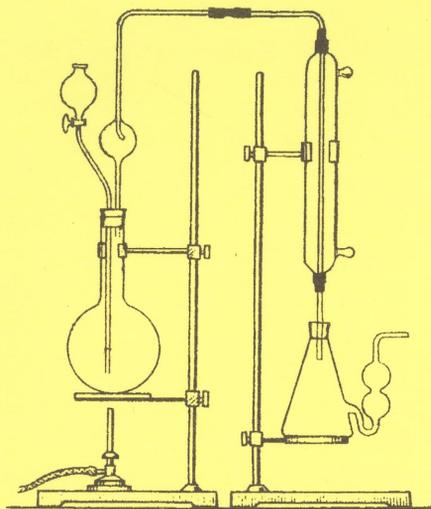


# БИОХИМИЯ

---

Лабораторный практикум  
для студентов специальности 260501  
«Технология продуктов общественного питания»



---

Тольятти  
ТГУ  
2009

Федеральное агентство по образованию  
Тольяттинский государственный университет  
Институт химии и инженерной экологии  
Кафедра «Пищевые технологии и товароведение  
продовольственных товаров»

## **БИОХИМИЯ**

Лабораторный практикум  
для студентов специальности 260501  
«Технология продуктов общественного питания»

Тольятти  
ТГУ  
2009

УДК (577:644)(075.8)

ББК 28.072:65.304.25

Б638

Рецензент:

к.х.н., доцент Тольяттинского государственного  
университета *Н.Н. Пономарева.*

**Б638** Биохимия : лабораторный практикум для студентов специальности 260501 «Технология продуктов общественного питания» / авт.-сост. А.В. Иванова, Т.Н. Клапанова. – Тольятти : ТГУ, 2009. – 68 с.

В лабораторный практикум включены необходимый теоретический материал, методические указания для проведения лабораторных работ и тренировочные тесты для контроля знаний студентов.

Предназначен для студентов специальности 260501 «Технология продуктов общественного питания» очной и заочной форм обучения.

Рекомендовано к изданию методической комиссией института химии и инженерной экологии Тольяттинского государственного университета.

© Тольяттинский государственный университет, 2009

## Введение

Лабораторный практикум представляет собой руководство к лабораторным работам по курсу “Биохимия”.

Помимо приобретения теоретических знаний при изучении данного курса будущим специалистам необходимы лабораторно-практические знания, которые помогают студентам изучить на практике свойства основных классов органических соединений.

Лабораторный практикум содержит одиннадцать лабораторных работ по курсу “Биохимия”, каждая из которых содержит цель исследования, описание техники и методики постановки опыта, перечень необходимых материалов и оборудования для проведения эксперимента, приведены расчетные формулы для обработки результатов исследований. Тематика лабораторных работ охватывает вопросы знакомства со свойствами основных классов органических соединений, методами количественного и качественного их определения.

К каждой лабораторной работе дается теоретический материал, необходимый для подготовки к работе и для анализа результатов исследования. После описания хода работы имеются контрольные вопросы для контроля знаний студентов.

Лабораторный практикум по курсу “Биохимия” рекомендован для студентов специальности 260501 “Технология продуктов общественного питания”. Обучаясь по данной специальности, студентам необходимо изучить состав пищевых систем, который, как правило, многокомпонентен, включает разнообразные классы химических соединений биологического происхождения. Лабораторные работы данного практикума, подобраны таким образом, чтобы студенты, пользуясь им, могли исследовать состав и содержание различных органических соединений именно пищевых систем – пищевого сырья или продуктов питания.

После изучения основных тем курса «Биохимия» необходимо провести контроль знаний студентов. Одним из методов контроля является тестирование. Для самоконтроля знаний студентов, а также для подготовки к тестированию, зачету и экзамену в конце лабораторного практикума помещены тренировочные тесты по изучаемому курсу.

## БЕЛКИ

Белки – важнейшие для жизни полимеры, состоящие из остатков аминокислот, соединенных между собой пептидной связью. Каждый вид белка характеризуется своей уникальной последовательностью аминокислот в полипептидной цепи (первичная структура белков). Все белки имеют определенную пространственную ориентацию полипептидных цепей (вторичная, третичная и четвертичная структуры). По составу они подразделяются на простые белки (протеины), которые состоят только из остатков аминокислот, и сложные белки (протеиды), в которых полипептидная цепь соединена с небелковым компонентом – простетической группой.

### Лабораторная работа № 1 Количественное определение белков растительного и животного происхождения

Цель работы: провести экстракцию по растворимости и количественное определение белков растительного и животного происхождения.

Реактивы: мука пшеничная, гороховая; молочный продукт; гомогенизированная мышечная ткань; 10% и насыщенный растворы сульфата аммония, сухой сульфат аммония (мелко размолотый); 0,2; 1; 10% растворы гидроксида натрия; 0,1 н, 3% растворы уксусной кислоты; биуретовый реактив; 10% и насыщенный растворы хлорида натрия; сухой хлорид натрия (мелко размолотый); 70% раствор этилового спирта, 1% раствор альбумина (стандартный раствор); биуретовый реактив; белоксодержащие образцы.

Посуда и приборы: капельницы; стеклянные воронки; фарфоровые ступки и пестики; фильтровальная бумага; марля; технические весы с разновесами; термостат; плоскодонные колбы объемом 100 мл; пробирки; пипетки; водяные бани, мерные цилиндры; фотоэлектроколориметр (с кюветами); спектрофотометр (с 10 мм кюветами).

### Теоретическая часть

Классификация белков по растворимости (в воде, растворах солей, кислот, щелочей и спирта) применяется только для простых белков:

Белки, растворимые в слабых кислотах, — это наиболее простые белки, обладают невысокой молекулярной массой и проявляют основные свойства (суммарный заряд — положительный):

- протамины обладают сильноосновными свойствами, растворимы в слабых кислотах, содержат до 80% аминокислот основной природы (лизин, гистидин, аргинин);
- гистоны обладают менее основными свойствами, чем протамины (содержание аминокислот основной природы до 30%), они выполняют стабилизирующую функцию при формировании третичной структуры ДНК у эукариот.

Белки, растворимые в воде и растворах нейтральных солей, обладают более высокой молекулярной массой, чем гистоны и протамины, часто выполняют в организме каталитическую функцию:

- альбумины хорошо растворяются в воде и высаживаются из насыщенных растворов нейтральных солей;
- глобулины растворяются в слабых растворах нейтральных солей, высаживаются при высоких концентрациях нейтральных солей и выполняют защитные функции в организме.

Белки, растворимые в спиртах и растворах щелочей, — это высокомолекулярные белки, нерастворимые в воде, встречаются в семенах растений, выполняют запасные функции:

- проламины нерастворимы в воде и солях, растворимы в 70% спирте, содержат много пролина;
- глютелины нерастворимы в воде и разбавленных растворах нейтральных солей, растворимы в разбавленных щелочных растворах (0,2...2% растворах едкого натра) и выполняют не только запасную функцию, но обладают и биологической активностью.

### **Растительные белки**

**Белки зерновых** неравномерно распределены между морфологическими частями зерна. Основное количество белка содержится в эндосперме (65...75%), на алейроновый слой приходится 15% белка, а 22% — на долю зародыша. Белки эндосперма и алейронового слоя представлены различными фракциями, белки зародыша — в основном каталитическими белками (альбуминами и глобулинами). Альбуминовые и глобулиновые фракции белков пшеницы разнородны и про-

являют либо каталитическую активность, либо свойства ингибиторов ферментов. В количественном отношении главными белками пшеницы являются две фракции: глиадин (проламин пшеницы) и глютелин (глютелин пшеницы).

**Белки бобовых.** Основная фракция белков бобовых – глобулиновая (60...90%). Она представляет собой группу запасных белков и извлекается 5...10% раствором хлорида натрия из обезжиренной муки. Белки бобовых содержат лизина в 2...2,5 раза больше, чем злаковые, а растворимость и перевариваемость их выше, чем у других белков растений. В качестве самостоятельной группы в семядолях бобовых не обнаружены глютелины. Извлекаемые щелочными растворами белки представляют собой глобулины, связанные с полисахаридами.

На долю альбуминовой фракции приходится 10...20% белков бобовых. Они не являются запасными, основная роль альбуминовых белков – физиологическая, они представляют собой группу биологически активных веществ. Это, главным образом, ферменты и ингибиторы ферментов. В альбуминовой фракции встречаются ингибиторы трипсина, цитохромы с,  $\beta$ -амилазы, липооксидазы. Отличительной особенностью белкового комплекса бобовых является высокое содержание ингибиторов протеаз и особых белков гликопротеидной природы – лектинов.

### **Животные белки**

**Белки мяса.** В питании человека мясо животных является основным источником полноценных белков. По химическому составу, структуре и свойствам эти белки наиболее близко отражают потребности организма человека в них. Фракционный состав белков мяса многокомпонентен.

Мясо – это совокупность различных тканей животных организмов, наиболее ценной из которых является мышечная ткань. Главным компонентом мышцы являются белки (16...22%). К белкам мышечной ткани относятся:

- растворимые в воде белки саркоплазмы – миоген, миоальбумин, миоглобин, глобулин X;
- солерастворимые миофибриллы – миозин, актин, их комплекс;
- нерастворимые белки стромы – белки сарколеммы (коллаген, эластин, муцин, ретикулин) и ядер.

Миоген легко экстрагируется водой и образует пену на поверхности бульона в результате денатурации. Глобулин X — это солерастворимый белок плазмы, он выполняет ферментативные функции в организме. На долю глобулина X и миогена приходится до 20...25% всех белков мышечной ткани.

Хромопротеид миоглобин имеет красную окраску, так как содержит железо, он обуславливает красный цвет мяса. Миоглобин, присоединяя кислород, образует оксимиоглобин, который определяет красный цвет мяса после убоя. При длительном воздействии кислорода на миоглобин образуется метмиоглобин, имеющий коричневый цвет, поэтому при длительном хранении мяса на воздухе его цвет изменяется из красного в коричневый. Миоглобин денатурирует при температуре 60°C и утрачивает красный цвет; по цвету мяса можно судить о его готовности.

Миоальбумин легко выделяется ацетоном из мышечной плазмы, хорошо растворим в воде, не осаждается хлоридом натрия при насыщении, но осаждается сульфатом аммония. Содержание в мышечной ткани миоальбумина и миоглобина составляет 1...2%.

Миозин — важнейший солерастворимый белок мышечной ткани, составляет около 40% всех мышечных белков, обладает водопоглощающей и вододерживающей способностью. На долю актина приходится до 15% мышечных белков; при взаимодействии с миозином он образует актиномиозин, обладающий высокой вязкостью. Белки саркоплазмы и миофибрилл являются полноценными белками и содержат все необходимые для организма человека незаменимые аминокислоты.

Белки сарколеммы включают коллаген и эластин и относятся к полноценным белкам, в них отсутствует незаменимая аминокислота триптофан. Основное количество коллагена и эластина находится преимущественно в соединительных тканях. Хотя коллаген и относится к неполноценным белкам, после тепловой обработки он может частично усваиваться, улучшая общий аминокислотный состав продуктов.

Фракционирование основных в количественном отношении белков мышечной ткани обычно ведут методом высаливания двух белковых фракций (водо- и солерастворимых), остальные нерастворимые фракции остаются при этом в нерастворимой части мышечной ткани.

Миоген (альбуминовая фракция) — основной водорастворимый белок мышечной ткани. Он является гетерогенным белком, растворя-

ется в воде, выпадает в осадок из насыщенного раствора сульфата аммония. Миозин (глобулиновая фракция) — основной солерастворимый белок мышечной ткани, представляет собой фибриллярный белок. Он растворим в слабых растворах нейтральных солей, осаждается из насыщенного раствора хлоридом натрия. Чистый миозин растворим в воде. Белки стромы — нерастворимые белки мышечной ткани, основными представителями которых являются коллаген и эластин.

**Белки молока.** Содержание белков в молоке составляет 2,9...3,5%. Белки молока обеспечивают нормальное развитие растущего организма и питание взрослого человека. Они отличаются по строению, физико-химическим свойствам и биологическим функциям. Белки молока делятся на три группы:

- казеиновые белки (80%) —  $\alpha_{s1}$ -казеин,  $\alpha_{s2}$ -казеин,  $\beta$ -казеин,  $\chi$ -казеин;
- сывороточные белки (19%) —  $\beta$ -лактоглобулин,  $\alpha$ -лактальбумин, иммуноглобулины, лактоферрин;
- белки оболочек жировых шариков (1%).

Сывороточные белки являются наиболее ценной частью молока по содержанию незаменимых аминокислот (НАК). По биологической ценности они превосходят казеин и имеют аминокислотный состав, близкий к составу мышечной ткани. Это глобулярные белки, в отличие от казеина не способные ассоциироваться и осаждаться в изоэлектрической точке (ИЭТ). Они гетерогенны, обладают важными биологическими функциями.

$\beta$ -Лактоглобулин ( $\beta$ -Лг) — наиболее важный белок в количественном отношении, термолабилен. Предполагают, что он участвует в транспорте витамина А. Известно, что он переносит в кишечник макро- и микроэлементы, витамины и липиды. Тепловая денатурация  $\beta$ -Лг приводит к коагуляции агрегированного белка (он коагулирует почти полностью при 85...100°C) и образованию комплексов с  $\chi$ -казеином.

$\alpha$ -Лактальбумин ( $\alpha$ -Ла) гетерогенен, участвует в синтезе лактозы (является частью лактозосинтезирующей системы). Так же, как и иммуноглобулины, попадает в молоко из кровеносной системы животного. Он наиболее термостабилен из всех сывороточных белков из-за присутствия в нем дисульфидных связей. При охлаждении и в присутствии ионов кальция  $\alpha$ -Ла способен восстанавливать нативную структуру на 80...90%.

Иммуноглобулины – сложные белки (гликопротеиды). Это термолабильные белки, которые коагулируют при температуре выше 70°С. Они обладают свойствами антител и выполняют защитные функции.

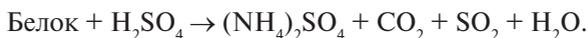
Лактоферрин – красный железосвязывающий белок. Его главная функция – транспорт железа, он оказывает бактериостатическое действие на кишечную микрофлору, связывая в кишечнике железо и делая его недоступным для микроорганизмов.

Молочные альбумины и глобулины обладают всеми свойствами белков соответствующих групп: они свертываются при кипячении и высаливаются насыщенным (альбумины) и полунасыщенным (глобулины) растворами сернокислого аммония.

### **Методы количественного определения белков**

#### **Метод Кьельдаля**

Классическим методом определения массовой доли белка является метод Кьельдаля, который основан на минерализации белоксодержащей пробы. В результате минерализации органический продукт разлагается до углекислого газа, воды и аммиака:



Образовавшийся в реакционной среде сульфат аммония разрушают концентрированным раствором щелочи. Выделившийся при этом аммиак отгоняют с водяным паром и количественно поглощают раствором серной кислоты. Избыток серной кислоты, не связанной с аммиаком, оттитровывают раствором щелочи. Продолжительность стадии минерализации пробы составляет 2...2,5 ч.

