

Министерство образования и науки Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Оренбургский государственный университет»

Кафедра химии

О. П. Кушнарера

# **ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

Часть 1

Методические указания

Рекомендовано к изданию редакционно-издательским советом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Оренбургский государственный университет» для обучающихся по образовательным программам высшего образования по направлениям подготовки 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья, 19.03.04 Технология продукции и организация общественного питания, 18.03.01 Химическая технология

Оренбург  
2018

УДК 54(076.5)  
ББК 24.1я7  
К96

Рецензент – доцент, кандидат технических наук Т. М. Крахмалева

**Кушнарера, О.П.**  
К 96 Химические основы биологических процессов. Часть 1:  
методические указания / О. П. Кушнарера; Оренбургский гос. ун-т. –  
Оренбург: ОГУ, 2018.

Выражаю глубокую благодарность в подготовке данного издания  
Макишевой С.С.

Методические указания содержат материал по правилам безопасности при работе в биохимической лаборатории, методике осуществления лабораторных работ, вопросы к защите лабораторных работ, перечень рекомендуемой для изучения дисциплины литературы.

Данные методические указания предназначены для выполнения лабораторных работ по курсу «Химические основы биологических процессов» для обучающихся по образовательным программам высшего образования по направлениям подготовки 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья, 19.03.04 Технология продукции и организация общественного питания, 18.03.01 Химическая технология.

УДК 54(076.5)  
ББК 24.1я7

© Кушнарера О. П., 2018  
© ОГУ, 2018

## Содержание

Введение .....	5
1 Порядок работы и правила техники безопасности при работе в биохимической лаборатории.....	7
2 Белки.....	10
2.1 Лабораторная работа № 1. Выделение и анализ простых белков.....	13
3 Ферменты .....	17
3.1 Лабораторная работа № 2. Определение активности каталазы .....	20
3.2 Лабораторная работа № 3. Колориметрический метод определения активности $\alpha$ - и $\beta$ -амилазы.....	22
3.3 Вопросы к защите лабораторных работ № 2,3 .....	24
4 Углеводы. Моно- и дисахариды .....	26
4.1 Лабораторная работа № 4. Определение восстанавливающих сахаров по методу Бертрана.....	27
4.2 Лабораторная работа № 5. Определение массовой доли лактозы йодометрическим методом .....	32
4.3 Лабораторная работа № 6. Определение содержания сахарозы.....	35
4.4 Вопросы к защите лабораторных работ № 4, 5, 6 .....	37
5 Полисахариды. Крахмал и клетчатка .....	39
5.1 Лабораторная работа № 7. Определение содержания крахмала.....	40
5.2 Лабораторная работа № 8. Определение содержания клетчатки .....	42
5.3 Вопросы к защите лабораторных работ № 7, 8 .....	43
6 Витамины .....	45
6.1 Лабораторная работа № 9. Качественные реакции на витамины .....	46
6.2 Лабораторная работа № 10. Количественное определение витамина С в пищевых продуктах .....	47
6.3 Вопросы к защите лабораторных работ № 9, 10 .....	51
7 Литература, рекомендуемая для изучения дисциплины.....	52

Список использованных источников.....	54
Приложение А.....	55
Приложение Б.....	56

## Введение

Химические основы биологических процессов – дисциплина, изучающая химическую природу веществ, входящих в состав живых организмов, совокупность химических превращений веществ и энергии, лежащих в основе жизнедеятельности. Изучение данного курса направлено на формирование современных представлений по основным разделам биохимии – статической, динамической и функциональной; на развитие у студентов понимания роли биохимии в развитии традиционных и новейших направлений пищевой промышленности, рациональном использовании природных богатств, охране окружающей среды. В процессе изучения дисциплины студенты получают сведения о химическом составе пищевого сырья растительного и животного происхождения, о биохимических процессах, происходящих в нем при хранении и переработке.

Знания, приобретенные в ходе изучения данного курса, являются основой качественной профессиональной подготовки технологов, способствуют самопознанию и значительному расширению естественнонаучной картины мира.

Методические указания содержат краткие теоретические сведения, методики выполнения лабораторных работ, сведения по технике безопасности, контрольные вопросы для самопроверки и список рекомендуемой литературы. Методы исследования, описанные в данных методических указаниях, могут стать основой для последующей индивидуальной научно-исследовательской работы, подготовки курсовых и дипломных проектов.

Подготовка к выполнению лабораторной работы включает в себя теоретическую проработку темы по конспектам лекций и учебникам, написание конспекта и подготовка ответов на контрольные вопросы.

Выполнение лабораторных работ на занятиях происходит по плану, назначаемому преподавателем для рабочих групп по 2-3 студента. Перед началом работы студенты получают допуск у преподавателя и только после этого выполняют экспериментальную часть работы.

Полученные экспериментальные данные записываются в тетрадь, по ним должны быть проведены расчеты, сформулированы выводы. В некоторых работах предполагается самостоятельное написание уравнения реакций.

Защита лабораторных работ проходит при наличии оформленного отчета в интерактивной форме в соответствии с контрольными вопросами. Защита может проводиться как индивидуально, так и в рабочих группах.

# **1 Порядок работы и правила техники безопасности при работе в биохимической лаборатории**

Все действия с реактивами и оборудованием студент проводит только после разрешения преподавателя.

Во время проведения опытов на рабочем месте не должно быть ничего лишнего, необходимо поддерживать на нем чистоту и порядок. По окончании работы студент должен убрать рабочее место, вымыть лабораторную посуду.

Нельзя уносить приборы, реактивы, цилиндры, пипетки и другие предметы общего пользования на свое рабочее место.

Староста группы на время занятий назначает дежурного по группе. Дежурный отвечает в течение всего занятия за порядок и чистоту рабочих мест, за оборудование общего пользования. По окончании работы дежурный сдает лабораторию инженеру лаборатории. Рабочее место, не приведенное в порядок, убирает сам дежурный.

При оформлении отчета по лабораторной работе необходимо указать название работы, ее цель, сущность используемого метода, привести описание методики эксперимента, выполнить расчеты по приведенным формулам и обязательно сформулировать вывод.

Каждый работающий должен знать, где в лаборатории находятся средства противопожарной защиты и аптечка, содержащая все необходимое для оказания первой помощи.

Никакие вещества в лаборатории нельзя пробовать на вкус. Совершенно недопустимо в лаборатории курить, принимать пищу, пить воду из химической посуды. Нюхать вещества можно, лишь осторожно направляя на себя пары или газы легким движением руки, а не наклоняясь к сосуду и не вдыхая полной грудью.

Нельзя проводить какие-либо опыты в загрязненной посуде. Посуду следует мыть сейчас же после окончания опыта.

Не разрешается работать в лаборатории без халата.

Нельзя оставлять действующие приборы без присмотра.

Концентрированные кислоты и щелочи нужно наливать в сосуд осторожно, под тягой, чтобы не облить рук, не получить брызг на лицо и одежду. При налипании концентрированных растворов кислот и щелочей обязательно пользоваться воронкой. Надо твердо помнить правило смешивания концентрированной серной кислоты с водой: не воду лить в кислоту, а наоборот – кислоту в воду небольшими порциями.

В случае воспламенения легкоиспаряющихся жидкостей нужно, прежде всего, потушить горелки, выключить электроприборы, унести все находящиеся поблизости горючие вещества, а затем гасить пламя, засыпая его песком, закрывая мокрым полотенцем или одеялом. Большое пламя гасят с помощью углекислотных огнетушителей. Не следует заливать пламя водой, во многих случаях это приводит к большему распространению пламени и расширению очага пожара.

В случае воспламенения одежды не следует бежать, надо набросить на пострадавшего халат, брезент, шерстяное или войлочное одеяло. Можно тушить одежду на себе обливанием водой или быстрым перекачиванием на полу.

При легких термических ожогах кожу следует обработать спиртом, а затем смазать глицерином или вазелином. При более сильных ожогах, после обработки спиртом или концентрированным раствором перманганата калия, обожженное место необходимо смазать мазью от ожога.

При ожогах крепкими кислотами необходимо сразу же промыть пораженное место большим количеством воды, а затем 3 % раствором гидрокарбоната натрия и опять водой.

При ожогах едкими щелочами обильно промыть пораженное место проточной водой, затем разбавленным раствором уксусной кислоты, а после опять большим количеством воды.

При попадании кислоты или щелочи в глаза следует сразу же их промыть. Для этого направляют небольшую струю воды то в один, то в другой глаз в течение не менее 3 минут. Затем глаза необходимо промыть 3 % раствором борной кислоты.



После этого нужно немедленно обратиться к врачу.

При порезах стеклом необходимо удалить осколки стекла из раны, залить пораженное место спиртовым раствором йода и наложить стерильную повязку. При сильных кровотечениях следует наложить выше раны жгут и вызвать врача или отправить пострадавшего в медпункт.

После окончания работы необходимо выключить воду, электроприборы, привести в порядок рабочее место.

## 2 Белки

Белки играют исключительно важную роль в жизнедеятельности любого живого организма. Основная масса протоплазмы живых клеток состоит из белков. Белки являются материальной основой жизни и участвуют во всех важнейших процессах, протекающих в живом организме.

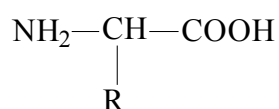
Потребность человека в белковых веществах удовлетворяется за счет пищи. Белок входит в состав продуктов растительного и животного происхождения. Наиболее богаты белком мясо от 16 % до 22 %, рыба от 14 % до 22 %, молоко – в среднем 3,5 %. Среди растительных продуктов наибольшее содержание белка в сое – до 40 %. От 25 % до 30 % всей потребности организма в белках покрывается за счёт продуктов переработки зерна. В семенах злаков содержится от 10 % до 20 % белка, в семенах бобовых и масличных культур от 25 % до 50 %.

Именно белковые вещества определяют технологические свойства муки, ее способность давать высококачественный хлеб и макаронные изделия, а также определяют ценность различных круп.

Белковые вещества представляют собой высокомолекулярные биополимеры, первичная структура которых образована полипептидными цепочками, построенными из различных  $\alpha$ -аминокислот, соединенных между собой пептидными связями. Молекулярный вес белков может достигать нескольких миллионов.

В настоящее время известно около 220 аминокислот, однако, только лишь 22  $\alpha$ -аминокислоты могут входить в состав белков.

Общая формула  $\alpha$ -аминокислот следующая:



Благодаря присутствию аминной и карбоксильной групп, аминокислоты проявляют амфотерные свойства. В водных растворах они диссоциируют как

кислота и как основание.

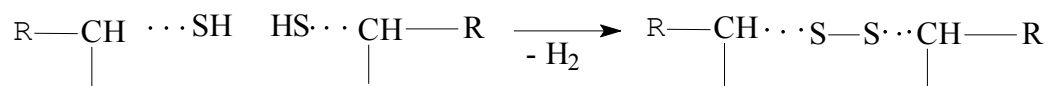
### *Строение белковой молекулы*

Различают четыре уровня структуры или организации белковой молекулы: первичная, вторичная, третичная, четвертичная.

*Первичной* (линейной) структурой белковой молекулы называется последовательность, в которой отдельные аминокислоты при помощи пептидных связей соединяются в длинные цепи.

