смещается ни в прямую, ни в обратную сторону. Процессы катализа описаны в теории индуцированного соответствия и теории деформации.

Каждая молекула фермента способна выполнять от нескольких тысяч до нескольких миллионов «операций» в секунду. Например, одна молекула фермента реннина, содержащегося в слизистой оболочке желудка телёнка, створаживает около 10^6 молекул казеиногена молока за 10 мин при температуре 37 °C.

5.2 Практическая часть

Лабораторная работа 10. Изучение влияния различных факторов на активность амилазы слюны

Цель работы: изучить условия действия ферментов слюны, исследовать их влияние на переваривание углеводов, оценить при действии каких факторов

активность амилаз снижается при гидролизе крахмала, при каких, напротив, возрастает.

Оборудование: штатив с пробирками, спиртовая горелка, спички, водяная баня, химическая посуда, бумажные фильтры.

Реактивы: 1%-ный раствор вареного крахмала, 1%-ный раствор сырого крахмала, 1%-ная соляная кислота, дистиллированная вода, 15%-ный раствор гидроксида калия, 4%-ный раствор CuSO_4 (II), 1%-ный раствор иода.

Общая информация

Слюна – это сложная биологическая жидкость, вырабатываемая специализированными железами и выделяемая в ротовую полость. Имеет pH от 5,5 до 8,0, средняя скорость секреции слюны – около 0,5 мл/мин. За сутки продуцируется от 0,5 до 2,2 л слюны. Состав слюны на 99% определяется водой, 1% - приходится на различные биологически активные молекулы, например, ферменты. В составе слюны человека выделено более 100 ферментов. Набор ферментов слюны включает амилазу, лизоцим, гликолитические ферменты, гиалуронидазу, ферменты цикла трикарбоновых кислот, ферменты тканевого дыхания, щелочную и кислую фосфатазы, аргиназу, липазу, ферменты антиоксидантного действия и др.

Амилаза (от лат. *amylum* – крахмал) – фермент класса гидролаз, секретируется слюнными железами и поджелудочной железой. Действие амилазы слюны прекращается в резко кислой среде содержимого желудка (pH 1,5–2,5). Однако внутри пищевого комка активность амилазы может некоторое время сохраняться, пока pH не изменится в кислую сторону.

Качество и количество слюны человека изменяется в широком диапазоне в зависимости от времени суток, принятой пищи, возраста, состояния центральной и вегетативной нервной системы, а также наличия заболеваний. В большей степени на состав слюны влияет характер питания, питьевой режим, гигиена полости рта, а также состояние регуляторных систем организма.

Воздействие слюны на крахмал называют ферментативным гидролизом. Так как сам крахмал является веществом инертным, то эта реакция происходит под воздействием тепла и катализатора. Им в данный момент является фермент амилаза, находящийся в человеческой слюне. В ротовой полости не может происходить полное расщепление крахмала, так как действие фермента на крахмал кратковременно. Существуют факторы, которые снижают активность слюнных ферментов, это, например, общеизвестные ингибиторы ферментов - никотин, этиловый спирт и антибиотики, соли тяжелых металлов, включая сульфат меди, также приводят к осаждению амилазы. Также негативно

сказывается на работе фермента кислая среда. При этом, чтобы повысить активность фермента, стоит употребить с пищей ионы Cl , которые активируют амилазу.

Ход эксперимента:

1. Пока вы готовитесь к выполнению лабораторной работы, пишете конспект, ваша задача набрать около 8–10 мл слюны. Для этого прополощите рот и для необходимости, подготовьте питьевую воду для увлажнения слизистой.

2. После того, как нужный объем слюны был набран, необходимо разлить ее в 6 пробирок: в 1–5-ю – по 1 мл, в 6-ю – 2 мл. Все 6 пробирок подпишите маркером или химическим карандашом.

3. Пробирку №3 со слюной прокипятите на водяной бане в течение пары минут, затем охладите до комнатной температуры.

4. Пробирку №4 со слюной уберите в холодильник или в другое прохладное место, чтобы охладить ее до +4–6 градусов.

5. Подготовьте еще один набор пробирок (6 шт.). Пронумеруйте их, как и первые пробирки со слюной.

6. После того, как подготовили пробирки со слюной №3 и 4. Можно начинать готовить остальные варианты опыта:

Пробирка 1 – к 1 мл слюны прилить 2 мл вареного крахмала.

Пробирка 2 – к 1 мл слюны прилить 1 мл соляной кислоты, взболтать, и прибавить 2 мл вареного крахмала.

Пробирка 3 – к 1 мл кипяченой и охлажденной слюны прилить 2 мл вареного крахмала.

Пробирка 4 – к 1 мл охлажденной слюны прилить 2 мл вареного крахмала и снова убрать в холодильник.

Пробирка 5 – добавить 1 мл дистиллированной воды (*вариант без слюны!*) и прилить 2 мл вареного крахмала.

Пробирка 6 – к 2 мл слюны прилить 2 мл сырого крахмала.

7. Когда все варианты собраны, вам необходимо разлить содержимое каждой из пробирок на 2 примерные равные части во второй набор подписанных пробирок. Это необходимо для того, чтобы иметь возможность провести 2 параллельные серии опытов: качественную реакцию на крахмал, для доказательства отсутствия или незначительной интенсивности гидролиза крахмала ферментами слюны, а вторая качественная реакция – на глюкозу, для подтверждения успешности процесса гидролиза крахмала.

8. Перед проведением качественных реакций подержите пробирки №1-3, 5, 6 в теплой воде или на водяной бане при температуре 35-40 °С 5 минут.

Задание:

А. Подумайте, какие качественные реакции для определения присутствия глюкозы и крахмала вы будете использовать в работе?

Б. Заполните таблицу:

№ пробирки	Содержание	рН	t °С	Результат качественных реакций	
				на глюкозу	на крахмал
1	Слюна + вареный крахмал				
2	Слюна + вареный крахмал	+1 мл HCl			
3	Слюна + вареный крахмал		100 °С		
4	Слюна + вареный крахмал		4 °С		
5	Вода + вареный крахмал				
6	2 мл слюны и 2 мл сырого крахмала				

Для оценки интенсивности изменения окраски используйте символы: «+» – есть слабая окраска, «++» – появилась выраженная окраска, «+++» – появилась сильная окраска.

В. Сделайте вывод об изменении активности ферментов слюны под действием тех или иных факторов по каждому варианту опыта и по работе в целом.

Вопросы для самоконтроля:

1. Почему необходимо, чтобы пепсин в организме синтезировался в неактивной форме?
2. Перечислите классы ферментов.
3. Что такое ингибитор и катализатор фермента? Приведите примеры.
4. В чем заключается суть процесса катализа?
5. Кто выдвинул впервые предположение о механизме ферментативного катализа?

6. Какие условия необходимы для эффективной работы фермента?
7. Перечислите особенности ферментов.
8. Как называется основной фермент слюны и для чего он необходим?
9. Какие факторы негативно сказываются на работе ферментов?
10. Чем по своей химической природе являются ферменты?

Часть 2

ВИТАМИНЫ И ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ

Раздел 6. ВИТАМИНЫ

6.1 Теоретическая часть

Витамины — это низкомолекулярные, разнообразные по химическому строению органические вещества, принимающие участие во многих реакциях клеточного метаболизма, объединённые в единую группу из-за жизненной необходимости для живых организмов.

Витамины являются крайне нестойкими веществами и легко разрушаются под действием высокой температуры, сильных щелочей (для тиамин опасен разрыхлитель теста), кислорода воздуха, ионизирующего излучения и прочих факторов. В противовес ВМС, витамины не являются структурными компонентами клетки; не используются в качестве источника энергии.

Витамины – природные вещества, которые поступают в организм человека с пищей, чаще растительной, некоторые синтезируются в организме микрофлорой кишечника (В₂, В₁₂, Н, К) и обеспечивают нормальное течение всех видов обмена веществ, процессы роста и регенерации. Сейчас известно больше 30 витаминов и витаминоподобных соединений. Для каждого витамина определен свой дневной уровень потребления от нескольких мкг до нескольких мг. Около 20 витаминов человек должен получать систематически.

Классификация витаминов

Витамины можно классифицировать по ряду свойств:

1. По химическому строению:

- ✓ Алифатического ряда с распределением атомов углерода в виде цепи. Например, аскорбиновая кислота, пантотеновая кислота, витамин F,
- ✓ Ациклического ряда, молекулы которых содержат насыщенные или ненасыщенные неароматические циклы, состоящие из атомов углерода. Например, витамины А и D.
- ✓ Ароматического ряда, витамины – циклические непредельные углеводороды, которые имеют в своём составе ароматическую систему. Например, витамин К.

✓ Гетероциклического ряда, витамины, содержащие циклы, в состав которых входят атомы, помимо углерода и водорода. Например, биотин, витамин Е, витамин РР и кобаламин.

2. По физико-химическим свойствам:

✓ Растворимые в жирах (липовитамины). К группе жирорастворимых витаминов относятся витамины А, D, Е, К и F.

✓ Растворимые в воде (гидровитамины). В₁, В₂, В₃, В₅, В₆, В_с, В₁₂, С, Р, Н.

3. К группе витаминоподобных веществ относятся холин, инозит, витамины В₁₃, В₁₅ убихинон и др.

4. Витамины принято обозначать большими буквами латинского алфавита (А, D, Е, В₁, В₂ и т. д.), а также по болезни (которую излечивает данный витамин) с прибавкой «анти» (антиксерофтальмический – ретинол, антирахитный – кальциферол, антинеуритный – тиамин и т. д.) или по химическому (условному) названию (ретинол, кальциферол, биотин, аскорбиновая кислота и т. д.).

5. По *функциональной классификации* витамины делятся на 3 группы.

✓ Витамины – способствующие образованию коферментов и простетических групп разных ферментов (энзимовитамины). К этим витаминам относятся водорастворимые витамины группы В, а также витамин К, который осуществляет коферментные функции в реакции карбоксилирования остатков глутаминовой кислоты в ряде кальцийсвязывающих белков, витамин А, который в форме ретиналя является простетической группой зрительного белка родопсина.

✓ Витамины-прогормоны, активная форма которых имеет гормональную функцию. Это витамин D, активный метаболит которого, 1,25-дигидроксивитамин D, функционирует как гормон в процессах обмена кальция, витамин А, гормональной формой которого является ретиноевая кислота, которая играет важную роль в процессах роста и дифференцирования эпителиальных тканей.

✓ Витамины-антиоксиданты: аскорбиновая кислота (витамин С) и витамин Е (токоферол). В эту же группу можно включить каротин, ликопин, лютеин и другие каротиноиды, которые независимо от способности превращаться в витамин А, имеют антиоксидантную активность. Также к этой группе относятся витаминоподобные вещества биофлавоноиды.

Витамины, которые играют одну и ту же биологическую роль, но отличаются витаминной активностью, называются витамерами. Например, витамины группы А, В, D.

Функции витаминов

Витамины регулируют все жизненные процессы в организме. Главная роль витаминов в том, что они являются кофакторами и входят в состав более 100 ферментов, запускающих огромное число реакций, способствуют поддержанию защитных сил организма, повышают его устойчивость к действию различных факторов окружающей среды, помогают приспосабливаться к неблагоприятной экологической обстановке. При этом, главная роль в коферменте принадлежит именно витаминам. Это *каталитическая* функция. Витамины играют роль *антиоксидантов*, снижая вредоносное воздействие свободных радикалов на клетки живых организмов, а также проявляют иммуномодулирующие и иммуностимулирующие свойства, а это то, в чем выражается *защитная* функция. Для них также характерна *пластическая* функция – синтез многих жизненноважных веществ.

Витамин А действует как регулятор роста и дифференцировки клеток и тканей. Витамин D выполняет гормоноподобную функцию, регулируя минеральный обмен в костях и других органах. Витамины группы В функционируют как кофакторы ферментов или их предшественники. Витамины С и Е действуют как антиоксиданты. Аскорбиновая кислота к тому же участвует в синтезе РНК, окислению аминокислот, обмену углеводов и кальция, участвует в обмене гормонов, повышает иммунитет, а также усиливает активность других витаминов (фолиевой кислоты, например).

Как недостаточное, так и избыточное потребление витамина потенциально может вызвать клинически значимое заболевание, хотя избыточное потребление водорастворимых витаминов менее вероятно.

6.2 Практическая часть

Лабораторная работа 11. Качественные реакции на витамины

Цель: научиться определять водо- и жирорастворимые витамины, изучить их качественные реакции.

Оборудование: штатив с пробирками, держатель для пробирок, микропипетка, спиртовая горелка, термостат, бумажный фильтр, стеклянная воронка, ступка с пестиком, мерные колбы на 25 мл, центрифуга.

Реактивы: сухие дрожжи, 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты, 5%-ный раствор гексоцианоферрата (III) калия (красная кровяная соль), 10%-ный раствор гидроксида натрия, 0,1%-ный раствор нитрата серебра, концентрированная соляная кислота, 15%-ный раствор уксусной кислоты, 5%-ный раствор ацетата меди, металлический цинк, 1%-ный раствор хлорида железа,

0,01%-ный раствор метиленовой сини, 5%-ный раствор соды, 5%-ный раствор КОН, 10%-ный раствор HCl.

Реакции на водорастворимые витамины

Опыт 1. Качественная реакция на тиамин (В₁)

Ход эксперимента:

1. 10 г сухих дрожжей тщательно разотрите в ступке, добавляя постепенно 10 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты.
2. Центрифугируйте суспензию и из надосадочной жидкости отберите 5 мл для анализа.
3. К анализируемой пробе добавьте 1 мл 5%-ного раствора гексоцианоферрата (III) калия (красная кровяная соль), 1 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия, тщательно перемешайте и оставьте на три минуты.
4. Затем добавьте 5 мл изобутилового спирта, хорошо встряхните в течении 2 минут и дайте отстояться.
5. В верхнем спиртовом слое возникает наблюдаемая в ультрафиолетовом свете синяя флюоресценция, исчезающая при подкислении и вновь возникающая при подщелачивании раствора.

Задание:

Сделайте вывод по опыту.

Опыт 2. Качественная реакция на рибофлавин (В₂)

Ход эксперимента:

1. К 1 мл раствора рибофлавина прилейте 0,5 мл раствора нитрата серебра. Появляется розовое или красное окрашивание, интенсивность которого зависит от концентрации рибофлавина в растворе. С азотнокислым серебром реагируют слабокислые либо нейтральные растворы витамина (pH 6,5–7,2).
2. Второй способ. Прилейте в пробирку 1 мл раствора рибофлавина с 0,5 мл концентрированной соляной кислоты. Опустите кусочек металлического цинка. Наблюдайте выделение водорода.

Задание:

Отметьте наблюдаемые явления. Напишите уравнение реакции.

Эти видимые эффекты происходят из-за восстановления рибофлавина водородом до родофлавина красного цвета, а затем в бесцветный лейкофлавин. При взбалтывании обесцвеченного раствора лейкосоединение вновь окисляется кислородом воздуха в рибофлавин.

Опыт 3. Качественная реакция на никотиновую кислоту и пиридоксин (В₅ и В₆)

Ход эксперимента:

1. К 2 мл раствора никотиновой кислоты прилейте 1 мл раствора уксусной кислоты. Нагрейте до кипения и добавьте к раствору равный объем ацетата меди.

2. В пробирку налейте 1 мл раствора пиридоксина и добавьте 5 капель раствора хлорида железа (III), встряхните.

Задание:

Опишите, какие видимые эффекты вы наблюдаете? Напишите уравнение реакции.

Опыт 4. Качественная реакция на рутин (Р)

Рутин относится к флавонам и является гликозидом флавонола кверцетина и дисахарида рутинозы.

Ход эксперимента:

1. К 1–2 мл насыщенного водного раствора рутина прилейте 3–5 капель 1%-ного раствора хлорида железа (III). Появляется зеленое окрашивание.

Хлорид железа образует с рутином комплексное соединение изумрудно-зеленого цвета. Координационные связи возникают между ионом железа и атомами кислорода фенольных гидроксильных групп молекулы рутина.

2. К 1–2 мл насыщенного водного раствора по стенке осторожно прилейте 0,5–1 мл концентрированной серной кислоты. На границе двух фаз обнаруживается желтое кольцо, так как концентрированная серная кислота образует с флавонами и флавонолами оксониевые соли ярко-желтого цвета.

Задание:

Опишите, какие видимые эффекты вы наблюдаете?

Опыт 5. Качественная реакция на аскорбиновую кислоту (С)

Ход эксперимента:

1. К 1 мл свежесжатого сока капусты или картофеля прилить 1–2 каплю метиленовой сини и 2–3 капли раствора соды. Подогреть.

Происходит восстановление метиленовой сини аскорбиновой кислотой.

2. К 1 мл свежесжатого сока капусты или картофеля прилить 2 капли КОН и 2 капли гексоцианоферрата (III) калия. Встряхнуть.

Прилить 6–8 капель раствора соляной кислоты и 1–2 капли раствора хлорного железа.

Задание:

Опишите, какие видимые эффекты вы наблюдаете? Напишите уравнение реакции.

Реакции на жирорастворимые витамины

Опыт 6. Качественная реакция на токоферол (Е)

Ход эксперимента:

1. В сухую пробирку прилейте 4–5 капель спиртового раствора витамина Е. Осторожно прилейте 10 капель концентрированной азотной кислоты. Встряхните.

2. Нагрейте пробирку в течение 15 минут на водяной бане при 70–80 °С. Для ускорения реакции можно добавить несколько крупинок сахарозы.

3. Образуется эмульсия, которая постепенно расслаивается: верхний масляный слой – красный. Это обусловлено окислением α -токоферола.

4. В сухую пробирку внесите 4–5 капель спиртового раствора витамина Е.

5. Прилейте 0,5 мл раствора хлорида железа (III) и тщательно перемешайте содержимое.

Задание:

Опишите, какие видимые эффекты вы наблюдаете? Напишите уравнение реакции.