#### **Спектрофотометрические методы**

Более удобными в применении и оперативными являются спектрофотометрические методы, из которых наиболее часто в исследованиях при определении содержания белка применяют метод Лоури. Несмотря на то, что метод обладает высокой чувствительностью (для анализа используют сильно разбавленные растворы), он имеет ряд недостатков. Используемый по методике реактив Фолина-Чокольтей дает положительную реакцию и на некоторые другие вещества, например, фенольной природы, что осложняет анализ, особенно объектов растительного происхождения.

Для экспрессной оценки содержания белка широко используется прямая спектрофотометрия белоксодержащих образцов при определенной длине волны. Наиболее известен метод Варбурга и Христиана, основанный на измерении оптической плотности растворов при 280 и 260 нм, хотя он дает лишь ориентировочные результаты.

### **Биуретовый метод**

Более надежные и воспроизводимые результаты анализа получают биуретовым методом. Он менее чувствителен, чем метод Лоури, но при этом не дает побочных реакций с небелковыми веществами.

Биуретовый метод основан на определении интенсивности окраски исследуемого образца, возникающей в результате взаимодействия белков и полипептидов с ионами меди (II) в щелочной среде. При этом раствор белка окрашивается в сине-фиолетовый цвет.

Интенсивность окраски раствора пропорциональна концентрации белка в пробе. Оптическую плотность растворов измеряют на спектрофотометре при длине волны в диапазоне от 540 до 650 нм. Для определения содержания белка строят калибровочный график на основе стандартного раствора белка.

### **Спектрофотометрический метод Варбурга и Христиана**

Данный метод основан на способности ароматических радикалов таких аминокислот, как тирозин, триптофан, фенилаланин, содержащихся в белках, к светопоглощению при 280 нм. Однако при данной длине волны дают поглощение и нуклеиновые кислоты (максимум адсорбции – 260 нм). Поэтому при определении массовой доли измерение оптической плотности раствора производят при 260 и 280 нм, внося тем самым поправку на присутствие нуклеиновых кислот и нуклеотидов. Метод неприменим к объектам, в которых содержание нуклеиновых кислот превышает 20%.

## **Практическая часть**

### **Ход анализа**

#### *Выделение белков пшеницы*

#### **I. Выделение водорастворимых белков пшеницы.**

1. 10г. пшеничной муки растереть в фарфоровой ступке с 50 мл дистиллированной воды. Полученной смеси дать отстояться 2...3 мин, затем

отфильтровать. Получить фильтрат. Остаток муки (после фильтрации) промыть два раза небольшими порциями дистиллированной воды и оставить для последующего извлечения глобулинов пшеницы.

2. Полученный фильтрат использовать для получения фракции альбуминовых белков. К фильтрату добавить сухой тонкоизмельченный порошок сульфата аммония при небольшом нагревании (не выше 40°C) до полного насыщения (до прекращения растворения сульфата аммония). Выпавший осадок, представляющий собой альбуминовую фракцию белков пшеницы, отфильтровать.
3. Осадок на фильтре растворить в 5 мл дистиллированной воды. Получить раствор.
4. Полученный раствор использовать для количественного определения альбуминовых белков.

### **II. Выделение солерастворимых белков пшеницы.**

1. Промытый водой остаток муки (после извлечения альбуминовой фракции белков) растереть в ступке с 50 мл 10% раствора хлорида натрия, дать отстояться 2..3 мин и отфильтровать. Получить фильтрат. Остаток муки промыть два раза небольшими порциями свежего раствора хлорида натрия и оставить для следующих опытов.
2. Добавить к фильтрату равный объем насыщенного раствора хлорида натрия, достигнув тем самым полунасыщения. Выпавший осадок, представляющий собой глобулиновую фракцию белков пшеницы, фильтровать. Осадок растворить на фильтре в 5мл 10% раствора хлорида натрия. Получить раствор.
3. Полученный раствор использовать для количественного определения альбуминовых белков.

### **III. Выделение белков пшеницы, растворимых в щелочах.**

1. Остаток муки после удаления альбуминовой и глобулиновой фракции белков растереть в фарфоровой ступке с 50 мл 0,2% раствором гидроксида натрия, дать отстояться 2...3 мин и отфильтровать. Получить фильтрат.
2. К фильтрату добавить по каплям 0,1н раствор уксусной кислоты. Выпавший осадок представляет собой глютен — глютелин пшеницы.

#### **IV. Выделение белков пшеницы, растворимых в спиртах.**

1. В фарфоровой ступке растереть 5 г пшеничной муки с 25 мл 70% этилового спирта. Полученной суспензии дать отстояться и отфильтровать. Получить фильтрат.
2. К 3 мл фильтрата добавить по каплям дистиллированную воду до выпадения осадка. Полученный осадок представляет собой глиадин — проламин пшеницы.

#### *Выделение белков гороха*

##### **I. Выделение водорастворимых белков гороха.**

1. Смолоть на кофемолке 20г гороха. Взять 10г гороховой муки и растереть ее в фарфоровой ступке с 50мл дистиллированной воды. Полученной смеси дать отстояться 2...3 мин, затем отфильтровать. Получить фильтрат. Остаток гороховой муки (после фильтрации) промыть два раза небольшими порциями дистиллированной воды и оставить для последующего извлечения глобулинов пшеницы.
2. Полученный фильтрат использовать для получения фракции альбуминовых белков. К фильтрату добавить сухой тонкоизмельченный порошок сульфата аммония при небольшом нагревании (не выше 40°C) до полного насыщения (до прекращения растворения сульфата аммония). Выпавший осадок, представляющий собой альбуминовую фракцию белков гороха, отфильтровать.
3. Осадок на фильтре растворить в 5 мл дистиллированной воды. Получить раствор альбуминовой фракции белков.
4. Полученный раствор использовать для количественного определения альбуминовых белков.

**II. Выделение солерастворимых белков гороха (легумина).** В гороховой муке содержится глобулиновый белок легумин, нерастворимый в воде, но растворимый в растворах нейтральных солей.

1. 5 г гороховой муки залить 20 мл 10% раствора сульфата аммония и экстрагировать в термостате в течение 20 мин при температуре 30°C (при постоянном перемешивании). Полученный раствор фильтровать через складчатый фильтр, смоченный раствором соли. Получить фильтрат.
2. Добавить к 1 мл фильтрата 1 мл насыщенного раствора хлорида натрия. Выпавший осадок легумина отфильтровать и растворить на фильтре в 1 мл 10% раствора хлорида натрия. Получить раствор легумина.

3. Полученный раствор (п.2) использовать для количественного определения легумина.

### *Выделение белков молока*

#### **I. Выделение казеина.**

1. В колбу объемом 100 мл налить 25 мл молока и 25 мл дистиллированной воды. Содержимое колбы хорошо перемешать и добавить по каплям 5 мл 3% раствора уксусной кислоты. Полученную смесь снова хорошо перемешать и оставить в покое на 5...10 мин. Осадок казеина отфильтровать.
2. Полученный фильтрат (сыворотка), содержащий сывороточные белки, нейтрализовать, добавив сухого бикарбоната натрия до прекращения выделения углекислого газа, и использовать для выделения солерастворимых белков молока.
3. Выпавший казеин промыть на фильтре водой и растворить в 10 мл 1% раствора едкого натра.
4. Полученный раствор использовать для количественного определения альбуминовых белков.

#### **II. Выделение солерастворимых белков молока.**

1. В пробирку внести 5 мл фильтрата (после выделения казеина), добавить равный объем насыщенного раствора сернокислого аммония (для достижения полунасыщения). Выпавший осадок глобулиновых белков молока оставить на 5...10 мин, а затем отфильтровать. Фильтрат использовать для выделения водорастворимых белков молока.
2. Выпавшие глобулины растворить на фильтре в 5 мл 1% раствора хлорида натрия. Получить раствор.
3. Полученный раствор использовать для количественного определения глобулиновых белков.

#### **III. Выделение водорастворимых белков молока.**

1. Полученный после извлечения глобулиновых белков молока фильтрат насытить сухим порошком сернокислого аммония. Для этого при перемешивании добавить тонкоизмельченный порошок сульфата аммония. Раствор следует слегка подогреть на водяной бане при температуре не выше 40°С до прекращения растворения сульфата аммония.
2. Вторично выпавший осадок представляет собой альбуминовую фракцию белков молока. Альбумины отфильтровать и полученный осадок растворить на фильтре в 5 мл дистиллированной воды.

3. Полученный раствор использовать для количественного определения альбуминов молока.

### *Выделение белков мышечной ткани*

#### **I. Выделение водорастворимых белков мышечной ткани.**

1. В ступке растереть 10 г мышечной ткани.
2. В плоскодонную колбу объемом 100 мл поместить 2 г гомогенизированной мышечной ткани, залить 12 мл дистиллированной воды и экстрагировать в термостате при температуре 300°С в течение 15 мин (при постоянном перемешивании). При этом в раствор переходят альбуминовые фракции белков мышечной ткани (миоген, миоальбумин, миоглобин, глобулин X).
3. Водорастворимой фракции белков мышечной ткани дать отстояться 2...3 мин, осадок отфильтровать через два слоя марли, положенной на воронку. Получить фильтрат. Промытый водой осадок мышечной ткани оставить для выделения глобулинов.
4. Полученный фильтрат использовать для количественного определения альбуминовых белков.

#### **II. Выделение солерастворимых белков мышечной ткани.**

1. Оставшуюся на марле кашицу из мышечной ткани (после извлечения водорастворимых белков) отжать, перенести в фарфоровую ступку и растереть с 10 мл 10% раствора сульфата аммония для извлечения глобулиновой фракции белков. Полученному экстракту дать отстояться и отфильтровать. Получить фильтрат. Оставшийся осадок, содержащий белки стромы, используют для выделения белков мышечной ткани, растворимых в щелочах.
2. Полученный фильтрат, содержащий глобулиновую фракцию белков мяса, разделить на две части. Одну часть фильтрата использовать для количественного определения белков.
3. Для осаждения миозина ко второй части фильтрата (около 5мл), содержащего глобулины мышечной ткани, добавить сухой порошок хлорида натрия при небольшом нагревании до полного насыщения, образовавшийся осадок, который представляет собой фибриллярный белок — миозин, спустя 5 мин отделить на центрифуге. Надосадочную жидкость декантировать, оставшийся на дне миозин растворить в дистиллированной воде, получить раствор.
4. Использовать раствор для количественного определения миозина.

### III. Выделение белков мышечной ткани, растворимых в щелочах.

1. Оставшийся после экстракции водо- и солерастворимых белков осадок перенести в плоскодонную колбу, залить 5 мл раствора 10% гидроксида натрия и поместить на 20 мин в кипящую водяную баню. Полученный раствор охладить и отфильтровать.
2. К 3 мл фильтрата добавить по каплям раствор 0,1 н уксусной кислоты для нейтрализации щелочи. Выпавший осадок, который представляет собой белки стромы, спустя 5 мин. отфильтровать. К фильтрату добавить 1 мл биуретового реактива, объяснить полученный результат.

#### *Количественное определение белков*

1. Взять 1 мл исследуемого белоксодержащего раствора, добавить 4 мл биуретового реактива и оставить на 30 мин при комнатной температуре.
2. Измерить светопоглощение окрашенного раствора при  $\lambda = 540$  нм на фотоэлектрокалориметре относительно контрольного раствора. Содержание белка в пробе определить по калибровочному графику.
3. Массовую долю белка (Б, %) рассчитать по формуле:

$$Б = \frac{100 \cdot C}{1000},$$

где С – концентрация белка, найденная по калибровочному графику, мг/мл; 100 – коэффициент пересчета в проценты; 1000 – коэффициент перевода миллиграммов в граммы.

### Оформление результатов работы

1. Записать в тетрадь ход работы
2. Оформить результаты работы в виде таблицы (табл. 1).

Таблица 1

Результаты анализа фракционного состава исследуемого белка

Исходный материал	Растворитель	Название растворимого белка	Из какого растворителя высаливается	Массовая доля в растворе, %

## Лабораторная работа № 2

### Денатурация белков

*Цель работы:* определить степень денатурации белков при тепловом и механическом воздействии по изменению количества водо- и соле-растворимых белков в исследуемом материале.

*Реактивы:* биуретовый реактив; 0,5 н раствор хлорида калия; 3% раствор уксусной кислоты; 0,85% раствор хлорида натрия; белок-содержащие материалы (мука, мышечная ткань, молоко).

*Посуда и приборы:* мерные цилиндры; фарфоровые ступки с пес-тиком; чашки Петри; пипетки; пробирки; плоскодонные колбы объ-емом 100мл; фильтровальная бумага; центрифуга; водяной термостат; фотоэлектроколориметр (с кюветами); спектрофотометр (с кюветами); гомогенизатор; технические весы; мерные колбы объемом 100 мл; хи-мические воронки; стеклянный песок.

#### Теоретическая часть

Денатурация – процесс нарушения нативной пространственной организации молекулы белка, сопровождающийся изменением вто-ричной, третичной и четвертичной структуры белка. При денатурации сохраняется первичная структура белка, следовательно, и химический состав белка. С потерей нативной структуры белок теряет биологичес-кую активность, при этом изменяются его физико-химические свойст-ва (уменьшается растворимость, склонность к гидратации, изменяет-ся форма макромолекул и др.).

Денатурация может происходить под влиянием температуры, хи-мических агентов (кислот и щелочей), при воздействии различных ме-ханических факторов (давление, растирание, встряхивание и т. п.).

В процессе технологической обработки пищевого сырья особое зна-чение имеет тепловая денатурация. Денатурационные изменения обыч-но начинаются при температурах 60°С и выше и могут как облегчить, так и затруднить процесс взаимодействия белка с протеолитическими фер-ментами, влияя, таким образом, на процесс переваривания белков.

#### Практическая часть

*Подготовка исследуемого материала.* Для анализа взять три навес-ки исследуемого белоксодержащего материала. Из первой навески из-

влечь белки, не подвергая ее никакому предварительному воздействию. Из второй навески извлечь белки после тепловой обработки в течение 30 мин при температуре, указанной преподавателем. Из третьей навески извлечь белки после механического воздействия на нее.

**Выделение водо- и солерастворимых белков пшеничной муки.** Первую и вторую навески муки (5 г) залить 50 мл 0,5 н раствора хлорида натрия и поместить в термостатируемые качалки на 30 мин. Первую пробу термостатировать при 25°C, вторую – при температуре, указанной преподавателем. Каждую из полученных суспензий отфильтровать в мерную колбу объемом 100 мл через складчатый фильтр, промыть осадки на фильтре 20 мл дистиллированной воды. Объем экстрактов довести дистиллированной водой до метки.

Третью навеску муки (3 г) растереть в фарфоровой ступке в 15 мл 0,5н раствора хлорида калия со стеклянным песком в течение 10...15 мин. Дать суспензии отстояться и декантировать растворитель. Осадок залить новой порцией раствора хлорида калия (15 мл) и повторить экстракцию дважды. Экстракцию солевым раствором закончить промыванием навески муки на фильтре 20...30 мл воды. Полученные суспензии объединить и центрифугировать (при 4000 об/мин в течение 10 мин). Надосадочную жидкость количественно перенести в мерную колбу вместимостью 100 мл через воронку с ватным фильтром и довести объем дистиллированной водой до метки (100 мл).