*Вторичная* (спиралевидная) структура белковой молекулы образуется благодаря водородным связям, возникающим между отдельными частями длинной полипептидной цепи.

*Третичной* структурой называют способ упаковки спиралевидной полипептидной цепочки в пространстве. При образовании третичной структуры важную роль играют дисульфидные связи (-S-S-), образующиеся при окислении сульфгидрильных групп остатков цистеина:



По форме белковой молекулы, сложившейся на третьем уровне организации, различают белки глобулярные и фибриллярные. Глобулярные белки – растворимые вещества с компактной структурой. По форме они приближаются к шару. Фибриллярные – имеют нитевидную форму. Они обычно нерастворимы. В формировании третичной структуры важную роль играют гидрофобные и электростатические взаимодействия.

*Четвертичную* структуру представляет ассоциация нескольких отдельных полипептидных цепей. Ее создают силы Ван-дер-Ваальса, водородные связи, электростатическое взаимодействие, гидрофобные и другие виды связей.

### *Классификация белков*

По степени сложности все белки делят на две большие группы протеины и

протеиды.

*Протеинами*, или простыми белками, называют белки, в состав которых входят только остатки аминокислот. В состав *протеидов* кроме остатков аминокислот входят группы небелковой природы – простетические группы, например, липиды, углеводы, нуклеиновые кислоты.

Протеины, в свою очередь, делят еще на четыре группы, основываясь на характере их растворимости: альбумины – растворимые в воде; глобулины – растворимые в водных растворах различных солей (в растворе хлорида натрия); проламины – растворимые в растворе этанола; глютелины – растворимые в растворах щелочей.

### *Свойства белков*

Свойства белков в первую очередь зависят от аминокислотного состава, от взаимного расположения аминокислот, от структуры белковой молекулы, элементарного состава и многих других факторов.

Однако все белки имеют ряд общих характерных свойств. Так же как и аминокислоты, белки являются амфотерными соединениями. Для них характерна изоэлектрическая точка – величина рН, при которой белок как кислота и как основание имеет наименьшую степень диссоциации. При набухании белки образуют коллоидные растворы – студни и гели. Белки являются очень чувствительными веществами к действию физических, химических и биологических факторов, воздействие которых может привести, например, к денатурации белка. Денатурация белков – сложное явление, в основе которого лежит необратимое изменение вторичной, третичной и четвертичной структуры белковой молекулы.

В технологических процессах чаще всего встречается тепловая денатурация (например, при сушке зерна, выпечке хлеба). Химический состав белка при денатурации не изменяется, но могут сильно измениться все свойства белка – физические, химические и биологические.

При взаимодействии белка с некоторыми реактивами образуются окрашенные продукты – белки дают цветные реакции, что зависит от наличия в белковой

молекуле той или иной аминокислоты или определенной химической группировки. Этими реакциями можно обнаружить в исследуемом веществе присутствие белков или отдельных аминокислот (тирозина, триптофана, цистеина и другие).

## 2.1 Лабораторная работа № 1. Выделение и анализ простых белков

Испытуемый материал: белок куриного яйца, мука пшеничная.

Реактивы: раствор хлорида натрия  $\omega$  (NaCl) = 10 %, сульфат аммония  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  насыщенный раствор, раствор этилового спирта  $\omega$  ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ) = 70 %, раствор гидроксида натрия  $\omega$  (NaOH) = 10 %, раствор сульфата меди  $\omega$  ( $\text{CuSO}_4$ ) = 0,5 %, концентрированная азотная кислота  $\text{HNO}_3$ , раствор желатина 1 %, раствор ацетата свинца  $\omega$  ( $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$ ) = 10 %.

1) Приготовление растворов белка:

Разбавленный раствор яичного альбумина

Белок одного куриного яйца после отделения от желтка хорошо взбивают и затем смешивают с десятикратным объемом воды - 200 см<sup>3</sup>. Раствор фильтруют через двойной слой марли, в фильтрат переходит яичный альбумин, в осадке остается глобулин.

Растительный альбумин

В пробирку помещают 1 г пшеничной муки, добавляют 10 см<sup>3</sup> воды и содержимое перемешивают. Пробирку ставят в термостат при температуре от 30 °С до 35 °С на 30 минут. В течение первых 20 минут содержимое пробирки периодически перемешивают. Через 30 минут надосадочную жидкость отфильтровывают. Фильтрат содержит преимущественно альбумин пшеничных зерен.

Раствор проламинов

В пробирку берут 1 г зерновых продуктов (измельченное зерно, мука или крупа) и 10 см<sup>3</sup> раствора этилового спирта. Экстракцию белков ведут при

температуре от 30 °С до 35 °С в течение 20 мин при периодическом перемешивании. Через 20 минут надосадочную жидкость отфильтровывают. Фильтрат содержит растительный проламин.

2) Проведение реакций:

а) биуретовая реакция

Обусловлена наличием пептидных связей (-CO-NH-) в молекуле белка. При добавлении сернокислой меди к сильно щелочному раствору белка образуются комплексные соединения меди с пептидной группировкой, окрашенные в сиренево-фиолетовый цвет.

К 1 см<sup>3</sup> раствора белка добавляют двойной объем 10 % раствора NaOH, хорошо перемешивают и добавляют одну или две капли 0,5 % CuSO<sub>4</sub>. Снова тщательно перемешивают. Жидкость окрашивается в фиолетовый цвет. Следует избегать избытка сернокислой меди, так как фиолетовая окраска маскируется синей.

б) ксантопротеиновая реакция

Открывает циклические аминокислоты (фенилаланин, тирозин, триптофан) в молекуле белка и основана на образовании нитропроизводных этих аминокислот, окрашенных в щелочной среде в оранжевый цвет.

В одну пробирку наливают 1 см<sup>3</sup> раствора яичного альбумина, во вторую – 1 см<sup>3</sup> раствора желатины. В обе пробирки добавляют по 0,5 см<sup>3</sup> концентрированной азотной кислоты и осторожно нагревают. Отмечают результат. Пробирки охлаждают и затем осторожно добавляют пять капель 10 % раствора NaOH. Объяснить полученный результат.

в) реакция на слабосвязанную серу

В состав большинства белков входят содержащие серу аминокислоты – цистеин, цистин, метионин. Серу в белке можно обнаружить, пользуясь ее свойством давать с солями свинца осадок черного цвета (сульфид свинца). Под действием щелочи сера отщепляется в виде сероводорода. При добавлении раствора ацетата свинца раствор начинает мутнеть, а затем выпадет черный осадок.

В пробирку к 1 см<sup>3</sup> разбавленного раствора белка добавляют две капли 10 % раствора ацетата свинца. Содержимое перемешивают, затем приливают к нему

2 см<sup>3</sup> 10 % раствора NaOH, перемешивают и нагревают, содержимое пробирки начинает темнеть.

г) проба на проламины

Для этого опыта используют раствор проламинов. В пробирку помещают 1 см<sup>3</sup> раствора проламинов и по биуретовой реакции обнаруживают белок. В другую пробирку к 1 см<sup>3</sup> раствора проламина добавляют от 2 до 4 см<sup>3</sup> воды, При этом концентрация спирта резко падает и спирторастворимые белки – проламины – теряют растворимость. Раствор мутнеет.

д) свертывание белка при нагревании

В опыте используют растворы альбуминов, полученные ранее. В пробирку вносят 5 см<sup>3</sup> испытуемого раствора и погружают в нее термометр. Затем ее ставят в стакан с теплой водой и начинают постепенно нагревать. Замечают температуру, при которой появилась муть, в дальнейшем превращающаяся в хлопьевидный осадок.

## 2.2 Вопросы к защите лабораторной работы № 1

1 Что такое белки?

2 Каковы физиологические функции белков в живой клетке?

3 Какие функциональные группы входят в аминокислоты?

4 На какие классы и по каким признакам делятся аминокислоты?

5 Какие Вы знаете «незаменимые» аминокислоты? Почему они так называются?

6 Какие аминокислоты входят в состав белков?

7 Какими свойствами обладают аминокислоты?

8 На каком свойстве аминокислот основан синтез белков?

9 Какие виды связей обнаружены в белковых молекулах?

10 Какие виды пространственной организации белковой молекулы вы знаете?

- 11 Какими физическими свойствами обладают белки?
- 12 Каковы химические свойства белков?
- 13 Как можно обнаружить наличие белка в неизвестном объекте?
- 14 Написать уравнения всех проделанных реакций.



### 3 Ферменты

Ферменты – биологические катализаторы белковой природы, образуемые любой живой клеткой и обладающие способностью активизировать различные химические соединения.

Механизм действия ферментов, как и всех других катализаторов, связан со снижением энергии активации, необходимой для прохождения химической реакции, направляя ее обходным путем через промежуточные реакции, которые требуют значительно меньшей энергии активации. Так, реакция  $AB \rightarrow A + B$  в присутствии фермента идет следующим образом:  $AB + \Phi \rightarrow AB\Phi$ ;  $AB\Phi \rightarrow A + B\Phi$ ;  $B\Phi \rightarrow B + \Phi$ .

Все ферменты разделяют на два большие класса: *однокомпонентные* и *двухкомпонентные*.

К первому классу относятся ферменты, состоящие только из белка, обладающего каталитическими свойствами, а ко второму классу – ферменты, которые состоят из белка и связанной с ним небелковой части, так называемой активной группой. Для названия активных групп двухкомпонентных ферментов часто используют термин *кофермент*, или *простетическая группа*. У однокомпонентных ферментов роль активных групп выполняют определенные химические группировки, входящие в белок. Эти группировки получили название *активных* или *каталитических* центров.

Одним из свойств ферментов, отличающихся от свойств неорганических катализаторов, является их большая лабильность – зависимость от ряда воздействий: концентрации водородных ионов, температуры, окислительно-восстановительных условий, концентрации некоторых соединений (продуктов обмена веществ), ионов металлов и тому подобное.

Вторая весьма существенная особенность каталитического действия ферментов состоит в том, что оно строго *специфично*, то есть действие ферментов направлено на совершенно определенные химические связи.

По характеру своего каталитического воздействия ферменты разделяются на

шесть классов:

- 1) оксидоредуктазы или окислительно-восстановительные ферменты;
- 2) трансферазы, то есть ферменты, катализирующие перенос различных групп атомов с одной молекулы на другую;
- 3) гидролазы, катализирующие гидролитические реакции;
- 4) лиазы – ферменты, которые отщепляют от субстратов ту или иную группу (не путем гидролиза) с образованием двойной связи или наоборот, присоединяют к двойным связям;
- 5) изомеразы, то есть ферменты, катализирующие реакции изомеризации органических соединений;
- 6) лигазы или синтетазы – к этому классу принадлежат ферменты, которые катализируют синтетические реакции.

Каждый из этих классов подразделяется на подклассы, а эти последние, в свою очередь, на более мелкие группы.

На всех этапах переработки зерна в муку, в процессе его хранения, а также при приготовлении теста и выпечке хлеба, в большей или меньшей степени проявляется активность гидролитических и окислительных ферментов, оказывающих существенное влияние на качество продукта.

В зерне ферменты содержатся в тканях зародыша, алейронового слоя и эндосперма. Это характерные для живых растительных клеток ферменты, обуславливающие специфические функции в процессах обмена веществ.