Опыт 7. Качественная реакция на ретинол (А)

Ход эксперимента:

1. Одну каплю рыбьего жира растворить в 20–30 каплях хлороформа. К раствору добавляют 1 каплю концентрированной серной кислоты, встряхнуть.

Отметьте в выводе появившееся сине-фиолетовое окрашивание, которое сменяется на красно-бурое окрашивание.

2. В пробирку к 2–3 каплям раствора рыбьего жира в хлороформе приливают 5–10 капель ледяной уксусной кислоты, насыщенным сульфатом железа (II), и 1-2 капли концентрированной серной кислоты. Появляется голубое

окрашивание, которое постепенно переходит красно-розовое. Каротиноиды при этом зеленеют.

Задание:

Опишите, какие видимые эффекты вы наблюдаете? Сделайте вывод по работе.

Лабораторная работа 12. Количественное определение аскорбиновой кислоты в растительных тканях

Цель: научиться определять точное содержание аскорбиновой кислоты, овладеть методами титрования и спектрофотометрии.

Оборудование: спектрофотометр, пробирки, бюретка для титрования, штатив, колбы для титрования, мерные колбы на 50 мл, колбы для титрования.

Реактивы: плоды или ягоды, 2%-ная метафосфорная кислота, 0,21 М раствор фосфата натрия, 2,6-дихлорфенолиндофенолят натрия, 10%-ная соляная кислота.

Опыт 1. Спектрофотометрическое определение аскорбиновой кислоты в растительных тканях

Ход эксперимента:

1. Навеску растительного материала (0,2–0,1 г листьев) с 10 мл 2% метафосфорной кислоты (HPO_3) гомогенизируйте.
2. Гомогенат перенесите в мерную колбу на 50 мл. Объем доводится до метки 2%-ной HPO_3 и 0,21 М раствором фосфата натрия (Na_3PO_4), взятыми в соотношении 3:2 (V/V, pH 7,3–7,4).
3. Экстракт центрифугируйте 15 минут при 3000 об/мин.
4. Экстинцию раствора измерьте на спектрофотометре при длине волны 265 нм против стандарта – вышеуказанных растворов HPO_3 и Na_3PO_4 , взятых в том же соотношении. Рекомендуются использовать кварцевые кюветы.

Задание:

А. Результаты вычислите по формуле:

$$M = \frac{D \cdot V}{K}$$

Где:

М – содержание АК в пробе (мкМ),

D – экстинция при 265 нм,

V – количество мл гомогената,

K – коэффициент молярной экстинции для АК при 265 нм.

Коэффициент молярной экстинции для аскорбиновой кислоты при 265 нм и pH=6,8 и выше равен 1,65–1,655.

Микромоли переводятся в граммы по формуле:

$$г = мкМ \cdot M(АК).$$

Содержание АК выражается в мкг на грамм сырого веса.

Опыт 2. Количественное определение аскорбиновой кислоты методом титрования

Ход эксперимента:

1. Отвесьте на весах 1 г растительного материалы ягод или плодов. Разотрите навеску в фарфоровой ступке с 2 мл дистиллированной воды и 0,1 г стеклянного порошка.

2. Перенесите смесь в мерную колбу на 25 мл, приливая воду до метки.

3. Дайте смеси настояться 10 минут, а после профильтруйте через бумажный фильтр.

4. Для титрования возьмите 2 мл фильтрата, прилейте 2–3 капли 10%-ной соляной кислоты и 2–3 мл воды.

5. Содержимое колбы титруйте 0,001 н. раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолятом натрия до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 с в трех повторностях.

2,6-дихлорфенолиндофенол – индикатор, который в щелочной среде имеет синюю окраску, в кислой – красную, а при восстановлении обесцвечивается

Задание:

А. Проведите расчет. Количество мл раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола, затраченное на титрование исследуемого раствора, эквивалентно содержанию витамина С в титруемой жидкости: если на титрование пошло А мл 0,001 н раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола, то в исследуемом растворе содержится такое же количество мл аскорбиновой кислоты той же нормальности. Эквивалент витамина С равен $176:2=88$. В 1 мл 0,001 н раствора содержится 0,088 мг. Расчет производится по формуле:

$$X = \frac{0,088 \cdot A \cdot 25 \cdot 100}{2 \cdot m}$$

Где:

X – содержание аскорбиновой кислоты в мг на 100 г продукта (мг%),

0,088 – содержание аскорбиновой кислоты в 1 мл 0,001 н раствора (мг),

A – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндифенолята натрия, пошедший на титрование (мл),

m – масса продукта, взятая для анализа (г),

2 – объем вытяжки, взятый для титрования (мл),

25 – общий объем вытяжки (мл),

100 – пересчет на 100 г продукта.

Б. Сделайте выводы по опыту и работе, сравнив данные, полученные в ходе анализа первым вторым способом.

Вопросы для самоконтроля:

1. Какие витамины относятся в группе жирорастворимых?
2. Какие жирорастворимые витамины присутствуют в растительной продукции и в каких видах и частях растений? Какими водорастворимыми витаминами богаты растения?
3. Какие заболевания вы можете назвать, вызванные нехваткой витаминов?
4. Какую биологическую роль выполняют витамины?
5. Дайте характеристику водорастворимых витаминов.
6. В организме каких животных полностью отсутствует биосинтез витамина С?
7. Охарактеризуйте состояния авитаминоз, гиповитаминоз и гипервитаминоз.
8. Какие витамины синтезируются в организме человека?
9. Дайте понятие, что такое «антивитамины». Приведите примеры.
10. Почему лучше получать витамины из природных источников, а не из синтетических добавок.

Раздел 7. ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ РАСТЕНИЙ

7.1 Теоретическая часть

Веществами вторичного происхождения являются многочисленные вещества с ярко выраженными физиологически активными свойствами. По своим химическим и физическим свойствам они очень непохожи друг на друга, однако их объединяет то, что они присутствуют не во всех растениях, обладают биологической активностью, имеют относительно небольшой молекулярный вес (2–3 кДа), синтезируются из небольшого набора исходных соединений, принимают активное участие в метаболизме наряду с белками, липидами и углеводами. Чаще всего – это промежуточные продукты обмена веществ, производные от аминокислот, углеводов, азотистых оснований и др.

Классификация вторичных метаболитов

Существует несколько параметров, позволяющих классифицировать ВВП растений.

Во-первых, существует *эмпирическая классификация*, основанная на определенных свойствах вторичных метаболитов. По этой классификации вторичные метаболиты делятся на сапонины — вещества, образующие пену, горечи (горькие вещества), эфирные масла — летучие, ароматические соединения.

Во-вторых, существует *химическая классификация*, основанная на признаках химической структуры вторичных метаболитов. Выделяют:

Алкалоиды — гетероциклические азотистые основания с щелочным характером. Большая часть из них является крайне ядовитыми веществами. Десятая часть от всех растений содержит алкалоиды в различных органах, много их в табаке, хинном дереве, плодах барбариса (около 10%). Всего известно около 10 тысяч алкалоидов, самые известные из них: никотин, хинин, морфин, кокаин и прочие наркотические вещества, атропин, кофеин, теобромин, яд кураре (самый сильный растительный яд) и прочие.

Фитогормоны — это вещества, вырабатывающиеся в процессе естественного обмена веществ и оказывающие в ничтожных количествах регуляторное влияние, координирующее физиологические процессы. В этой связи к ним часто применяется термин — природные регуляторы роста. Гормоны способны к передвижению по растению и их влияние носит дистанционный характер. Большинство физиологических процессов, в первую очередь рост, формообразование и развитие растений, регулируется гормонами. Гормоны играют ведущую роль в адаптации растений к условиям среды. Делятся на

стимуляторы: ауксины (ИУК), гиббереллины, цитокинины, а также ингибиторы роста: абсцизовая кислота, этилен.

Гликозиды – сложные органические вещества, состоящие из остатка моносахарида и агликона – спирта неуглеводной природы. Многие из них также ядовиты (соланин картофеля, амигдалин косточек абрикоса), обладают выраженным противомикробным действием (синигрин горчицы, арбутин брусники), используются в пищевой промышленности за выраженный вкус и запах (ванилин), являются красящими веществами (индикана). Содержание в растениях обычно от 1 до 6%.

Эфирные масла и смолы – нерастворимые в воде, но растворимые в неполярных растворителях вещества с выраженным ароматом. С эфирными маслами тесно сопряжены фитонциды – молекулы с выраженным антибактериальным эффектом. Всего известно около 4 тысяч различных фитонцидов. К данной группе относятся терпены, в частности, каучук и гутта, ментол, камфора, витамин А, сквален и другие.

Фенольные соединения – органические вещества, состоящие из одного или нескольких циклов, несущих до 3-х гидроксильных группировок. Насчитывается около 100 фенольных соединений растений, самые известные из них: антоцианы – пигменты растений, эмодин – фенол алоэ со слабительным эффектом, кумарины, обладающие приятным запахом свежескошенной травы, катехины – вещества с высокой Р-витаминной активностью, дубильное вещество – танин.

В рамках каждой группы существует своя химическая градация на подгруппы веществ.

Биохимическая классификация, базирующаяся на способах биосинтеза вторичных метаболитов.

Функциональная классификация, основанная на функциях вторичных метаболитов в растении. Функциональная классификация вторичных метаболитов используется вместе с другими классификациями, так как по функциям в одну группу могут попадать разные по строению молекулы вещества. Например, фитоалексинами являются фенолы, изопреноиды и др.

Функции вторичных метаболитов

1. Защитная функция. Основная функция ВВП, служат растениям для защиты от паразитов, микробных инфекций, детоксикации поллютантов. Это большинство ВВП – эфирные масла, гликозиды, алкалоиды, фитонциды, фенольные соединения.

2. Регуляторная функция. В данной функции реализуется способность фитогормонов стимулировать или ингибировать процессы роста и развития.

3. Запасающая функция. ВВП служат источником различных веществ и химических группировок для синтеза различных важных веществ в процессах метаболизма. Для этого накапливаются в различных органах (плодах, листьях, корнях).

Аллелопатия – свойство всех живых организмов в той или иной степени. Все феромоны, репелленты, аттрактанты, яды животных, растений, грибов и микроорганизмов являются ВВП и используются ими напрямую или косвенно для опыления, размножения, угнетения, нападения или защиты.

Фенольные соединения растений проявляют выраженные антиоксидантные свойства (антоцианы, например), их содержание растёт в ответ на действие неблагоприятных факторов.

Кроме того, в зависимости от химических, физических и биологических свойств ВВП используют в различных отраслях промышленности:

6. Парфюмерии (с выраженным запахом),
7. Сельском хозяйстве (в качестве репеллентов),
8. В химической промышленности,
9. Машиностроении (используют, например, каучуки и гутту)
10. Пищевой промышленности (как пищевые добавки),
11. В легкой промышленности (как красители, дубильные вещества),
12. В медицине, ветеринарии и фармакологии (в том числе, как антисептические средства).

7.2 Практическая часть

Лабораторная работа 13. *Определение содержания танина и кофеина в чае*

Цель: проанализировать различные образцы чая на наличие вторичных метаболитов растений, освоить спектрофотометрический способ количественной оценки веществ, сделать вывод о накоплении алкалоидов и гликозидов в чае различных сортов.

Оборудование: конические колбы объемом 250 мл; аналитические весы; водяная баня; стеклянная палочка; бюретка для титрования. пять конических колб объемом 25 мл; коническая колба объемом 50 мл; пробирки; пипетка; спектрофотометр (с кварцевыми кюветами).

Реактивы: различные сорта чая (черный байховый, гранулированный, листовой, зеленый, красный, белый, китайский, индийский, африканский, крымский и пр. на выбор студентов и преподавателя), раствор индигокармина,

0,1 н раствор перманганата калия; 10%-ный раствор серной кислоты, кофеин, хлороформ.

Общая информация

Танины и кофеин относятся к ВВП. Танины (галлодубильные кислоты, дубильные кислоты) – фенольные соединения с большим количеством гидроксильных групп (рис. 16). По химической структуре танин – это гликозид, состоящий из глюкозы и остатков дигалловой кислоты. Для танинов характерны дубильные и вяжущие свойства, последнее связано с тем, что танины осаждают белки с образованием плотных альбуминатов, которые при нанесении на слизистые оболочки или на раны вызывают частичное свертывание белков слизи или раневого экссудата и приводят к образованию пленки, защищающей от раздражения чувствительные нервные окончания подлежащих тканей. Также при этом отмечают местное сужение сосудов, ограничение секреции, уплотнение клеточных мембран, что приводит к уменьшению воспалительной реакции.

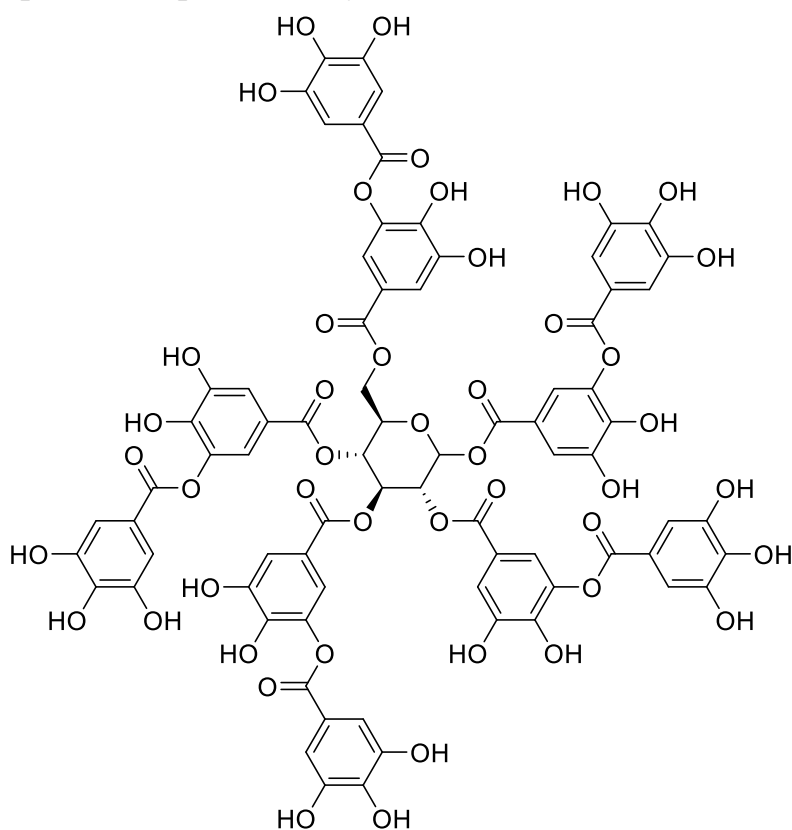


Рис. 16. Строение танина

Кофеин – (1,3,7-триметилксантин) алкалоид, относящийся к соединениям группы метилксантинов, производное пурина (рис. 17), содержащийся в зернах кофе, листьях чая, орехах кола (до 4%), поэтому наибольшее содержание кофеина присутствует в напитках из этих ингредиентов. Кофеин, растворим в хлороформе, медленно растворяется в воде; стимулирует деятельность центральной нервной системы. Известно, что пуриновые алкалоиды при

регулярном потреблении с сутки около 1000 мг может вызывать привыкание и зависимость. Токсическая доза, подтвержденная летальным исходом, составляет 10 г.

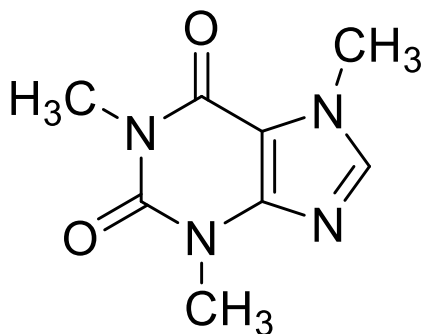


Рис. 17. Строение кофеина

Методы оценки данных веществ в чае основываются на ГОСТ 19885-74 «Чай. Методы определения содержания танина и кофеина». Определение танина основано на окислении танина чая перманганатом калия в присутствии индигокармина в качестве индикатора. Оценка содержания кофеина в чае базируется на получении хлороформного экстракта из чая и на способности кофеина, содержащегося в экстракте, поглощать лучи в ультрафиолетовой области спектра ($\lambda = 272$ нм). Сопутствующие компоненты (танины, пигменты и др.) не мешают определению кофеина в чае.

Опыт 1. Определение содержания танина в чае

Ход эксперимента:

1. Предварительно измельченную навеску чая (2,5 г), взятую для анализа с точностью 0,0001 г, поместите в колбу на 250 мл и прилейте 200 мл кипящей дистиллированной воды и поставьте на водяную баню на 45 минут.
2. Экстракт отфильтруйте через складчатый фильтр и перенесите в мерную колбу на 250 мл, охладите и доведите до метки водой.
3. Сначала приготовьте *холостую пробу (контроль)*. Для этого 25 мл индигокармина и 750 мл водопроводной воды с добавлением 10 мл 10 % раствора серной кислоты оттитруйте стандартным 0,1 н раствором перманганата калия в кристаллизаторе, непрерывно помешивая раствор стеклянной палочкой до перехода синей окраски через сине-зеленую, темно- и светло-зеленую, желто-зеленую в желтую золотистого оттенка.
4. Конец реакции определяют по исчезновению зеленого оттенка и появлению желтого цвета. Определяют объем KMnO_4 , пошедшего на титрование воды и индигокармина.

5. Подготовка опытного образца. Пипеткой отберите 10 мл экстракта чая из мерной колбы, поместите в кристаллизатор, добавьте 750 мл водопроводной воды, 25 мл индигокармина, 10 мл раствора серной кислоты.

6. Оттитруйте 0,1 н раствором перманганата калия при постоянном перемешивании стеклянной палочкой.

Задание:

А. Затем подсчитайте количество KMnO_4 , израсходованного на окисление танина. Определите объем KMnO_4 , пошедшего на титрование танина.