**Извлечение водо- и солерастворимых белков мышечной ткани.** Первую и вторую навески гомогенизированной мышечной ткани (3 г) залить 50 мл 0,5 н раствора хлорида калия и поместить в термостатируемые качалки на 30 мин. Первую пробу термостатировать при 25°C, вторую – при температуре, указанной преподавателем. Каждую из полученных суспензий отфильтровать в мерную колбу объемом 100 мл через два слоя марли. Осадок отжать, промыть на фильтре 20 мл дистиллированной воды и вновь отжать. Объем экстрактов довести дистиллированной водой до метки.

Третью навеску гомогенизированной мышечной ткани (3 г) растереть в фарфоровой ступке в 15 мл 0,5 н раствора хлорида калия со стеклянным песком в течение 10...15 мин. Суспензию отфильтровать через два слоя марли. Осадок отжать, залить новой порцией раствора хлорида калия и повторить экстракцию дважды. Экстракцию солевым раство-

ром закончить промыванием мышечной ткани 20...30 мл воды. Полученные суспензии объединить и центрифугировать (при 4000 об./мин в течение 10 мин). Надосадочную жидкость количественно перенести в мерную колбу вместимостью 100 мл через воронку с ватным фильтром и довести объем дистиллированной водой до метки.

**Извлечение водо- и солерастворимых белков молока.** Для отделения сывороточных белков в колбу объемом 100 мл внести 10 мл молока и 10 мл воды. Содержимое колбы перемешать, добавить (по каплям) 2 мл 3 % раствора уксусной кислоты, образовавшийся сгусток казеина через 5...10 мин отфильтровать. Фильтрат, содержащий сывороточные белки, разделить на три порции. Вторую порцию термостатировать в течение 20 мин при температуре, указанной преподавателем. Третью порцию выдержать на качалке при интенсивном перемешивании и комнатной температуре в течение 30 мин.

**Определить содержание белка во всех исследуемых объектах различными методами, сравнить полученные данные.**

Результаты анализа свести в табл. 2.

Таблица 2

Содержание водо- и солерастворимых белков в исследуемых образцах

Способ обработки белоксодержащего материала					
Без механического воздействия		Механическое воздействие		Температурное воздействие	
D	a, мг/мл	D	a, мг/мл	D	a, мг/мл

*Примечание:* D – оптическая плотность раствора белка; a, мг/л – концентрация белка в растворе.

Используя данные табл. 2, рассчитать количество белка в каждом исследуемом образце по формуле:

$$C_{\text{белка}} = \frac{a \cdot 100 \cdot 100}{H \cdot 1000 \cdot V},$$

где a – содержание белка в мг/л по калибровочному графику; 100 – объем мерной колбы; 100 – перевод в %; H – навеска в г. (3г.); 1000 – перевод в граммы; V – объем, взятый на колориметрирование (1 мл).

***Произвести расчет степени денатурации белков***

Степень денатурации белков (CD, %) рассчитать по формуле:

$$CD = \frac{(C_{исх} \% - C_d \%) \cdot 100}{C_{исх} \%},$$

где  $C_d$  % – количество растворимых белков после денатурации, %;  
 $C_{исх}$  % – количество растворимых белков в исходной пробе до денатурации, %.

**Оформление результатов работы**

3. Записать в тетрадь ход работы.
4. Оформить результаты работы в виде таблицы (табл. 2).

## НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Нуклеиновые кислоты — это важнейший компонент всех живых организмов и всех живых клеток. С участием нуклеиновых кислот происходит образование белков, являющихся материальной основой жизненных процессов, каждый живой организм содержит свои специфические белки, которыми он отличается от других организмов. Информация, определяющая особенности структуры белков, «записана» в ДНК (*дезоксирибонуклеиновая кислота*) и передается в ряду поколений молекулами ДНК.

Нуклеиновые кислоты другого типа — *рибонуклеиновые кислоты* (РНК) — являются обязательными и первостепенными участниками самого механизма биосинтеза белков. В связи с этим организм содержит РНК особенно много в тех тканях, в которых интенсивно образуются белки. Активное участие РНК в биосинтезе белков определяет их важное значение в процессе морфогенеза, поскольку без интенсивного синтеза белков невозможно появление любого органа.

### Лабораторная работа № 3

#### Изучение химического состава рибонуклеопротеинов дрожжей

Цель работы: изучение состава нуклеиновых кислот.

Реактивы: прессованные дрожжи, 10%-й раствор  $H_2SO_4$ , 10%-й раствор NaOH, 1%-й раствор  $CuSO_4$ , молибденовый реактив, аммиачный раствор оксида серебра.

Посуда и приборы: пробирки, обратный воздушный холодильник, водяная баня, спиртовка.

#### Теоретическая часть

Нуклеиновые кислоты являются полимерами мононуклеотидов. Дезоксирибонуклеиновая кислота представляет собой полимер, состоящий из мономеров — дезоксирибонуклеозидмонофосфатов. Рибонуклеиновая кислота является полимером, состоящим из рибонуклеозидмонофосфатов. В живой клетке любого организма содержится три вида рибонуклеиновой кислоты:

- рибосомальная РНК (р-РНК, 80%);
- транспортная РНК (т-РНК, 15%);
- информационная или матричная РНК (и-РНК, 5%).

Нуклеиновые кислоты, подобно белкам, имеют первичную, вторичную и третичную структуры. Последовательность чередования нуклеотидов в олигонуклеотидной цепи ДНК составляет ее *первичную структуру*.

Выяснение *вторичной структуры* ДНК является одним из крупнейших открытий в биологии, поскольку при этом одновременно был раскрыт механизм передачи наследственной информации в ряду поколений. В 1953 г. Д. Уотсон Ф. Крик установили, что ДНК представляет собой двойную спираль, состоящую из двух антипараллельных полинуклеотидных цепей.

*Третичная структура* ДНК эукариотических клеток также выражена в многократной суперспирализации молекулы, однако в отличие от прокариот она осуществляется в форме комплексов ДНК с белками. ДНК эукариот почти вся находится в хромосомах ядер, лишь небольшое количество ее содержится в митохондриях, а у растений и в пластидах. Суммарный материал хромосом – хроматин – содержит ДНК, гистоны, негистоновые белки и небольшое количество РНК. Гистоны являются простыми белками и составляют до 50% хроматина.

В частицах вирусов, клетках бактерий, как и в ядрах высших организмов ДНК плотно «упакована», образует сложные структуры. Например, в хромосоме *E. coli* содержится ДНК длиной более 1 мм, хотя длина клетки не превышает 5 мкм. Одна из самых мелких молекул ДНК – вирусная, однако если ее вытянуть, то она будет во много раз длиннее, чем сам вирус.

Молекула РНК в отличие от ДНК состоит (за редким исключением) из одной полинуклеотидной цепи. Полинуклеотидная цепь РНК, закручиваясь на себя, образует в палиндромных участках короткие двухспиральные «шпильки», в которых азотистые основания образуют комплементарные пары: Г с Ц, А с У. Это довольно прочные структуры, которые видны под электронным микроскопом.

## **Практическая часть**

### **Ход анализа**

200 мг дрожжей помещают в широкую пробирку и добавляют 5 мл 10%-го раствора серной кислоты и 5 мл дистиллированной воды. Перемешивают и закрывают пробкой с обратным воздушным холодильником. Пробирку помещают на кипящую водяную баню и кипятят при

слабом нагревании 1 час. Затем пробирки охлаждают, фильтруют содержимое и с фильтратом (гидролизатом) проводят реакции на составные части нуклеотидов.

#### ***Биуретовая реакция на белок***

К 5-6 каплям гидролизата прибавляют 10 капель 10%-го раствора NaOH и 1 каплю 1%-го раствора сульфата меди. При наличии белка жидкость окрашивается в розово-фиолетовый цвет.

#### ***Серебряная проба на пуриновые основания***

К 0,5 мл гидролизата добавляют аммиак до щелочной реакции на лакмус и 0,5 мл аммиачного раствора оксида серебра. Через 5 мин при стоянии выпадает небольшой хлопьевидный осадок серебряных соединений пуриновых оснований.

#### ***Реакция на пентозы***

К 0,5 мл гидролизата добавляют 0,5 мл 10%-го раствора NaOH и по каплям раствор сульфата меди до образования гидрата окиси меди (избегать избытка). Нагревают до кипения. В случае присутствия моносахаридов (пентоз) образуется красный осадок закиси меди.

#### ***Молибденовая проба на фосфорную кислоту***

К 0,5 мл гидролизата прибавляют равный объем молибденового реактива и кипятят несколько минут. Жидкость окрашивается в лимонно-желтый цвет. При охлаждении образуется желтый осадок фосфорно-молибденово-кислого аммония.

### **Оформление результатов работы**

1. Записать в тетрадь ход работы
2. После описания каждого опыта объяснить полученные результаты.

# УГЛЕВОДЫ

## Лабораторная работа № 4

### Свойства углеводов

Цель работы: изучение свойств углеводов.

Реактивы: 0,5%-ный раствор глюкозы, 0,5%-й раствор сахарозы, 0,5%-й раствор фруктозы, 0,1%-й раствор крахмала, 2н. NaOH, 0,2 н. раствор  $\text{CuSO}_4$ , 0,2н. раствор  $\text{AgNO}_3$ , 2н.  $\text{NH}_4\text{OH}$ , свежеприготовленный реактив Селиванова (0,5%-й раствор резорцина в 20%-й соляной кислоте), 2н раствор  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

Посуда и приборы: пробирки, спиртовка.

### Теоретическая часть

Углеводы можно считать основой существования большинства организмов. В таких углеводах, как сахара и крахмал, заключено основное количество калорий, получаемых с пищей человеком, почти всеми животными и многими бактериями. Центральное место углеводы занимают и в метаболизме зеленых растений и других фотосинтезирующих организмов, утилизирующих солнечную энергию для синтеза углеводов из  $\text{CO}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . Образующиеся в результате фотосинтеза огромные количества крахмала и других углеводов играют роль главных источников энергии и углерода для неспособных к фотосинтезу клеток животных, растений и микроорганизмов.

Углеводам присущи также и другие важные биологические функции. Крахмал и гликоген используются как временные депо глюкозы. Нерастворимые полимеры углеводов выполняют функции структурных и опорных элементов в клеточных стенках бактерий и растений, а также в соединительной ткани и оболочках клеток животных. Углеводы других типов служат в качестве смазки в суставах, обеспечивают слипание клеток и придают биологическую специфичность поверхности животных клеток.

Углеводы включают соединения, начиная от низкомолекулярных, содержащих всего несколько атомов углерода, до веществ, молекулярная масса которых достигает нескольких миллионов. Их делят на три класса в зависимости от числа остатков сахаров: моносахариды, олигосахариды и полисахариды.

*Моносахариды*, или *простые сахара*, содержат только одну структурную единицу. Моносахариды – это полигидроксиальдегиды или полигидроксикетоны.

*Олигосахариды* состоят из нескольких (от 2 до 10) остатков моносахаридов, соединенных *O*-гликозидными связями.

*Полисахариды* являются высокомолекулярными веществами, состоят, из остатков моносахаридов, соединенных *O*-гликозидными связями, со степенью полимеризации выше 10.

## Практическая часть

### Ход анализа

**Опыт 1.** Доказательство восстанавливающей способности у глюкозы. Качественные реакции на глюкозу

**Реакция Троммера.** В большую пробирку поместите 0,5 мл 0,5%-го раствора глюкозы и 6-8 капель 2н NaOH. Затем по каплям добавляйте 0,2н раствор  $\text{CuSO}_4$ , пока не прекратится его растворение. Осторожно нагрейте пробирку на спиртовке. Голубой не растворимый в воде осадок гидрата окиси меди постепенно переходит в желтый, а затем в красный осадок закиси, меди.

**Реакция «серебряного зеркала».** В большую пробирку поместите 3 капли 0,2н раствора  $\text{AgNO}_3$ , 5 капель 2н NaOH и добавляйте по каплям 2н  $\text{NH}_4\text{OH}$  до полного растворения образующегося осадка. Полученный бесцветный раствор – аммиачный раствор гидрата окиси серебра.

Затем к аммиачному раствору гидрата окиси серебра добавьте 3-4 капли 0,5%-го раствора глюкозы и слегка подогрейте на спиртовке. Металлическое серебро выделится либо в виде осадка черного цвета, либо в виде блестящего зеркального налета, если стенки пробирки химически чисты (пробирки помыты с помощью «хромовой смеси», а не моющими синтетическими средствами – порошками).

**Опыт 2.** Доказательство отсутствия восстанавливающей способности сахарозы

В пробирку вносят 0,5 мл 0,5%-го раствора сахарозы и 6-8 капель 2н раствора едкого натра. Затем по каплям добавляют 0,2н раствора сульфата меди (II), пока не прекратится его растворение. Осторожно нагревают, пробирку на спиртовке. Голубой осадок не переходит в желтый,

а затем — в красный, что доказывает отсутствие восстанавливающей способности у сахарозы.

### **Опыт 3.** Открытие фруктозы (р. Селиванова)

В первую пробирку вносят 10 капель 0,5%-го раствора фруктозы, во вторую пробирку — 10 капель 0,5%-го раствора глюкозы. В обе пробирки добавляют в равных объемах свежеприготовленный реактив Селиванова. Осторожно нагрейте на спиртовке. В пробирке с фруктозой постепенно возникает красное окрашивание.

На первой стадии образуется оксиметилфурфурол, который во второй стадии, конденсируясь с резорцином, дает красное окрашивание. Во второй стадии реакции оксиметилфурфурол, конденсируясь с резорцином, дает красное окрашивание.

### **Опыт 4.** Открытие крахмала

В пробирку поместите 5 мл. крахмального клейстера и 1 каплю сильно разбавленного раствора йода. Отметьте изменение цвета раствора. Нагрейте раствор. И вновь отметьте изменение цвета раствора. Объясните происходящие явления.

### **Опыт 5.** Кислотный гидролиз крахмала

В большую пробирку с пипеткой помещают 1 мл. 0,1 %-го раствора крахмала и 20 капель 2 н раствора  $H_2SO_4$ . Нагреть на кипящей водяной бане в течение 10 мин., отбирая пипеткой каждые 2 мин в маленькие пробирки 3-4 капли гидролизата и добавляя в них по 1 капле йода после охлаждения.

Обратить внимание на изменение окраски гидролизата с иодом в ходе гидролиза. К последней пробе в большой пробирке добавить 2 капли 2н раствора  $CuSO_4$ , а затем добавлять по каплям 2н раствор гидроксида натрия до образования растворимого темно-синего соединения. О чем говорит эта реакция?

Далее полученный раствор нагреть (реакция Троммера). Появляется желто-красное окрашивание (положительная реакция Троммера). О чем говорит эта реакция? По результатам реакций сделать заключение о строении крахмала.

## **Оформление результатов работы**

1. Записать в тетрадь ход работы
2. После описания каждого опыта объяснить полученные результаты.

## **Лабораторная работа № 5**

### **Методы количественного определения углеводов**

Цель работы: изучение свойств углеводов.