Из множества ферментов, обнаруженных в зерне злаков, обстоятельному изучению подверглись лишь те, которые оказывают или могут оказать воздействие на качество продуктов переработки зерна. К ним относятся амилазы, протеазы, липазы, липоксигеназы, полифенолоксидазы и другие. Наряду с этим было установлено, что некоторые ферменты зерна могут являться хорошими индикаторами его физиологического состояния. Так, каталаза, являясь очень термолабильной, хорошо отражает понижение всхожести при сушке семенного зерна, и ее активность может служить индикатором для контроля процесса сушки.

Исключительно велико биологическое значение амилаз при созревании и

прорастании зерна, а также в ряде технологических процессов пищевых производств, имеющих в своей основе гидролитические превращения крахмала под влиянием амилаз зерна.

В зерне злаковых культур содержится два специфических фермента, обуславливающих гидролиз крахмала, а именно:

1)  $\alpha$  - 1,4 - глюкангидролаза или  $\alpha$ -амилаза, гидролизующая  $\alpha$ -1,4 - глюкановые связи крахмала и родственных ему полисахаридов, причем эти связи разрываются беспорядочно;

2)  $\alpha$  - 1,4 – глюканмальтогидролаза или  $\beta$  – амилаза, гидролизующая  $\alpha$ -1,4 – глюкановые связи в полисахаридах, последовательно отщепляя остатки мальтозы от нередуцирующих концов цепей.

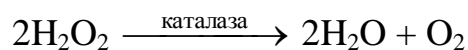
Несмотря на то, что протеазы имеют не менее важное значение для технологии, они изучены значительно меньше, чем амилазы. Причина этого заключается в том, что классические методы изучения протеаз животного происхождения (ферментов, гидролизующих белки) оказались малоэффективными при изучении протеолитических ферментов зерна злаков. Под влиянием протеаз происходят разжижение клейковины, что, в свою очередь, приводит к ухудшению качества выпекаемого хлеба.

Липазы вызывают гидролиз жиров, то есть расщепляют сложные эфиры глицерина с образованием свободных жирных кислот, в результате чего повышается кислотность зерна и муки.

При участии липоксигеназ происходит окисление непредельных жирных кислот, образуются низкомолекулярные карбонильные и карбоксильные соединения, обладающие неприятным запахом и горьковатым вкусом. Этот процесс называют прогорканием жиров (муки).

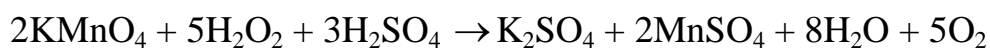
### 3.1 Лабораторная работа № 2. Определение активности каталазы

Каталаза относится к первому классу ферментов (оксидоредуктаз) и катализирует реакцию разложения перекиси водорода на воду и кислород по уравнению:



Каталаза играет важную роль в жизнедеятельности организмов, так как она разрушает ядовитую для клеток перекись водорода, образующуюся в процессе дыхания.

Количественное определение каталазы основано на учете перекиси водорода путем титрования ее перманганатом калия. Реакция идет по уравнению:



О количестве перекиси водорода, разрушенной ферментом, судят по разности количеств 0,1 моль/дм<sup>3</sup> раствора KMnO<sub>4</sub>, израсходованных на титрование в контрольном и рабочем опытах.

Испытуемый материал: солод (проросшее зерно), молоко, овощи (картофель, морковь).

Реактивы: раствор перекиси водорода ω (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) = 1 %, раствор серной кислоты ω (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) = 10 %, раствор перманганата калия С (1/5 KMnO<sub>4</sub>) = 0,1 моль/дм<sup>3</sup>.

Для проведения анализа взвешивают на технохимических весах 5 г солода, 5 г молока или 2 г сырого картофеля или моркови.

Если для анализа взяты солод или молоко, то навеску испытуемого материала помещают в мерную колбу на 100 см<sup>3</sup>, доводят водой до метки и настаивают при комнатной температуре в течение 30 минут, периодически перемешивая содержимое колбы.

Если используют овощи, то навеску продукта растирают с кварцевым песком в ступке, постепенно добавляя от 2 до 3 см<sup>3</sup> воды. Для уменьшения кислой реакции

добавляют на кончике шпателя карбонат кальция до прекращения выделения пузырьков углекислого газа. Растертую массу количественно переносят в мерную колбу на 100 см<sup>3</sup> и доводят водой до метки. Смесь оставляют стоять при комнатной температуре в течение 30 минут.

После настаивания жидкость отфильтровывают через сухой складчатый фильтр и из прозрачного раствора отбирают пипеткой две порции по 20 см<sup>3</sup> (одна опытная и одна контрольная) и переносят каждую в отдельную коническую колбу на 200 см<sup>3</sup>. Контрольную пробу кипятят 3 минуты для инактивации фермента.

К опытной и контрольной пробам прибавляют по 20 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, по 4 см<sup>3</sup> перекиси водорода, и оставляют на 20 минут при комнатной температуре для действия фермента. По истечении 20 минут к пробам прибавляют по 5 см<sup>3</sup> серной кислоты, и оставшуюся (не разложившуюся) перекись водорода титруют раствором перманганата калия.

Активность каталазы выражают в микромолях перекиси водорода, разложившейся под действием фермента за 1 минуту в расчете на 1 г исследуемого материала.

Активность каталазы определяют по формуле:

$$X = \frac{(ka - kb) \cdot 100 \cdot 50}{P \cdot 20 \cdot 20}, \quad (1)$$

где  $X$  – активность каталазы;

$a$  – количество 0,1 моль/дм<sup>3</sup> раствора  $\text{KMnO}_4$ , израсходованного на титрование контрольного раствора, см<sup>3</sup>;

$b$  – количество 0,1 моль/дм<sup>3</sup> раствора  $\text{KMnO}_4$ , израсходованного на титрование опытного раствора, см<sup>3</sup>;

$K$  – поправка к титру;

100 – общий объем экстракта, см<sup>3</sup>;

50 – коэффициент пересчета на микромоли  $\text{H}_2\text{O}_2$ ;

20 – объем ферментного раствора, см<sup>3</sup>;

20 – время ферментативной реакции, минут;

$P$  – навеска испытуемого материала, взятого для анализа, г.

### 3.2 Лабораторная работа № 3. Колориметрический метод определения активности $\alpha$ - и $\beta$ -амилазы

В проросшем зерне пшеницы, ржи, ячменя содержатся активные  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилазы. Они хорошо растворяются в воде и могут быть получены в виде водной вытяжки. Под действием амилаз в растениях происходит гидролиз высокополимерного углевода – крахмала – с образованием декстринов и мальтозы.

Ферменты  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилазы проявляют свою активность в несколько разных условиях температуры и реакции среды. На этом основано их разделение.  $\beta$ -амилаза разрушается при нагревании до 70 °С, тогда как  $\alpha$ -амилаза при этой температуре сохраняет свою активность.  $\alpha$ -Амилаза проявляет наибольшую активность в слабокислой среде, при рН от 6,3 до 5,6. При более кислой реакции (при рН от 4,8 до 3,3) этот фермент разрушается. Фермент  $\beta$ -амилаза в кислой среде не инактивируется. Он имеет оптимум действия при рН 4,8.

Методы определения активности амилазы основаны либо на учете количества сахара, образовавшегося при действии фермента на крахмал, либо на учете количества нерасщепленного ферментом крахмала, которое определяют фотометрически после обработки раствором йода.

Испытуемый материал: мука, солод (проросшее зерно), проростки.

Реактивы: ацетатный буфер с рН 5,5; раствор хлорида натрия  $\omega$  (NaCl) = 1 %; раствор крахмала  $\omega$  = 10 %, раствор соляной кислоты  $C$  (HCl) = 1 моль/дм<sup>3</sup>, раствор соляной кислоты  $C$  (HCl) = 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, раствор йода  $\omega$  = 0,3 % в 3 % растворе йодистого калия.

Навеску от 0,5 до 1 г муки или проростков растирают в ступке с небольшим количеством 1 % раствора NaCl и переносят в коническую колбу на 50 см<sup>3</sup>.

Соотношение между навеской и раствором NaCl 1:10 или 1:20. Содержимое колбы хорошо перемешивают и оставляют стоять при комнатной температуре в течение 30 минут, периодически встряхивая. Затем фильтруют через плотный складчатый фильтр. При трудном фильтровании можно сочетать фильтрование и центрифугирование. Прозрачный раствор используют как ферментный препарат.

Для определения активности  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилазы берут 4 пробирки (2 опытные и 2 контрольные) и вносят в них по 3 см<sup>3</sup> ацетатного буфера и 3 см<sup>3</sup> 2 % раствора крахмала. Смесь нагревают на водяной бане или в термостате до 40 °С. Затем в опытные пробирки вносят от 0,2 до 1,0 см<sup>3</sup> ферментного препарата (в зависимости от активности амилаз в объекте изучения), а в контрольные – такое же количество H<sub>2</sub>O. Содержимое пробирок перемешивают и ставят в термостат при 40 °С на 30 или 60 минут. После инкубации в каждую пробирку сразу приливают по 2 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты C(HCl) = 1 моль/дм<sup>3</sup> для прекращения действия амилаз.

Для выявления непрореагировавшего с ферментом крахмала проводят реакцию с йодом. В мерные колбы на 50 см<sup>3</sup> приливают около 30 см<sup>3</sup> воды, 1 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты C (HCl) = 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, 5 капель 0,3 % раствора иода и вносят из каждой пробирки по 0,5 см<sup>3</sup> смеси. Содержимое колб хорошо перемешивают, доводят до метки водой и колориметрируют на фотоэлектроколориметре при красном светофильтре или на спектрофотометре при 595 нм в кювете с рабочей длиной 1 см.

Для определения активности  $\alpha$ -амилазы в коническую колбу на 100 см<sup>3</sup> приливают 5 см<sup>3</sup> фильтрата (ферментного препарата), добавляют на кончике ножа сухого уксуснокислого кальция и выдерживают в течение 15 минут в ультратермостате или на водяной бане при 70 °С (допускаются колебания температуры не более 0,5 °С). Затем содержимое колбы быстро охлаждают в сосуде с холодной водой. При таком прогревании  $\beta$ -амилаза полностью инактивируется, а  $\alpha$ -амилаза сохраняет свою активность. Далее определение  $\alpha$ -амилазной активности сводится к описанной выше процедуре.

Действие обоих ферментов выражают в миллиграммах гидролизованного крахмала в условиях опыта (за 30 минут или 1 час) на 1 г муки (проростков).

Активность  $\beta$ -амилазы определяют по разности между суммарной активностью  $\alpha$ - и  $\beta$ -амилаз и активностью  $\alpha$ -амилазы. Активность амилаз на 1 г муки за 1 час рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(D - D_1) \cdot a \cdot V}{D \cdot m \cdot V_1}, \quad (2)$$

где  $D$  – оптическая плотность контрольного раствора;

$D_1$  – оптическая плотность опытного раствора;

$a$  – количество внесенного крахмала (60 мг);

$m$  – масса навески, г;

$V$  – объем исходной ферментной вытяжки,  $\text{см}^3$ ;

$V_1$  – объем вытяжки, взятой для инкубирования,  $\text{см}^3$ .