Б. Рассчитайте массовую долю танина (А, %) по формуле:

$$A = \frac{(a - a_1) \cdot 0,004157 \cdot V}{V_1 \cdot m} \cdot 100$$

Где:

a – объем 0,1 н раствора перманганата калия, израсходованного на окисление танина, мл;

a_1 – объем 0,1 н раствора перманганата калия, израсходованного на титрование раствора воды и индигокармина, мл;

0,004157 – количество танина, окисляемое 1 мл 0,1 н раствора перманганата калия, г;

V – объем полученного экстракта чая, мл;

V_1 – объем экстракта чая, взятый для испытания, мл;

m – масса навески сухого чая, г.

В. Оценить полученные результаты, оформить выводы по работе.

Опыт 2. Экстракционно-фотометрическое определение кофеина в чае

Ход эксперимента:

1. Включите прибор (спектрофотометр) в сеть. После этого настройка и подготовка прибора происходит в автоматическом режиме (прогрев и калибровка) не менее, чем 10 минут. Поэтому прибор лучше включать за 30 минут до начала непосредственной работы на нем.

2. Первое, что необходимо сделать, это подготовить реактивы для построения градуировочного графика. Для этого в пять мерных колб по 25 мл каждая последовательно внесите 0; 0,1; 0,25; 0,5 и 0,75 мл стандартного раствора кофеина.

3. В каждую колбу прилить хлороформ до метки и перемешать. Вы получили серию растворов, содержащих в 50 мл соответственно 0; 0,2; 0,5; 1,0 и 1,5 мг кофеина.

4. Оптическую плотность растворов измеряют при $\lambda = 272$ нм; контроль – хлороформ.

Задание:

По полученным данным постройте градуировочный график в координатах: содержание кофеина, мг/50 мл – оптическая плотность раствора.

5. Проведение анализа. На аналитических весах взвесьте пробу сухого чая (1-1,5 г), поместите ее в колбу на 50 мл с притертой пробкой.

6. Прилейте 30 мл хлороформа и поставьте на шейкер на 1 час или используйте магнитную мешалку.

7. Экстракт перенесите в мерную колбу на 50 мл. Отстоявшуюся после экстрагирования пробу чая промойте небольшими порциями хлороформа, которые присоединяют к экстракту в мерной колбе, добавьте хлороформ до метки и перемешайте.

8. Полученную жидкость отфильтруйте, после чего 2,5 мл прозрачного раствора фильтрата поместите в мерную колбу на 25 мл и доведите до метки хлороформом. Перемешайте.

9. Измерьте оптическую плотность раствора при $\lambda = 272$ нм; контроль – хлороформ.

Задание:

А. По градуировочному графику найдите содержание кофеина в миллиграммах на 2,5 мл разбавленного экстракта.

Б. Проведите расчет массовой доли кофеина в чае по формуле:

$$W = \frac{q \cdot 50 \cdot 100}{m \cdot 5 \cdot 1000} = \frac{q}{m}$$

где W – массовая доля кофеина в чае, %;

q – найденное по градуировочному графику содержание кофеина в экстракте, мг/2,5 мл;

m – масса навески чая, г;

50 – объем экстракта, мл.

В. Оценить полученные результаты, оформить выводы по работе.

Лабораторная работа 14. Количественное определение антоцианов в растениях спектрофотометрическим способом

Цель: научиться определять количественное содержание антоцианов в растительной продукции (листья, плоды), закрепить навыки работы на спектрофотометре.

Оборудование: спектрофотометр, колбы, водяная баня, термометр, стаканчики, пробирки и штатив для пробирок, фарфоровая ступка с пестиком.

Реактивы: листья комнатных растений, ягоды клубники, слива, вишня и др., 1%-ная соляная кислота.

Общая информация

Антоцианы (греч. anthos – окраска, цвет; kyanos – лазоревый), растительные гликозиды, имеющие в составе в качестве агликона (антоцианидина) гидроксипроизводные 2-фенилхромена. В положении 3 (реже – 3 и 5) углеводная часть молекулы (обычно остаток глюкозы, рамнозы, галактозы, ди- или трисахарида) связана с агликоном (рис. 18).

Антоцианы синтезируются в цитоплазме и содержатся в клеточном соке, вакуолях и клеточных оболочках. Как правило, сосредоточены в клетках верхнего эпидермиса и обеспечивают эффективное экранирование в зеленой области спектра, в которой листья значительно прозрачны для света.

Относясь к группе флавоноидов, антоцианы выполняют защитные функции в клетке, подавляя в растительных тканях окислительные процессы. В неблагоприятных условиях происходит более активный синтез антоцианов. Излишняя солнечная радиация, неблагоприятные почвенные условия, пониженные температуры стимулируют синтез антоцианов.

Известно, что активное накопление антоцианов идет на свету при дефиците азота, фосфора и калия в растениях кукурузы; при загрязнении тетраборатом натрия в проростках ржи; при загрязнении почв нефтью. Количество антоциановых пигментов может служить индикатором загрязнения окружающей среды, что может быть использовано для оперативной биоиндикации и экологическом мониторинге растительных сообществ.

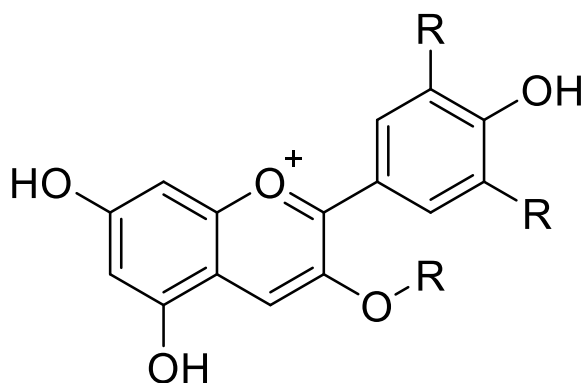


Рис. 18. Общее строение антоцианидинов

Ход эксперимента:

<i>Определение антоцианов в листьях растений</i>	<i>Определение антоцианов в ягодах и плодах растений</i>
Начните с того, чтобы взять навеску листьев для определения сухой массы. Берите не менее 1 г растительного материала. Взвесьте бумажный фильтр. Затем отвесьте навеску листьев, массу запишите в тетради. Положите измельченные ножницами листья фильтр, скрутите его конвертом и поставьте сушиться в сушильный шкаф.	Возьмите часть смешанной пробы ягод для определения сухой массы. Для этого ягоды измельчите скальпелем или ножом и отложите в бумажный конверт несколько тонких слайсов массой 3–5 г. Сушите в сушильном шкафу до полного высыхания при температуре 50–80 °С.
Отвесить навеску свежих листьев для опыта – около 0,15 г. Запишите точную массу в тетрадь. Разотрите растительный материал в фарфоровой ступке, постепенно вливая 10 мл 1%-ной HCl.	Пробы ягод измельчают в ступке для получения средней пробы. 0,3 грамма гомогенизированной навески ягод переносят в колбу на 200–250 мл. Заливают 100 мл 1% HCl.
Аккуратно перенесите все содержимое ступки в пробирку, помогая себе стеклянной палочкой. В ступке не должно остаться растительных волокон.	Выдержите на водяной бане при температуре 40–45 °С 15 минут. Фильтруйте через вату в новую колбу на 250 мл.
Поставьте пробирку на водяную баню (45 °С) на 20 минут.	Вату-фильтр необходимо вернуть в колбу и прилить 100 мл 1% HCl, смойте все со стенок и воронки. Снова производим экстракцию на водяной бане в течение 15 минут.
Отфильтруйте гомогенат через бумажный фильтр	Фильтруем через вату, фильтр промываем 40 мл HCl. Доводим до метки (250 мл) HCl после охлаждения. При необходимости отфильтруйте через бумажный фильтр.
Оптическую плотность раствора определите на спектрофотометре при	При длине волны 510 нм определите оптическую плотность вытяжки на спектрофотометре

длинах волн 510 и 657 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.	тремякратно (толщина слоя кюветы 1 см).
Контролем служит 1% HCl.	
Содержание суммы антоцианов рассчитывают с применением удельного показателя поглощения цианидин-3,5-дигликозида в 1% -ном водном растворе HCl, который равен 453.	
<i>Задание</i>	<i>Задание</i>
Рассчитайте количественное содержание антоцианов для каждой повторности (%) по формуле: $M(\%) = \frac{D_1 \cdot 10 \cdot 100}{453 \cdot m \cdot m(\text{сухая})}$ Где: D₁ – оптическая плотность испытуемого раствора в каждой повторности; 453 – удельный показатель поглощения цианидин-3,5-дигликозида в 1% растворе хлористоводородной кислоты; m – масса сырая сырья в граммах; m (сухая) – масса сухая, г; 10 – объем кислоты.	Рассчитайте количественное содержание антоцианов для каждой повторности (%) по формуле: $M(\%) = \frac{D \cdot 250 \cdot 100}{453 \cdot m \cdot (100 - W)}$ Где: D – оптическая плотность испытуемого раствора; 453 – удельный показатель поглощения цианидин-3,5-дигликозида в 1% растворе хлористоводородной кислоты; 250 – объем вытяжки; m – масса сырья в граммах; W – потеря в массе при высушивании сырья в процентах.
Рекомендую расчёты провести в редакторе MS Excel.	
Оптическую плотность (D) для каждой повторности посчитайте по формуле: $D = \tau(510) - 0,33 \cdot \tau(657)$ D определяется для каждой повторности отдельно! (D₁, D₂, D₃). τ_n – оптическая плотность при n-длине волны (показывает прибор)	
Заполните таблицу 4 для исследования листьев комнатных растений. При исследовании ягод и плодов, заполните таблицу 5, сделайте выводы.	

Таблица 4

Количественное содержание антоцианов в листьях комнатных растений

Растение		m, г	$\tau(510)$	$\tau(657)$	D	m (сухого вещества), %			
	1								
	2								
	3								

Таблица 5

Количественное содержание антоцианов в плодах и ягодах

Ягода/ плод		m, г	D (510)	m (сухого вещества), %	M, %	M среднее	Стандартное отклонение
	1						
	2						
	3						

Лабораторная работа 15. Качественное и количественное определение солонина картофеля

Цель: научиться определять качественно и количественно содержание соланина картофеля, исследовать картофель разного срока хранения на предмет содержания солонина.

Оборудование: чашка Петри, пипетки вместимостью 1 и 5 мл, колба коническая вместимостью 50 мл, мерный цилиндр на 25 мл, терка, фарфоровая чашка, индикаторная бумага.

Реактивы: клубни картофеля разного срока хранения (старый и молодой картофель), 80–90%-ная уксусная кислота, 0,2%-ная уксусная кислота, серная кислота плотностью 1,84 г/см³; концентрированная перекись водорода (30%), инфузорная земля.

Общая информация

Соланин относится к группе стероидных алкалоидов или гликоалкалоидов. В пасленовых также присутствует сходное соланину вещество – чаконин. Они содержат один и тот же агликон (соланидин), но различные гликоны – остатки сахаров.

В картофеле известны шесть гликоалкалоидов, одним из которых является α -соланин. Ввиду сильной ядовитости этого вещества распределение его в картофеле были предметом целого ряда исследований; содержание соланина в нормальном не проросшем картофеле достигает по новейшим определениям 0,05%; в очищенном картофеле содержание его приблизительно в три раза ниже, из чего следует, что соланин сосредоточен в наружных частях клубня; при прорастании количество соланина заметно увеличивается, причем он сосредоточивается главным образом в проростках, достигая содержания свыше 0,1%.

Соланин и чаконин – вещества средней токсичности, а накопление в позеленевших частях клубня может 500 мг/кг. Соланин горький на вкус и вызывает типичные признаки отравления. Относится к ингибиторам холинэстеразы.

Эти соединения обладают антихолинэстеразной активностью. Соланины и чаконины могут содержаться и в других пасленовых (баклажанах, томатах, табаке).

Опыт 1. Качественная реакция на соланин картофеля

Ход эксперимента:

1. С клубня картофеля сделать несколько срезов толщиной около 1 мм (не более 3 мм): продольные (от верхушки до основания по плоскости, делящей клубень на равные половинки); поперечные (у основания и у верхушки клубня); с боков; на участках около глазков.
2. Срезы поместить в чашки Петри.
3. На них нанести по каплям вначале крепкую уксусную кислоту (80–90%), затем концентрированную серную кислоту и несколько капель 5% перекиси водорода.
4. Почти немедленно в местах среза, содержащих соланин, появится интенсивное темно-малиновое или красное окрашивание.

Задание:

Отметьте видимые эффекты реакции на разных клубнях картофеля и по результатам опыта сделайте заключение о возможности использования картофеля для пищевых целей.

Опыт 2. Количественное определение соланина картофеля разного срока хранения

Количественное определение основано на извлечении и осаждении соланина из исследуемого материала.

Ход эксперимента:

1. Возьмите 300 г картофеля, измельченного на терке.
2. К полученной массе прилейте 250 мл дистиллированной воды. Дайте смеси настояться при комнатной температуре в течение 30 минут. Периодически помешивайте.
3. После жидкую кашу перенесите в плотный льняной мешочек и хорошо отожмите под прессом.
4. Выжимки трижды необходимо обработать 0,2%-ным раствором уксусной кислоты (по 250–300 мл) и после каждой обработки снова отжать под прессом.
5. Получившуюся после отжима жидкость соберите в фарфоровую чашку, прилейте немного аммиака до слабощелочной реакции, определяемой индикаторной бумагой.
6. Добавьте 10 г инфузорной земли и поставьте чашку на водяную баню выпариваться досуха.
7. При выпаривании появляющуюся на краях чашки коричневую массу периодически необходимо смывать выпариваемой жидкостью и небольшим количеством теплой дистиллированной воды.
8. Полученный порошок поместите в колбу, снабженную обратным холодильником. Прилейте 125 мл 95 % спирта и 30 минут кипятите в водяной бане.
9. После охлаждения содержимое колбы необходимо отфильтровать.
10. Осадок поместите обратно в колбу, снова прилейте 125 мл свежей порции спирта и кипятите (операцию повторяют 4 раза).
11. Спиртовые вытяжки собирают в колбу, из которой отгоняют спирт.
12. К полученному остатку добавьте 100 мл дистиллированной воды, подкисленной 5 каплями уксусной кислоты, смешайте и отфильтруйте.
13. К фильтрату прибавьте раствор аммиака до слабощелочной реакции, после чего нагревайте 30 минут на кипящей водяной бане.
14. При наличии соланина образуются хлопья, которые нужно отфильтровать и промыть 2,5%-ным раствором аммиака.
15. Полученный осадок окрашивается в слабо-коричневый цвет. Для получения чистого соланина осадок растворяют в 30 мл теплого спирта, фильтруют, спирт выпаривают на водяной бане.
16. Остаток растворите в 100 мл дистиллированной воды, подкисленной уксусной кислотой (5–8 капель), и снова осадите аммиаком. Таковую очистку повторяют 2–3 раза.

17. Белый осадок соланина соберите на предварительно взвешенный фильтр и сушите при температуре 100 °С до постоянного веса.

Задание:

А. Рассчитайте сколько соланина содержится в клубнях картофеля (мг%)? При количественном определении необходимо учитывать, что при осаждении соланина аммиаком в 100 мл аммиака остается 2,75 мг соланина. Например, если после высушивания исследуемого материала было получено 665 мг соланина и израсходовано 200 мл аммиака на осаждение, тогда содержание соланина (в мг %) составит: $665 + 5,5 \cdot 100$.

Б. Сделайте вывод по работе.

Вопросы для самоконтроля:

1. На какие группы делятся ВВП растений?
2. Какой алкалоид был открыт первым?
3. Что такое смолы?
4. Для чего растения синтезируют эфирные масла?
5. Какой гликозид входит в состав брусники?
6. Каким физиологическим действием на живые организмы обладают алкалоиды и гликозиды?
7. Для чего растениям необходимы фенольные соединения?
8. Какие группы фитогормонов вам известны?
9. Что такое агликон?
10. Каково содержание ВВП в растениях?

Раздел 8. ОРГАНИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ

8.1 Теоретическая часть

Органические кислоты относятся к промежуточным продуктам обмена веществ. На их долю приходится значительное количество сухой массы плодов и овощей. Они содержатся в растениях в свободной форме, чаще всего в плодах, или в форме кислых и нейтральных солей (листья, в особенности бобовых культур). Если растения с повышенным содержанием свободных кислот в листьях, что отражается на их вкусовых качествах: щавель, кислица, суккуленты.

Органические кислоты активно образуются при протекании цикла Кребса и гликолизом цикле, а также прочих многочисленных биохимических реакций организма, в частности, процессах распада веществ.

1769–1785 гг. Шееле выделил несколько органических кислот, среди них яблочная, винная, лимонная, галловая, молочная и щавелевая.

На накопление органических кислот в растениях влияет форма азотного питания, вносимого в почву: при использовании нитратных форм удобрений содержание кислот в растениях будет выше, чем при использовании аммиачных форм.

Классификация органических кислот

Органические кислоты имеют в своем составе 1 или несколько карбоксильных (COOH^-) групп. В зависимости от их количества кислоты делятся на:

- ✓ Монокарбоновые (одноосновные) – 1 карбоксильная группа. Это, например, муравьиная и уксусная кислоты.
- ✓ Дикарбоновые (двухосновные) – 2 карбоксильные группы. Например, янтарная и щавелевая.
- ✓ Трикарбоновые (трехосновные) – 3 карбоксильные группы. Например, лимонная и аконитовая кислоты.

Также классифицировать их можно *по наличию в составе дополнительных химических групп*:

- ✓ Оксикислоты – включают OH -группы: винная, яблочная, лимонная.
- ✓ Кетокислоты – включают карбонильные группы ($\text{CO}-$): ПВК и щавелевоуксусная кислоты.
- ✓ Фенолкарбоновые – имеют в составе бензольное ядро: кофейная кислота.