Реактивы: дистиллированная вода, 15%-й р-р  $ZnSO_4$ , 4%-й р-р  $NaOH$ , 20%-й р-р  $HCl$ , 10%-й р-р  $NaOH$ , индикатор метиленовый красный, 6, 925%-й р-р  $CuSO_4$ , щелочной р-р сегнетовой соли (346 г калия или натрия аминокислого растворяют при легком нагревании в 400-500 мл  $H_2O$  и фильтруют; 100 г  $NaOH$  растворяют в 200-300 мл  $H_2O$ . Оба раствора смешивают в м.к. на 1000 мл и после охлаждения доводят объем раствора до метки),  $KJ$ , 25% р-р  $H_2SO_4$ ; 0,1н р-р  $Na_2S_2O_3$ ; 1% р-р растворимого крахмала.

Посуда и приборы: хлеб, нож, разделочная доска, мерные колбы, пипетки, бумажные фильтры.

#### **Теоретическая часть**

Углеводы являются основным макронутриентом пищевых продуктов, на их долю приходится 60...80% калорийности пищевого рациона. Помимо энергетической, углеводы выполняют в организме человека и пластическую функцию. Среднестатистический здоровый человек должен потреблять в сутки 300...500 г углеводов, а люди с повышенной физической и умственной нагрузкой – до 700 г. При недостатке углеводов в организме наблюдается слабость, головокружение, головная боль, чувство голода, сонливости и т. д. Избыток углеводов депонируется в виде жира.

По усвояемости организмом человека углеводы подразделяются на усвояемые и неусвояемые. К усвояемым углеводам относятся моносахариды (глюкоза, фруктоза, галактоза), некоторые дисахариды (сахароза, лактоза, мальтоза) и полисахариды (крахмал, декстрины). Дисахариды и усвояемые полисахариды в пищеварительном тракте гидролизуются пищеварительными ферментами до моноз, среди которых главную роль играет глюкоза.

Из усвояемых сахаров первостепенное значение принадлежит сахарозе, которая широко используется в производстве разнообразной пищевой продукции. Из полисахаридов основным пищевым компонентом является крахмал. Организм человека не усваивает целлюлозы, гемицеллюлозы, пектин.

Моносахариды и олигосахариды определяют такие свойства пищевых продуктов, как сладость, гидрофильность, связывание ароматических веществ; полисахариды — текстуру и качество продуктов питания.

**Техника определения сахаров.** Порядок проведения анализа на определение редуцирующих сахаров независимо от метода определения сахара состоит из следующих основных стадий: приготовление водной вытяжки, гидролиза сахарозы в полученной вытяжке и количественного определения сахара по его редуцирующей способности.

Редуцирующими сахарами называется сумма сахаров (инвертный сахар, глюкоза, фруктоза, мальтоза, лактоза) восстанавливающих щелочной раствор меди и других поливалентных металлов. Реакция восстановления щелочного раствора меди обуславливается наличием в этих сахарах свободного полуацетального гидроксила (альдегидных и кетонных групп). Сахароза не содержит свободных полуацетальных гидроксильных групп и не является редуцирующим сахаром.

Общим сахаром, или сахаром после инверсии, называется сумма всех сахаров, восстанавливающих щелочной раствор меди, включая сахара, которые образуются после гидролиза сахарозы в специальных условиях.

## Практическая часть

### Ход анализа

Для приготовления водной вытяжки навеску продукта, взвешенную на технических весах, переносят в мерную колбу вместимостью 200 или 250 мл. Навеску продукта берут с таким расчетом, чтобы концентрация сахара в растворе была около 0,5%. Значение навески можно определить по табл. 3.

Таблица 3

Предполагаемое содержание сахара в мякише хлебопродукта

Предполагаемая массовая доля сахара в пересчете на СВ, %	Масса мякиша (г)	Вместимость колбы, см <sup>3</sup>
	200	250
2-5	25	30
6-10	12,5	15
11-15	8	10
16-20	6	7

Таблица 4

## Содержание воды и сахара в различных сортах хлеба

Вид изделия	Количество H <sub>2</sub> O, %	Количество сахара, %
Белый пшеничный хлеб	27	0,5
Батон нарезной из пшеничной муки	29	4
Бородинский хлеб	43	10
Булочные изделия	29	12

Колбу с навеской заполняют на  $\frac{2}{3}$  объема водой и оставляют настаиваться 5 мин при частом взбалтывании для лучшего извлечения сахара. Для осаждения высокомолекулярных соединений (несахаров) в колбу приливают 10 см<sup>3</sup> 15% р-ра ZnSO<sub>4</sub> и 10 см<sup>3</sup> 4% NaOH (или 5,6% KOH), хорошо перемешивают, доводят водой до метки, перемешивают и дают отстояться 15 мин. Отстоявшуюся жидкость фильтруют через складчатый фильтр в сухую колбу.

В полученном фильтрате содержатся как редуцирующие сахара (глюкоза, мальтоза, фруктоза и др.), так и не обладающие восстанавливающей способностью сахароза, которая вносится в тесто и не успевает полностью гидролизироваться до редуцирующих сахаров. Поскольку методы определения массовой доли сахара основаны на их редуцирующей способности, то определить сахарозу можно только после ее гидролиза (инверсии).

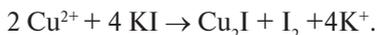
Для гидролиза сахарозы 50 см<sup>3</sup> полученного фильтрата отбирают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> и приливают к нему 5 см<sup>3</sup> соляной кислоты. Колбу погружают в нагретую до 70°С водяную баню и выдерживают при этой температуре 8 мин. Затем содержимое колбы быстро охлаждают до комнатной температуры и нейтрализуют при интенсивном перемешивании 10% раствором NaOH с индикатором метиленовым красным до появления желто-розового окрашивания, т.к. в щелочной среде моносахара (особенно фруктоза) могут разлагаться. После нейтрализации доводят объем до метки дистиллированной водой и перемешивают. Полученный раствор используют для определения в нем массовой доли сахара.

**Определение массовой доли сахара ускоренным йодометрическим методом.** Принцип метода заключается в следующем. При кипячении точного количества раствора сульфата меди с испытуемым раствором,

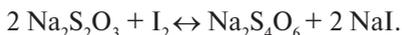
содержащем редуцирующие сахара, последние восстанавливают двухвалентную медь до оксида одновалентной меди по схеме:



На оставшуюся двухвалентную  $\text{Cu}^{2+}$  действуют  $\text{KI}$ , при этом ион иода окисляется, а двухвалентная медь восстанавливается:



Выделившийся молекулярный иод оттитровывают раствором тиосульфата натрия:



Для определения количества двухвалентной меди, восстановленной сахаром, проводят контрольный опыт, в котором вместо исследуемого раствора берут дистиллированную воду.

По разности объемов раствора тиосульфата натрия, пошедшего на титрование йода после взаимодействия  $\text{KI}$  со всей двухвалентной медью (контрольный опыт) и той, что осталась после взаимодействия с редуцирующими сахарами, судят о количестве восстановленной сахаром двухвалентной меди.

**Техника определения.** В коническую колбу вместимостью  $50 \text{ см}^3$  вносят пипеткой  $3 \text{ см}^3$  исследуемого раствора, добавляют пипеткой  $1 \text{ см}^3$  6,925 %-го раствора сульфата меди и  $1 \text{ см}^3$  щелочного раствора сегнетовой соли (калий-натрий виннокислый), в течение  $2^x$  мин доводят смесь до кипения, кипятят ровно 2 мин, быстро охлаждают до комнатной температуры, прибавляют  $1 \text{ см}^3$  30%  $\text{KI}$ ,  $1 \text{ см}^3$  25%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и сразу титруют из микробюретки 0,1н  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  до светло-желтого окрашивания. Затем добавляют 3-4 капли 1% раствора крахмала и продолжают титрование до исчезновения синей окраски.

Аналогично проводят контрольный опыт, в котором вместо  $3 \text{ см}^3$  исследуемого раствора берут то же количество дистиллированной воды. Разность между величинами, полученными в контрольном опыте и при определении сахара в исследуемом растворе, умноженная на поправку к титру тиосульфата натрия показывает количество восстановленной меди, выраженное в  $\text{см}^3$  0,1н раствора  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Для пересчета количества 0,1н раствора  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , соответствующего количеству восстановленной меди, на сахар пользуются следующими коэффициентами, установленными экспериментальным путем:

Глюкоза	3,3
Фруктоза	3,7
Сахароза	3,4
Мальтоза	5,4

Массовую долю сахара (X) в анализируемом материале в пересчете на сухое вещество вычисляют в процентах по формуле:

$$X = \frac{(V_K - V_P)k \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100}{m(100 - W)V_1V_2},$$

где  $(V_K - V_P)$  – разность в количестве точно 0,1н раствора  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  в контрольном и рабочем опытах; k – коэффициент пересчета на данный вид сахара; m – масса навески; W – массовая доля влаги в исследуемом материале; 250, 100 – объем мерных колб;  $V_1$  и  $V_2$  – аликвоты исследуемого раствора, взятые на определение сахара (50 и 3 мл).

## Лабораторная работа № 6

### Амилолитический ферментный комплекс солода

**Цель работы:** провести сравнительный анализ амилолитической и осаживающей активностей солода; найти оптимальную концентрацию раствора солода.

**Реактивы:** основной раствор солода; основной раствор йода; рабочий раствор йода (приготовленный на 0,1н соляной кислоте); реактивы Фелинг I и Фелинг II; индикаторная бумага; 0,15м раствор гидроортофосфата натрия ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ); фосфатный буфер pH 6,0 и 5,6; 0,1% раствор растворимого крахмала; 0,1н раствор соляной кислоты.

**Посуда и приборы:** конические колбы объемом 100 мл; пробирки-пипетки; мерные цилиндры; водяная баня, ледяная баня, термостат; фотоэлектрокolorиметр; термометры.

### Теоретическая часть

Тривиальное название ферментов, расщепляющих крахмал, — амилазы. При участии амилаз осуществляется гидролиз крахмала гликогена, олигосахаридов и других веществ, построенных из остатков  $\alpha$ -D-глюкопиранозы и содержащих в молекуле 1,4- и 1,6-гликозидные связи. Различают три основных типа амилаз:  $\alpha$ -амилазу,  $\beta$ -амилазу и глюкоамилазу.

В состав амилолитического комплекса растений входят  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилазы. Семена растений различаются по содержанию амилаз. В непророс-

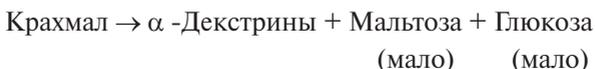
ших зернах пшеницы и ячменя присутствует только  $\beta$ -амилаза,  $\alpha$ -амилаза образуется при прорастании. В зерне ржи присутствуют оба фермента, при прорастании количество и активность  $\alpha$ -амилазы возрастает.

В пищевой промышленности растительные амилазы используются в виде солода. Солодом называется проросшее и высушенное зерно. В качестве источника амилаз солод используют в производстве хлебобулочных изделий, полисолодовых экстрактов, пива, хлебного кваса и других безалкогольных напитков.

Помимо  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилазы в солоде присутствуют  $\alpha$ -глюкозидаза (мальтаза), фосфоорилаза и инвертаза (сахараза) и др.

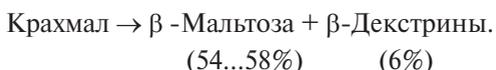
$\alpha$ -Амилаза является эндоферментом и атакует внутренние гликозидные связи в молекуле крахмала. Для ее действия не имеет значения близость или удаленность нередуцирующих концевых остатков.  $\alpha$ -Амилаза ускоряет гидролиз  $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидных связей в молекуле крахмала без какого-либо определенного порядка, но преимущественно в середине цепи. Она не затрагивает  $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидные связи, гидролиз прекращается на предпоследней  $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидной связи (рис. 1).

При гидролизе клейстеризованного крахмала  $\alpha$ -амилазой вначале образуются менее вязкие, чем крахмал, низкомолекулярные декстрины, не окрашиваемые йодом, затем олигосахариды и даже глюкоза, мальтоза и декстрины:



$\alpha$ -Амилаза более устойчива к действию высоких температур, чем  $\beta$ -амилаза, например, зерновая  $\alpha$ -амилаза может действовать в процессе выпечки хлеба.

$\beta$ -амилаза – экзофермент, ускоряет реакцию гидролиза крахмала по  $\alpha(1\rightarrow4)$ -гликозидным связям, последовательно отщепляя остатки начиная с нередуцирующего конца молекулы крахмала (рис. 1). Ее действие прекращается в точках ветвления. В качестве главных продуктов ферментативного гидролиза крахмала под действием  $\beta$ -амилазы выступают  $\beta$ -мальтоза и  $\beta$ -предельные декстрины, содержащие  $\alpha(1\rightarrow6)$ -гликозидные связи:



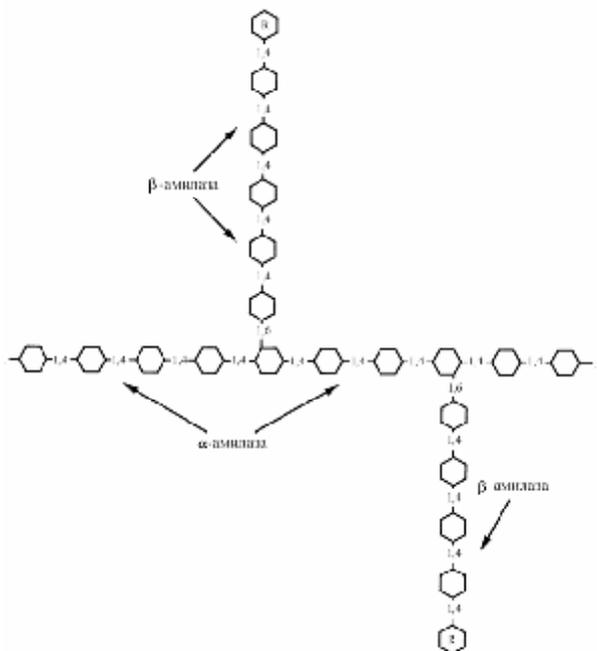


Рис. 1. Действие  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилазы на амилопектин  
(R-редуцирующий конец)

Фермент более активен в отношении высокомолекулярных субстратов, чем в отношении олиго- и дисахаридов.  $\beta$ -Амилаза менее термостабильна, чем  $\alpha$ -амилаза, но более кислотоустойчива. Долгое время солод был единственным источником  $\beta$ -амилазы.

В результате совместного действия  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилазы крахмал гидролизуются с образованием смеси углеводов, состоящей из мальтозы, небольшого количества глюкозы и декстринов, в которых сосредоточены  $\alpha$ (1 $\rightarrow$ 6)-гликозидные связи.

В связи с тем, что в промышленности обычно используют не индивидуальные амилазы, а ферментные препараты, содержащие целый набор ферментов, то для оценки их каталитической способности определяют амилолитическую и осахаривающую активность последних.

Под амилолитической активностью понимают способность ферментного препарата гидролизовать крахмал до декстринов. Анализ ведут по качественной реакции с йодом. Амилолитическая активность солода обусловлена, главным образом, присутствием  $\alpha$ -амилазы.

Под осахаривающей активностью амилолитических ферментных препаратов подразумевается их способность ускорять гидролиз крахмала до редуцирующих сахаров. Оценку осахаривающей активности ведут по качественной реакции на редуцирующие сахара (с реактивом Фелинга). Осахаривающая активность солода обусловлена присутствием  $\beta$ -амилазы.