### 3.3 Вопросы к защите лабораторных работ № 2,3

- 1 Что представляют собой ферменты?
- 2 В чем заключается каталитическая функция ферментов?
- 3 Что такое энергия активации?
- 4 Объясните механизм ферментативного катализа.
- 5 Из чего состоят ферменты?
- 6 Чем отличаются ферменты от неорганических катализаторов?
- 7 Как зависит активность ферментов от: температуры реакции, кислотности среды, концентрации субстрата?
- 8 Что такое активаторы ферментов? Какие Вы знаете виды активаторов?
- 9 Что такое ингибиторы? Их классификация.
- 10 Что Вы понимаете под специфичностью действия ферментов? Какие вы знаете виды специфичности?



11 На какие классы и по какому принципу подразделяют ферменты?

12 Какие Вы знаете ферменты: а) 1 класса, входящие в состав зерна и продуктов его переработки; б) 2 класса; в) 3 класса? Охарактеризуйте их.

## 4 Углеводы. Моно- и дисахариды

Углеводы образуются в растениях в результате фотосинтеза и составляют большую часть сухой массы растений.

Углеводы играют исключительную роль в жизни растений, они являются структурными элементами растительных тканей, запасными веществами, и служат источником образования различных веществ: белков, жиров, органических кислот, гликозидов, дубильных веществ и так далее.

Все углеводы делятся на две большие группы: моносахариды (простые сахара), представляющие собой по химической природе альдегидоспирты (альдозы) или кетонспирты (кетозы), и полисахариды – продукты полимеризации моносахаридов.

Среди моносахаридов наиболее распространены в природе пентозы и гексозы, соответственно, с пятью и шестью атомами углерода в молекуле.

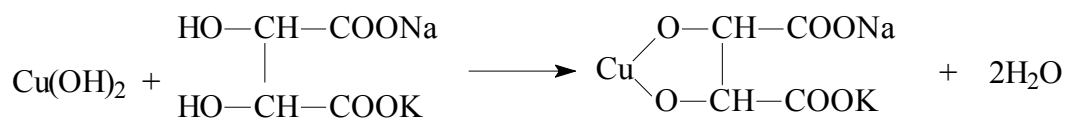
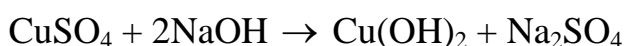
Полисахариды, в свою очередь, делятся на полисахариды I-го порядка (олигосахариды), состоящие из небольшого количества остатков моноз (к ним относятся дисахариды и трисахариды), и полисахариды II-го порядка, состоящие из большого количества остатков моноз. Важнейшими олигосахаридами являются дисахариды: мальтоза, целлобиоза, лактоза, трегалоза, сахароза; из полисахаридов II-го порядка наибольший интерес представляют крахмал, гликоген, клетчатка, пектиновые вещества.

Сахара, имеющие свободные альдегидные или кетонные группы (в циклической форме – свободный гликозидный гидроксил), обладают способностью восстанавливать окисные металлы, например, щелочной раствор окисной меди. При этом медь восстанавливается до закиси меди, а свободная карбонильная (альдегидная или кетонная) группа сахара окисляется. Сахара, которые дают эту реакцию, носят название восстанавливающих (редуцирующих) сахаров. Реакция восстановления окисной меди до закисной лежит в основе количественного определения сахаров по методу Бертрана.

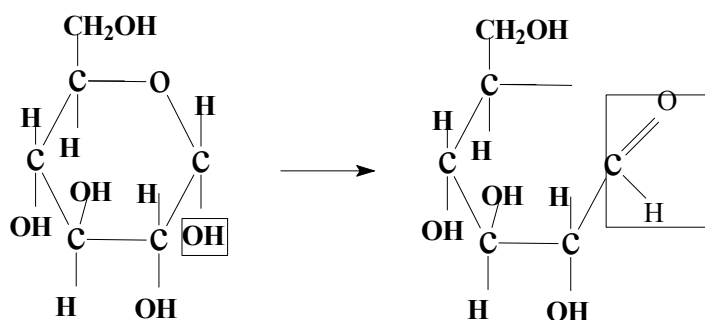
## 4.1 Лабораторная работа № 4. Определение восстанавливающих сахаров по методу Бертрана

Метод Бертрана основан на способности свободной альдегидной или кетонной группы молекулы сахара взаимодействовать со щелочным раствором окисной меди (реактивом Фелинга) и восстанавливать ее до закисной меди, выпадающей в виде осадка красного цвета. По количеству образовавшейся закиси меди судят о содержании сахара в испытуемом растворе.

Реактив Фелинга представляет собой смесь равных объемов сернокислой меди  $\omega$  ( $\text{CuSO}_4$ ) = 4 % и щелочного раствора сегнетовой соли. При смешивании сернокислой меди со щелочью выпадает осадок гидрата окиси меди. Сегнетова соль препятствует выпадению осадка, образуя комплексное соединение.



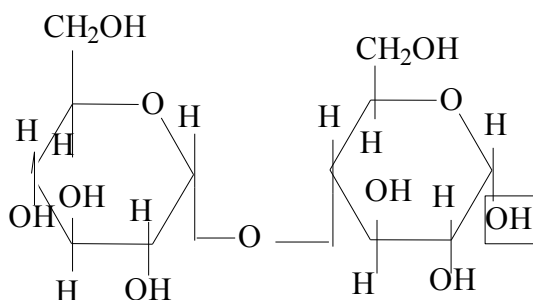
В щелочной среде циклическая (полуацетальная) форма сахара полностью переходит в ациклическую и на месте свободного гликозидного гидроксила образуется альдегидная (у альдоз) и кетонная (у кетоз) группа. Так, например, превращение циклической формы глюкозы в ациклическую протекает следующим образом:



Все моносахариды имеют свободный гликозидный гидроксил и могут взаимодействовать с реактивом Фелинга. Дисахариды, в зависимости от типа связи,

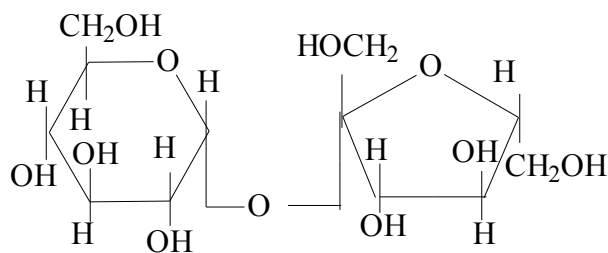
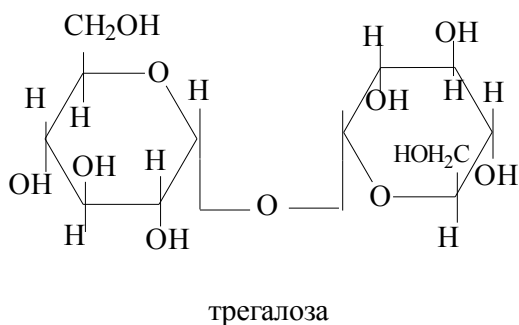
подразделяются на восстанавливающие – имеющие свободный гликозидный гидроксил, и невосстанавливающие – не имеющие свободного гликозидного гидроксида.

Примером дисахарида, восстанавливающего окисную медь до закисной меди, может служить мальтоза:



В водном растворе на месте свободного гликозидного гидроксила мальтозы образуется альдегидная группа, взаимодействующая с реактивом Фелинга. В молекуле мальтозы один гликозидный гидроксил приходится на два остатка глюкозы, поэтому восстанавливающая способность мальтозы примерно в два раза слабее, чем у глюкозы.

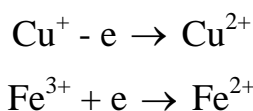
Примером дисахарида, не восстанавливающего Фелингову жидкость, может служить трегалоза (грибной сахар), в молекуле которой два остатка глюкозы соединяются за счет обоих гликозидных гидроксиллов. Важнейшим представителем невосстанавливающих дисахаридов является сахароза, в молекуле которой остаток глюкозы и остаток фруктозы соединены так же, как и у трегалозы – через гликозидные гидроксиллы.



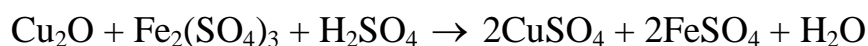
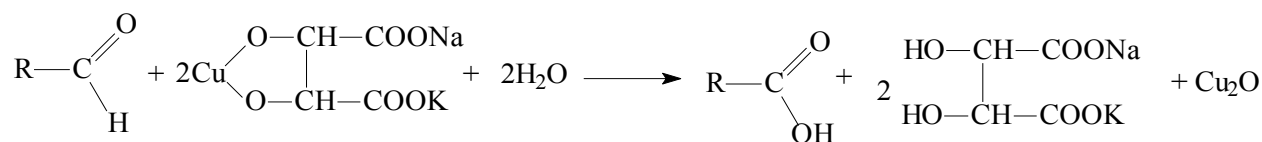
сахароза

При взаимодействии восстанавливающих сахаров с реактивом Фелинга количество образующейся закисной меди зависит от целого ряда факторов. Поэтому при перерасчете закисной меди на сахар пользуются эмпирическими таблицами. Эти таблицы составлены при строго определенных условиях протекания реакции. Проведение анализа должно соответствовать этим условиям, без каких либо отклонений.

Выпавшую в осадок закисную медь определяют методом объемного титрования. Для этого предварительно отмытый от избытка реактива Фелинга осадок закисной меди обрабатывают раствором железосаммиачных квасцов. Закисная медь переходит в окисную, а эквивалентное количество окисного железа восстанавливается до закисного.



Количество восстановленного железа, эквивалентное количеству закисной меди, определяют титрованием раствором перманганата калия. Весь процесс сводится к следующим реакциям:



Титр перманганата калия устанавливается по меди, что дает возможность сразу пересчитать объем пошедшего на титрование перманганата на эквивалентное количество миллиграммов закисной меди (1 см<sup>3</sup> 0,1 моль/дм<sup>3</sup> KMnO<sub>4</sub> соответствует 6,36 мг меди).

Метод позволяет провести определение при содержании восстанавливающих сахаров от 10 до 100 мг в 20 см<sup>3</sup> раствора. Наилучшие результаты получаются при содержании в пробе от 50 до 80 мг сахара.

Испытуемый материал: мука, солод, корнеплоды, пищевые продукты.

Реактивы: раствор сернокислой меди ω (CuSO<sub>4</sub>) = 6 %, раствор едкого натра

$\omega$  (NaOH) = 1,25 %, раствор Фелинга I (сернокислая медь)  $\omega$  (CuSO<sub>4</sub>) = 4 %, раствор Фелинга II (щелочной раствор сегнетовой соли), раствор железосаммиачных квасцов, раствор перманганата калия  $C\left(\frac{1}{5}KMnO_4\right) = 0,1$  моль/дм<sup>3</sup>, раствор уксуснокислого свинца  $\omega$  ((CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Pb) = 10 %.