По физическим свойствам можно разделить на:

- ✓ Летучие – образуются в анаэробных условиях, в воздухе находятся в газообразном состоянии, как правило, токсичные химические вещества с резким

запахом, с температурой кипения при давлении 101,3 кПа) ниже или равной 250 °С: уксусная, масляная, муравьиная.

✓ Нелетучие – все остальные (окси- и кетокислоты), не обладают выраженным запахом.

Функции органических кислот

1. Являются исходными соединениями для биосинтеза ферментов, сахаров, алкалоидов, аминокислот, липидов, витаминов и прочих веществ.
2. Используются при дыхании растений в качестве энергетического материала.
3. Являются промежуточными продуктами обмена веществ, такие кислоты называют интермедиаты. Например, ПВК.
4. Являются донорами протонов водорода в ОВР.
5. Определяют вкус плодов, ягод и овощей.
6. Остаток уксусной кислоты в реакции с коэнзимом А дает ацетил-коА – макроэргическое соединение, участвующее в отдаче энергии связи веществам для наращивания ими цепи на 2 атома.

8.2 Практическая часть

Лабораторная работа 16. *Определение общей и активной кислотности плодов и ягод*

Цель работы: научиться определять общую и активную кислотность плодов и ягод, сравнить кислотность разных ягодных культур.

Оборудование: весы лабораторные, водяная баня; бюретка на 50 мл; мерная колба на 200 мл; стаканчик на 50 мл; стеклянная пипетка на 20 мл; воронка, бумажный фильтр; терка, индикаторная бумага, рН-метр с хлорсеребряным и стеклянным электродами.

Реактивы: 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина, 0,1 н раствор гидроксида калия, дистиллированная вода, клубника, яблоки, вишня, лимон и прочие плоды и ягоды, янтарная или щавелевая кислота, буферный раствор (рН не менее 4,1).

Общая информация

Кислотность – важный показатель оценки растительного сырья. Выделяют общую (титруемую) и активную кислотность.

Общая кислотность отражает содержание свободных кислот и кислых солей в вине, соке, плодах и ягодах. Активная кислотность раствора выражается концентрацией активных водородных ионов (рН). Кислоты, щелочи и соли в

водных растворах диссоциируют на ионы водорода H^+ и гидроксиды OH^- , поэтому кислотность или щелочность среды обусловлена наличием в ней ионов водорода или гидроксидов.

Общая кислотность большинства видов растительного сырья не превышает 1%, но у некоторых сортов абрикосов, вишен, кизила, алычи достигает до 2,5%, а у черной смородины – до 3,5%. Активная кислотность определяется единицами pH. Свежие плоды и овощи всегда имеют кислую реакцию ($pH < 7$). По уровню pH растительное сырье делится на: кислотное ($pH\ 2,5-4,5$) и некислотное некислотное ($pH\ 4,6-6,5$). Такое деление хотя и является условным, но определяет возможность развития тех или иных видов микроорганизмов и ориентирует в выборе режима стерилизации консервов.

Самыми распространенными кислотами в растительном сырье являются: яблочная, лимонная и винная. Встречаются в небольшом количестве также щавелевая, янтарная, бензойная, салициловая и некоторые другие кислоты.

Яблочная кислота преобладает в семечковых плодах. В citrusовых плодах и клюкве яблочной кислоты нет.

Лимонной кислоты, напротив, много в citrusовых плодах, гранатах, клюкве, которые других кислот не содержат. Во многих ягодах, семечковых и косточковых плодах, а также в томатах она находится наряду с яблочной кислотой.

Винная кислота и ее соль, содержатся в винограде. Немного ее в красной смородине, крыжовнике, бруснике.

Щавелевая кислота встречается во многих овощах, плодах и ягодах, но крайне малых количествах. Исключения – щавель и ревень.

Метод оценки общей кислотности основан на нейтрализации содержащихся в вытяжке органических кислот 0,1 н. раствором щелочи. Титрование ведется до перехода раствора из кислой среды в щелочную. Момент перехода среды в щелочную визуально фиксируется изменением окраски индикатора. Точность метода составляет $\pm 0,5\%$.

Активную кислотность определяют в основном электрометрическим методом при помощи специальных приборов – потенциометров, pH-метров, индикаторной бумагой.

Опыт 1. Определение общей кислотности плодов и ягод

Ход эксперимента:

1. Среднюю пробу массой 20 г измельчить на терке до кашицы и перенести в фарфоровую чашку.

2. Развести дистиллированной водой и без потерь перенести в мерную колбу на 200–250 мл, стаканчик несколько раз ополоснуть дистиллированной водой и влить в колбу.
3. Нагреть колбу на водяной бане в течении 15 мин при температуре 80°C.
4. Охладить, довести содержимое колбы дистиллированной водой до метки и перемешать.
5. Осадить взвешенные частицы в течении 4–5 мин, если плохо осаждаются, профильтровать в сухой стакан или колбу через 4-х слойную марлю или бумажный фильтр.
6. Отобрать пипеткой 20 мл вытяжки в коническую колбу для титрования и добавить 2–3 капли фенолфталеина в качестве индикатора
7. Титровать вытяжку, прибавляя по каплям из бюретки раствор щелочи с одновременным взбалтыванием колбы. Момент окончания титрования определить по появлению бледно-розовой окраски, не исчезающей при спокойном стоянии колбы в течение 1–2 мин.
8. По бюретке отсчитать (в мл) количество израсходованного на титрование 0,1 н раствора КОН.

Задание:

А. Рассчитайте общую кислотность (в %) по формуле:

$$X_m = \frac{a \cdot T \cdot c \cdot k \cdot 100}{n \cdot e}$$

Где:

X_m – титруемая кислотность, %;

a – количество затраченного на титрование 0,1 н раствора КОН, мл;

T – поправка к титру 0,1 н раствора КОН (методику определения поправочного коэффициента см. в разделе Дополнительные материалы);

c – общий объем вытяжки, мл;

n – навеска продукта, г;

e – объем вытяжки, взятый для титрования, мл;

k – коэффициент пересчета 0,1 н раствора КОН на преобладающую кислоту:

для яблочной – 0,0067 (семечковые и косточковые плоды);

лимонной – 0,0064 (цитрусовые плоды и ягоды);

щавелевой – 0,0063 (щавель, ревень, шпинат);

молочной – 0,0090 (солено-квашенные продукты);

уксусной – 0,0060 (маринады);
винной – 0,0075 (виноград).

Б. Повторите исследование общей кислотности для нескольких типов плодов и ягод.

Опыт 2. Определение активной кислотности плодов и ягод

Ход эксперимента:

1. Подготовка прибора:

Включить рН-метр. Прогреть прибор не менее 30 минут, после чего настроить шкалу рН (верхняя шкала прибора) по буферному раствору с рН около 4 (для кислотного диапазона).

2. Электроды промойте дистиллированной водой и просушите фильтровальной бумагой.

3. Погрузите электроды в стакан на 50 мл со стандартным буферным раствором; установите переключатель "Виды работ" в положение "рН", а переключатель пределов измерения – на диапазон рН 2–6.

4. Рукояткой "Настройка по буферному раствору" установите стрелку шкалы на значение рН стандартного буферного раствора, (например, рН=4,01) и проверьте устойчивость показаний в диапазоне 2÷14 рН.

5. Слейте буферный раствор из стакана, промойте электроды и стакан дистиллированной водой. Перед исследованием кислотности сока, нужно ополоснуть стакан небольшим количеством этого сока, после чего налить 25 мл сока в стакан и погрузить электроды.

6. Вначале установите переключателем пределов измерения широкий диапазон измерения рН 2–14, приблизительно оценив значение рН по показаниям стрелки, а после установки переключателем узкого диапазона рН 2–6 зафиксируйте точное значение рН.

7. Также вы можете проверить активную кислотность **с помощью индикаторной бумаги**, не используя точные измерительные приборы:

1–2 капли свежесжатого сока или исследуемого раствора (рассола, заливки) нанести на индикаторную бумагу и появившуюся окраску сравнить с цветной шкалой, прилагаемой к индикатору и определить примерную величину рН.

Задание:

А. Проведите эксперименты, после чего результаты анализов оформите в виде таблицы:

Продукт	Ушло на титрование 0,1 н КОН, мл (а)	Общий объем вытяжки, мл (с)	Навеска продукта, г (m)	Объем вытяжки для титрования, мл	Общая кислотность, % (X)	Активная кислотность, рН
1						
2...						

Б. Сделайте выводы о содержании кислот в той или иной продукции, сравнить с данными по таблице 6, написать общий вывод по работе.

Таблица 6

Данные об общей и активной кислотности некоторой свежей растительной продукции

Продукт	Доминирующая кислота	Титруемая кислотность, %	рН
Лимоны	ЛК	5,6	3,1
Апельсин	ЛК	1,4	3,9
Яблоки	ЯК	0,4	3,4
Вишня	ЛК	1,7	3,5
Томаты	ЯК	0,5	4,5
Свежая капуста	ЯК, ЛК	0,2	6,2
Квашеная капуста	МК	0,7 – 2,0	4,5 – 3,5
Маринад: кислый	УК	0,61 – 0,9	4,0 – 3,5
слабокислый	УК	0,3 – 0,6	5,5 – 4,0

Примечание: ЛК – лимонная, ЯК – яблочная, УК – уксусная, МК – молочная кислота.

Вопросы для самоконтроля:

1. В ходе распада каких веществ образуются органические кислоты?
2. Какой метод аналитической химии используется для оценки общей кислотности сельхоз сырья?

3. Что такое рН?
4. По какой кислоте высчитывают поправочный коэффициент к титру КОН?
5. Какие основные органические кислоты встречаются в семечковых, а какие в косточковых культурах?
6. Какие органические кислоты применяются в пищевой промышленности?
7. Какова роль кислот в клетке?
8. На каком приборе определяют активную кислотность?
9. Для биосинтеза каких веществ используются органические кислоты?
10. В чем разница между титруемой и активной кислотностью?

Раздел 9. МИНЕРАЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА

9.1 Теоретическая часть

На 2023 год известно об открытии 118 химических элементов, которые входят в состав многочисленных веществ и комплексов, при этом, живое вещество биосферы состоит из наиболее простых и наиболее распространенных атомов. Минеральные вещества необходимы и усваиваются не только растениями, но и гетеротрофами, при этом в составе автотрофов преобладают хорошо растворимые соединения. В организме минеральные вещества содержатся главным образом в виде катионов и анионов. Живое вещество стремится к накоплению сильных анионов (O, S, P), при этом концентрация катионов, например, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ , ниже.

Многочисленные исследования показали, что в организмах накапливаются главным образом элементы с низкими атомными массами, о чем свидетельствует анализ свойств наиболее распространенных элементов, встречающихся в живой природе. Однако для некоторых жизненных процессов необходимы и элементы с высокой атомной массой, в частности, в составе коферментов могут встречаться тяжелые элементы, например, молибден с атомной массой 95 и 94.

Главными строительными элементами являются наиболее широко распространенные в природных сферах атомы: водород, углерод, кислород, азот, фосфор, сера, называемые *биофильными элементами*. На долю биофильных элементов приходится 95–98% массы сухого вещества живых организмов. Они обладают высокой реакционной способностью, образуют кратные связи. Биофильные элементы, сочетаясь между собой и другими атомами, создают всё многообразие веществ, составляющих живой организм. На долю зольных, или минеральных веществ, при этом приходится 2–5% соответственно. Количество химических элементов, входящих в состав живого организма, очевидно, будет увеличиваться, так как методы химического анализа совершенствуются, становятся более чувствительными. Таким образом, соединения, слагающие живое вещество, представлены главным образом водой, органическими веществами и в меньшей степени – минеральными.

Последний синтезированный на сегодня химический элемент – это теннессин. О его открытии официально было объявлено в Дубне российско–американским сотрудничеством в апреле 2010 года. Теннессин по своим свойствам будет летучим металлом, который не образует анионов и не достигает высоких степеней окисления. Теннессин – синтетический химический элемент с символом Ts и атомным номером 117. Это второй по плотности известный элемент и предпоследний элемент 7-го периода галогенов периодической таблицы.

Классификация химических элементов

Классификация минеральных компонентов достаточно проста и основывается на количественном их присутствии в живой материи и сельхоз продукции:

✓ Макроэлементы: содержание в организмах более 0,1% (более 1 мМ). Из них «органогены»: С ~45%, О~42%, Н~6,5%, N~1,5%. А также S~0,1%, Р~0,2%, К~1%, Са~0,5%, Mg~0,2%, еще Na, Cl, Si. Железо занимает промежуточное положение. Из 118 известных химических элементов лишь немногие присущи живым организмам в макроколичествах.

✓ Микроэлементы: содержание менее 0,1% (менее 1 мМ). К ним относятся В, Мп, Cu, Zn, Мо. Со, Al, V и другие.

✓ Ультрамикроэлементы: встречаются в следовых количествах или миллионных долях процента. К ним относятся Se, Cd, Cs, Ag, Au, Hg.

Функции минеральных веществ

Функции минеральных веществ в организме крайне разнообразны: они регулируют осмотическое давление клетки (Na^+), определяют возбудимость клеточных мембран (K^+), входят в состав макромолекул, органоминеральных комплексов, участвуют в структурном строении клетки и контролируют её обмен с межклеточным веществом. Клетка получает минеральные вещества только в форме растворов и есть элементы, которые «работают» в ионной форме: К, Са, Mg, Cl, Мп, Na; в ред-ox реакциях – Fe, Cu, Zn, Ni, Мо. Именно поэтому в целостном живом организме подразделение на минеральную и органическую составляющие весьма условно.

Рассмотрим несколько примеров действия химических макро- и микроэлементов:

Магний – это основа молекулы хлорофилла, тем самым он обеспечивает процесс фотосинтеза – синтез органических веществ из углекислого газа и воды.

Фосфор. Наравне с *кремнием* и *бором* главная функция фосфора – запасание энергии за счет образования кратных связей и поддержание целостности структур (фосфолипидный слой мембран). АТФ – главный биологический аккумулятор энергии. Фосфор также входит в состав нуклеиновых кислот.

Натрий и *хлор* в составе солей, главным образом NaCl, играют важную роль в поддержании кислотно-щелочного равновесия, регулирует осмотическое давление содержания влаги в тканях. В организме животных содержание натрия выше, чем у растений.

Железо. В митохондриях железо вместе с *медью* служит переносчиком электронов при энергетических процессах. Входит в состав множества ферментов в качестве коферментов.

Иод входит в состав тироксина – главного гормона щитовидной железы. Растениях запасают иод в составе структурных компонентов клеток. Он принимает участие в важнейших метаболических процессах – азотном и водном обменах, дыхании и фотосинтетической деятельности. Недостаток иода в почве, а затем и в пище обуславливает на Урале, Карпатах распространение заболеваний щитовидной железы (эндемический зоб).

Цинк является кофактором более 300 ферментов, тем самым регулирует множество физиологических процессов: участвует в образовании предшественников хлорофилла, влияет на метаболизм углеводов, фосфатов и протеинов, репродуктивные процессы, образование ауксинов, ДНК, рибосом. За счет участия в поддержании целостности биологических мембран повышает устойчивость растений к патогенам, жаро-, засухо- и морозоустойчивость культур путем стабилизации их дыхания, а также способствует утилизации фосфора.

Кальций является главных химическим компонентом тканей опорно-двигательной системы животных. В растениях участвует в углеводном и азотном обмене, сшивает пектины в строении клеточной стенки.

Калий совместно с фосфором и азотом составляет основу минерального питания растений; принимает участие в фотосинтезе, влияет на обмен углеводов, азота и фосфора. При недостатке калия в почве резко снижается урожайность. Во всех организмах калий участвует в водно-солевом обмене.

Сера входит в состав всех живых организмов, так как является компонентом белков, в молекулярной структуре которых играет важную роль. Входит в состав некоторых гормонов (кальцитонин, инсулин), антиоксидантов (глутатион) и витаминов (тиамин, биотин). Этот элемент поглощается растениями только в окисленной форме — в виде сульфат-иона (SO_4^{2-}).

На сегодняшний день остро стоит проблема загрязнения окружающей среды чуждыми ей веществами и химическими элементами в чрезмерных количествах. В ряде исследований показана высокая чувствительность микроорганизмов, простейших и растений к действию тяжелых металлов, фосфорорганических поллютантов, пестицидов. В настоящее время многие высокотехнологичные производства используют редкоземельные элементы, тем самым являются главными источниками их поступления в окружающую среду. Нормативы содержания РЗЭ, к которым относится лантан и церий, в компонентах окружающей среды до сих пор не разработаны. В целом, данные, полученные Сысолятиной М.А., Ольковой А.С. и Коваль Е.В. (2022)

демонстрируют, что систематически близкие организмы (цианобактерии) могут отличаться друг от друга чувствительностью к токсикантам. Реакции на химические факторы формируются у каждого вида специфично, в соответствии с его трофическими особенностями, биоритмами, местом в экосистеме и множеством других экологически и эволюционно значимых параметров. С биохимической точки зрения причинами межвидовых различий в восприимчивости к токсикантам чаще всего являются особенности в структурах белков и содержание жира в организме.

9.2 Практическая часть

Лабораторная работа 17. *Определение содержания минеральных веществ в растительном и животном сырье*

Цель: научиться определять наличие химических элементов в биологическом материале, совершенствовать навыки работы с химической посудой, реактивами.

Оборудование: стаканчик с притертой крышкой и плоским дном, весы, сушильный шкаф, эксикатор, спиртовая горелка, тигли, бумажные фильтры, муфельная печь, плита, вытяжной шкаф, центрифуга, водяная баня, мерный цилиндр, микробюретка.

Реактивы: семена злаков, молоко, мышечная ткань, концентрированная азотная кислота, перекись водорода 3%, 10%-ный раствор NH_4NO_3 , 96%-ный этиловый спирт, 2%-ный раствор NH_4NO_3 , 4%-ный раствор щавелевокислого аммония, 1 н раствор соляной кислоты, 0,1 н раствор KMnO_4 , концентрированная серная кислота, раствор винной кислоты, раствор гексагидроксоантимоната(V) калия, раствор азотной кислоты, раствор нитрата серебра, хлорида бария, 0,5%-ная соляная кислота, раствор роданида калия, аммиака, гексацианоферрата калия (желтой кровяной соли), концентрированный раствор аммиака, 10%-ная уксусная кислота, раствор оксалата аммония, магниезиальная смесь, молибденовый реактив.