$\alpha$ -Амилазы являются пищеварительными ферментами, реализующими свои функции в пищеварительном тракте человека и животных. В плодах и семенах многих пищевых растений содержатся вещества, обладающие биологической активностью и подавляющие действие ферментов. Таким воздействием обладает альбуминовая фракция белков и представляющая собой в основном ферменты или ингибиторы ферментов, препятствующие гидролизу запасных веществ до момента прорастания семян. Данные белки отличаются высокой термостабильностью, выдерживают нагрев до 110°C. Они блокируют действие пищеварительных ферментов человека (трипсина, пепсина, химотрипсина,  $\alpha$ -амилазы), снижая усвоение макронутриентов пищи.

В клубнях картофеля содержится целый набор ингибиторов пищеварительных ферментов. В картофеле присутствуют мощные белковые ингибиторы, способные одновременно связывать амилазы и протеазы. Подобные белки присутствуют в рисе, ячмене, пшенице, ржи.

В основе определения активности ингибиторов  $\alpha$ -амилазы солода лежит количественная оценка убыли крахмала (по йодной пробе) в процессе гидролиза и накопления не окрашиваемых йодом декстринов.

## Практическая часть

### Ход анализа

#### *Выделение ферментов солода.*

$\alpha$ -Амилазу выделяют из основного ферментного комплекса солода путем инактивации  $\beta$ -амилазы. В колбу объемом 100мл поместить 20 мл основного раствора солода и прогреть при 70°C в течение 15 мин.  $\beta$ -Амилаза при указанной температуре инактивируется. Прогретый раствор охладить и использовать в дальнейшем для исследования активности  $\alpha$ -амилазы. Так как оптимум активности  $\alpha$ -амилазы лежит при pH 5,5...5,8, то после охлаждения к раствору добавить 4 мл фосфатного буфера pH 5,6.

β-Амилазу выделяют из солодовой вытяжки путем инактивирования α-амилазы в кислой среде. В колбу объемом 100 мл налить 20 мл основного раствора солода, выдержать в ледяной бане в течение 10 мин и прибавить 1 мл 0,1н раствора соляной кислоты. Полученный раствор оставить в ледяной бане на 15 мин и добавить 3 мл фосфатного буфера с рН 6,0 (оптимальный рН для β-амилазы).

***Определение амилолитической активности солода.***

В штативе расположить пронумерованные пробирки в три ряда. Во все пробирки первого ряда из пипетки налить по 1 мл дистиллированной воды. В первую пробирку внести 1 мл раствора α-амилазы. Содержимое первой пробирки перемешать, продувая воздух из груши через пипетку. Отобрать из первой пробирки пипеткой 1 мл и перенести во вторую пробирку. Из второй пробирки после перемешивания отобрать 1 мл и перенести в третью пробирку. Аналогично методом последовательных разбавлений приготовить растворы в четвертой и пятой пробирках.

В пробирки второго ряда добавить аналогичным образом раствор β-амилазы путем последовательного разбавления.

В пробирки третьего ряда внести аналогичным образом основной раствор ферментного препарата солода. Во всех пробирках должно остаться по 1 мл соответствующим образом разведенных растворов ферментного препарата.

Все пробирки термостатировать при температуре 40°С. Не вынимая пробирки из бани, добавить в каждую по 2 мл 0,1% раствора крахмала, спустя 10 мин внести по 2 мл рабочего раствора йода (приготовленного на 0,1н растворе соляной кислоты). Оптическую плотность окрашенных растворов измерить на фотоэлектроколориметре в кюветах с толщиной 10мм при светофильтре с длиной световой волны 670 нм.

Остаточную концентрацию крахмала ( $C_{\text{ост}}$ , мг/мл) в растворе найти по калибровочной кривой.

Количество гидролизованного (X, мг) крахмала рассчитать по формуле

$$X = (C_{\text{исх}} - C_{\text{ост}}) \cdot V,$$

где  $C_{\text{исх}}$  — концентрация крахмала в рабочем растворе, мг/мл;  $C_{\text{ост}}$  — остаточная концентрация крахмала в рабочем растворе, найденная по калибровочному графику, мг/мл; V — объем рабочего раствора крахмала, мл.

Схема эксперимента и полученные результаты

Вариант	Кратность разбавления раствора солода	Оптическая плотность, нм			Количество гидролизованного крахмала X, мг		
		I	II	III	I	II	III
1	2						
2	4						
3	8						
4	16						
5	32						

*Примечание.* I – раствор  $\alpha$ -амилазы; II – раствор  $\beta$ -амилазы; III – основной раствор ферментного препарата.

Заполнить табл. 5. Оценить глубину гидролиза и найти оптимальную концентрацию рабочего раствора солода.

#### ***Определение осаживающей активности солода.***

В три плоскодонные колбы объемом 100 мл внести пипеткой по 10 мл 0,1% раствора растворимого крахмала, прогреть на водяной бане при темпера 40°C в течение 15 мин. Затем, не вынимая колб из бани, в первую прилить 2 мл раствора  $\alpha$ -амилазы, во вторую – 2 мл раствора  $\beta$ -амилазы, в третью – 2 мл основного раствора солода. Содержимое пробирок перемешать и выдержать при той же температуре 20 мин. По истечении этого времени ферментативный гидролиз остановить, нагрев все три колбы на кипящей водяной бане.

Из всех трех колб отобрать по 1 мл полученных гидролизатов и перенести в отдельные пробирки, в которые заранее внести по 1 мл смеси реактивов Фелинг I и Фелинг II. Полученные растворы прогреть на кипящей бане в течение 5 мин. По интенсивности выпавшего осадка закиси меди оценить глубину гидролиза и количество образовавшихся восстанавливающих сахаров.

На основании полученных данных сделать выводы о различиях в действии  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилаз.

#### ***Ингибиторы амилаз солода***

Из основного раствора солода приготовить раствор с оптимальной концентрацией. В колбы объемом 100 мл внести рабочий раствор солода и воду согласно табл. 6.

Содержимое колб перемешать и термостатировать при температуре 30°C течение 20 мин. Приготовить катрофельный сок. Не вынимая колб из термостата, внести раствор ингибитора амилазы (картофельный сок)

и спустя 10 мин 0,1% раствор крахмала. Полученные растворы перемешать и сразу же отобрать по 2 мл полученной смеси в пробирки с заранее приготовленным рабочим раствором йода (2мл). Вторично отбирать пробы аналогичным образом в течение 15 мин (через каждые 5 мин).

Таблица 6

Схема и результаты эксперимента

Состав раствора, мл				Время гидролиза мин	Оптическая плотность нм	Количество гидролизованного крахмала, мг
Р-р солада	Ингибитор	Вода	Крахмал			
1,0	0,0	4,0	5,0	0		
				5		
				10		
1,0	1,0	3,0	5,0	0		
				5		
				10		
1,0	0,5	3,5	5,0	0		
				5		
				10		
1,0	0,2	3,8	5,0	0		
				5		
				10		

Измерить оптическую плотность полученных окрашенных растворов на фотоэлектроколориметре, найти по калибровочной кривой остаточную концентрацию крахмала ( $C_{ост}$ , мг/мл) и рассчитать количество гидролизованного крахмала ( $X$ , мг):

$$X = (C_{исх} - C_{ост}) \cdot V,$$

где  $V$  – объем исследуемой пробы, мл;  $C_{исх}$  – исходная концентрация крахмала в исследуемой пробе, мг/мл.

Рассчитать ингибирующую активность ( $A$ , %) по формуле:

$$A = \frac{100 \cdot (X_1 - X_2)}{X_1},$$

где  $X_1$  – количество гидролизованного крахмала в отсутствие ингибитора, мг;  $X_2$  – количество гидролизованного крахмала в пробе, мг; 100 – коэффициент пересчета в проценты.

### Оформление результатов работы

1. Записать в тетрадь ход работы.
2. Оформить результаты работы в виде таблицы (табл. 6).

## ЛИПИДЫ

Липиды широко распространены в природе и являются обязательной составной частью рационального питания. К липидам относятся разные по химическому составу и строению соединения, извлекаемые из природных объектов органическими растворителями и нерастворимые в воде.

Извлекаемые из жиросодержащего сырья свободные липиды называются сырым жиром, он на 90..95% состоит из ацилглицеринов (триацилглицеринов, диацилглицеринов, моноацилглицеринов), содержит другие липиды (воски, фосфолипиды, стерины), а также большую группу сопутствующих веществ (пигменты, жирорастворимые витамины) и некоторые другие соединения. Ацилглицерины, являясь основными компонентами сырого жира, лимитируют продолжительность хранения и технологические режимы переработки пищевого сырья и получения жира.

Липиды, выделенные из растительного и животного сырья, служат для получения многих пищевых (растительных масел, животных жиров, маргарина, различных кондитерских и хлебобулочных изделий) и технических продуктов (глицерина, карбоновых кислот, натуральной олифы и т. д.). Вкусовые свойства и сохранность многих продуктов зависят от их липидного состава.

Липиды являются источником эссенциальных полиненасыщенных кислот, которыми богаты масла растительного происхождения. Для физиологически нормального функционирования организма человека доля растительных жиров в рационе должна составлять не менее 30% от общего потребления жиров. Соотношение белков, жиров и углеводов в пищевом рационе должно быть 1:1,2:4.

### Лабораторная работа № 7

#### Исследование физико-химических характеристик пищевых жиров

Цель работы: освоить методы контроля качества жиров на основе физико-химических показателей.

Реактивы: 0,1 н; 0,5 н спиртовые растворы гидроксида калия; спиртово-эфирная смесь (2:1); 1%-й спиртовой раствор фенолфталеина; 1%-й раствор крахмала (индикатор); 0,1н раствор йода; 0,1н; 0,01н растворы тиосульфата натрия; хлороформ; 95%-й этиловый

спирт; ледяная уксусная кислота (95%); насыщенный раствор йодида калия; 0,5н раствор соляной кислоты; 96% этиловый спирт; животные и растительные жиры.

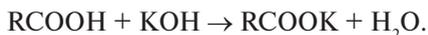
*Посуда и приборы:* колбы для титрования объемом 100 мл со шлифом; мерные цилиндры; пипетки; капельницы; воздушные холодильники; бюретки для титрования; водяные бани.

### Теоретическая часть

Процессы, происходящие в липидах при их хранении и переработке, характеризуются так называемыми константами, или химическими и физическими числами жира. Определение этих констант позволяет контролировать не только качество жиров и масел, но и в какой-то степени его натуральность, регулировать технологические режимы получения продуктов.

Как факторы регулирования производственных процессов широко используются следующие числа жира: кислотное число, число омыления, эфирное число, йодное и перекисное числа.

**Кислотное число** характеризует присутствие свободных жирных кислот в жире и выражается количеством миллиграмм гидроксида калия, необходимым для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 грамме жира:



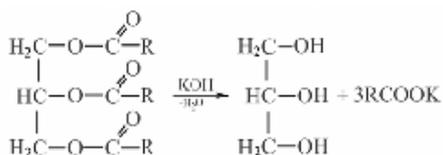
Кислотное число является важнейшим показателем качества пищевых жиров, показывает глубину гидролитического распада и нормируется ГОСТом и техническими условиями. Например, если масло получено из зрелых семян, то свободных жирных кислот в нем мало, а в масле из незрелых семян содержание свободных жирных кислот значительно.

При соблюдении условий и сроков хранения жиров кислотное число удваивается, что обусловлено в основном гидролизом триацилглицеринов. Свободные жирные кислоты окисляются быстрее, чем связанные. Таким образом, кислотное число может повышаться в результате окислительного и биохимического прогоркания ненасыщенных жирных кислот. Однако повышенное кислотное число не всегда может служить признаком порчи жира. Часто жиры с высоким кислотным числом не бывают прогорклыми, в то же время кислотное число

прогорклых жиров может быть небольшим. Кислотное число нерафинированных масел выше, чем рафинированных.

Кислотное число подсолнечного масла (мг КОН/г):	
рафинированного.	0,40
рафинированного гидратированного	1,25
гидратированного 1-го сорта	2,25
гидратированного 2-го сорта	6,00
нерафинированного высшего	1,50
нерафинированного 1-го сорта	2,25
нерафинированного 2-го сорта	6,00
Кислотное число соевого рафинированного масла	0,30...1,50

**Число омыления** характеризует общее число свободных и связанных кислот в жире и выражается количеством миллиграмм гидроксида калия, необходимым для омыления глицеридов и дальнейшей нейтрализации свободных и связанных жирных кислот, содержащихся в 1 грамме жира:



Число омыления зависит от молекулярной массы жирных кислот, входящих в глицериды, содержания неомыляемых веществ, свободных жирных кислот, моно- и диацилглицеринов. Число омыления понижается при повышении содержания неомыляемых веществ моно- и диацилглицеринов и повышается при увеличении свободных и низкомолекулярных кислот. Следовательно, число омыления служит показателем окислительной порчи жира.

Число омыления совместно с кислотным числом является показателем степени окислительной порчи жира, сопровождающейся накоплением низкомолекулярных кислот.

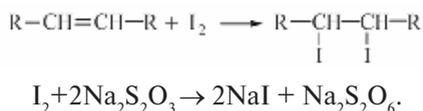
**Эфирное число** характеризует общее количество сложноэфирных связей в жире и определяется как разность между числом омыления и кислотным числом. Эфирное число выражается количеством миллиграмм гидроксида калия, необходимым для нейтрализации связанных жирных кислот в 1 грамме жира.

Для жиров, не содержащих свободных жирных кислот, значения числа омыления и эфирного числа совпадают. При хранении жиров, сопровождающемся процессами гидролиза и окисления, эфирное число снижается.

**Йодное число**, или так называемый коэффициент неопределенности, характеризует степень ненасыщенности жира и выражается количеством йода в граммах, которое требуется для полного насыщения жирных кислот, содержащихся в 100 граммах жира. По величине этого показателя судят о преобладании в жирах насыщенных или ненасыщенных жирных кислот. Чем выше в жире содержание ненасыщенных жирных кислот, тем выше йодное число. Тугоплавкие жиры имеют низкое йодное число, легкоплавкие — высокое.

Йодное число является показателем консистенции сливочного масла и должно учитываться при выборе температурных режимов обработки сливок в процессе их созревания и перемешивания. Этот показатель молочного жира зависит от кормовых рационов, стадии лактации, времени года, породы животного и т. д. Оно повышается летом и понижается зимой и лежит в пределах 28...45 г/100 г. Определять иодное число сливочного масла необходимо при подозрении на наличие в нем примесей растительных масел.

Метод основан на способности йода присоединяться по кратным связям. Непрореагировавший йод оттитровывают тиосульфатом натрия:



**Перекисное число** служит количественным показателем присутствия первичных продуктов окисления жиров — пероксидов, т.е. окислительных изменений, происходящих в жирах, и выражается количеством йода (в граммах), выделенного перекисями из 100 г. жира.