10 г испытуемого материала (солод или другие) переносят в мерную колбу на 100 см<sup>3</sup> и обрабатывают 40 см<sup>3</sup> реактива Барнштейна. Для этого к навеске сначала приливают 20 см<sup>3</sup> сернокислой меди  $\omega$  (CuSO<sub>4</sub>) = 6 %, перемешивают, добавляют 20 см<sup>3</sup> едкого натра  $\omega$  (NaOH) = 1,25 % и еще раз перемешивают. Затем в колбу доливают воды до метки и помешают ее в водяную баню или термостат при температуре от 45 °С до 50 °С на 20 минут для лучшего осаждения белков. Через 20 минут содержимое колбы охлаждают и фильтруют через сухой складчатый фильтр. В полученном прозрачном фильтрате определяют восстанавливающие сахара по методу Бертрана.

Для этого 20 см<sup>3</sup> фильтрата переносят в коническую колбу на 100 см<sup>3</sup>. В колбу приливают 40 см<sup>3</sup> реактива Фелинга, который готовят непосредственно перед определением из равных объемов двух заранее приготовленных растворов (20 см<sup>3</sup> сернокислой меди  $\omega$  (CuSO<sub>4</sub>) = 4 % – Фелинг I и 20 см<sup>3</sup> щелочного раствора сегнетовой соли – Фелинг II).

Раствор Фелинга готовят в цилиндре. Запрещается пользоваться для этой цели пипетками во избежание сильного ожога рта щелочью. После приготовления реактива колбочку помещают в кипящую водяную баню. Через 7 минут колбочку вынимают из бани и дают некоторое время для оседания закисной меди. Параллельно нагревают колбу с небольшим количеством воды для промывания осадка. Все последующие операции проводятся очень быстро и поэтому требуют хорошего навыка.

Горячую жидкость из колбочки сливают через стеклянный фильтр при слабом отсасывании на колбе Бунзена. Часть закисной меди попадает на фильтр и задерживается в его верхнем слое. Основное количество осадка желательно не переносить на фильтр, а промывать и растворять в колбочке. Колбочку несколько

раз ополаскивают горячей водой. В течение всего процесса промывания и растворения осадка надо следить, чтобы осадок в колбочке и на фильтре всегда был покрыт слоем жидкости во избежание окисления его кислородом воздуха. Окончив промывание, переносят фильтр на другую чистую колбу Бунзена, отмеривают цилиндром от 5 до 10 см<sup>3</sup> раствора железоммиачных квасцов и растворяют им оставшийся в колбе осадок закиси меди. Когда осадок растворится, начинают слабо отсасывать жидкость, одновременно промывая колбочку и фильтр водой. При полном растворении осадка на фильтре не остается темных включений.

Раствор, собранный в колбе Бунзена, титруют перманганатом калия до появления розовой окраски, удерживающейся в течение 1 минуты. Количество миллилитров перманганата, израсходованного на титрование, умножают на его титр по меди (для 0,1 моль/дм<sup>3</sup> раствора KMnO<sub>4</sub> он равен 6,36 мг Cu<sub>2</sub>O), по таблице находят количество сахара, соответствующее данному количеству меди, и выражают его в процентах к весу испытуемого материала.

При работе с солодом пользуются данными таблицы в приложении А.

Корнеплоды перед анализом тщательно моют и измельчают на терке. Около 1 г измельченного продукта взвешивают в металлическом или стеклянном бюксе и помещают в сушильный шкаф при температуре 130 °С на 60 минут до полного высушивания, после чего рассчитывают содержание влаги в продукте по формуле:

$$W = \frac{(a - b) \cdot 100}{m} \%, \quad (3)$$

где  $a$  – масса бюкса с навеской до высушивания, г;

$b$  – масса бюкса с навеской после высушивания, г;

$m$  – масса навески, г.

Навеску измельченного корнеплода массой 5 г переносят в мерную колбу на 100 см<sup>3</sup>, прибавляют от 70 до 80 см<sup>3</sup> горячей воды и для экстракции сахаров, выдерживают 30 минут на водяной бане при температуре от 80 °С до 90 °С,

периодически взбалтывая. После экстракции колбу охлаждают. Для осаждения белков и других примесей добавляют 5 см<sup>3</sup> уксуснокислого свинца (или 20 см<sup>3</sup> реактива Барнштейна), перемешивают и доводят водой до метки. После этого жидкость фильтруют через складчатый фильтр в сухой стакан или колбу. Берут 20 см<sup>3</sup> фильтрата, переносят его в мерную колбу на 100 см<sup>3</sup> и добавляют от 3 до 5 см<sup>3</sup> насыщенного раствора сульфата натрия для удаления избытка уксуснокислого свинца. Раствор в колбе перемешивают и доводят до метки. После отстаивания раствор фильтруют, фильтрат служит для определения сахаров. Далее последовательность проведения анализа точно такая же, как и в предыдущем описании, то есть к 20 см<sup>3</sup> фильтрата добавляют 40 см<sup>3</sup> реактива Фелинга, кипятят 7 минут, выпавший осадок закиси меди обрабатывают раствором железосаммиачных квасцов и титруют перманганатом калия. Для расчетов используют таблицу в приложении Б.

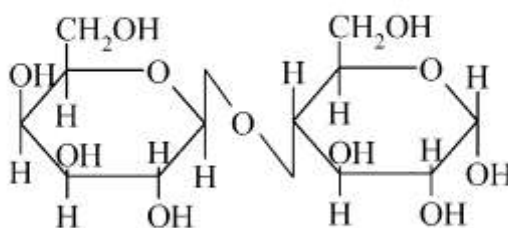
#### **4.2 Лабораторная работа № 5. Определение массовой доли лактозы йодометрическим методом**

Основным углеводом молока является лактоза, которая выполняет главным образом энергетическую функцию - на нее приходится около 30 % энергетической ценности молока. Содержание лактозы в молоке довольно постоянно и составляет от 4,5 % до 5,2 %.

Лактоза – дисахарид, построенный из остатков глюкозы и галактозы, соединенных связью 1 → 4



лактоза



..

Свободный полуацетальный гидроксил в глюкозном остатке лактозы обуславливает реакции, характерные для восстанавливающих сахаров. Например, лактоза легко окисляется слабыми окислителями (жидкость Фелинга, йод и другие) с образованием альдобиноновой (лактобиноновой) кислоты. Это свойство лактозы используют для количественного определения ее в молоке (методы Бертрана и йодометрический).

Йодометрический метод основан на окислении редуцирующих сахаров (лактоза, глюкоза), содержащих альдегидную группу, йодом в щелочной среде. Метод является арбитражным.

Испытуемый материал: молоко.

Реактивы: раствор сернокислой меди ω (CuSO<sub>4</sub>) = 6 %, раствор едкого натра ω (NaOH) = 1,25 %, раствор едкого натра С (NaOH) = 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, едкого натра С (NaOH) = 1 моль/дм<sup>3</sup>, раствор соляной кислоты С (HCl) = 0,5 моль/дм<sup>3</sup>, раствор Фелинга I (сернокислая медь) ω (CuSO<sub>4</sub>) = 4 %, раствор Фелинга II (щелочной раствор сегнетовой соли), раствор железоммиачных квасцов, раствор перманганата калия С (1/5 KMnO<sub>4</sub>) = 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, раствор уксуснокислого свинца ω ((CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Pb) = 10 %, раствор йода С (I<sub>2</sub>) = 0,1 моль/ дм<sup>3</sup>, раствор тиосульфата натрия С (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) = 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, 1 % раствор крахмала.

25 г молока, взвешенного с точностью до 0,01 г, переносят в мерную колбу на 500 см<sup>3</sup>, приливают до половины колбы дистиллированную воду и 10 см<sup>3</sup> реактива Фелинга I. Туда же вносят 4 см<sup>3</sup> раствора С (NaOH) = 1 моль/ дм<sup>3</sup>. Жидкость перемешивают после добавления каждого реактива. Доводят до метки водой,

перемешивают, оставляют на 30 минут. Отстоявшуюся жидкость фильтруют в сухую колбу через складчатый бумажный фильтр, удаляя первые порции фильтрата (от 20 до 40 см<sup>3</sup>).

50 см<sup>3</sup> фильтрата, что соответствует 2,5 г молока, переносят в коническую колбу на 300 см<sup>3</sup> с притертой или резиновой пробкой, приливают 25 см<sup>3</sup> раствора йода  $C(I_2) = 0,1$  моль/дм<sup>3</sup> и медленно при непрерывном помешивании из бюретки 20 см<sup>3</sup> раствора гидроксида натрия  $C(NaOH) = 0,1$  моль/дм<sup>3</sup>. Закрыв колбу пробкой, оставляют ее в темном месте на 20 минут при температуре 20 °С. Затем прибавляют 8 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты  $C(HCl) = 0,5$  моль/дм<sup>3</sup> и титруют выделившийся йод раствором тиосульфата натрия  $C(Na_2S_2O_3) = 0,1$  моль/дм<sup>3</sup> сначала без прибавления индикатора до получения светло-желтого раствора, затем прибавляют 1 см<sup>3</sup> 1% раствора крахмала и продолжают титровать по каплям, до исчезновения синей окраски.

Для контрольного опыта в другую такую же колбу отмеривают 25 см<sup>3</sup> раствора йода  $C(I_2) = 0,1$  моль/дм<sup>3</sup>, 25 см<sup>3</sup> воды, и добавляют при непрерывном помешивании 20 см<sup>3</sup> раствора гидроксида натрия  $C(NaOH) = 0,1$  моль/дм<sup>3</sup> и, закрыв колбу пробкой, оставляют в темном месте на 20 минут при температуре 20 °С. Дальше определение проводят так же, как в опытной колбе.

Массовую долю лактозы в молоке рассчитывают по формуле:

$$W = \frac{0,01801(V_1 - V) \cdot 100 \cdot 0,97}{m} = 0,699(V_1 - V),\% , \quad (4)$$

где  $V_1$  – объем раствора тиосульфата натрия, пошедший на титрование йода в контрольном опыте, см<sup>3</sup>;

$V$  – объем раствора тиосульфата натрия, пошедший на титрование йода при определении в фильтрате, см<sup>3</sup>;

$m$  – масса молока в 50 см<sup>3</sup> фильтрата, равная 2,5 г;

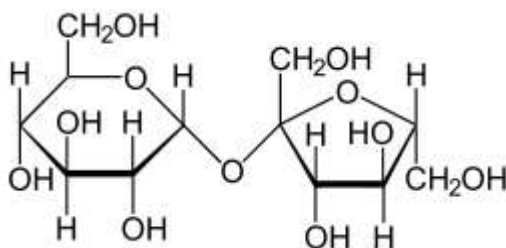
0,97 – поправка, установленная эмпирически;

0,01801 – масса лактозы, моногидрата, соответствующая 1 см<sup>3</sup> раствора йода,  $C(I_2) = 0,1$  моль/дм<sup>3</sup> г.

#### 4.3 Лабораторная работа № 6. Определение содержания сахарозы

Сахароза – важнейший дисахарид, получают из сахарной свеклы и сахарного тростника. Содержится и во многих других растительных продуктах – березовом соке, соке клена, дыне, моркови. Широкое применение сахароза получила в производстве кондитерских изделий и разнообразных пищевых продуктов.

Сахароза образована остатком глюкозы и фруктозы, не имеет свободного полуацетального гидроксила, не имеет восстанавливающих свойств. Для количественного определения сахарозы необходимо сначала провести ее гидролиз.



Испытуемый материал: корнеплоды (морковь), фрукты (груша, виноград), кондитерские изделия.