Опыт 1. Определение золы в семенах растений

Ход эксперимента:

1. Фарфоровые тигли необходимо прокалить и взвесить.
2. Поместите в тигль навеску свежеразмолотых семян (2–5 г). Смочите этиловым спиртом и поставьте на электроплиту в вытяжном шкафу.
3. Подожгите спирт и после того, как он выгорит, включите плиту. Сжигайте растительный материал в течение 30 минут.

4. После того, как ваши навески обуглились, в каждый тигель добавьте по 5-8 капель концентрированной азотной кислоты (можно заменить раствором перекиси водорода или аммония).

5. Поставьте тигли в муфельную печь при температуре 100 °С, до выпаривания окислителей. После повысьте температуру до 600 °С на 20–25 минут.

6. Достаньте тигли и охладите в эксикаторе 30 минут.

7. Взвесьте тигель с точностью до 0,5 мг.

Задание:

А. Произведите расчет содержания золы в семенах (в %).

Б. Процентное содержание золы пересчитывают на сухое вещество, либо сразу используют высушенный материал.

Опыт 2. Определение кальция в молоке

Ход эксперимента:

1. В первую центрифужную пробирку прилейте 1 мл смеси молока и дистиллированной воды (1:9).

2. Во вторую пробирку – 1 мл воды.

3. В каждую пробирку добавьте 0,5 мл раствора щавелевого аммония, перемешайте и оставьте на 30 минут, а затем центрифугируйте 10–15 минут при 2,5 тыс. оборотах в минуту.

4. Надосадочную жидкость аккуратно слить, а лучше отсосать дозатором.

5. Прилить в обе пробирки по 4 мл раствора аммиака для удаления остатков щавелевокислого аммония из осадка.

6. Снова центрифугировать 8–10 минут.

7. Промойте осадок дважды, удаляя при этом надосадочную жидкость.

8. Добавьте в каждую пробирку по 1 мл раствора серной кислоты, размешайте стеклянной палочкой. Не вынимайте палочку пока осадок полностью не растворится!

9. Пробирки с палочками поставьте на горячую водяную баню на 3–4 минуты, после чего горячие растворы титруют из микробюретки раствором перманганата калия до появления слабо-розового окрашивания, устойчивого в течение 1 минуты.

Задание:

А. Содержание кальция в молоке вычислите по формуле:

$$x = \frac{0,2 \cdot (a - b) \cdot 100}{0,1}$$

Где:

X – количество кальция в молоке, мг%,

0,2 – количество кальция, соответствующее 1 мл 0,01 н раствора перманганата, мг,

0,1 – содержание молока в 1 мл разведенного молока, мл,

A, b – количество 0,01 н. раствора КМпО₄, израсходованного на титрование опытной и контрольной пробы, мл.

Б. Результаты занесите в таблицу:

№ пробы	a, мл	b, мл	X, мг%

В. Сделайте выводы по опыту.

Опыт 3. Качественное открытие важнейших элементов, входящих в состав животных тканей

Ход эксперимента:

1. 5 г мышечной ткани или крови поместите в тигель и нагрейте на пламени горелки до полного обугливания (пока не прекратится дым).

2. После охлаждения тигля в эксикаторе образовавшийся уголь повторно экстрагируйте небольшими порциями горячей воды, а водные вытяжки профильтруйте. В водных вытяжках будут находиться хлориды щелочных металлов, которые обнаруживаются следующими химическими реакциями:

Для обнаружения макро- и микроэлементов исследуемую ткань необходимо подвергнуть минерализации сухим путем, сначала до образования углистого остатка, а затем до полного озоления.

2.1.Открытие K⁺. Проба, содержащая ионы калия, окрашивает пламя в фиолетовый цвет.

При добавлении раствора винной кислоты образуется белый кристаллический осадок.

2.2.Открытие Na⁺. Проба, содержащая ионы натрия, окрашивает пламя в желтый цвет.

При добавлении раствора гексагидроксоантимоната(V) калия образуется белый кристаллический осадок.

2.3.Открытие Cl^- . При добавлении к вытяжке, подкисленной азотной кислотой, раствора нитрата серебра образуется белый творожистый осадок.

2.4.Открытие SO_4^{2-} . При добавлении раствора хлорида бария образуется белый кристаллический осадок.

3. Уголь, который остался на фильтре после экстрагирования необходимо высушить, а затем прокалить в тигле до полного охлаждения.

4. Золу растворите в 0,5%-ной соляной кислоте и профильтруйте. В полученном растворе находятся преимущественно фосфаты металлов второй группы и соли трехвалентного железа. Качественные реакции для их обнаружения:

4.1.Обнаружение Fe^{3+} . При добавлении к небольшой части раствора роданида калия наблюдается кроваво-красное окрашивание.

При добавлении раствора гексацианоферрата калия наблюдается синее окрашивание.

4.2.Обнаружение Ca^{2+} . Остальную часть солянокислого раствора золы нейтрализуйте раствором аммиака до появления легкой мути. Прилейте к этой же смеси раствор оксалата аммония. Образуется белый мелкокристаллический осадок.

4.3.Обнаружение Mg^{2+} . Осадок, полученный в предыдущем опыте, отделите фильтрованием. К фильтрату добавьте концентрированный раствор аммиака. Образуется белый кристаллический осадок.

4.4.Обнаружение PO_4^{3-} . Осадок, полученный в предыдущем опыте, отделите фильтрованием. Фильтрат разделите на 2 части. К первой прилейте магниевую смесь. Образуется белый кристаллический осадок.

Ко второй части – молибденовый реактив. Медленно образуется желтый кристаллический осадок.

Задание:

А. Сделайте конспект опыта и вывод.

Б. Сделайте выводы по работе.

Вопросы для самоконтроля:

1. Для чего проводят предварительное озоление биологического материала перед определением минеральных веществ?
2. Роль микроэлементов в жизни растений.
3. Роль макроэлементов жизни живых организмов.
4. Роль микроэлементов в жизни животных.
5. Что такое ультрамикроэлементы?

6. Какие элементы принимают участие в регуляции водного баланса клетки?

7. Какие функции в организме выполняет фосфор?

8. Что понимают под понятием «биофильности»?

9. Что происходит с токсичностью элемента при высоких его значениях биофильности?

10. Заполните в тетради таблицу, пользуясь материалами, представленными в практикуме, а также сторонними рекомендованными источниками:

Элемент	Форма, в которой он встречается в живых организмах, соединения в состав которых входит	Роль для животных	Роль для растений
Калий			
...и т.д.			

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ

ЗАДАЧИ ПО РАЗДЕЛАМ

Раздел 1. Липиды

1. У взрослого мужчины с массой тела 80 кг жировая ткань в норме составляет в среднем 20 кг. Из них около 65% составляют триацилглицериды. После набора веса вследствие ожирения масса мужчины выросла до 160 кг. Во сколько раз содержание жировой ткани будет превышать норму и чему будет равна масса триацилглицеридов в ней в организме мужчины после ожирения?

2. В состав маргарина входит тристеарин, массовая доля которого 60%, и триолеин с массовой долей 40%. Какой объем водорода, измеренный при н.у., потребуется для получения данного сорта маргарина массой 1 т из триолеина?

3. В состав жидкого мыла входит стеарат калия. Какая масса гидроксида калия и тристеарина потребуется для получения стеарата калия массой 100 кг, если выход продукта составляет 90% из-за производственных потерь?

4. Какую массу глицерина можно получить из 500 г тристеарина? Выход глицерина равен 85%.

5. Установите соответствие между консистенцией липидов и преобладающими в его составе ЖК:

Консистенция липидов: А – твердые; Б – жидкие (масло).

Жирные кислоты: 1 – стеариновая; 2 – линоленовая; 3 – арахидоновая; 4 – пальмитиновая; 5 – олеиновая; 6 – линолевая; 7 – пальмитоолеиновая, 8 – миристиновая.

Раздел 2. Углеводы

1. Массовая доля крахмала в картофеле равна 25%. Какую массу глюкозы можно получить из картофеля массой 2 тонны, если ее выход равен 80%?

2. Выход спирта при производстве его из зерна составляет 85%. Какую массу зерна с массовой долей крахмала в зерне 70% надо взять для производства 100 кг спирта (этанол – 96%)?

3. Содержание сахарозы в сахарной свекле – 22 мас.%. Какую массу сахара можно получить из 1 т свеклы? Производственные потери при этом составляют 30%

4. В ходе химической реакции глюкозы, полученной из 8,1 г крахмала, и избытка аммиачного раствора оксида серебра получили 10 г металлического осадка. Рассчитайте выход глюкозы, учитывая, что выход продукции во второй реакции равен 100%.

Раздел 3. Нуклеиновые кислоты

1. Белок состоит из 100 аминокислот. Установите, во сколько раз молекулярная масса участка гена, кодирующего данный белок, превышает молекулярную массу белка, если средняя молекулярная масса аминокислоты – 110, а нуклеотида – 300. Ответ поясните.

2. Во фрагменте одной цепи ДНК азотистые основания расположены в последовательности: ААГТЦТАЦГТАТГ. Постройте цепь, комплементарную данной цепи по последовательности азотистых оснований. Определите: а) какова длина этого фрагмента ДНК (в нм); б) сколько содержится нуклеотидов (по отдельности) в этой ДНК (в %). Расстояние между соседними нуклеотидами равно 0,34 нм.

3. Рассчитайте массу молекулы двухцепочечной ДНК протяженностью от Тюмени до Екатеринбурга (301 км по прямой), если одна нуклеотидная пара имеет массу 10^{-21} г, а размер одной нуклеотидной пары – 0,34 нм.

4. Нуклеотидный анализ двухцепочечной ДНК показал, что содержание аденина в ее составе равно 23% от общего числа азотистых оснований. Какая доля (%) приходится на гуанин?

Раздел 4. Белки

1. Вторичная структура белка содержит α -спираль, длина которой – 5,4 нм. Сколько витков она содержит? Сколько аминокислотных остатков входит в состав молекулы данного белка, если известно, что ее неспирализованная часть содержит 19 аминокислотных остатков?

2. Сколько остатков аминокислот входит в состав белковой молекулы, где α -спираль содержит 125 витков, тем самым занимая центральную часть молекулы? Концевые неспирализованные участки при этом состоят из 22 и 24 аминокислотных остатков соответственно.

3. Надмолекулярный комплекс сывороточного альбумина молока с жирной кислотой имеет молекулярную массу 68 400 Да. Средняя молекулярная масса одного аминокислотного остатка равна 120 Да, а масса жирной кислоты – 8400 Да. Определите количество аминокислотных остатков в молекуле этого белка?

4. При использовании биуретового метода было установлено, что у стандартного раствора белка, имеющего концентрацию ($C_{ст}$) 25 г/л, поглощение света при фотометрии ($E_{ст}$) равно 0,050. Определите концентрацию белка в сыворотке крови (C_o), если при фотометрии его поглощение света (E_o) составляло 0,175.

5. Молекула проинсулина человека содержит 84 аминокислотных остатка. После частичного протеолиза проинсулин превращается в инсулин. Сколько аминокислотных остатков содержит отщепленный полипептид?

6. Молекула глобулярного белка содержит 225 аминокислотных остатков и имеет вторичную структуру в виде α -спирали. На неспирализованную часть молекулы приходится 20% аминокислотных остатков. Сколько витков имеет спирализованная часть молекулы?

7. Молекулярная масса белка равна 129000 Да. Чему будет равен коэффициент поликонденсации данной молекулы?

8. Молекула тропоколлагена состоит из трех полипептидных цепей, каждая из которых содержит примерно 1000 аминокислотных остатков. Молекулярная масса тропоколлагена составляет 285 000 Да. Определите, какой процент этой массы приходится на долю глицина, если его молекулярная масса равна 75 Да.

9. При очистке белка использовали метод гель-фильтрации. При этом содержание балластных белков снизилось на 40%. Какую концентрацию белка имел исходный белковый раствор, если после очистки содержание белка в фильтрате составляло 72 г/л?

Раздел 5. Ферменты

1. Перечислите ферменты, расщепляющие пептидную связь. Какова биологическая роль этих ферментов? Напишите уравнение гидролиза глицилаланиллизина.

2. Уреаза ускоряет гидролиз мочевины в 10^{14} раз. Сделайте расчет, сколько нужно лет для гидролиза мочевины без уреазы, если под действием уреазы это количество мочевины гидролизует за 5 секунд.

Раздел 6. Витамины

1. Напишите полные химические названия данных витаминов:
витамин Е, витамин С, витамин Р, витамин В₉, витамин В₁₂, витамин Н (В₇), витамин D, витамин В₂, витамин В₁.

Раздел 7. Вторичные метаболиты растений

1. Обозначьте к какой группе (водо- или жирорастворимые) относятся следующие витамины:

Токоферол (Е), аскорбиновая кислота (С), рутин (Р), филлохинон (К), Фолиевая кислота (В₉), Биотин (Н), Кальциферол (Д), Ретинол (А).

2. Сопоставьте вещество и группу НМС, к которой оно относится:

Вещества	Группа НМС
Хинин, никотин, синигрин, антоциан, гераниол, пинен, янтарная кислота, аллицин	алкалоид, гликозид, фенольное соединение, эфирное масло, органические кислоты.

3. Соотнесите фитогормон и выполняемые им функции:

Фитогормон	Функция
индолилуксусная кислота (ауксин) зеатин (цитокинин) пептидные гормоны гиббериллины абсцизовая кислота этилен	вызывает рост клеток, регулирует водный обмен, вставочный рост междоузлий, стимулирует деление клеток, вызывает старение, регулирует развитие клетки

Раздел 8. Органические кислоты

Муравьиная кислота — слабая одноосновная кислота, имеющая характерный резкий запах, обнаружена в малине и в яблоках в виде эфира. Рассчитайте рН раствора муравьиной кислоты концентрации 0,04 моль/л.

Раздел 9. Минеральные вещества

1. Гемоглобин крови крупного рогатого скота содержит 0,34% железа. Вычислите минимальную молекулярную массу гемоглобина, если атомная масса железа равна 56.

2. Молекула хлорофилла растений содержит 2,7% магния (по весу). Вычислите минимальную молекулярную массу хлорофилла, если атомная масса магния равна 24.

3. В организме взрослого человека в сутки обновляется примерно 1% эритроцитов. В состав гемоглобина крови входит 68% железа от его общего содержания в организме, которое составляет около 4 г. Какое количество железа должно поступать в сутки с пищей, чтобы обеспечить суточное обновление эритроцитов без использования эндогенного железа? Известно, что в кишечнике всасывается только 10% содержащегося в пище железа.

ТЕМЫ РЕФЕРАТОВ И ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОГО ИЗУЧЕНИЯ

1. Современные проблемы и открытия в биохимии.
2. Значение витаминов и микроэлементов в питании животных.
3. Биохимический состав лекарственных растений.
4. Биохимический состав зерна злаковых культур.
5. Биохимический состав семян основных зернобобовых культур.
6. Биохимический состав семян масличных культур.
7. Биохимический состав орехов.
8. Биохимия и пищевая ценность клубней картофеля и топинамбура.
9. Биохимия и пищевая ценность основных корнеплодов (петрушка, морковь, редис, репа, редька, др.).
10. Биохимия и пищевая ценность салатных и пряных овощных культур (салат, укроп, щавель, шпинат и др.).
11. Биохимия и пищевая ценность овощных томатных культур (томаты, баклажаны, перец).
12. Биохимия и пищевая ценность овощных капустных культур (капуста белокочанная, цветная, брюссельская, кольраби и др.).
13. Биохимия, пищевая и лекарственная ценность луковых овощных культур (виды лука, чеснок).
14. Биохимический состав овощей: огурцов, кабачков, патиссонов.
15. Биохимический состав и пищевая ценность садовых и ягодных культур.
16. Транс-жиры и насыщенные жирные кислоты в продуктах питания.
17. Влияние гипо- и гипervитаминозов на обменные процессы в организме животных.
18. Гормоны и эндокринная система. Механизм действия гормонов.
19. Фитогормоны растений.
20. Биохимия органов и тканей (любая система или ткань на выбор обучающегося).
21. Биохимия посмертных изменений в мышечной ткани.
22. Биохимия молока и кисломолочных продуктов.
23. Белки, жиры и углеводы молока

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРОВ И РЕАКТИВОВ

При приготовлении *n%-ных растворов сыпучих веществ по массе* необходимо придерживаться следующей схемы: 1% принимать за 1 г вещества на 99 мл дистиллированной воды.

Например, для приготовления 50 мл 5%-ного раствора глюкозы необходимо взять 2,5 грамма глюкозы и 47,5 мл воды. Для приготовления 100 мл 1% раствора мальтозы – 1 г мальтозы на 99 мл воды. А для приготовления 20 мл раствора 15%-ного КОН – 3 г щелочи на 17 мл воды.

Рабочий раствор иода (0,2 н) готовят путем внесения 2,57 г иода в 100 мл 96% этилового спирта. Предварительно необходимо дважды провести возгонку иода.

Возгонка иода. К 10 г иода добавляют 1 г иодистого калия и 2 г прокаленной окиси кальция. Смесь быстро растирают в чистой ступке и переносят в чистый, хорошо высушенный стакан. Сверху стакан закрывают чистой круглодонной колбой, совершенно сухой снаружи, но наполненной холодной водой для лучшего охлаждения. Стакан слабо нагревают, иод при этом возгоняется и оседает на дне колбы в виде кристаллов. После охлаждения стакана снимают колбу и счищают чистой стеклянной палочкой кристаллы иода в бюкс. Полученный иод вторично возгоняют, но без добавления иодистого калия.