По величине перекисного числа можно судить только о начальной стадии окисления липидов, на которой образуются пероксиды и гидропероксиды, получившие название первичных продуктов окисления. Они не оказывают существенного влияния на органолептические свойства жира. Содержание пероксидов обычно невысоко, так как они быстро превращаются во вторичные продукты окисления, не содержащие перексидного кислорода. Образующиеся на этой стадии вторичные продукты — многочисленные насыщенные и ненасыщенные альдегиды и кетоны, многие из которых токсичны и придают жирам соответствующие специфические посторонние привкусы. Так, рыбный

привкус вызывают насыщенные и ненасыщенные альдегиды ( $C_3...C_{11}$ ), прогорклый вкус – гептаналь.

По величине перекисного числа можно судить о свежести жира задолго до появления неприятного вкуса и запаха. Концентрацию соединений в жирах следует контролировать, так как они токсичны, способны разрушать жирорастворимые витамины и полиненасыщенные жирные кислоты. Первичные продукты неглубокого окисления липидов образуют плохо усваиваемые организмом комплексные соединения с аминокислотами, снижая тем самым пищевую ценность молочного жира.

В табл. 7 приведены данные зависимости степени окисленности жира от величины перекисного числа:

Таблица 7

Зависимость степени окисленности жира от перекисного числа

Перекисное число в 100 г. жира	Степень порчи жира
До 0,03	Свежий
0,03...0,06	Свежий, но не подлежит хранению
0,06...0,10	Сомнительной свежести
Более 0,10	Испорченный

Метод определения перекисного числа основан на способности пероксидов в кислой среде окислять йодид калия:

Выделившийся иод оттитровывают тиосульфатом натрия.

### Практическая часть

#### Ход анализа

**Определение кислотного числа жира.** В четыре колбы объемом 100 мл поместить по 1г жира:

в первую колбу свежего животного масла,

во вторую – прогорклого животного масла,

в третью – растительного масла,

в четвертую – растительного масла после жарки.

В каждую из этих колб добавить по 10 мл спиртово-эфирной смеси (2:1) и осторожно растворить жир при небольшом нагреве. После растворения масла колбы с анализируемой пробой охладить до комнатной температуры и внести в каждую по 1...2 капли спиртового раствора фенолфталеина. Анализируемые растворы осторожно титровать (по одной

капле) 0,1 н спиртовым раствором гидроксида калия до слабо-розового окрашивания. Кислотное число (К.ч, мг/г) определить по формуле:

$$K_{\text{ч}} = \frac{(V_{\text{кон}} \cdot 5,61k)}{m}?$$

где  $V_{\text{кон}}$  – объем 0,1н раствора гидроксида калия, пошедшего на титрование навески жира, мл; 5,61 – титр 0,1н раствора гидроксида калия, мг/мл; k – поправочный коэффициент к титру 0,1н раствора гидроксида калия; m – навеска жира, г.

По кислотному числу рассчитать примерное содержание свободных жирных кислот ( $T_{\text{жк}}$ , %) в жире. Расчет обычно ведут по олеиновой кислоте, как наиболее распространенной свободной жирной кислоте в подсолнечном, соевом маслах и кондитерском жире, по формуле:

$$T_{\text{жк}} = \text{К.ч.} \cdot \frac{282,47 \cdot 100}{56,11 \cdot 1000} = 0,5034 \cdot \text{К.ч.}$$

где 56,11 – молекулярная масса гидроксида калия; 1000 – коэффициент пересчета в граммы; 100 – коэффициент пересчета в проценты; 0,5034 – коэффициент пересчета на олеиновую кислоту; 282,47 – молекулярная масса олеиновой кислоты.

**Определение числа омыления жира.** В три колбы объемом 100 мл отвесить на аналитических весах по 0,5 г жира.

В первую колбу внести свежее сливочное масло, во вторую – прогорклое, в третью – растительное, в четвертую – прокаленное растительное масло.

Во все колбы добавить для проведения гидролиза по 10 мл 0,5н спиртового раствора гидроксида калия (пипеткой), соединить их с воздушными холодильниками и поставить в кипящую водяную баню. По истечении одного часа колбы с анализируемыми пробами вынуть из бани, слегка охладить и отсоединить от холодильников. В каждую колбу с теплым раствором добавить по 1...2 капли раствора фенолфталеина. При этом цвет анализируемого раствора изменится в розовый из-за присутствия гидроксида калия. Избыток гидроксида калия оттитровать 0,5н раствором соляной кислоты до исчезновения окраски (опыт).

*Контрольный опыт* проделать с тем же количеством реагентов. Отобрать пипеткой в коническую колбу 10 мл 0,5н спиртового раствора гидроксида калия и оттитровать его 0,5н раствором соляной кислоты в присутствии фенолфталеина. По разности объемов, полученных от

титрования опыта и контроля, рассчитать число омыления (Ч.о, мг/г) по формуле:

$$\text{Ч.о} = \frac{(V_k - V_0) \cdot k_1 \cdot k_2 \cdot 28,055}{m}$$

где  $V_0$  – количество 0,5 н раствора соляной кислоты, пошедшего на титрование опытного образца, мл;  $V_k$  – количество 0,5н раствора соляной кислоты, пошедшего на титрование контрольного образца, мл;  $m$  – навеска масла, г;  $k_1, k_2$  – поправочные коэффициенты к титру растворов гидроксида калия и соляной кислоты соответственно; 28,055 – титр 0,5н раствора гидроксида калия, мг/мл.

Сравнить полученные в ходе эксперимента результаты со стандартными данными:

число омыления подсолнечного масла – 189,9...190,6;

пальмового масла – 196,0...210,0;

соевого масла – 191,6...192,1;

сливочного масла – 220...230.

Число омыления косвенно характеризует среднюю молекулярную массу смеси жирных кислот: чем больше в жире содержится низкомолекулярных кислот, тем выше число омыления. На основании числа омыления (при незначительном кислотном числе) расчетным путем определить среднюю молекулярную массу триацилглицеринов ( $M_{\text{ТАГ}}$ ) и среднюю молекулярную массу смеси жирных кислот ( $M_{\text{ЖК}}$ ), входящих в состав исследуемого жира, по формулам:

$$M_{\text{ТАГ}} = \frac{3 \cdot 56,11 \cdot 1000}{\text{Ч.о}}$$

$$M_{\text{ЖК}} = \frac{M_{\text{ТАГ}} - 38,01}{3}$$

**Определение эфирного числа жира.** Определение эфирного числа (Э.ч, мг/г) произвести по формуле:

$$\text{Э.ч} = \text{Ч.о} - \text{К.ч.}$$

На основании эфирного числа рассчитать процентное содержание триацилглицеринов ( $T_{\text{ТАГ}}$  %) и связанного глицерина ( $\Gamma$ , %) в жире по формулам:

$$T_{\text{ТАГ}} = \frac{(M_{\text{ТАГ}} \cdot \text{Э.ч}) \cdot 100}{3 \cdot 56,1 \cdot 1000}$$

$$\Gamma = \frac{92,10 \cdot \text{Э.ч} \cdot 100}{3 \cdot 56,11 \cdot 1000} = 0,0547 \cdot \text{Э.ч.}$$

где 92,11 – молекулярная масса глицерина; 56,11 – молекулярная масса гидроксида калия; 3 – основность глицерина.

**Определение йодного числа жира.** В четыре плоскодонные колбы взвесить на аналитических весах по 0,1 г жира. В первую колбу внести сливочное масло, во вторую – прогорклое, в третью – растительное, в четвертую – прокаленное растительное масло. Во все колбы внести по 10 мл смеси этилового спирта и хлороформа (10:1) для растворения навески и слегка подогреть на водяной бане. Для охлаждения внести пипеткой по 20 мл 0,1н раствора йода и оставить полученные растворы в темном месте на 5...10 мин. Растворы оттитровать 0,1н раствором тиосульфата натрия до перехода коричневой окраски в желтую. Затем добавить индикатор – 1%-й раствор крахмала – и продолжить титрование до исчезновения фиолетовой окраски (опыт).

**Контрольный опыт** проделать с теми же реагентами, вместо масла в колбу вместимостью 100 мл внести воду, 20 мл 0,1н раствор йода, 10 мл смеси этилового спирта и хлороформа и титровать 0,1н раствором тиосульфата натрия в присутствии в качестве индикатора крахмала. Йодное число (Й. ч., г/100 г) вычислить по формуле:

$$\text{Й.ч} = \frac{(V_k - V_0)k \cdot 0,01269 \cdot 100}{m}$$

где  $V_k$  – количество 0,1н раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование контрольного образца, мл;  $V_0$  – количество 0,1н раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование опытного образца, мл; 0,01269 – титр 0,1н раствора тиосульфата натрия, г/мл;  $m$  – навеска жира, г;  $k$  – поправочный коэффициент к титру 0,1н раствора тиосульфата натрия.

**Определение перекисного числа жира.** На аналитических весах в четыре колбы взвесить по 1 г жира. В первую колбу внести свежее сливочное масло, во вторую – прогорклое, в третью – растительное, в четвертую – прокаленное растительное масло. Жир расплавить на водяной бане и по стенке, смывая следы жира, влить 10 мл спирта и 10 мл ледяной уксусной кислоты. Затем внести 0,5 мл свежеприготовленного насыщенного раствора йодида калия. Смесь тщательно перемешать и оставить на 3 мин в темном месте.

Через 3 мин в колбу влить 5 мл воды, в которую заранее было добавлено 2...3 капли 1%-го раствора крахмала, и титровать выделившийся йод 0,01н раствором тиосульфата натрия до исчезновения синей окраски (опыт).

Для проверки чистоты реактивов провести параллельно контрольный опыт аналогичным способом, только без жира (вместо жира вносят 1 мл воды). К 10 мл спирта и 10 мл ледяной уксусной кислоты добавить 0,5 мл раствора йодида калия, 1 мл воды и оттитровать полученную смесь в присутствии крахмала 0,01н раствором тиосульфата натрия. Перекисное число (П.ч, г/100 г) испытуемого жира определить по формуле:

$$\text{П.ч} = \frac{(V_k - V_0)k \cdot 0,01269 \cdot 100}{m}$$

где  $V_0$  – объем 0,01н раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование опытного образца, мл;  $V_k$  – объем 0,01н раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование контрольного образца, мл; 0,00127 – титр 0,01н раствора тиосульфата натрия, г/мл;  $k$  – поправочный коэффициент к титру 0,01н раствора тиосульфата натрия;  $m$  – навеска жира, г.

Определить степень порчи жира, сравнив результаты анализа с данными табл. 7.

### Оформление результатов работы

1. Записать в тетрадь ход работы
2. По результатам анализа сделать заключение о качестве исследуемых жиров, оценить степень их окислительной порчи.
3. Оформить результаты работы в виде табл. 8.

Таблица 8

Экспериментальные данные о качестве жиров

Показатели жира	Номер образца			
	1	2	3	4
Кислотное число, К. ч, мг/г				
Содержание свободных жирных кислот, $T_{\text{ЖК}}$ , %				
Число омыления, Ч. о, мг/г				
Содержание триацилглицеринов, $T_{\text{ТАГ}}$ , %				
Средняя молекулярная масса триацилглицеринов, $M_{\text{ТАГ}}$				
Средняя молекулярная масса жирных кислот, $M_{\text{ЖК}}$				
Эфирное число, Э.ч, мг/г				
Процентное содержание жирных кислот, $T_{\text{ЖК}}$ , %				
Перекисное число, П.ч, г/100 г				
Йодное число, Й.ч, г/100 г				

## ВИТАМИНЫ

Витамины – группа низкомолекулярных органических соединений различной химической природы, объединенных по признаку абсолютной необходимости для осуществления жизненно важных биохимических процессов человека, животных, некоторых растений и микроорганизмов. Всего известно более 30 групп веществ, которые могут быть отнесены к витаминам. Обычно витамины делят на жирорастворимые (А, D, Е, К, Q, F) и водорастворимые (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>, РР, С и т.д.).

Природные соединения, не являющиеся витаминами, но легко превращающиеся в них в организме, называются провитаминами. Такими примерами являются каротины и витамин А, стерины и витамин D.

Витамины являются незаменимым фактором питания, на их долю приходится 0,1...0,2 г суточного рациона. Длительный недостаток тех или иных витаминов ведет к различным заболеваниям (гиповитаминозы, авитаминозы). Вплоть до конца XX века полагали, что такие болезни, как цинга, бери-бери, пеллагра и рахит, которые современная медицина классифицирует как последствия дефицита витаминов, вызываются неизвестными инфекциями или ядами. Избыточное систематическое потребление некоторых жирорастворимых витаминов (А, D и др.) также нежелательно и может вызвать гипервитаминоз.

### Лабораторная работа № 8 Жирорастворимые витамины. Определение массовой доли β-каротина

Цель работы: оценить устойчивость β-каротина в процессе тепловой обработки растительного сырья.

Реактивы: гексан (марки х. ч.); стандартный раствор дихромата калия; каротинсодержащее сырье.

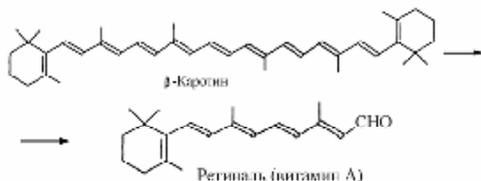
Посуда и приборы: весы аналитические; фарфоровые ступки и пестики; воронки Бюхнера; спектрофотометр СФ-26 (куветы с рабочей длиной 10 мм); мерные колбы вместимостью 100 мл.

#### Теоретическая часть

Каротиноидные пигменты, присутствующие в растениях и водорослях, определяют их окраску от ярко-красного до желтого, нераст-

воримы в воде, но растворяются в жирах и органических растворителях. Наибольшей биологической ценностью из них обладает красный пигмент –  $\beta$ -каротин. В последнее время, благодаря своим радиопротекторным свойствам, его рассматривают как эффективное средство в профилактике различных видов канцерогенеза.

$\beta$ -Каротин является провитамином ретинала (витамина А); попадая в организм животных,  $\beta$ -каротин подвергается ферментативному окислению с образованием двух молекул ретинала:



$\beta$ -Каротина больше всего содержится (мкг %): в моркови – 9, болгарском перце – 2, помидорах – 1, сливочном масле – 0,2...0,4. Витамин А присутствует только в продуктах животного происхождения, особенно много его в печени морских животных и рыб, в рыбьем жире – 15 мкг%, печени трески – 4 мкг%, сливочном масле – 0,5 мкг%, молоке – 0,025 мкг%.

Метод количественного определения  $\beta$ -каротина основан на его выделении путем экстракции с последующим колориметрированием на спектрофотометре при длине волны 450 нм. Светопоглощение  $\beta$ -каротина обусловлено присутствием сопряженных  $\pi$ -связей, дающих максимум поглощения при 450...470 нм.

В качестве объекта исследования использовать каротинсодержащее сырье (морковь, томаты, болгарский перец), подвергнутое различной кулинарной обработке (бланшированное, отварное, жареное).

## Практическая часть

### Ход анализа

**Подготовка исследуемого материала.** Навеску исследуемого растительного материала (1...2 г) тщательно растереть в фарфоровой ступке с небольшим количеством измельченного стекла в 20...25 мл гексана, а надосадочную жидкость отфильтровывать на воронке Бюхнера. Осадок залить новой порцией гексана (10...15 мл) и повторить экстракцию

несколько раз, пока экстракт, стекающий с фильтра, не станет бесцветным. Полученные фильтраты количественно внести в мерную колбу вместимостью 100 мл и довести гексаном полученный объем до метки.