Реактивы: раствор соляной кислоты  $\omega$  (HCl) = 20 %, раствор едкого натра  $\omega$  (NaOH) = 10 %, лакмусовая бумага, фенолфталеин, раствор уксуснокислого свинца  $\omega$   $[(CH_3COO)_2Pb]$  = 10 %, сульфат натрия  $Na_2SO_4$  (насыщенный раствор), раствор Фелинг I  $\omega$   $(CuSO_4)$  = 4 %, щелочной раствор сегнетовой соли – Фелинг II, раствор железосамых квасцов, раствор перманганата калия  $C(\frac{1}{5}KMnO_4) = 0,1$  моль/л.

Навеску измельченного материала массой 5 г переносят в мерную колбу на 100 см<sup>3</sup>, прибавляют от 70 до 80 см<sup>3</sup> горячей воды, для экстракции сахаров выдерживают от 20 до 30 минут на водяной бане при температуре от 80 °С до

90 °С, периодически взбалтывая. После экстракции колбу охлаждают. Для осаждения белков и других примесей добавляют 5 см<sup>3</sup> раствора уксуснокислого свинца, перемешивают и доводят водой до метки. После этого жидкость фильтруют через складчатый фильтр в сухой стакан или колбу. 25 см<sup>3</sup> фильтрата вносят в мерную колбу емкостью 50 см<sup>3</sup>, нагревают на водяной бане в течение 3 минут при 70 °С. Затем в колбу добавляют 2 см<sup>3</sup> ω (HCl) = 20% и снова нагревают при той же температуре 10 минут. По истечении этого времени колбу с раствором охлаждают холодной водой, добавляют 2 капли фенолфталеина. Добавляя каплями ω (NaOH) = 10 %, нейтрализуют раствор до слабокислой реакции. Объем жидкости доводят до метки, перемешивают. Переносят 20 см<sup>3</sup> жидкости в мерную колбу на 100 см<sup>3</sup> и добавляют 5 см<sup>3</sup> насыщенного раствора сульфата натрия для удаления избытка уксуснокислого свинца. Раствор в колбе перемешивают и доводят до метки. После отстаивания раствор фильтруют. 20 см<sup>3</sup> фильтрата переносят в коническую колбу на 100 см<sup>3</sup>. В колбу приливают 40 см<sup>3</sup> реактива Фелинга, который готовится в цилиндре непосредственно перед применением из равных объемов двух заранее приготовленных растворов (20 см<sup>3</sup> Фелинга 1 ω (CuSO<sub>4</sub>) = 4 % и 20 см<sup>3</sup> щелочного раствора сегнетовой соли – Фелинг 2). Запрещается пользоваться для этой цели пипетками во избежание сильного ожога рта щелочью. После приготовления реактива колбочку ставят на плитку и нагревают до кипения. Кипятят 5 минут на слабом огне. Через 5 минут колбочку снимают с плитки и дают некоторое время для оседания закисной меди (осадок красного цвета). Отмеряют цилиндром от 5 до 10 см<sup>3</sup> раствора железоммиачных квасцов и растворяют им осадок закиси меди. Титруют перманганатом калия до появления розовой окраски, удерживающейся в течение 1 минуты. Количество перманганата натрия (см<sup>3</sup>), израсходованного на титрование, умножают на его титр по меди (для 0,1 моль/ дм<sup>3</sup> раствора KMnO<sub>4</sub> он равен 6,36 мг Cu<sub>2</sub>O), по таблице (приложение А) находят количество сахара, соответствующее данному количеству меди и выражают его в процентах к весу испытуемого материала.

#### 4.4 Вопросы к защите лабораторных работ № 4, 5, 6

- 1 Что представляют собой углеводы, на какие классы они делятся?
- 2 Каковы функции углеводов в живой клетке?
- 3 На какие классы делятся моносахариды? Какие функциональные группы они содержат?
- 4 Что называют мутаротацией?
- 5 Какие таутомерные формы глюкозы и фруктозы вы знаете?
- 6 При помощи каких ферментов осуществляется превращение глюкозы во фруктозу?
- 7 Каков механизм образования гликозидного (полуацетального) гидроксила?
- 8 Что понимают под редуцирующими веществами?
- 9 За счет каких функциональных групп проявляются восстанавливающие свойства моносахаридов?
- 10 Каков механизм образования дисахаридов?
- 11 На какие классы делятся дисахариды? Что лежит в основе этой классификации?
- 12 На каких свойствах основан метод количественного анализа сахаров по Бертрану?
- 13 Какие Вы знаете восстанавливающие дисахариды? Почему их так называют?
- 14 Какие Вы знаете невосстанавливающие дисахариды? В чем их структурное отличие от восстанавливающих дисахаридов?
- 15 Что такое инверсия? Под влиянием чего она может происходить?
- 16 Что называют инвертным сахаром?
- 17 При помощи каких методов анализа можно обнаружить протекание инверсии?
- 18 Дайте характеристику следующим дисахаридам – мальтоза, сахароза, лактоза. Приведите их структурные формулы, опишите свойства. В состав каких

пищевых продуктов они входят? Какое значение эти сахара имеют для пищевых технологий?

## 5 Полисахариды. Крахмал и клетчатка

Крахмал – главное из веществ, содержащихся в зерне злаков. Он представляет собой полимер, состоящий из остатков  $\alpha$ -D-глюкозы. В зерне крахмал находится в виде крахмальных зерен различного размера и формы. Крахмал дает очень характерную реакцию с раствором йода – окрашивается в синий цвет. Эта реакция применяется для обнаружения и количественного определения крахмала.

Крахмальные зерна при нагревании в воде образуют крахмальный клейстер. Клейстеризация крахмала разного происхождения наступает при различной температуре. Пшеничный крахмал клейстеризуется при 62,5 °С, ржаной – при несколько более низкой температуре.

Крахмал состоит из амилозы и амилопектина. Эти вещества сильно различаются по своим физическим и химическим свойствам. Так, например, от йода амилоза окрашивается в синий цвет, а амилопектин – в красно-фиолетовый. Они различаются и по растворимости: амилоза легко растворяется в теплой воде и дает растворы со сравнительно невысокой вязкостью, в то время как амилопектин растворяется в воде лишь при нагревании и под высоким давлением, и дает очень вязкие растворы.

Амилоза и амилопектин отличаются по своему химическому строению. В молекуле амилозы отдельные остатки глюкозы связаны между собой в виде неразветвленной нити. Молекулярная масса амилозы колеблется от  $3 \cdot 10^5$  до  $1 \cdot 10^6$ . Если амилоза представляет собой линейный полимер, то молекула амилопектина сильно разветвлена. Молекулярная масса амилопектина достигает сотен миллионов.

Разнообразные методы определения содержания крахмала основаны на его расщеплении и учете образовавшихся промежуточных или конечных продуктов гидролиза. Одним из наиболее быстрых, хотя и менее точных методов определения содержания крахмала является метод Эверса.

Определение содержания крахмала по методу Эверса основано на способности фракций крахмала, полученных в процессе гидролиза, поворачивать

плоскость поляризованного луча. Величина угла поворота для одного и того же вещества пропорциональна его концентрации в растворе.

### 5.1 Лабораторная работа № 7. Определение содержания крахмала

Испытуемый материал: мука, размолотое зерно, картофель, крупа.

Реактивы: раствор соляной кислоты  $\omega$  (HCl) = 1,124 %, раствор гексацианоферрата калия  $\omega$  ( $K_4[Fe(CN)_6]$ ) = 15 %.

В мерную колбу на 100 см<sup>3</sup> вносят 5 г тонкоизмельченного материала (зерно, мука, крупа, картофель) и приливают 25 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты. Смесь тщательно взбалтывают, чтобы не оставалось комочков, снова приливают 25 см<sup>3</sup> той же кислоты, смывая частички муки, приставшие к горлу колбы, все перемешивают и нагревают колбу 15 минут в кипящей водяной бане. После гидролиза крахмала в колбу приливают 30 см<sup>3</sup> холодной дистиллированной воды, содержимое колбы охлаждают до 20 °С и для осаждения белка приливают 10 см<sup>3</sup> раствора желтой кровяной соли с массовой долей  $\omega$  ( $K_4[Fe(CN)_6]$ ) = 15 %. Содержимое колбы доводят дистиллированной водой до метки и фильтруют через сухой складчатый фильтр в сухую колбу. Совершенно прозрачный фильтрат наливают в поляризационную трубку так, чтобы в ней не оставалось пузырьков воздуха, затем трубку переносят в поляриметр и определяют угол вращения. Содержание крахмала определяют по формуле:

$$X = \frac{\alpha \cdot 100 \cdot 100}{[\alpha]_D^{20} \cdot P \cdot l \cdot (100 - W)} \cdot 100 \cdot 0,3469, \quad (5)$$

где X – содержание крахмала, %

$\alpha$  – угол вращения в градусах;

P – навеска муки, г;

l – длина поляризационной трубки, дм;



$W$  – влажность испытуемого вещества, %;

$[\alpha]_D^{20}$  – удельное вращение декстринов;

0,3469 – величина переводного коэффициента с круглой шкалы поляриметра на нормальную шкалу сахариметра (одно деление нормальной шкалы равно 0,3469 градуса).

Для каждого оптически активного вещества характерной константой является его удельное вращение. Удельным вращением называется угол вращения, который имеет раствор, содержащий в  $100 \text{ см}^3$  100 г вещества при длине трубки 1 дм. Его выражают через  $[\alpha]_D^{20}$ , где 20 означает температуру раствора, а D – линию спектра (натриевое пламя).

Удельное вращение фракций, полученных из крахмала различных культур, в градусах:

картофеля – 194,5	пшеницы – 182,0
риса – 183,9	ячменя – 181,5
ржи – 184,0	овса – 181,3

### *Клетчатка*

Клетчатка (целлюлоза)  $(C_6H_{12}O_{11})_n$ , представляет собой наиболее широко распространенный полисахарид растений, состоящий из остатков  $\beta$ -D-глюкозы и образующий главную составную часть клеточных стенок. Основные источники клетчатки – волокно хлопчатника, волокнистые растения (лен, конопля), солома, древесина. В растениях клетчатка тесно связана с лигнином, гемицеллюлозой, пектиновыми веществами, смолами, липидами. Клетчатка нерастворима в воде, в органических растворителях, а также в разбавленных кислотах и щелочах. Обладает большой механической прочностью. Организмом человека клетчатка не усваивается, но, тем не менее, является важным источником пищевых волокон.

## 5.2 Лабораторная работа № 8. Определение содержания клетчатки

### *Опыт 1 Определение клетчатки по Кюршнеру и Ганеку*

Испытуемый материал: семена растений

Реактивы: смесь (по объему 1:10) концентрированная азотная кислота  $\text{HNO}_3$  ( $\rho = 1,44 \text{ г/см}^3$ ) и раствор уксусной кислоты  $\omega (\text{CH}_3\text{COOH}) = 80 \%$ ; диэтиловый эфир; этиловый спирт.