Приготовление 0,1 н раствора тиосульфата натрия. Около 25 г тиосульфата растворить в 1 литре прокипяченной и охлажденной дистиллированной воды.

Приготовление 0,5 н спиртового раствора КОН. 32 г гидроксида калия растворяют в 20 мл воды в мерной колбе вместимостью 1 л и доливают до метки этиловым спиртом. Раствор оставляют на сутки для отстаивания в закрытой колбе. Прозрачный раствор осторожно декантируют в склянку из темного стекла. Молекулярная масса КОН – 56,1, это число одновременно является и его грамм-эквивалентом. Следовательно, содержание действующего вещества в 1 л 0,5 н раствора равна – 28 г/л. Однако, содержание воды в препарате едкого кали может достигать 15%, именно поэтому мы берем 32 г КОН на 1 литр воды.

Для **приготовления 100 мл 0,5 н раствора HCl** необходимо взять 1,823 г концентрированной HCl прилить в мерный цилиндр с водой и долить до метки (100 мл) дистиллированной водой.

Реактив Селиванова – 0,5%-ный раствор резорцина в 20%-ной соляной кислоте. Для приготовления **20%-ной соляной кислоты** берут 213 мл концентрированной соляной кислоты и доводят объем кислоты водой до 500 мл.

Раствор индигокармина. Индигокармин в количестве 0,1 г растирают в фарфоровой ступке и растворяют в 5 мл концентрированной серной кислоты. Раствор переносят в мерную колбу на 100 мл и доводят водой до метки, после чего фильтруют через бумажный фильтр. Хранить в холодном месте в посуде из темного стекла. Срок годности не более 10 дней.

0,001 н. раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия. 0,05–0,08 г 2,6-дихлорфенолята натрия растворяют приблизительно в 150 мл горячей, предварительно прокипяченной в течение 30 мин воды, охлаждают до комнатной температуры, доводят объем до 200 мл той же охлажденной водой, перемешивают и фильтруют в темную склянку. Раствор хранят в холодильнике не более 10 дней.

Титр устанавливают по рабочему раствору (0,1 г/л) в день проведения испытания. В колбу для титрования вносят пипеткой 1 мл рабочего раствора аскорбиновой кислоты, 9 мл дистиллированной воды и быстро титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия до светло-розовой окраски, не исчезающей в течение 15–20 с.

Одновременно проводят контрольное испытание. Для этого в колбу для титрования вносят 1 мл 2%-ного раствора HCl, 9 мл дистиллированной воды и быстро титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия. Титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия в мг аскорбиновой кислоты, эквивалентного 1 мл раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, вычисляют по формуле:

$$T = \frac{m}{V_1 - V_2}$$

где m – масса аскорбиновой кислоты, содержащейся в 1 мл рабочего раствора, мг;

V_1 – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на титрование рабочего раствора аскорбиновой кислоты, мл;

V_2 – объем раствора 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия, израсходованный на контрольное испытание, мл.

Раствор Люголя. К 1 г иода добавляют 2 г иодистого калия, растворяют в 15 мл дистиллированной воды и затем доводят водой до объема 300 мл.

Раствор 4% H_2SO_4 . Для приготовления 200 мл раствора серной кислоты необходимо взять 8,33 г концентрированной H_2SO_4 и 191,67 мл воды.

Раствор 1% HCl . Для приготовления 1 л раствора соляной кислоты необходимо взять 32,26 мл концентрированной HCl и 967,74 мл воды.

Для приготовления 1%-ного раствора фенолфталеина 0,5 г растворяют в 40 мл этилового спирта и доводят объем раствора дистиллированной водой до 50 мл. Хранить месяц.

Стандартный раствор кофеина готовят следующим образом: в мерную колбу объемом 25 мл вносят (25 ± 1) мг кофеина, растворяют в хлороформе, доводят до метки и перемешивают. 1 мл приготовленного раствора содержит 1 мг кофеина.

5%-ная H_2O_2 . Для приготовления рабочего 5%-ного раствора концентрированную перекись водорода разбавить дистиллированной водой в соотношении 1:5. Раствор использовать в день приготовления.

1 н HCl . Для приготовления 10 мл раствора кислоты необходимо к 10 мл воды добавить 1,1 мл концентрированной кислоты.

3 М раствор **KCl (для рН-метра).** 55,95 г соли внести в колбу на 250 мл и прилить 250 мл воды.

10%-ная HNO_3 . Для приготовления реактива к 170 мл воды прилейте 21 мл концентрированной кислоты.

2,3,5-трифенил-2Н-тетразолий хлористый для изучения активности дегидрогеназ в семенах готовится добавлением 1,5 г на 300 мл воды.

Приготовление 100 мл **0,21 М раствора Na_3PO_4** необходимо смешать 7,98 г $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ и 100 мл воды.

2%-ный раствор HPO_3 готовят в расчете 2 г вещества на 100 мл воды.

Приготовление титрованных растворов

Растворы щелочей. Едкие щелочи и их растворы активно поглощают влагу и углекислоту из воздуха, поэтому приготовление из них растворов точного титра затруднено. Лучше всего такие растворы изготавливать из фиксаналов. Для этого берут пробирку с фиксаналом требуемой нормальности и мерную колбу на 1 л. В колбу вставляют стеклянную воронку с вложенным в нее стеклянным бойком, острый конец которого обращен вверх.

Когда боек будет правильно уложен в воронке, ампуле с фиксаляом даюь свободно падаь, чтобы тонкое дно ампулы разбилось при ударе об острый конец бойка. После этого пробиваюь боковое углубление ампулы и даюь содержимому вытечь. Затем, не меняя положения ампулы, ее тщательно промываюь хорошо прокипяченной дистиллированной водой, остуженной до температуры 35–40 °С и взятой в таком количестве, чтобы по охлаждении раствора до 20°С надо было бы добавить до метки лишь несколько капель. Титрованный раствор щелочи следует хранить в таких условиях, которые исключают возможность его соприкосновения с воздухом.

Если фиксаляа нет, титрованные растворы приготавлиаюь из препаратов едкого натра (или едкого кали). Молекулярная масса NaOH равна 40,01, а едкого кали – 56,10. Это число одновременно является и его грамм-эквивалентом.

Чтобы приготовить 1 л 1 н раствора NaOH, нужно взять 40 г химически чистого едкого натра, а для приготовления 1 л 0,1 н раствора – в десять раз меньше, т. е. 4 г. Для приготовления **0,1 н раствора KOH** нужно взять 5,6–7,5 г KOH на 1 л воды. Данное количество щелочи растворяюь в небольшом объеме дистиллированной воды (около 7 мл). После отстаивания раствор осторожно сливаюь (без осадка) в литровую мерную колбу и доводят дистиллированной свежепрокипяченной водой до метки. Приготовленный раствор хорошо перемешиваюь и помещаюь в бутыль, защищенную от попадания углекислоты.

После этого устанавлиаюь *титр*, т. е. точную концентрацию раствора. Титр можно устанавлиаь по щавелевой или янтарной кислоте. Щавелевая кислота ($C_2H_2O_4 \cdot 2H_2O$) двухосновная, и, следовательно, ее грамм эквивалент будет равен половине молекулярной. Если молекулярная масса щавелевой кислоты равна 126,05 г, то ее грамм-эквивалент будет $126,05 : 2 = 63,025$ г.

Имеющуюся щавелевую кислоту следует один-два раза перекристаллизовать и только после этого применять для установки титра.

Перекристаллизацию проводят следующим образом: беруь произвольное количество вещества, предназначенное для перекристаллизации, растворяюь нагреванием, стараясь получить возможно большую концентрацию раствора или насыщенный раствор. При необходимости этот раствор фильтруюь через воронку для горячего фильтрования. Фильтрат собираюь в колбу Эрленмейера, фарфоровую чашку или стакан.

В зависимости от характера кристаллизации вещества насыщенный в горячем состоянии раствор охлаждают. Для быстрого охлаждения раствора при перекристаллизации кристаллизатор помещаюь в холодную воду, снег или лед. При медленном охлаждении раствор оставляюь стоять при температуре окружающего воздуха. Если выпали очень мелкие кристаллы, их снова растворяюь, нагревая; сосуд, в котором осуществлялось растворение, сразу же

обертывают в несколько слоев полотенцем, накрывают часовым стеклом и оставляют стоять в полном покое в течение 12–15 ч.

Затем кристаллы отделяют от маточного раствора, фильтруя под вакуумом (воронка Бюхнера), тщательно отжимают, промывают и подсушивают.

Приготавливая 0,1 н раствор КОН, необходимо иметь раствор щавелевой кислоты такой же нормальности, для этого на 1 л раствора ее нужно взять $63,025 : 10 = 6,3025$ г. Но для установки титра такого количества раствора щавелевой кислоты много; достаточно приготовить 100 мл. Для этого на аналитических весах отвешивают около 0,63 г перекристаллизованной щавелевой кислоты с точностью до четвертого десятичного знака, например, 0,6223 г. Взятую навеску щавелевой кислоты растворяют в мерной колбе (на 100 мл). Зная массу взятого вещества и объем раствора, легко вычислить его точную концентрацию, которая в данном случае равна не 0,1 н, а несколько меньше.

Из приготовленного раствора берут пипеткой 20 мл, добавляют несколько капель фенолфталеина и титруют приготовленным раствором щелочи до появления слабого розового окрашивания.

Пусть на титрование пошло 22,05 мл щелочи. Как же определить ее титр и нормальность? Щавелевой кислоты было взято 0,6223 г вместо теоретически рассчитанного количества 0,6303 г, следовательно, нормальность ее будет равна не точно 0,1:

$$\frac{0,6223 \cdot 10}{63,03} = 0,09873$$

Чтобы вычислить нормальность щелочи, воспользуемся соотношением $VN = V_i N_t$, т. е. произведение объема на нормальность известного раствора равно произведению объема на нормальность для неизвестного раствора. Получаем: $20 \cdot 0,09873 = 22,05 \cdot x$, откуда:

$$x = \frac{20 \cdot 0,09873}{22,05} = 0,08955 \text{ н}$$

Чтобы вычислить титр или содержание КОН в 1 мл раствора, следует нормальность умножить на грамм-эквивалент щелочи и полученное произведение разделить на 1000. Тогда титр щелочи будет:

$$T = \frac{0,08955 \cdot 56,1}{1000} = 0,005 \text{ г/мл}$$

Но этот титр не соответствует 0,1 н раствору КОН. Для этого прибегают к коэффициенту k , т. е. отношению практического титра к теоретическому. В данном случае он будет равен:

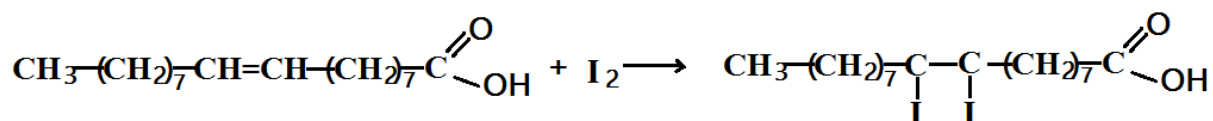
$$k = \frac{0,005}{0,00561} = 0,89 \text{ г/мл}$$

УРАВНЕНИЯ РЕАКЦИЙ ИЗ ОПЫТОВ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

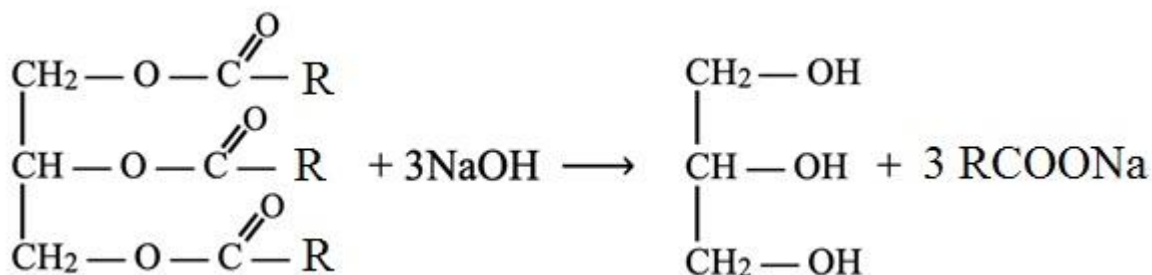
Обучающиеся могут воспользоваться справочным материалом, однако названия продуктов и исходных веществ в реакции должны подписать самостоятельно.

Лабораторная работа 1. Химические особенности жиров

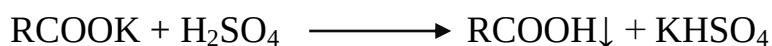
Опыт 1. Галогенирование олеиновой кислоты



Опыт 3. Омыление масла

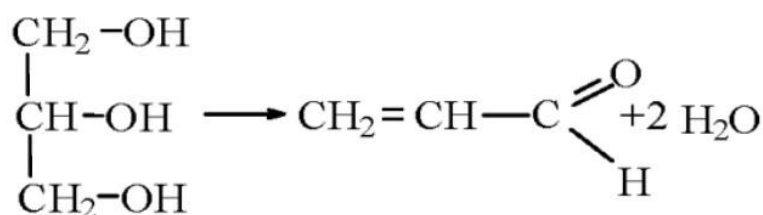


Опыт 4. Открытие жирных кислот

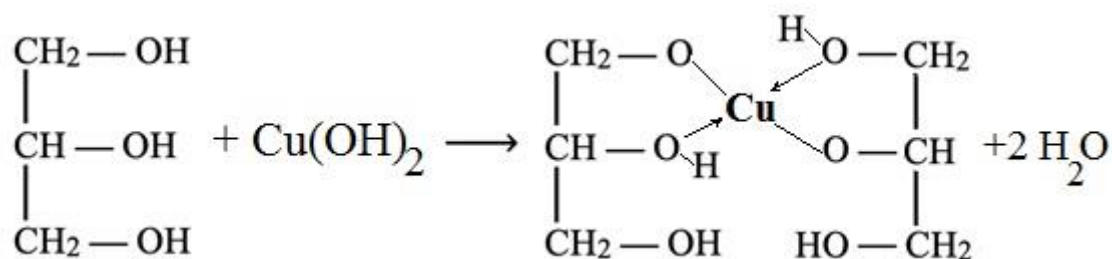


Опыт 5. Открытие глицерина

1.

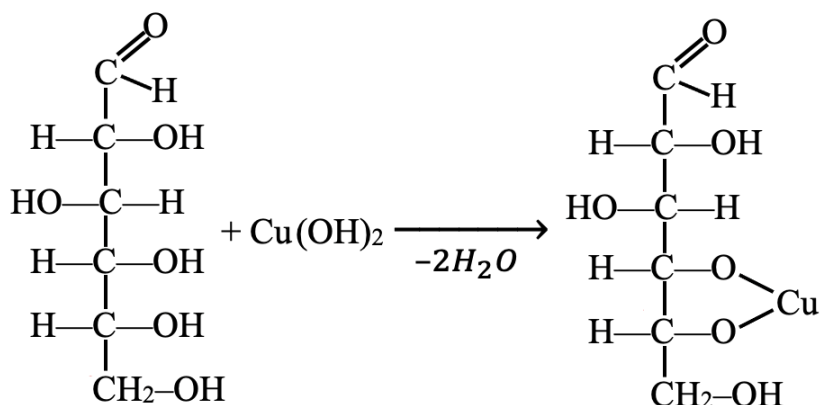


2.