**Определение массовой доли каротина.** Раствор перемешать и колориметрировать на спектрофотометре при длине волны 450 нм в кювете с рабочей длиной 10 мм. Параллельно измерить оптическую плотность раствора стандартного образца — дихромата калия. В качестве раствора сравнения использовать экстрагент (соответственно гексан и дистиллированную воду).

Содержание каротиноидов в пересчете на  $\beta$ -каротин ( $X_{\text{кар}}$ , мкг%) вычислить по формуле

$$X_{\text{кар}} = \frac{D \cdot 0,0208 \cdot V \cdot 100}{D_0 \cdot m}$$

где  $D$  — оптическая плотность исследуемого раствора;  $D_0$  — оптическая плотность раствора стандартного образца; 0,0208 — количество  $\beta$ -каротина, соответствующие по окраске 1 мл стандартного раствора калия дихромата, мкг;  $V$  — объем экстракта, мл;  $m$  — масса навески, г; 100 — коэффициент пересчета в проценты.

### Оформление результатов работы

1. Записать в тетрадь ход работы.
2. Оформить результаты работы в виде табл. 9.

Таблица 9

Результаты эксперимента

Исследуемый образец	$m$ , г	$D$	$X_{\text{кар}}$ , мкг %

# ТЕСТ-КОНТРОЛЬ ПО ТЕМАМ

## Тема 1. Белки

### *Аминокислоты. Особенности строения, функции*

1. Сколько аминокислот участвует в образовании белков (являются протеиногенными):

- а) 15;                      б) 20;                      в) 30;                      г) 25.

2. Какие радикалы входят в состав каждой протеиногенной аминокислоты:

- а)  $-\text{COOH}$ ;      б)  $-\text{OH}$ ;              в)  $-\text{CH}_3$ ;              г)  $-\text{NH}_2$ ;              д)  $=\text{O}$ .

3. Какой аминокислоты не существует:

- а) моноаминокарбоновая;                      б) диаминокарбоновая;  
в) триаминокарбоновая;                      г) диаминодикарбоновая.

4. В составе живых организмов белки состоят из аминокислот, представленных:

- а) L-стереоизомерами;                      б) D-стереоизомерами;  
в) M-стереоизомерами;                      г) R-стереоизомерами.

5. Растворимость аминокислот в воде с увеличением углеводородного радикала:

- а) уменьшается;                      б) не изменяется;                      в) увеличивается.

6. Качественной реакцией на все аминокислоты можно считать:

- а) ксантопротеиновую;                      б) нингидриновую;  
в) взаимодействие с фтординитробензолом.

7. Не обладает стереоизомерией следующая аминокислота:

- а) аланин;                      б) цистеин;                      в) глицин;                      г) серин.

8. Аминокислоты, входящие в состав живых белков:

- а) представляют собой рацемическую смесь стереоизомеров;  
б) являются L-стереоизомерами;  
в) являются D-стереоизомерами;  
г) не имеют стереоизомерии.

9. Неполярные аминокислоты имеют:

- а) гидроксильную группу;
- б) аминогруппу;
- в) углеводородный радикал;
- г) сульфгидрильную группу;
- д) кетогруппу.

10. Является серосодержащей аминокислотой:

- а) пролин;                      б) цистеин;                      в) глицин;                      г) лизин.

### ***Белки. Структура и функции***

1. Вторичная структура белков представлена:

- а)  $\alpha$ -спиралью;                      б) глобулой;
- в)  $\beta$ -конформацией;                      г) аминокислотной последовательностью.

2. Какая функция не характерна для белков:

- а) транспортная;                      б) энергетическая;
- в) каталитическая;                      г) защитная.

3. Первичная структура белка образуется за счет:

- а) водородных связей;                      б) ковалентных связей;
- в) гидрофобных взаимодействий;                      г) ионных связей.

4. Глобулярными белками являются:

- а) гемоглобин;    б) альбумин;    в) кератин;    г) коллаген.

5. Боковые радикалы аминокислот, составляющих глобулярный белок, расположены:

- а) внутри глобулы;    б) на поверхности глобулы;    в) в центре глобулы.

6. При добавлении к раствору белка небольших концентраций нейтральных солей растворимость белка:

- а) увеличивается;                      б) белок выпадает в осадок;
- в) снижается;                      г) происходит денатурация белка.

7. Фибриллярным белком является:

- а) гемоглобин;    б) альбумин;    в) кератин;    г) инсулин.

8. Первым этапом выделения и очистки белков является:

- а) экстрагирование;                      б) гомогенизация;
- в) высаливание;                      г) гель-фильтрация.

9. Денатурация белков это:

- а) гидролиз до составляющих их аминокислот;
- б) распад сложных белков на субъединицы;
- в) потеря нативной структуры.

10. Белок казеин является:

- а) металлопротеином; б) фосфопротеином; в) гликопротеином.

11. Вторичная структура белков образована следующими типами связей:

- а) водородные; б) электростатические притяжения;
- в) ковалентные цистеиновые связи.

12. Выбрать функции, характерные для фибриллярных белков:

- а) транспортная; б) структурная;
- в) гормональная; г) защитная.

13. Гликопротеины это белки, имеющие в своем составе:

- а) ортофосфорную кислоту; б) углеводный компонент;
- в) липиды; г) ионы металла.

14. Согласно своему химическому строению белки являются:

- а) кислотами; б) щелочами; в) амфотерными соединениями.

15. Денатурация белка является:

- а) всегда полностью необратимым процессом;
- б) всегда достаточно легко обратима;
- в) обратима иногда при некоторых условиях.

16. При выделении и очистке белков третьим этапом процесса является:

- а) диализ; б) гомогенизация; в) экстрагирование.

### ***Ферменты. Строение и функции***

1. Белковая часть двухкомпонентных ферментов называется:

- а) апоферментом; б) коферментом; в) голоферментом.

2. Зависимость скорости реакции от концентрации фермента является:

- а) экспоненциальной; б) гиперболической;
- в) параболической; г) линейной.

3. Небелковая часть фермента, прочно связанная с белком, называется:

- а) апоферментом;
- б) коферментом;
- в) голоферментом;
- г) простетической группой.

4. Ферменты ускоряют течение реакций путем:

- а) присоединения к субстрату;
- б) понижения энергии активации;
- в) изменения структуры субстрата;
- г) повышения температуры.

5. Катализирует окислительно-восстановительные реакции следующий класс ферментов:

- а) гидролазы;
- б) трансферазы;
- в) оксидоредуктазы;
- г) лигазы;
- д) целлюлазы.

6. На сколько классов подразделяются все ферменты согласно классификации, разработанной Международной комиссией по ферментам и принятой в 1961 г.?

- а) 6;
- б) 8;
- в) 4;
- г) 10.

7. Ускоряет гидролитическое расщепление веществ следующая группа ферментов:

- а) трансферазы;
- б) гидролазы;
- в) лиазы;
- г) оксидоредуктазы.

8. Зависимость скорости реакции от концентрации субстрата является:

- а) линейной;
- б) экспоненциальной;
- в) параболической.

9. Какие свойства ферментов относятся к специфическим:

- а) ферменты не могут возбудить реакций, противоречащих законам термодинамики;
- б) ферменты не расходуются в процессе катализа;
- в) ферменты не смещают положения равновесия реакции;
- г) ферменты обладают узкой специфичностью;
- д) характерен почти 100%-й выход продуктов.

10. Катализируют реакции переноса группировок с одного соединения на другое ферменты класса:

- а) гидролазы;
- б) оксидоредуктазы;
- в) трансферазы;
- г) лигазы.

11. Активный центр в молекуле фермента:

- а) всегда один;
- б) всегда несколько, так как связывание его с субстратом многоточечное;
- в) у ферментов, имеющих четвертичную структуру, число активных центров совпадает с числом субъединиц.

12. В каталитическом действии ферментов можно выделить:

- а) две стадии;    б) три стадии;    в) четыре стадии;    г) пять стадий.

## **Тема 2. Нуклеиновые кислоты**

### **Строение и функции нуклеиновых кислот**

1. Мономером нуклеиновых кислот является:

- а) нуклеотид;                      в) нуклеозид;
- б) аминокислота;                г) азотистое основание.

2. В состав нуклеотида входят следующие соединения:

- а) остаток фосфорной кислоты;    б) моносахарид;    в) гистон;
- г) азотистое основание;                д) аминокислота.

3. Первичная структура нуклеиновых кислот образована за счет следующих типов связей:

- а) водородные;            б) ковалентные;            в) ионные.

4. РНК и ДНК имеют следующие общие черты строения:

- а) состоят из нуклеотидов;
- б) вторичной структурой является двойная спираль;
- в) в состав входят азотистые основания;
- г) в качестве пентозы содержат один и тот же компонент;
- д) в состав входят остатки фосфорной кислоты;
- е) имеют третичную структуру.

5. Компонентами нуклеиновых кислот являются:

- а) азотистые основания;                      б) аминокислоты;
- в) моносахариды;                              г) фосфорная кислота.

6. Больше всего минорных азотистых оснований содержит:

- а) ДНК;            б) тРНК;            в) рРНК;            г) мРНК.

## *Строение и функции рибонуклеиновых кислот*

1. Указать азотистые основания, присутствующие в РНК:

а) аденин; б) гуанин; в) тимин; г) цитозин; д) урацил.

2. Функция мРНК в клетке:

а) матрица для синтеза белка; б) входит в состав рибосом;  
в) транспорт аминокислот в рибосомы.

3. Из пяти стеблей, которые имеет тРНК, обеспечивает специфичность взаимодействия с мРНК:

а) акцептирующий стебель; б) антикодоновый стебель;  
в) дополнительный стебель; г) Т-стебель; д) D-стебель.

4. Функция рРНК в клетке:

а) является матрицей для синтеза белка;  
б) транспорт аминокислот в рибосомы;  
в) входит в состав рибосом.

5. Модель “клеверного листа” предложена для:

а) мРНК; б) рРНК; в) тРНК; г) яРНК.

6. Вторичная структура РНК создается за счет:

а) водородных связей; б) ковалентных связей;  
в) ионных взаимодействий.

7. Функция т РНК:

а) транспорт аминокислот в рибосомы; б) матрица для синтеза белка;  
в) хранение генетической информации.

8. т РНК:

а) не имеет вторичной структуры; б) образует комплекс с белками;  
в) имеет третичную структуру.

9. Из пяти стеблей, которые имеет тРНК, аминокислоту присоединяет:

а) акцептирующий стебель; б) D-стебель;  
в) антикодоновый стебель; г) Т-стебель;  
д) дополнительный стебель.

## *Строение и функции дезоксирибонуклеиновой кислоты*

1. ДНК в клетке эукариот локализована:

а) в цитоплазме; б) в ядре; в) в митохондриях; г) в лизосомах.

2. Вторичная структура ДНК поддерживается за счет:

а) ковалентных связей; б) водородных связей;  
в) гидрофобных взаимодействий;  
г) связей нуклеиновых кислот с белками.

3. При образовании двойной спирали ДНК гуанин с цитозином связывается следующим количеством двойных связей:

а) одна; б) две; в) три; г) четыре.

4. ДНК-полимераза – это:

а) матрица для синтеза белка;  
б) фермент, участвующий в синтезе нуклеиновой кислоты;  
в) фермент, ответственный за перенос функциональных групп с одной молекулы на другую.

5. ДНК прокариот локализована:

а) в цитоплазме; б) в митохондриях; в) в ядре; г) в пластидах.

6. Водородные связи в молекуле ДНК создаются за счет взаимодействий между:

а) остатками фосфорной кислоты; б) моносахарами;  
в) азотистыми основаниями.

7. Отличие эукариот от прокариот проявляются в следующем:

а) носителем наследственной информации является ДНК;  
б) ДНК эукариот образует комплекс с белками;  
в) ДНК имеет третичную структуру;  
г) ДНК является двунитевой молекулой.

8. Какого этапа в процессе репликации ДНК не существует:

а) инициация; б) трансляция; в) элонгация; г) терминация.

9. В процессе репликации ДНК из коротких фрагментов (фрагментов Оказаки) собирается:

а) лидирующая цепь; б) окончание цепи;  
в) запаздывающая цепь; г) начало цепи.

10. Указать азотистые основания, присутствующие в ДНК:

- а) аденин; б) гуанин; в) тимин; г) цитозин; д) урацил.

11. Третичная структура ДНК прокариот заключается:

- а) в образовании нуклеосом;  
б) в суперспирализации молекулы ДНК;  
в) в образовании двойной спирали;  
г) не существует третичной структуры.

12. Какой этап в процессе репликации ДНК является начальным:

- а) инициация; б) трансляция; в) элонгация; г) терминация.

13. При репликации ДНК раскручивание двойной спирали осуществляют ферменты:

- а) полимеразы; б) лигазы; в) хеликазы; г) оксидоредуктазы.

14. При образовании двойной спирали ДНК аденин с тиминном связывается следующим количеством двойных связей:

- а) одна; б) две; в) три; г) четыре.

15. В каких структурах, принадлежащих бактериальной клетке, содержится ДНК:

- а) ядро; б) плазмиды; в) митохондрии;  
г) цитоплазма; д) пластиды.

### ***Структура хромосом, рибосом***

1. В состав хромосомы эукариот входит:

- а) РНК; б) ДНК; в) белок; г) плазмиды; д) моносахариды.

2. Нуклеосома содержит:

- а) хроматиновую нить; б) гистоновый октамер и участок ДНК;  
в) рибосомы и мРНК.

3. Полисома прикрепляется к:

- а) рибосоме; б) аппарату Гольджи; в) ЭПР; г) ядру.

4. Какие соединения входят в состав рибосомы:

- а) белки; б) ДНК; в) рРНК; г) мРНК; д) липиды; е) углеводы.

5. Гистоны являются:

- а) глобулярными белками; б) фибриллярными белками;  
в) азотистыми основаниями; г) органоидами клетки;  
д) нуклеиновыми кислотами.

6. Роль гистонов, входящих в состав хроматина:

- а) хранение наследственной информации;
- б) упаковка молекулы ДНК;
- в) регуляция действия генов.

### Тема 3. Углеводы

#### Строение углеводов. Общие свойства

1. Углеводами называют:

- а) карбоксилы многоатомных спиртов;
- б) амины многоатомных спиртов;
- в) альдегиды и кетоны многоатомных спиртов.

2. Выбрать неверное утверждение:

- а) в организме животных углеводов содержится меньше, чем у растений;
- б) важнейшей функцией углеводов является энергетическая;
- в) функцию запасных питательных веществ углеводы выполняют только в организме растений.

3. Какая функция не характерна для углеводов:

- а) регуляторная;                      б) защитная;
- в) опорная;                              г) ферментативная.

4. Главным энергетическим резервом человека и животных является:

- а) гликоген;    б) крахмал;    в) пектин;    г) целлюлоза;    д) хитин.

5. Способностью образовывать гели в присутствии сахара обладают:

- а) глюкоза;    б) пектиновые вещества;    в) лактоза;    г) гемицеллюлозы.

6. Основной транспортной формой углеводов большинства растительных организмов является:

- а) глюкоза;                      б) крахмал;                      в) сахароза;                      г) трегалоза.

7. Углеводы согласно классификации делят на:

- а) три класса;    б) два класса;    в) пять классов;    г) четыре класса.