Навеску около 1 г крупноизмельченных семян помещают в колбу на  $150 \text{ см}^3$ , приливают  $40 \text{ см}^3$  смеси кислот; закрыв колбу, нагревают ее на песчаной бане в течение 40 минут. Полученный белый осадок отфильтровывают через предварительно взвешенный фильтр. Осадок промывают небольшими порциями дистиллированной воды и затем  $100 \text{ см}^3$  смеси спирта с эфиром. Полученный осадок (клетчатку) высушивают на фильтре до постоянного веса при температуре  $105 \text{ }^\circ\text{C}$ . Процентное содержание клетчатки вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(B_1 - B) \cdot 100}{H}, \quad (6)$$

где  $X$  – содержание клетчатки, %;

$B_1$  – вес фильтра с сухим осадком, г;

$B$  – вес фильтра без осадка, г;

$H$  – навеска, г.

### *Опыт 2 Определение содержания клетчатки по методу Геннеберга и Штомана*

Испытуемый материал: семена растений, отруби и другие

Реактивы: раствор серной кислоты  $\omega (\text{H}_2\text{SO}_4) = 5 \%$ ; раствор едкого калия  $\omega (\text{KOH}) = 5 \%$ .

2 г испытуемого материала высыпают в стакан емкостью  $400 \text{ см}^3$ , на котором делают метки по  $50 \text{ см}^3$  (всего  $200 \text{ см}^3$ ). Навеску заливают водой до  $50 \text{ см}^3$ ,

добавляют 50 см<sup>3</sup> серной кислоты и воды до 200 см<sup>3</sup> и ставят на водяную баню. По мере выкипания в стакан подливают дистиллированную воду, чтобы общий объем жидкости оставался на уровне 200 см<sup>3</sup>. Затем жидкость охлаждают и отсасывают через матерчатый фильтр с помощью вакуумного (водоструйного) насоса до 50 см<sup>3</sup>. Приливают дистиллированной воды до 150 см<sup>3</sup> и добавляют 50 см<sup>3</sup> раствора едкого калия. Вновь кипятят на плитке в течение 30 минут, после чего заливают холодной дистиллированной водой доверху. Затем жидкость отсасывают до 50 см<sup>3</sup>, и остаток промывают горячей водой до 150 см<sup>3</sup>. Обработанный таким образом продукт фильтруют через предварительно высушенный и взвешенный фильтр. Осадок на фильтре промывают горячей водой до нейтральной среды (по фенолфталеину) и высушивают в термостате при 105 °С до постоянной массы (от 3 до 4 часов). Расчет содержания клетчатки проводят по формуле:

$$X = \frac{(a - b) \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - W)}, \quad (7)$$

где X – содержание клетчатки, %;  
a – масса фильтра с осадком, г;  
b – масса бумажного фильтра, г;  
m – масса навески материала, г;  
W – влажность материала, %.

### 5.3 Вопросы к защите лабораторных работ № 7, 8

- 1) Что называют полисахаридами?
- 2) Какие полисахариды вы знаете?
- 3) Каковы функции полисахаридов в живой клетке, в частности, в растительной?
- 4) Что представляет собой крахмал?

- 5) Разновидности крахмала; как они образуются, и какова их физиологическая роль?
- 6) Какими свойствами обладает крахмал?
- 7) В чем различие амилозы и амилопектина?
- 8) Какие ферменты участвуют в гидролизе крахмала, и какие при этом образуются продукты?
- 9) Чем отличаются  $\alpha$ -амилаза и  $\beta$ -амилаза?
- 10) В чем различие ферментативного и кислотного гидролиза?
- 11) На чем основан метод определения содержания крахмала по Эверсу?
- 15) Что представляют собой пентозаны? Какова их физиологическая роль?
- 13) Что относится к пектиновым веществам? Где они используются?
- 14) Что представляют собой слизи (гумми)? Как влияют они на формирование и свойства клейковины (например, ржи)?
- 15) Что называют клетчаткой? Каков ее состав?
- 16) Какова физиологическая роль клетчатки?
- 17) Чем отличается целлюлоза от крахмала?
- 18) Что такое гемицеллюлоза и каков ее состав?

## 6 Витамины

Витаминами называют преимущественно незаменимые низкомолекулярные органические вещества, имеющие разнообразную химическую природу и участвующие в регуляции биохимических процессов на уровне ферментов (как составная их часть). Витамины не являются пластическим материалом и не расходуются в качестве источников энергии.

Классификация витаминов основана на их растворимости в воде и жирах. Многие витамины содержатся в продуктах животного и растительного происхождения и поступают в организм в виде провитаминов. Некоторые витамины способны синтезироваться микрофлорой кишечника человека или в его организме, например, витамин РР может синтезироваться из аминокислоты триптофан.

При сбалансированном питании все жизненно важные витамины поступают в организм в достаточном количестве, поэтому здоровый человек не нуждается в дополнительном приеме витаминов в виде специальных препаратов. Потребность в витаминах зависит от многих факторов. Дети, подростки, беременные женщины и кормящие матери, профессиональные спортсмены, лица, занятые физическим трудом, а также пожилые люди нуждаются в повышенном количестве витаминов.

Содержание витаминов в продуктах питания чрезвычайно неоднородно. Например, в мясе или молоке это зависит от времени года, возраста и кормов, употребленных животным. У растений количество витаминов также различается. Важны тип почвы, сорт растения, используемые удобрения, степень зрелости, климат, технология уборки урожая, его транспортировка и хранение. Определяющим здесь также является технология кулинарной обработки.

Для обнаружения витаминов в различных веществах или биологических жидкостях и определения их количества существуют качественные реакции, основанные на цветных реакциях, характерных для той или иной группировки, входящей в витамин.

## 6.1 Лабораторная работа № 9. Качественные реакции на витамины

### *Опыт 1 Реакция восстановления рибофлавина (В<sub>2</sub>)*

Реактивы: раствор витамина В<sub>2</sub>, концентрированная соляная кислота, металлический цинк.

В пробирку наливают 10 капель взвеси рибофлавина в воде, добавляют 5 капель концентрированной соляной кислоты и опускают кусочек металлического цинка. Начинается бурное выделение пузырьков водорода, и жидкость постепенно окрашивается в розовый или красный цвет, затем окраска жидкости начинает бледнеть и обесцвечиваться.

Напишите уравнение реакции и сделайте вывод.

### *Опыт 2 Реакция на аскорбиновую кислоту (восстановление феррицианида калия витамином С)*

Реактивы: раствор ω ( $K_3[Fe(CN)_6]$ ) = 5 %, раствор ω ( $FeCl_3$ ) = 1 %, раствор аскорбиновой кислоты, лимонный сок.

В двух пробирках смешивают 1 каплю 5 % раствора  $K_3[Fe(CN)_6]$  с 1 каплей 1 % раствора  $FeCl_3$ . В одну из пробирок к зеленовато-бурой жидкости прибавляют от 5 до 10 капель 1 % раствора аскорбиновой кислоты (или лимонного сока), а в другую – столько же дистиллированной воды. Жидкость в первой пробирке приобретает зеленовато-синюю окраску, выпадает синий осадок берлинской лазури; во второй пробирке (контроль) зеленовато-бурая окраска жидкости остается без изменения.

Напишите уравнение реакции и сделайте вывод.

### *Опыт 3 Качественная реакция на витамин В<sub>6</sub> (Реакция с хлорным железом)*

Реактивы: раствор витамина В<sub>6</sub>, раствор ω ( $FeCl_3$ ) = 1 %

Витамин В<sub>6</sub> при взаимодействии с раствором хлорного железа образует комплексную соль типа фенолята железа красного цвета.

К 5 каплям 1 % раствора витамина В<sub>6</sub> приливают равное количество раствора хлорного железа и перемешивают. Наблюдается красное окрашивание.

Напишите уравнение реакции и сделайте вывод.

#### *Опыт 4 Качественная реакция на витамин РР*

Реактивы: раствор витамина РР, чай, раствор  $\omega$  ( $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2 = 5 \%$

Перед определением взбалтывают раствор витамина РР, вносят в пробирку 20 капель и нагревают до кипения. Взбалтывают 5 % раствор ацетата меди, приливают 20 капель его к нагретому раствору витамина РР. Затем содержимое пробирки нагревают до кипения и охлаждают под струей холодной воды; на дне пробирки выпадает синий осадок медной соли никотиновой кислоты.

В качестве раствора, содержащего витамин РР можно использовать свежезаваренный чай.

Напишите уравнение реакции и сделайте вывод.

### **6.2 Лабораторная работа № 10. Количественное определение витамина С в пищевых продуктах**

Витамин С, L-аскорбиновая кислота ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ), может находиться в пищевых продуктах в двух формах: восстановленной и окисленной (дегидроаскорбиновая кислота).

Количественные химические методы определения аскорбиновой кислоты основаны на ее восстановительных свойствах. Основными методами определения содержания аскорбиновой кислоты в препаратах и в пищевых продуктах является индофенольное или йодометрическое титрование. Применяемый индофенольный реактив – 2,6-дихлорфенолиндофенол, синего цвета, при титровании аскорбиновой кислоты восстанавливается и переходит в бесцветное лейкосоединение. Об окончании реакции судят по окрашиванию испытуемого раствора в розовый цвет,

вызванному избытком индикатора, который в кислой среде имеет розовую окраску. По количеству индофенола, израсходованного на титрование, определяют содержание витамина С в продукте. При йодометрическом титровании применяют раствор йодноватокислого калия, индикатором служит крахмал.

### *Опыт 1 Индофенольное определение содержания витамина С*

Испытуемый материал: картофель, капуста, шиповник.

Реактивы: раствор 2,6-дихлорфенолиндофенол С = 0,001 моль/дм<sup>3</sup> раствор; раствор соляной кислоты ω (HCl) = 2 %.

Взвешивают от 1 до 2 г испытуемого материала. Навеску тщательно измельчают ножницами и растирают в фарфоровой ступке с кварцевым песком. К растертой массе приливают 10 см<sup>3</sup> 2 % раствора соляной кислоты. Отстаивают 10 минут. Содержимое перемешивают несколько раз и фильтруют. Для количественного определения берут 3 см<sup>3</sup> вытяжки, помещают ее в коническую колбу и титруют раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления розовой окраски, которая не исчезает в течение 30 секунд.

Количество витамина С (в процентах) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{V_1 \cdot 0,088 \cdot 10 \cdot 100}{m \cdot V_2}, \quad (8)$$

где  $V_1$  – объем индикатора, пошедшего на титрование, см<sup>3</sup>;

0,088 – количество аскорбиновой кислоты, относительно 1 см<sup>3</sup> 0,001М раствора натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола, г;

10 – объем фильтрата, см<sup>3</sup>;

100 – коэффициент для перерасчета, проценты;

$V_2$  – объем вытяжки для титрования, см<sup>3</sup>;

$m$  – навеска пищевого продукта, г.



## Опыт 2 Определение аскорбиновой кислоты йодометрическим методом

Испытуемый материал: овощи, фрукты, сок, молоко. Расход плодово-ягодного сырья от 20 до 50 г на один анализ, напитков 50 см<sup>3</sup>.

Реактивы: раствор соляной кислоты ω (HCl) = 2 %, 1 % раствор йодида калия, 0,5 % раствор крахмала, раствор иодата калия С (KIO<sub>3</sub>) = 0,001 моль/ дм<sup>3</sup>, 0,1 % раствор соли Мора, раствор сульфата меди ω (CuSO<sub>4</sub>) = 0,5 %.