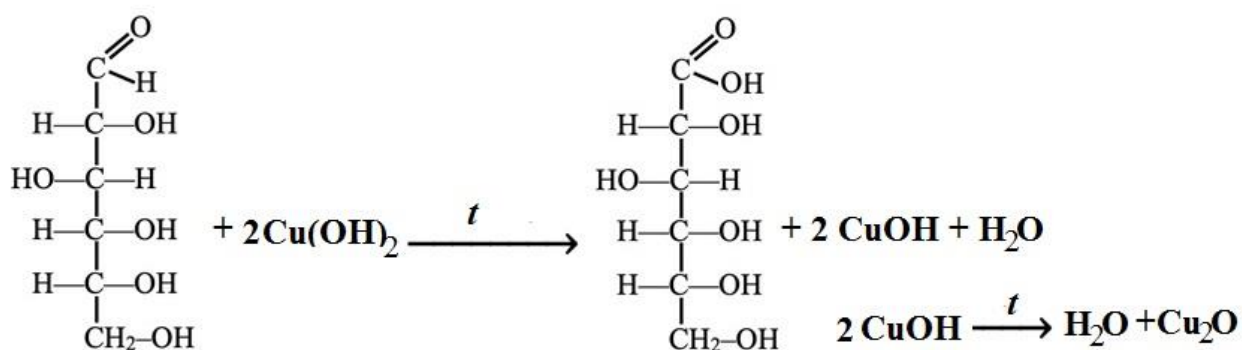
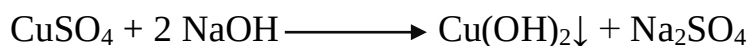


Лабораторная работа 3. Качественные реакции на углеводы

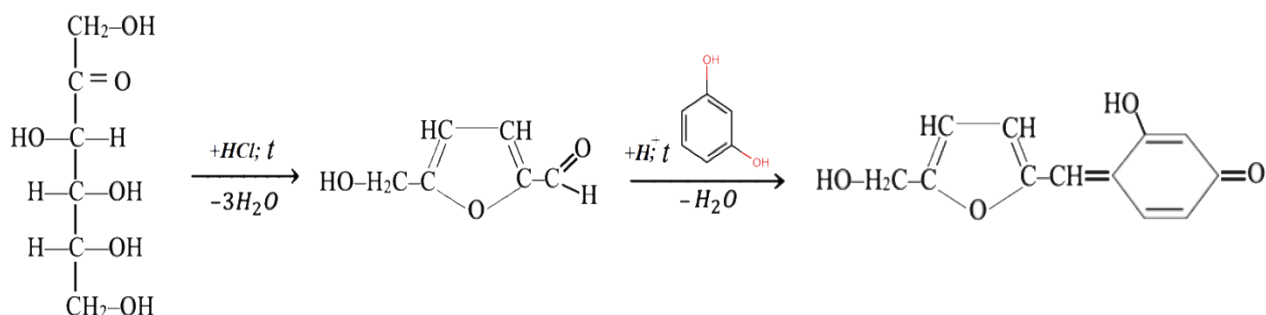
Опыт 1. Открытие гидроксильной группы



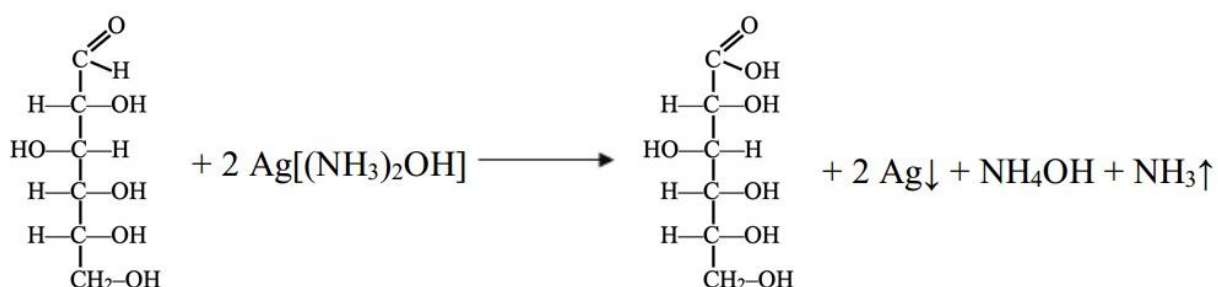
Опыт 2. Реакция Троммера



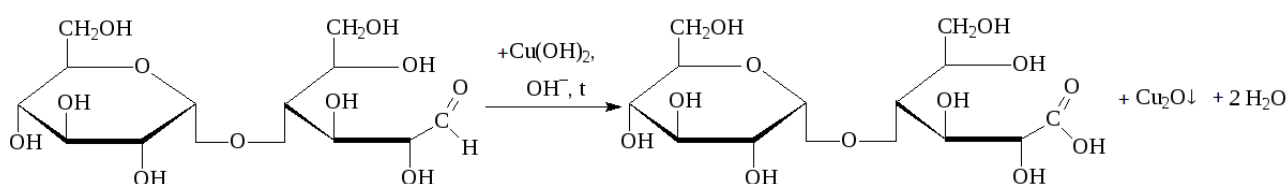
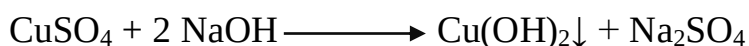
Опыт 3. Реакция Селиванова



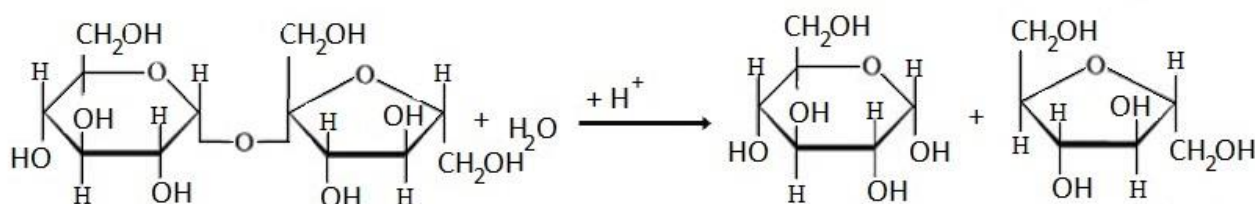
Опыт 5. Реакция «серебряного зеркала»



Опыт 6. Качественные реакции на восстанавливающие сахара

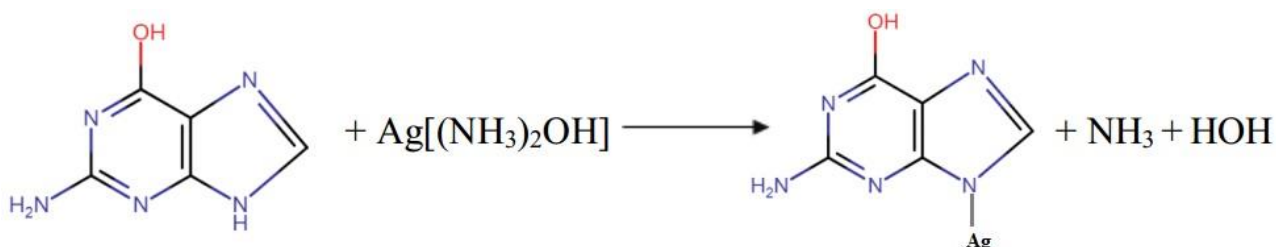


Опыт 8. Кислотный гидролиз сахарозы

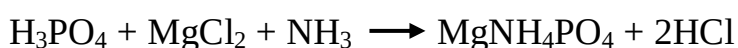
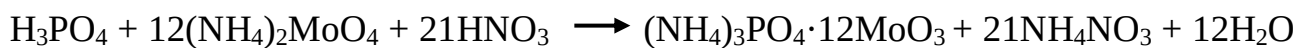


Лабораторная работа 6. Выделение нуклеопротеидов из дрожжей и их гидролиз

Опыт 4. Определение пуриновых оснований

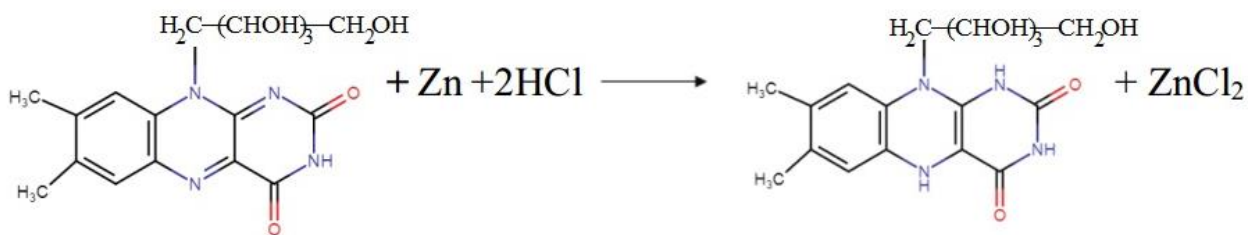


Опыт 5. Обнаружение фосфорной кислоты

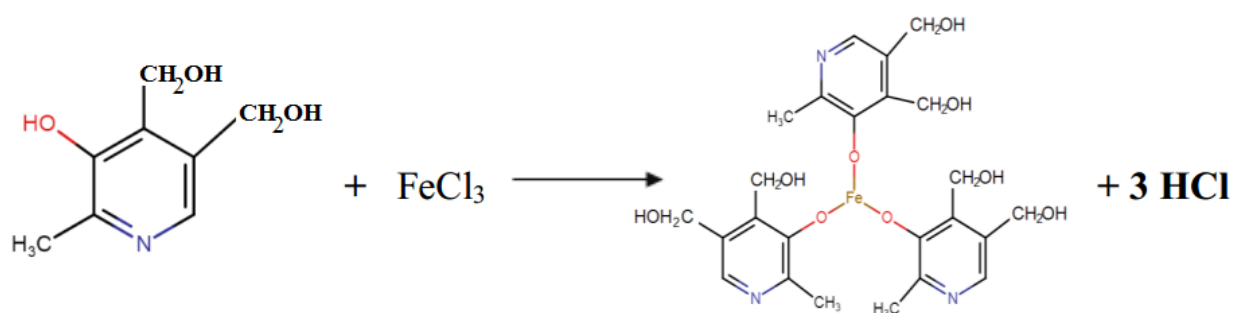


Лабораторная работа 10. Качественные реакции на витамины

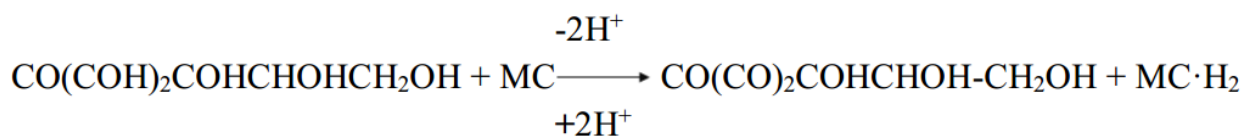
Опыт 2. Качественная реакция на рибофлавин



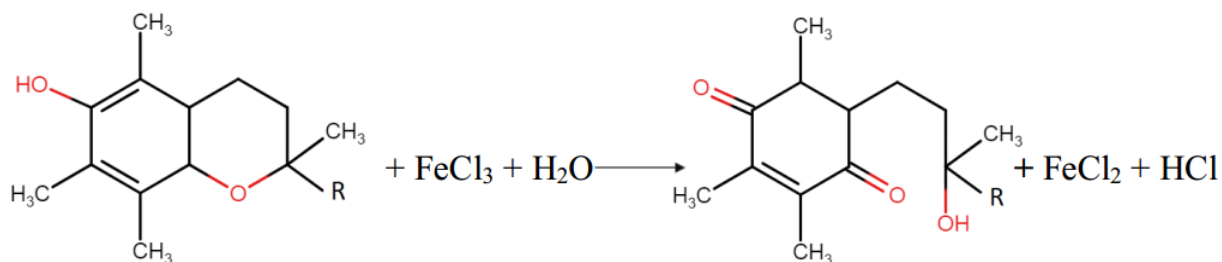
Опыт 3. Качественная реакция на никотиновую кислоту и пиридоксин



Опыт 4. Качественная реакция на аскорбиновую кислоту



Опыт 5. Качественные реакции на токоферол



ГЛОССАРИЙ

Авитаминоз — заболевание, являющееся следствием длительного неполноценного питания, в котором отсутствуют какие-либо витамины.

Алифатические спирты (предельные, одноатомные) — это соединения, содержащие гидроксильную группу (-ОН), связанную с углеводородным радикалом.

Алкалоиды — это азотсодержащие органические соединения гетероциклического строения, обладающие ярко выраженным физиологическим действием на организм человека и животных.

Аллелопатия — специфическая форма биотических связей, выражающихся во взаимодействии растительных организмов в фитоценозах; химическое влияние одних видов растений на другие посредством специфически действующих выделений (аллелопатических веществ).

Альбумины — простые глобулярные белки, хорошо растворимые в воде, солевых растворах, разбавленных кислотах и щелочах; выпадают в осадок при насыщении раствора сульфатом аммония выше 50%.

Амилаза — фермент, гликозил-гидролаза, расщепляющий крахмал до олигосахаридов, относится к ферментам пищеварения.

Аминокислоты — органические соединения, в молекуле которых одновременно содержатся карбоксильные и аминные группы.

Антикодон — триплет (тринуклеотид), участок в транспортной рибонуклеиновой кислоте (т-РНК), который в процессе трансляции спаривается с кодоном матричной РНК (мРНК, иногда называется информационной, и-РНК) и обеспечивает включение соответствующего аминокислотного остатка в белок.

Антиоксиданты — вещества, которые ингибируют окисление; любое из многочисленных химических веществ, в том числе естественные продукты деятельности организма и питательные вещества, поступающие с пищей, которые могут нейтрализовать окислительное действие свободных радикалов и других веществ.

Апофермент — фермент без простетической группы.

Аттрактанты — природные и синтетические вещества, привлекающие своим запахом насекомых, грызунов и другие организмы.

Биоиндикация — оценка качества среды обитания и ее отдельных характеристик по состоянию ее биоты в природных условиях.

Биофильность — это отношение среднего содержания элемента в живом веществе планеты к кларку этого элемента.

Брожение — биохимический процесс, основанный на окислительно-восстановительных превращениях органических соединений в анаэробных условиях. В ходе брожения происходит образование АТФ за счёт субстратного фосфорилирования.

Вестерн-блоттинг (вестерн-блот, белковый иммуноблот) — аналитический метод, используемый для определения в образце специфичных белков.

Высаливание — это обратимое осаждение белков из растворов с помощью высоких концентраций нейтральных солей: сульфата аммония, сульфата магния, хлорида натрия. Механизм высаливания заключается в дегидратации белковой молекулы и снятии заряда.

Высокоэтерифицированные пектины — вещества, которые желируют при высоком содержании сухих веществ в среде (например, при высоком содержании сахара) и высокой кислотности.

Генетическая дактилоскопия (ДНК-дактилоскопия) — система научных методов биологической идентификации индивидуумов (организмов) на основе уникальности последовательности нуклеотидов ДНК каждого живого существа, своеобразного «генетического отпечатка», остающегося индивидуальным и неизменным на протяжении всей жизни индивидуума (организма).

Гидролиз — химическая реакция взаимодействия вещества с водой, в результате которой происходит разложение этого вещества и воды с образованием новых соединений.

Гипервитаминоз — острое расстройство в результате интоксикации сверхвысокой дозой одного или нескольких витаминов (содержащихся в пище или витаминсодержащих препаратах).

Гиповитаминоз — болезненное состояние, возникающее при нарушении соответствия между расходом витаминов и поступлением их в организм; то же, что витаминная недостаточность.

Гистоны — это высокоосновные белки, богатые остатками лизина и аргинина, которые содержатся в ядрах эукариотических клеток.

Гликозидная связь — это тип ковалентной связи, которая соединяет молекулу сахара с другой молекулой, часто с другим сахаром. Гликозидная связь

образуется между полуацетальной группой сахара (или производной сахара) и гидроксильной группой органического соединения, например, спирта.

Гликозиды — органические соединения, молекулы которых состоят из двух частей: углеводного (пиранозидного или фуранозидного) остатка и неуглеводного фрагмента (т. н. агликона).

Глобулины — глобулярные белки, растворимые в разбавленных растворах солей, кислот и щелочей; слабо растворимы в воде (кроме миозина и некоторых др.); выпадают в осадок при насыщении раствора сульфатом аммония.

Градуировочный график — графическое выражение зависимости аналитического сигнала от концентрации (или количества) вредного вещества.

Гуммиарабик — твёрдая прозрачная смола, состоящая из высохшего сока различных видов акаций.

Гутта — аморфный углеводород, содержащийся в гуттаперче в количестве от 30,5 до 82% и определяющий ее ценные свойства.

Дегидратация — удаление или потеря воды из вещества или ткани.

Декстрин — олигосахарид, получаемый термической обработкой картофельного или кукурузного крахмала. Образуется из крахмала в ротовой полости человека под действием α -амилаз.

Денатурация — любые изменения природной (нативной) структуры молекулы белка, нуклеиновой кислоты и других биополимеров, не сопровождающиеся разрывом прочных ковалентных химических связей.

Изопреноиды — обширная группа природных соединений, образующихся в живых клетках из мевалоновой кислоты.

Иммуноферментный анализ — лабораторный иммунологический метод качественного или количественного определения различных низкомолекулярных соединений, макромолекул, вирусов и пр., в основе которого лежит специфическая реакция антиген-антитело.

Инфузорная земля (кизельгур, диатомит, горная мука) — осадочная горная порода, состоящая преимущественно из раковин диатомовых водорослей.

Иодное число — показатель содержания непредельных жирных кислот в жире или масле, выражаемый количеством иода в граммах, присоединяющегося к 100 граммам исследуемого органического вещества.

Калориметрия — совокупность методов измерения количества теплоты, выделяющейся или поглощаемой при протекании различных физических или

химических процессов. Методы калориметрии применяют при определении теплоёмкости, тепловых эффектов химических реакций, растворении, смачивании, адсорбции, радиоактивного распада и др.

Камедь, гумми — высокомолекулярный углевод, главный компонент экссудатов (флоэнного сока, выпотов), выделяемых растениями при механических повреждениях коры или заболеваниях.

Каталитический центр — это участок молекулы фермента, который отвечает за его каталитическую функцию.

Каучуки — это эластичные полимеры, продукты полимеризации диенов и их производных.

Кислотное число — содержание свободных жирных кислот в эфирномасличном продукте, определяемое количеством миллиграммов гидроксида калия, необходимого для их нейтрализации в 1 г анализируемого продукта.

Клатраты — соединения, включения. Клатраты образуются путём включения молекул вещества — «гостя», в полости кристаллической решётки, составленной из молекул другого типа — «хозяев» (решётчатые клатраты), либо в полость одной большой молекулы-хозяина (молекулярные клатраты).

Клетчатка (пищевые волокна) — компоненты пищи, не перевариваемые пищеварительными ферментами организма человека, но перерабатываемые полезной микрофлорой кишечника, сумма полисахаридов и лигнина, которые не перевариваются эндогенными секретами желудочно-кишечного тракта человека

Кофактор — небольшое небелковое (и не производное от аминокислот) соединение (чаще всего ион металла), которое присоединяется к функциональному участку белка и участвует в его биологической деятельности.

Коферменты, или коэнзимы — органические природные соединения небелковой природы, необходимые для осуществления каталитического действия ферментов.

Коэффициент поликонденсации белка — количество аминокислот, входящее в состав белков.

Ксерофтальмия — сухость роговицы и конъюнктивы глаза, возникающая из-за нарушения слёзоотделения.

Муцины — сложные белки (гликопротеиды), входящие в состав секретов слизистых желёз.

Низкоэтерифицированные пектины — вещества, способные образовывать гели при низких содержаниях сухих веществ и невысокой кислотности.

Нуклеотид — это вещество, образованное из азотистого основания, моносахарида (пентозы) и остатка фосфорной кислоты.

Оксипирины — биологически активные соединения, продукты окисления полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), протекающего с участием молекулярного кислорода.

Оксониевые соли — это класс неорганических соединений, которые содержат положительный ион оксония (H_3O^+) и отрицательный анион. Они образуются в результате протонирования воды или других растворителей, содержащих воду.

Омыление — это процесс превращения сложных эфиров жирных кислот в мыла и спирты под действием растворов щелочей (например, раствора гидроксида натрия). Мыла представляют собой соли жирных кислот.

