

Р.А. АЛИМОВА, М.Т. САГДИЕВ, Б.А. АДИЛОВ

# БИОХИМИЯ

Учебное пособие для проведения  
лабораторного практикума

ТАШКЕНТ - 2020

ТАШКЕНТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

---

**Р.А. АЛИМОВА, М.Т. САГДИЕВ, Б.А. АДИЛОВ**

# **БИОХИМИЯ**

Учебное пособие предназначен для студентов бакалавриата  
обучающиеся по направлению 5410500 – «Технология хранения и  
первичной обработки сельскохозяйственной продукции»  
(по видам культур)

ТАШКЕНТ 2020

КБК 62.12(5Уз6)

М 57

УДК 581.1 (07)

Р.А. Алимова, М.Т. Сагдиев, Б.А. Адилов. «Биохимия: учебное пособие для проведения лабораторного практикума».

– Ташкент, Изд. «Навруз», 2020. – 156 с.

Предлагаемые работы по основным разделам курса биохимии будут способствовать лучшему и более глубокому усвоению студентами учебного материала в целом и развитию у них творческих навыков для самостоятельной экспериментальной деятельности.

Авторы сочли необходимым сохранить работы, ставшие классическими. Наряду с этим пособие включает оригинальные работы, апробированные в течение многих лет на кафедре экологической безопасности в сельском хозяйстве и ботаники ТашГАУ.

#### **Авторы:**

М.Т. САГДИЕВ – к.б.н., доцент кафедры Экологической безопасности в сельском хозяйстве и ботаники, ТашГАУ

Р.А. АЛИМОВА – к.б.н., доцент кафедры Экологической безопасности в сельском хозяйстве и ботаники, ТашГАУ

Б.А. АДИЛОВ – к.б.н., доцент кафедры Экологической безопасности в сельском хозяйстве и ботаники, ТашГАУ

#### **Рецензенты:**

МИРХАМИДОВА П. – д.б.н., профессор кафедры Биохимии ТашГПУ

КИМСАНБОЕВ Х.Х. – д.б.н., профессор кафедры Защиты растений ТашГАУ

*Рекомендован Министерством высшего и среднего специального образования Республики Узбекистан от 04 мая 2020 г. приказом №285 как учебное пособие*

ISBN 978-9943-602-62-5

© Издательство «Навруз», 2020 г.

## ПРАВИЛА РАБОТЫ И ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ

1. Работа в лабораториях проводится с кислотами, щелочами и другими опасными веществами. Чтобы избежать случайных ожогов и загрязнений одежды и тела, студентов к работе допускать только в лабораторных халатах.

2. К работе с приборами допускать только после тщательного изучения инструкции к нему. Перед включением электроприборов, нагревательных устройств проверить исправность розеток, вилок, включателей, системы заземления. Включать их только после установки в рабочее состояние по инструкции. После окончания работы электроприбор выключить сначала из рабочего состояния, затем из сети, и, если необходимо из водопроводной сети.

3. Приготовление растворов кислот, щелочей и других вредных веществ проводить в вытяжном шкафу; исходный продукт отбирать пипеткой с резиновой грушей или мерным цилиндром. Все растворы и химикаты должны иметь надписи (карандашом по стеклу) с указанием вещества и его концентрации, должны быть закрыты и во избежание повреждения стоять только на полках лабораторных столов.

4. Поврежденной посудой пользоваться запрещается. Поэтому перед использованием следует проверить, нет ли трещин, заостренных краев и др. повреждений.

5. После окончания занятий дежурный и руководитель проверяют отключение всех приборов, состояние водопроводных кранов, порядок в лаборатории.

6. При несчастных случаях связанных со здоровьем оказать первую помощь и вызвать скорую помощь по телефону "103", при пожаре "101" вызвать пожарную команду, известить дежурного швейцара, привести в действие противопожарные средства.

## Неотложная медицинская помощь в лаборатории

При ранении стеклом нужно удалить его осколки из раны, смазать ее йодом и перевязать.

При термических ожогах обожженное место необходимо поместить под струю холодной воды, а затем присыпать гидрокарбонатом натрия или обработать примочками из свежеприготовленных растворов питьевой соды (2%) или перманганата калия (5%), или 100-96<sup>0</sup>-ым этиловым спиртом, оказывающим обеззараживающее и обезболивающее действие.

При ожогах кислотами или щелочами пораженный участок быстро промывают большим количеством воды, затем на обожженное место накладывают примочку: при ожогах кислотой - из 2%-го содового раствора, при ожогах щелочью - из слабого раствора уксусной кислоты.