На технических весах взвешивают 10 г сырья, измельчают в ступке в течение 10 минут, затем количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, доводят дистиллированной водой до метки, перемешивают и фильтруют через складчатый бумажный фильтр. В коническую колбу отбирают 20 см<sup>3</sup> фильтрата, добавляют 1 см<sup>3</sup> 2 % раствора соляной кислоты, 0,5 см<sup>3</sup> 1 % раствора йодистого калия и 2 см<sup>3</sup> раствора крахмала. Титруют 0,001 М раствором йодата калия до устойчивого синего окрашивания. Параллельно проводят контрольное титрование, где вместо 20 см<sup>3</sup> фильтрата берут такое же количество дистиллированной воды.

1 см<sup>3</sup> раствора йодата калия С (KIO<sub>3</sub>) = 0,001 моль/дм<sup>3</sup> соответствует 0,088 мг аскорбиновой кислоты. Содержание аскорбиновой кислоты рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(V_0 - V_K) \cdot 0,088 \cdot V_1 \cdot 100}{m \cdot V_2}, \quad (9)$$

где X – содержание аскорбиновой кислоты, мг %;

V<sub>1</sub> – общий объем вытяжки, см<sup>3</sup>;

V<sub>2</sub> – объем вытяжки, взятый на титрование, см<sup>3</sup>;

V<sub>0</sub> – объем 0,001 м раствора йодата калия, пошедшего на титрование опытного образца, см<sup>3</sup>;

V<sub>K</sub> – объем 0,001 м раствора йодата калия, пошедший на титрование контрольного образца, см<sup>3</sup>;

m – масса навески, г.

### *Опыт 3 Исследование влияния различных факторов на сохранность витамина С*

Исходное сырье, полуфабрикаты или готовую продукцию подвергают действию различных факторов, которые приводят к разрушению витамина С. В исследуемых образцах до и после обработки определяют содержание витамина С каким-либо методом и делают вывод о влиянии различных факторов на сохранность витамина С.

Варианты проведения опытов:

1 Нагрев исследуемого объекта до температуры от 55 °С до 65 °С, выдержка при этой температуре 30 минут;

2 Нагрев исследуемого объекта до температуры 100 °С, кипячение 5 минут;

3 Аэрация исследуемого объекта в течение 30 минут;

4 Добавление в исследуемый объект ионов железа в виде 2 см<sup>3</sup> 0,1 % раствора соли Мора;

5 Добавление в исследуемый объект ионов меди в виде 2 см<sup>3</sup> 0,5 % раствора сульфата меди.

Результаты исследования сводятся в таблице 1. По результатам исследования делают вывод о содержании витамина С в исследуемых объектах и сохранности витамина С при использовании различных факторов воздействия на исследуемые объекты.

Таблица 1 – Влияние способов обработки на сохранность витамина С

Вид обработки	Содержание витамина С до обработки, мг%	Содержание витамина С после обработки	Сохранность витамина С, %
Нагрев до 55-65°С			
Нагрев до 100° С			
Аэрация			
Раствор соли Мора			
Раствор сульфата меди			

### 6.3 Вопросы к защите лабораторных работ № 9, 10

- 1) Понятие о витаминах как биологически активных веществах, не образующихся в организме человека.
- 2) Участие витаминов в образовании коферментов.
- 3) Особенности строения, участие в регуляции биохимических процессов и пищевые источники водорастворимых витаминов.
- 4) Особенности строения, роль в обменных процессах и пищевые источники жирорастворимых витаминов.
- 5) Витаминоподобные вещества. Антивитамины.
- 6) Понятие об авитаминозе, гиповитаминозе и гипервитаминозе. Причины нехватки витаминов.
- 7) Витаминизация пищевых продуктов.
- 8) Систематизируйте свои знания о витаминах А, Д, Е, К, С, РР, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>-и оформите их в виде таблицы 2.

Таблица 2 – Сведения о витаминах

Все наименования витамина, строение	Коферментные производные	Биологическая роль	Признаки		Суточная потребность	Источники
			Гиповитаминоза	Гипервитаминоза		

- 9) Напишите уравнения всех проделанных реакций.

## 7 Литература, рекомендуемая для изучения дисциплины

### *Основная*

1 Димитриев, А. Д. Биохимия [Электронный ресурс]: учеб. пособие / А. Д. Димитриев, Е. Д. Амбросьева. – М. : Издательско-торговая корпорация «Дашков и К°», 2012. - 168 с. – ISBN 978-5-394-01790-2. Режим доступа: <http://znanium.com/catalog/product/415230>

2 Шамраев, А. В. Биохимия [Электронный ресурс] : учеб. пособие / А. В. Шамраев – ОГУ, 2014. Режим доступа: <http://biblioclub.ru/index.php?page=book&id=270262>

3 Барышева, Е. С. Теоретические основы биохимии : учеб. пособие / Е. С. Барышева, О. В. Баранова, Т. В. Гамбург. – М. : ООО "ТиРу", 2012. - 361 с. – ISBN 978-5-93883-208-4

4 Казаков, Е. Д. Биохимия зерна и хлебопродуктов : учеб. пособие для вузов / Е. Д. Казаков, Г. П. Карпиленко.- 3-е изд., перераб. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2005. – 512 с. - ISBN 5-901065-82-4.

### *Дополнительная*

1 Плешков, Б. П. Биохимия сельскохозяйственных растений : учебник для вузов / Б. П. Плешков.- 5-е изд., доп. и перераб. - М. : Агропромиздат, 1987. – 495 с.

2 Казаков, Е. Д. Биохимия зерна и продуктов его переработки : учебник / Е. Д. Казаков, В. Л. Кретович .- 2-е изд., перераб. и доп. - М. : Агропромиздат, 1989. – 368 с. ISBN : 5-10-000520-3.

3 Кретович, В. Л. Биохимия зерна и хлеба : учебник / В. Л. Кретович. - М. : Наука, 1991. – 136 с.

4 Кретович, В. Л. Биохимия растений : учебник / В. Л. Кретович. - М. : Высш. шк., 1980. – 448 с.

5 Комов, В. П. Биохимия : учебник для вузов / В. П. Комов, В. Н. Шведова.- 3-е изд., стер. – М. : Дрофа, 2006, 2008. - 640 с.

6 Кретович, В. Л. Введение в энзимологию : книга / В. Л. Кретович. – М. :

Наука, 1967.- 184 с.

7 Степаненко, Б. Н. Химия и биохимия углеводов. Моносахариды : учеб. пособие / Б. Н. Степаненко. – М. : Высшая школа, 1977. – 222 с.

8 Степаненко, Б. Н. Химия и биохимия углеводов. Полисахариды : учеб. пособие / Б. Н. Степаненко. – М. : Высшая школа, 1977. – 224 с.

9 Ауэрман, Л. Я. Технология хлебопекарного производства [Текст] : учебник для вузов / Л. Я. Ауэрман.- 9-е изд., перераб. и доп. - СПб. : Профессия, 2003. – 416 с. : ил. - ISBN 5-93913-032-1.

## Список использованных источников

1 Методы биохимического исследования растений: Сборник / Под ред. А. И. Ермакова. - М.: Колос, 1986. – 325 с.

2 Филиппович, Ю. Б. Практикум по общей биохимии [Текст] : учеб. пособие для студентов / Ю. Б. Филиппович, Т. А. Егорова, Г. А. Севастьянова; под ред. Ю. Б. Филипповича.- 2-е изд., перераб. - М. : Просвещение, 1982. – 311 с.

3 Плешков, Б. П. Практикум по биохимии растений : [По спец. "Агрохимия и почвоведение"] / Б. П. Плешков. - 3-е изд., доп. и перераб. - М. : Колос, 1985. – 255 с.

4 Коренман, Я. И. Практикум по аналитической химии. Анализ пищевых продуктов [Текст] : учеб. пособие для вузов / Я. И. Коренман, Р. П. Лисицкая. - Воронеж : Изд-во Воронеж. гос. технол. акад., 2002. - 408 с - ISBN 5-89448-184-8.

## Приложение А (справочное)

Таблица А.1 - Определение мальтозы по Бертрану

Сахар мг	Медь, мг	Сахар, мг	Медь, мг	Сахар, мг	Медь, мг	Сахар, мг	Медь, мг
10	11,2	33	36,5	56	61,4	79	86,1
11	12,3	34	37,6	57	62,5	80	87,2
12	13,4	35	38,7	58	63,5	81	88,5
13	14,5	36	39,8	59	64,6	82	89,4
14	15,6	37	40,9	60	65,7	83	90,4
15	16,7	38	41,9	61	66,8	84	91,5
16	17,8	39	43,0	62	67,9	85	92,6
17	18,9	40	44,1	63	68,9	86	93,7
18	20,0	41	45,2	64	70,0	87	94,8
19	21,1	42	46,3	65	71,1	88	95,8
20	22,2	43	47,4	66	72,2	89	96,9
21	23,3	44	48,5	67	73,3	90	98,0
22	24,4	45	49,5	68	74,3	91	99,0
23	25,5	46	50,6	69	75,4	92	100,1
24	26,6	47	51,7	70	76,5	93	101,1
25	27,7	48	52,8	71	77,6	94	102,3
26	28,9	49	53,9	72	79,6	95	103,2
27	30,0	50	55,0	73	79,9	96	104,2
28	31,1	51	56,1	74	80,8	97	105,3
29	32,2	52	57,1	75	81,8	98	106,3
30	33,3	53	58,2	76	82,9	99	107,4
31	34,4	54	59,3	77	84,0	100	108,4
32	35,5	55	60,3	78	85,1	-	-

**Приложение Б**  
**(справочное)**

Таблица Б.1 - Определение глюкозы по Бертрану

Сахар, мг	Медь, мг	Сахар, мг	Медь, мг	Сахар, мг	Медь, мг	Сахар, мг	Медь, мг
10	20,4	33	64,6	56	105,8	79	144,5
11	22,4	34	66,5	57	107,6	80	146,1
12	24,3	35	68,3	58	109,3	81	147,1
13	26,3	36	70,1	59	111,1	82	149,3
14	28,3	37	72,0	60	112,8	83	150,9
15	30,2	38	73,8	61	114,6	84	152,6
16	32,2	39	75,7	62	116,1	85	154,0
17	34,2	40	77,5	63	117,9	86	155,6
18	36,2	41	79,3	64	119,6	87	157,2
19	38,1	42	81,1	65	121,3	88	158,3
20	40,1	43	82,9	66	123,0	89	160,4
21	42,0	44	84,7	67	124,7	90	162,0
22	43,9	45	86,4	68	126,4	91	163,6
23	45,8	46	88,2	69	128,1	92	165,2
24	47,7	47	90,0	70	129,8	93	166,7
25	49,6	48	91,8	71	131,4	94	168,3
26	51,5	49	93,6	72	133,1	95	169,9
27	53,4	50	95,4	73	134,7	96	171,5
29	55,3	51	97,1	74	136,3	97	173,1
29	57,2	52	98,9	75	137,9	98	174,6
30	59,1	53	100,6	76	139,6	99	176,2
31	60,9	54	102,3	77	141,2	100	177,8
32	62,8	55	104,1	78	142,8	--	--