Онтогенез — индивидуальное развитие особи, вся совокупность её преобразований от зарождения (оплодотворение яйцеклетки, начало самостоятельной жизни органа вегетативного размножения или деление материнской одноклеточной особи) до конца жизни (смерть или новое деление особи).

Оптическая плотность — мера непрозрачности слоя вещества для световых лучей, которая равна десятичному логарифму отношения потока излучения, падающего на слой, к ослабленному в результате поглощения и рассеяния потоку, прошедшему через этот слой.

Пектиновые вещества, или пектины — полисахариды, образованные остатками главным образом галактуроновой кислоты.

Пептидная связь — химическая связь, соединяющая аминокгруппу одной аминокислоты с карбоксильной группой другой в молекулах пептидов и белков.

Перекисное число — мерой количества кислорода, химически связанного в масле или жире в виде перекисей, особенно гидроперекисей.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) — метод молекулярной биологии, позволяющий добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты (а именно ДНК) в биологическом материале (пробе).

Протетическая группа — компонент неаминокислотной природы, прочно соединенный с белком (например, при помощи ковалентной связи), и выполняющий важную роль в биологической активности соответствующего белка.

Протамины — низкомолекулярные белки, содержащие 60-85% аргинина и обладающие основными свойствами.

Протеиноиды, или термические белки, представляют собой белкоподобные, часто сшитые молекулы, образованные абиотическим путем из аминокислот.

Рахит — заболевание детей грудного и раннего возраста с расстройством костеобразования и недостаточностью минерализации костей, ведущим патогенетическим звеном которого является дефицит витамина D и его активных метаболитов в период наиболее интенсивного роста организма.

Ренатурация — процесс восстановления структурной организации биополимера (белковой молекулы или молекул нуклеиновых кислот). Ренатурация возможна только при обратимой денатурации.

Репеллент — средство (препарат) или устройство, обладающее отпугивающими свойствами по отношению к разным видам членистоногих и грызунов.

Репликация — самовоспроизведение нуклеиновых кислот (обычно ДНК, у некоторых вирусов РНК), обеспечивающее точное копирование генетической информации и передачу ее от поколения к поколению.

Рефрактометрия — это метод исследования веществ, основанный на определении показателя (коэффициента) преломления (рефракции) и некоторых его функций. Рефрактометрия (рефрактометрический метод) применяется для идентификации химических соединений, количественного и структурного анализа, определения физико-химических параметров веществ.

Свободные радикалы — реакционноспособные частицы, содержащие один или несколько неспаренных электронов на внешней электронной оболочке.

Склеропротеины — фибриллярные, преимущественно животные, белки, обладающие высокой эластичностью и прочностью; выполняют опорные и защитные функции в организме.

Спектрофотометрия — (абсорбционная) физико-химический метод исследования растворов и твёрдых веществ, основанный на изучении спектров поглощения в ультрафиолетовой (200–400 нм), видимой (400–760 нм) и инфракрасной (>760 нм) областях спектра.

Субстрат — вещество, на которое действует фермент.

Субстратный центр — это участок молекулы фермента, который связывает субстрат, подлежащий ферментативному превращению.

Сфинголипиды — это класс липидов, относящихся к производным алифатических аминспиртов. Они играют важную роль в передаче клеточного сигнала и в клеточном распознавании. Особенно богата сфинголипидами нервная ткань.

Титриметрический анализ (титрование) — метод количественного/массового анализа в аналитической химии, основанный на измерении объёма раствора реактива точно известной концентрации, расходуемого для реакции с определяемым веществом. Титрование — процесс определения титра исследуемого вещества.

Триацилглицериды — органические вещества, продукты этерификации карбоновых кислот и трёхатомного спирта глицерина.

Фармакогнозия — одна из фармацевтических наук, изучающая лекарственные средства, получаемые из лекарственного растительного и животного сырья, продуктов жизнедеятельности растений и животных, а также некоторые продукты их первичной переработки (эфирные и жирные масла, смолы, млечные соки и др.).

Фармакология — это раздел медицины, биологии и фармацевтических наук, связанный с лекарственным средством или лекарственным действием, где лекарственное средство может быть определено как любая искусственная, естественная или эндогенная (изнутри организма) молекула, которая оказывает биохимическое или физиологическое воздействие на клетку, ткань, орган или организм.

Фенольные соединения — это вещества, содержащие ароматические кольца с гидроксильной группой, а также их различные производные.

Ферменты (энзимы) — специфические и высокоэффективные катализаторы химических реакций, протекающих в живой клетке.

Феромоны — биологически активные вещества, выделяемые животными в окружающую среду и специфически влияющие на поведение или физиол. состояние др. особей того же вида.

Филогенез — процесс истории, развития как организмов в целом, так и отдельных таксономических групп: царств, типов, классов, отрядов, семейств, родов, видов.

Фитогормоны — низкомолекулярные органические вещества, вырабатываемые растениями и выполняющие регуляторные функции.

Фитонциды — образуемые растениями биологически активные вещества, убивающие или подавляющие рост и развитие др. организмов (гл. обр. микробов); играют важную роль в иммунитете растений и во взаимоотношениях организмов в биоценозах.

Фосфолипиды — сложные липиды, представляют собой сложные эфиры многоатомных спиртов и высших жирных кислот.

Число омыления — количество миллиграммов гидроксида калия, необходимое для нейтрализации свободных и связанных кислот, содержащихся в 1 г анализируемого продукта.

Эйкозаноиды — окисленные производные полиненасыщенных жирных кислот, содержащих 20 углеродных атомов («eicosa», от др. греч. «двадцать»).

Экстинция — ослабление световых потоков, проходящих через какую-либо среду, например, сквозь земную атмосферу или межзвездную среду, - результат комбинированного действия рассеяния и поглощения света.

Электрофорез — это электрокинетическое явление перемещения частиц дисперсной фазы (коллоидных или белковых растворов) в жидкой или газообразной среде под действием внешнего электрического поля. С помощью электрофореза удаётся покрывать мелкими частицами поверхность, обеспечивая глубокое проникновение в углубления и поры.

Эстеразы — ферменты, катализирующие в клетках гидролитическое расщепление сложных эфиров на спирты и кислоты при участии молекул воды (гидролиз).

Эфирное число — условная величина, характеризующая содержание в 1 г растительного масла связанных в виде триглицеридов жирных кислот, выраженная в миллиграммах едкого кали, необходимого для разрушения сложноэфирных связей и нейтрализации выделенных при этом жирных кислот. Разность между числом омыления и кислотным числом.

Эфирные масла — маслянистые, нерастворимые в воде, жидкости, содержащие летучие биохимические соединения растений с характерным сильным запахом и вкусом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Рекомендованная литература

Основная

- 1) Маглыш, С.С. Биологическая химия: сборник задач и заданий / С.С. Маглыш, В.В. Лелевич. – Минск: Выш. шк., 2019. – 204 с.
- 2) Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. Т. 1: Основы биохимии, строение и катализ: учеб. пособие / Д. Нельсон, М. Кокс ; под ред. А. А. Богданова и С. Н. Кочеткова ; пер. с англ. канд. хим. наук Т. П. Мосоловой, канд. хим. наук Е. М. Молочкиной, канд. биол. наук В. В. Белова. – Москва : Изд-во "Лаборатория знаний", 2017. – 749 с. – Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. – URL: <https://e.lanbook.com/book/103034>. – Режим доступа: для авториз. пользователей.
- 3) Органическая химия Часть 2: учебно-методическое пособие / авторы-составители: Барабанщикова Л.Н., Киршина М.К., Рыбачук О.В., Разманова В.Е. Тюмень: ГАУ Северного Зауралья, 2023. 112 с.
- 4) Рогожин, В.В. Биохимия сельскохозяйственной продукции : учеб. / В.В. Рогожин, Т.В. Рогожина. – СПб. : ГИОРД, 2014. – 544 с.
- 5) Фадеева, Е.Ф. Биохимия растений / Е.Ф. Фадеева. – Тюмень: изд-во ГАУК ТОНБ, 2014. – 308 с.
- 6) Физиология и биохимия обмена веществ : учебно-методическое пособие : лабораторный практикум / Федеральное гос. бюджетное образовательное учреждение высш. проф. образования "Вятский гос. гуманитарный ун-т" ; [сост.: М. А. Зайцев и др.]. – Киров : Изд-во ВятГГУ, 2015. – 249 с.

Дополнительная

- 1) Биология – Текст: электронный // Фоксфорд учебник. – URL: <https://www.foxford.ru/wiki/biologiya>.
- 2) Биология для чайников / Рене Фестер Кратц: пер. с англ. Е.П. Перминовой – Киев: «Диалектика», 2021. – 448 с.
- 3) Биохимия: учебник /под ред. Е.С. Северина. – 5-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 768 с.
- 4) Евлаш, В.В. Химия витаминов : учебное пособие / В.В. Евлаш, Н.А. Отрошко, Т.О. Кузнецова. – Харьков: Харьковский государственный университет питания и торговли, 2014. – 155 с.
- 5) Никифорова, Т.Е. Биологическая безопасность пищевых продуктов: лаб. практикум / Т.Е. Никифорова. Иваново: ФГБОУ ВО Иван. гос. хим.-технол. ун-т, 2016. – 96 с.

- 6) Олькова, А. С. Учение о биосфере: учебное пособие / А.С. Олькова. – Киров: Радуга-ПРЕСС, 2012. – 135 с.
- 7) Плешков, Б.П. Практикум по биохимии растений / Б.П. Плешков – 3-е изд., доп. и перераб. – М.: Агропромиздат, 1985. – 255 с.
- 8) Рогожин, В. В. Биохимия растений : учебник / В. В. Рогожин. – Санкт-Петербург : ГИОРД, 2012. – 432 с.
- 9) Тейлор, Д. Биология. В 3 томах / Д. Тейлор, Н. Грин, У. Стаут. – Москва : Лаборатория знаний, 2020. – 512 с.
- 10) Фадеева, Е.Ф. Атлас лекарственных растений / Е.Ф. Фадеева. – Тюмень: Титул. – 2016. – 172 с.
- 11) Фадеева, Е.Ф. Биохимия / Е.Ф. Фадеева. – Тюмень: Титул, 2017. – 268 с.
- 12) Хелдт, Г.-В. Биохимия растений / Г.-В. Хелдт ; пер. с англ. – 2-е изд. (эл.). – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. – 471 с. : ил.

Список использованной литературы

1. Биология – Текст: электронный // Фоксфорд учебник. – URL: <https://www.foxford.ru/wiki/biologiya>.
2. Биология для чайников / Рене Фестер Кратц: пер. с англ. Е.П. Перминовой – Киев: «Диалектика», 2021. – 448 с.
3. Биохимия: учебник /под ред. Е.С. Северина. – 5-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2016. – 768 с.
4. Вершинин, В.И. Аналитическая химия : учебник для вузов / В.И. Вершинин, И.В. Власова, И.А. Никифорова. – 4-е изд., стер. – Санкт-Петербург : Лань, 2022. – 428 с. – ISBN 978-5-8114-9166-7. – Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. – URL: <https://e.lanbook.com/book/187750> (дата обращения: 06.11.2023). – Режим доступа: для авториз. пользователей.
5. ГОСТ 19885-74 «Чай. Методы определения содержания танина и кофеина».
6. ГОСТ 2070-55. «Нефтепродукты светлые. Метод определения йодных чисел и непредельных углеводов».
7. ГОСТ 31675-2012. «Корма. Методы определения содержания сырой клетчатки с применением промежуточной фильтрации».
8. ГОСТ ISO 750-2013. «Продукты переработки фруктов и овощей. Определение титруемой кислотности».
9. Евлаш, В.В. Химия витаминов : учебное пособие / В.В. Евлаш, Н.А. Отрошко, Т.О. Кузнецова. – Харьков: Харьковский государственный университет питания и торговли, 2014. – 155 с.

10. Загоскина, Н.В. Вторичные метаболиты растений: распространение, история изучения, практическое применение / Н.В. Загоскина, Л.В. Назаренко // Вестник МГПУ. Серия: Естественные науки. – 2019. – №2 (34).
11. Козел, Е.Г. Практикум по органической химии : учебно-методическое пособие / Е.Г. Козел, Л.Н. Барабанщикова. – Тюмень : ГАУ Северного Зауралья, 2020 – Часть 1 : Практикум по органической химии – 2020. – 168 с. – Текст : электронный // Лань : электронно-библиотечная система. – URL: <https://e.lanbook.com/book/157120> – Режим доступа: для авториз. пользователей.
12. Корочанская, С.П. Учебно-методическое пособие по биологической химии / С.П. Корочанская, П.Г. Сторожук, И.М. Быков. – Краснодар, 2015. – 81 с.
13. Маглыш, С.С. Биологическая химия: сборник задач и заданий / С. С. Маглыш, В. В. Лелевич. – Минск: Выш. шк., 2019. – 204 с.
14. Майдебура, И.С. Влияние загрязнения воздушного бассейна города Калининграда на анатомо-морфологические и биохимические показатели древесных растений: автореф. дисс. ... канд. биол. наук : 03.00.16 / Майдебура Ирина Сергеевна: КГУ. – Калининград, 2006. – 22 с.
15. Нельсон, Д. Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. Т. 1: Основы биохимии, строение и катализ: учеб. пособие / Д. Нельсон, М. Кокс ; под ред. А. А. Богданова и С. Н. Кочеткова ; пер. с англ. канд. хим. наук Т. П. Мосоловой, канд. хим. наук Е. М. Молочкиной, канд. биол. наук В. В. Белова. – Москва : Изд-во "Лаборатория знаний", 2017. – 749 с. – Текст: электронный // Лань: электронно-библиотечная система. – URL: <https://e.lanbook.com/book/103034>. – Режим доступа: для авториз. пользователей.
16. Никифорова, Т.Е. Биологическая безопасность пищевых продуктов: лаб. практикум / Т.Е. Никифорова. Иваново: ФГБОУ ВО Иван. гос. хим.-технол. ун-т, 2016. – 96 с.
17. Олькова, А. С. Учение о биосфере: учебное пособие / А.С. Олькова. – Киров: Радуга-ПРЕСС, 2012. – 135 с.
18. Определение кислот в плодах, ягодах и продуктах их переработки: методические рекомендации по курсам «Технология производства пищевых органических кислот», «Технологическое использование вторичных ресурсов бродильных производств», «Химия отрасли» для студентов направления подготовки 19.03.02 «Продукты питания из растительного сырья» / Н.В. Степанова, Е.В. Аверьянова; Алт. гос. техн. ун-т, БТИ. – Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2016 – 29 с.

19. Органическая химия Часть 2: учебно-методическое пособие / авторы-составители: Барабанщикова Л.Н., Киршина М.К., Рыбачук О.В., Разманова В.Е. Тюмень: ГАУ Северного Зауралья, 2023. 112 с.
20. Плешков, Б.П. Практикум по биохимии растений / Б.П. Плешков – 3-е изд., доп. и перераб. – М.: Агропромиздат, 1985. – 255 с.
21. Рогожин, В.В. Биохимия растений : учебник / В. В. Рогожин. – Санкт-Петербург : ГИОРД, 2012. – 432 с.
22. Рогожин, В.В. Биохимия сельскохозяйственной продукции : учеб. / В.В. Рогожин, Т.В. Рогожина. – СПб. : ГИОРД, 2014. – 544 с.
23. Сысолятина, М.А. Оценка токсичности редкоземельных элементов La и Ce по ответным реакциям цианобактерий / М. А. Сысолятина, А. С. Олькова, Е. В. Коваль // Химическая безопасность. – 2022. – Т. 6, № 1. – С. 190-197. – DOI 10.25514/CHS.2022.1.21012
24. Тейлор, Д. Биология. В 3 томах / Д. Тейлор, Н. Грин, У. Стаут. – Москва : Лаборатория знаний, 2020. – 512 с.
25. Тихвинский, С. Ф. Антоциановые пигменты растений и их роль в практической селекции сельскохозяйственных культур / С.Ф. Тихвинский. – Киров: Авангард, 2007. – 80 с.
26. Фадеева, Е.Ф. Атлас лекарственных растений / Е.Ф. Фадеева. – Тюмень: Титул. – 2016. – 172 с.
27. Фадеева, Е.Ф. Биохимия / Е.Ф. Фадеева. – Тюмень: Титул, 2017. – 268 с.
28. Фадеева, Е.Ф. Биохимия растений / Е.Ф. Фадеева. – Тюмень: изд-во ГАУК ТОНБ, 2014. – 308 с.
29. Фадеева, Е.Ф. Учебно-методическое пособие по биохимии / Е.Ф. Фадеева. – Тюмень: изд-во ГАУК ТОНБ, 2014. – 118 с.
30. Физиология и биохимия обмена веществ : учебно-методическое пособие : лабораторный практикум / Федеральное гос. бюджетное образовательное учреждение высш. проф. образования "Вятский гос. гуманитарный ун-т" ; [сост.: М. А. Зайцев и др.]. – Киров : Изд-во ВятГГУ, 2015. – 249 с.
31. Хелдт, Г.-В. Биохимия растений / Г.-В. Хелдт ; пер. с англ. – 2-е изд. (эл.). – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2014. – 471 с. : ил.
32. Чупахина, Г. Н. Система аскорбиновой кислоты растений / Г.Н. Чупахина. – Калининград, 1997. – 120 с.
33. Чупахина, Г.Н. Адаптация растений к нефтяному загрязнению / Г.Н. Чупахина, П.В. Масленников // Экология. – 2004. – №5. – С. 330–335.
34. Яндекс Дзен: Что скрывает ДНК? Или так ли страшен биосинтез белка, как его малюют? https://dzen.ru/a/X3SuyCi7RBr9zZIO?share_to=link

35. Eicke, S. Increasing the carbohydrate storage capacity of plants by engineering a glycogen-like polymer pool in the cytosol / S. Eicke, D. Seung, B. Egli, E. A. Devers, S. Streb // Metabolic Engineering. – Volume 40. – 2017. – P. 23-32, ISSN 1096-7176, <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2017.02.008>.