8. Не обладают восстанавливающей способностью следующие углеводы:

- а) глюкоза;    б) сахароза;    в) лактоза;    г) мальтоза.

### *Моносахариды. Структура и свойства*

1. Моносахаридами являются:

а) глюкоза; б) сахароза; в) рафиноза; г) гемицеллюлоза.

2. Обладают восстанавливающей способностью следующие углеводы:

а) глюкоза; б) сахароза; в) лактоза; г) мальтоза.

3. В состав молекулы фруктозы входит следующее количество углеродных атомов:

а) 6; б) 8; в) 4; г) 7.

4. Только для восстанавливающих сахаров характерна:

а) реакция серебряного зеркала;  
б) реакция образования фурфуралей;  
в) реакция образования альдаровых, альдоновых и альдурановых кислот.

5. Какой тип связи между моносахаридными остатками присутствует в молекуле лактозы:

а) (1→1); б) (1→2); в) (1→4); г) (1→6).

6. Моносахаридами являются:

а) глюкоза; б) сахароза; в) лактоза;  
г) целлюлоза; д) фруктоза.

7. Высшими сахарами называют:

а) сахара, содержащие более семи углеродных атомов;  
б) сахара, содержащие более десяти углеродных атомов;  
в) олигосахариды;  
г) полисахариды

8. В состав молекулы глюкозы входит следующее количество углеродных атомов:

а) 6; б) 8; в) 4; г) 7.

### *Полисахариды. Структура и свойства*

1. Хитин является:

а) сложным белком; б) липидом;  
в) полисахаридом; г) моносахаридом.

2. Целлюлоза является:

а) олигосахаридом; б) резервным полисахаридом;  
в) структурным полисахаридом; г) моносахаридом.

3. Указать структурные полисахариды:

а) крахмал; б) целлюлоза; в) мальтоза; г) хитин; д) лактоза.

4. Олигосахаридами являются:

а) глюкоза; б) сахароза; в) крахмал; г) мальтоза; д) лактоза.

5. Указать резервные полисахариды:

а) крахмал; б) целлюлоза; в) гликоген; г) хитин; д) лактоза.

6. Указать структурные полисахариды, характерные для царства животных:

а) глюкоза; б) гликоген; в) лактоза; г) целлюлоза; д) хитин.

7. Какой тип связи между моносахаридными остатками присутствует в молекуле целлюлозы:

а) (1→1); б) (1→2); в) (1→4); г) (1→6).

8. Какой тип связи между моносахаридными остатками присутствует в молекуле мальтозы:

а) (1→1); б) (1→2); в) (1→4); г) (1→6).

9. Полисахаридами II порядка являются:

а) крахмал; б) мальтоза; в) гемицеллюлозы; г) сахароза.

10. Обладают восстанавливающей способностью углеводы, имеющие следующие типы связи между моносахаридными остатками:

а) (1→1); б) (1→4); в) (1→6).

11. Полисахаридами I порядка являются:

а) пектины; б) сахароза; в) крахмал; г) мальтоза; д) лактоза.

12. Амилопектин является:

а) олигосахаридом; б) резервным полисахаридом;  
в) структурным полисахаридом; г) моносахаридом.

13. Главным энергетическим резервом растений является:

а) гликоген; б) крахмал; в) пектин; г) целлюлоза; д) хитин.

14. Указать полисахарид, имеющий неразветвленную структуру:

а) амилоза; б) амилопектин; в) крахмал;  
д) целлюлоза; г) гликоген.

15. Олигосахариды содержат следующее количество моносахаридных остатков:

а) 2-10; б) 3-12; в) 7-10; г) 7-15.

16. Крахмал накапливается в живой клетке:

- а) в ядре; б) в пластидах; в) в митохондриях; г) в цитоплазме.

17. Полисахаридами II порядка являются:

- а) глюкоза; б) сахароза; в) крахмал; г) мальтоза; д) лактоза.

### ***Катаболизм углеводов***

1. Первым этапом катаболизма глюкозы в клетке является:

- а) цикл трикарбоновых кислот; б) окислительное фосфорилирование;  
в) цикл Кребса; г) гликолиз.

2. Процесс фотосинтеза состоит:

- а) из двух фаз; б) из трех фаз; в) из четырех фаз;

3. Окислительное фосфорилирование протекает:

- а) в цитоплазме клетки; б) на мембранах митохондрий;  
в) в матриксе митохондрий.

4. Реакции темновой фазы фотосинтеза носят название:

- а) цикл Кальвина; б) гликолиз;  
в) цикл Кребса; г) цикл трикарбоновых кислот.

5. Гликолиз протекает:

- а) в цитоплазме клетки; б) матриксе митохондрий;  
в) на мембранах митохондрий.

6. Во время световой фазы фотосинтеза протекают следующие процессы:

- а) синтез АТФ; б) восстановление  $\text{CO}_2$ ;  
в) образование  $\text{O}_2$ ; г) фотолиз воды.

7. Выберите неверное утверждение:

- а) анаболизм — процессы синтеза биомолекул из простых предшественников, сопровождающийся затратами энергии;  
б) метаболизм — процесс синтеза АТФ;  
в) катаболизм — процессы распада органических молекул до простых предшественников, сопровождающийся высвобождением энергии.

8. Цикл Кребса протекает:

- а) в цитоплазме клетки; б) матриксе митохондрий;  
в) на мембранах митохондрий.

9. Во время темновой фазы фотосинтеза протекают следующие процессы:

- а) синтез АТФ;
- б) восстановление  $\text{CO}_2$ ;
- в) образование  $\text{O}_2$ ;
- г) фотолиз воды.

10. Процесс окислительного фосфорилирования в клетке происходит:

- а) в цитоплазме;
- б) в матриксе митохондрий;
- в) в матриксе пластид;
- г) на внутренних мембранах митохондрий;
- д) на внутренних мембранах пластид.

11. Центральным путем катаболизма глюкозы в клетке, характерный для всех живых организмов, носит название:

- а) гликолиз;
- б) цикл Кребса;
- в) брожение;
- г) цикл трикарбоновых кислот.

12. Указать катаболические процессы, протекающие в живой клетке:

- а) гликолиз;
- б) глюконеогенез;
- в) цикл Кальвина;
- г) брожение.

#### **Тема 4. Липиды и минеральные вещества**

##### *Жирные кислоты*

1. Природные жирные кислоты являются:

- а) монокарбоновыми;
- б) дикарбоновыми;
- в) трикарбоновыми.

2. Количество мг КОН, необходимое для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира, называется:

- а) иодное число;
- б) кислотное число;
- в) число омыления.

3. Ненасыщенные жирные кислоты отличаются от насыщенных:

- а) наличием двойных связей;
- б) разветвленным углеродным скелетом;
- в) более короткой цепочкой атомов углерода.

4. Природные жирные кислоты обычно содержат:

- а) четное число атомов углерода;
- б) нечетное число атомов углерода;
- в) всегда только нечетное число атомов.

5. Известно, что молекулы жирной кислоты имеют неполярные и полярные группировки. Полярными группировками являются:  
а) карбоксильные группы; б) двойные связи; в) углеродный скелет.

6. Указать ненасыщенные жирные кислоты:  
а) пальмитиновая; б) стеариновая; в) линолевая; г) линоленовая.

7. Сколько двойных связей может содержаться в полиненасыщенных природных жирных кислотах:  
а) одна; б) две; в) три; г) четыре; д) пять.

### ***Липиды. Строение и функции***

1. Воска являются:

а) простыми липидами; б) стероидами;  
в) сложными липидами; г) ацилглицеролами.

2. Жир в зерновке пшеницы содержится главным образом:

а) в зародыше; б) в зародыше и алейроновом слое;  
в) в зародыше и эндосперме.

3. Ацилглицеролы это:

а) фосфолипиды;  
б) гликолипиды;  
в) сложные эфиры жирных кислот и многоатомных или двухатомных спиртов;  
г) сложные эфиры жирных кислот и трехатомного спирта глицерина.

4. У каких веществ молекула содержит три нелинейно конденсированных насыщенных циклогексановых и одно циклопентановое кольцо:

а) воска; б) ацилглицеролы; в) стероиды; г) фосфолипиды.

5. Какие ферменты участвуют в процессе прогоркания жиров:

а) протеиназы; б) целлюлазы;  
в) триацил-глицерол-липаза; г) липоксигеназа.

6. Гидрогенизация жиров это:

а) присоединение воды по месту двойных связей;  
б) присоединение водорода по месту двойных связей;  
в) образование двойных связей.

7. Какая особенность не характерна для всех липидов:

- а) большое разнообразие по химическому составу и структуре;
- б) растворяются в органических растворителях;
- в) не растворяются в воде;
- г) в состав входят жирные кислоты.

8. Фермент липоксигеназа в зерне пшеницы окисляет:

- а) крахмал;
- б) белки;
- в) жирные кислоты;
- г) моносахара.

9. Из липидов в состав биомембран входят:

- а) фосфолипиды;
- б) гликолипиды;
- в) воски;
- г) стероиды.

10. О количестве двойных связей в жирах можно судить по:

- а) кислотному числу;
- б) иодному числу;
- в) числу омыления.

11. Какие функции выполняют липиды в растительном организме:

- а) структурная;
- б) защитная;
- в) регуляторная;
- г) транспортная;
- д) ферментативная.

12. Ацилглицеролы являются:

- а) простыми липидами;
- б) стероидами;
- в) фосфолипидами;
- г) гликолипидами.

### *Минеральные вещества*

1. Зольность зерна показывает:

- а) содержание микроэлементов;
- б) содержание химических элементов;
- в) содержание минеральных веществ;
- г) содержание макроэлементов.

2. Какие минеральные вещества, содержащиеся в молоке, являются основными:

- а) кальций;
- б) калий;
- в) натрий;
- г) селен;
- д) кадмий.

3. В зерновке пшеницы самое большое содержание золы имеет:

- а) эндосперм;
- б) оболочки;
- в) зародыш.

4. Зольностью зерна называют:

- а) массу золы, образующуюся после сжигания 1000 зерен;
- б) массу золы, выраженную в процентах к исходной массе зерна;
- в) объем золы, образующийся после сжигания 1 г. зерна;
- г) объем золы, образующийся после сжигания оболочек от 1000 зерен.

5. Органическими анионами молока являются:

- а) фосфаты; б) сульфаты; в) цитраты; г) карбонаты.

6. Минеральные вещества зерна пшеницы:

- а) распределены по зерну равномерно;  
б) сконцентрированы преимущественно в эндосперме;  
в) сконцентрированы преимущественно в оболочках зерна и эндосперме;  
г) сконцентрированы преимущественно в оболочках зерна и в зародыше.

7. Какие минеральные вещества, содержащиеся в молоке, являются микроэлементами:

- а) кальций; б) хлор; в) магний; г) медь; д) кремний.

### Тема 5. Витамины

1. Укажите водорастворимые витамины:

- а) К; б) В<sub>12</sub>; в) D; г) E.

2. Недостаток какого витамина вызывает заболевание рахит:

- а) А; б) D; в) С; г) В<sub>2</sub>.

3. Витамины группы E называют:

- а) токоферолы; б) тиамин; в) ретинолы; г) рибофлавины.

4. Укажите жирорастворимые витамины:

- а) E; б) А; в) С; г) В<sub>5</sub>.

5. При недостатке витамина С развивается:

- а) рахит; б) цинга; в) куриная слепота; г) мышечная дистрофия.

6. Провитамином А является:

- а) ретинол; б) токоферол; в) β-каротин; г) ниацин.

7. Производными стеролов являются:

- а) эргокальциферол; б) холекальциферол;  
в) токоферол; г) ретинол.

8. Витамин В<sub>12</sub> :

- а) широко распространен в тканях высших растений;  
б) содержится в продуктах животного происхождения (печень, почки);  
в) продуцируется кишечными бактериями;  
г) содержится в овощах и фруктах.

9. Для нормального световосприятия необходим:

- а) ретинол;                      б) токоферол;  
в) рибофлавин;                г) эргокальциферол.

10. Каротиноиды являются провитаминами:

- а) аскорбиновой кислоты;      б) токоферола;  
в) ретинола;                      г) ниацина.

11. Механизм действия какого витамина связан с его антиоксидантными свойствами:

- а) А;                      б) Е;                      в) С;                      г) В<sub>2</sub>.

12. Сколько молекул витамина А образуется из одной молекулы β-каротина:

- а) 1;                      б) 2;                      в) 3;                      г) 4.

## Библиографический список

1. Гамаюрова, В.С. Пищевая химия : лабораторный практикум / В.С. Гамаюрова, Л.Э. Ржечицкая. – СПб. : ГИОРД, 2006. – 136с.:ил.
2. Комов, В.П. Биохимия : учеб. для вузов / В.П. Комов, В.Н. Шведова. – М. : Дрофа, 2004. – 638 с.
3. Ленинджер, А. Основы биохимии : В 3-х т. Т. 1 / пер. с англ. – М. : Мир, 1985. – 367с.
4. Основы биохимии : учебник для студ. биол. спец. ун-тов / А.А. Анисимов [и др.] ; под ред. А.А. Анисимова. – М. : Высш. шк., 1986. – 551с.
5. Пустовалова, Л.М. Практические работы по биохимии. Се. «Среднее профессиональное образование». – Ростов н/Д : Феникс, 2004. – 320 с.

## Содержание

Введение.....	3
БЕЛКИ.....	4
Лабораторная работа № 1. Количественное определение белков растительного и животного происхождения.....	4
Лабораторная работа № 2. Денатурация белков.....	16
НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ.....	20
Лабораторная работа № 3. Изучение химического состава рибонуклеопротеинов дрожжей.....	20
УГЛЕВОДЫ.....	23
Лабораторная работа № 4. Свойства углеводов.....	23
Лабораторная работа № 5. Методы количественного определения углеводов.....	26
Лабораторная работа № 6. Амилолитический ферментный комплекс солода.....	30
ЛИПИДЫ.....	37
Лабораторная работа № 7. Исследование физико-химических характеристик пищевых жиров.....	37
ВИТАМИНЫ.....	46
Лабораторная работа № 8. Жирорастворимые витамины. Определение массовой доли $\beta$ -каротина.....	46
ТЕСТ-КОНТРОЛЬ ПО ТЕМАМ.....	49
Тема 1. Белки.....	49
Тема 2. Нуклеиновые кислоты.....	53
Тема 3. Углеводы.....	57
Тема 4. Липиды и минеральные вещества.....	61
Тема 5. Витамины.....	64
Библиографический список.....	66

Учебное издание

## БИОХИМИЯ

Лабораторный практикум  
для студентов специальности 260501  
«Технология продуктов общественного питания»

Авторы-составители:  
Анастасия Ввикторовна *Иванова*,  
Татьяна Николаевна *Клапанова*

*В авторской редакции*

Вёрстка: *Л.В. Сызганцева*  
Дизайн обложки: *Г.В. Карасева*

Подписано в печать 9.04.2009. Формат 60x84/16.  
Печать оперативная. Усл.п.л. 4,3. Уч.-изд.л. 4,0.  
Тираж 100 экз. Заказ № 2-19-09.

Тольяттинский государственный университет  
445667, г. Тольятти, ул. Белорусская, 14