## ВВЕДЕНИЕ

Предмет «Биохимия сельскохозяйственной продукции» является частным разделом общей биохимии растений и животных и включает разделы из биохимии молока. Поэтому в учебнике рассматриваются биохимические процессы, протекающие в живых организмах, а также физико-химические процессы, происходящие в молоке. Знания, полученные по этой дисциплине, необходимы в первую очередь студенту, готовящемуся стать технологом сельскохозяйственного производства, основной деятельностью которого будет производство продукции и использование технологий хранения и переработки продуктов растениеводства и животноводства.

Предшествующими курсами, на которых непосредственно базируется дисциплина «Биохимия сельскохозяйственной продукции», являются следующие: органическая химия, физическая и коллоидная химия, генетика растений и животных, физиология растений, морфология и физиология сельскохозяйственных животных.

В начале XX в. И.Мечников и П.Эрлих предложили гуморальную и клеточную теории иммунитета, а исследования М.С.Цвета позволили разработать метод хроматографического разделения хлорофиллов. Т. Сведберг предложил использовать центрифугу для определения скорости седиментации белков. В 1930-е годы В.А.Энгельгардт показал, что фосфорилирование сопряжено с дыханием. В 1932г. Х.Кребс и К.Хензелейт открыли орнитинный цикл, а Г.Эмбден и О.Мейергоф выявили наиболее важные промежуточные продукты гликолиза и брожения. В 1937г. Х.Кребс открыл цикл трикарбоновых кислот, а К.Ломан и П.Шустер установили, что простатической группой пируваткарбоксилазы является тиамин. В 1938г. А.Е.Браунштейн и М.Г.Крицман открыли реакцию трансаминирования, а через два года А.Е.Браунштейн и М.Н.Любимова установили АТФазную активность миозина. В 1941 г. Ф.Липман показал, что основным

первичником энергии в клетке служит АТФ. В 1950-е годы Э.Чаргафф обнаружил равные количества определенных оснований в структуре ДНК, а Л.Полинг пришел к выводу о существовании  $\alpha$ -спиралей в структуре белков. В 1953г. Д.Уотсон и Ф.Крик предложили модель двойной спирали ДНК.

Проведенные за последние двести пятьдесят лет исследования позволили расширить наши познания в области эволюции, биокинетики, иммунологии, молекулярной биологии, генетики, биотехнологии и других наук. Используя эти знания, в настоящее время создаются такие новые научные направления, как бионанотехнология, генная инженерия, клеточные технологии, биоинформатика и др. Поэтому перед биологической наукой поставлена задача обеспечения подготовки современных специалистов, владеющих методами генетической, клеточной, молекулярной, ферментативной инженерии, способных разрабатывать новые инновационные биотехнологии, основываясь на знаниях биологической химии.

Изучение биохимии позволяет студенту приобрести знания по строению биогенных молекул, динамике их превращения в различных метаболических процессах, участия в них ферментов. Кроме того, рассматривается состав биогенных молекул в различных частях растений, а также процессы, протекающие в тканях растений при их хранении и переработке.

При подготовке специалистов-агрономов важное место занимает биохимия – наука о жизни растений.

Биохимия – наука экспериментальная, поэтому в учебном плане подготовки аграрных специалистов, кроме лекционного по данной дисциплине отводится время на лабораторные занятия.

В задачи лабораторного практикума по биохимии входят: проверка и закрепление некоторых теоретических положений, излагаемых в лекционных курсах и учебниках; ознакомление с наиболее простыми методами определения различных биохимических процессов у растений; привитие навыков научно-

исследовательской работы (постановка цели опыта, проведение эксперимента, ведение первичной научной документации, обсуждение результатов опытов, оформление выводов).

Планируются 4-часовые, реже 2-часовые занятия, строго соблюдается принцип индивидуального выполнения работ.

Каждый студент ведет рабочую тетрадь, оформление которой должно отвечать следующим требованиям:

- на титульном листе указывают предмет, по которому делаются записи, кем они делаются (курс, группа, фамилия, имя, отчество);

- каждое занятие отмечают порядковым номером, указывают его дату;

- при оформлении работы с методического пособия полностью переписывают ее заглавие, описывают цель и принцип метода эксперимента, указывают объект изучения;

- результаты опытов фиксируют в виде рисунков с обязательными подписями к ним, или оформляют в виде таблиц, или описывают текстом (характер оформления работы обычно указан в методическом пособии);

- в конце каждой работы делают вывод или заключение, которые обсуждаются при подведении итогов занятия.

Все записи необходимо делать в лаборатории. Для проверки академической активности и качества работы студента дневник периодически проверяет преподаватель, дает ему оценку. Контроль самостоятельной работы студентов по теоретической части курса осуществляется на коллоквиумах, которые проводят в часы, отведенные учебным планом для лабораторных занятий, по окончании каждого раздела. К лабораторному практикуму студент допускается только после инструктажа по технике безопасности. Основные положения техники безопасности изложены в инструкциях, которые должны находиться на видном месте в лаборатории. Специфические моменты отмечены в описании отдельных работ.

## РАЗДЕЛ I

### БЕЛКИ

Белки - важнейшая и необходимая составная часть всех живых организмов. Они составляют главную массу сухого вещества тканей человека и почти всех животных.

Это очень сложные, высокомолекулярные соединения, находящиеся в организме в коллоидном состоянии. Молекула белка состоит из остатков аминокислот, соединенных между собой пептидными связями. Под действием специфических ферментов, а также при нагревании с кислотами или щелочами белки подвергаются гидролизу (распаду с присоединением элементов воды), давая ряд промежуточных продуктов (пептоны, пептиды), а при полном гидролизе - аминокислоты.

Некоторые реакции присущи не только белкам, но и другим веществам, содержащим те же группы. Так, ряд цветных реакций на белок является по существу реакциями на ту или иную аминокислоту, входящую в состав белка. Поэтому, для установления наличия белка недостаточно какой-нибудь одной реакции.

#### Занятие 1. Цветные реакции на белки

Значение цветных реакций состоит в том, что они дают возможность обнаружить присутствие белка в биологических жидкостях, растворах и установить аминокислотный состав различных природных белков. Эти реакции применяются как для качественного, так и для количественного определения белка и содержащихся в нем аминокислот.

Существуют два типа цветных реакций: 1) универсальные - биуретовая (на все белки) и нингидриновая (на все  $\alpha$ -аминокислоты и белки); 2) специфические - только на определенные аминокислоты как в молекуле белка, так и в

растворах отдельных аминокислот (реакция Фоля, Миллона, Сакагучи)

При проведении цветных реакций на белки и аминокислоты необходимо составить предварительно следующую таблицу:

**Таблица 1 - Цветные реакции на белки (качественные реакции)**

| № п/п | Название реакции          | Применяемые реактивы | Появление окрашивания | Что открывает данная реакция, её химизм |
|-------|---------------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------------------------|
| 1.    | Биуретовая и т.д          |                      |                       |                                         |
| 2.    | Ксантопротеиновая реакция |                      |                       |                                         |

Цветные реакции свойственны составным частям белка - аминокислотам или образуемым ими группировкам. Так, полипептиды, а также все пептоны и белки дают биуретовую реакцию, характерную для наличия пептидных связей. Все аминокислоты, полипептиды и белки дают окрашивание (обычно фиолетовое) при нагревании с нингидрином.

Некоторые аминокислоты (тирозин, триптофан, фенилаланин, цистеин, аргинин, гистидин) к их остаткам (например, в молекуле белка) дают характерные цветные реакции,

В большинстве белков при помощи чувствительных реакций можно обнаружить углеводные компоненты.

**Цель работы:** изучить состав и свойства простых белков, реакции открытия простых белков, цветные реакции на белки, реакции осаждения белков (обратимые и необратимые). ознакомить студентов с методиками проведения качественных реакций на белки; закрепить представления о структурах белковых молекул; выработать навыки обращения с химической посудой, реактивами; ознакомить со способами утилизации

отработанных реактивов; привить навыки работы со справочной литературой и оформления отчета по лабораторной работе.

**Реактивы и оборудование:** 10%-ный раствор гидроксида натрия, 1%-ный раствор сульфата меди, 0,5%-ный водный раствор нингидрина, концентрированная азотная кислота, концентрированная серная кислота, 30%-ный раствор гидроксида натрия, 5%-ный раствор ацетата свинца, ледяная уксусная кислота.

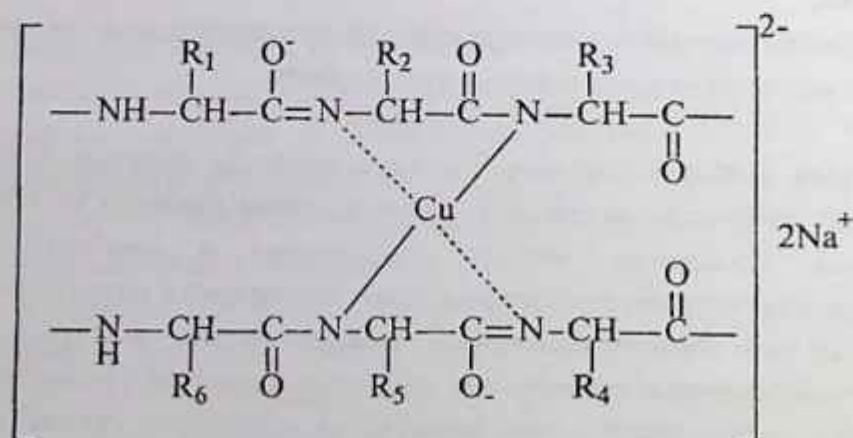
### Биуретовая реакция

(на обнаружение пептидных связей в белках)

В щелочной среде в присутствии солей меди белки дают фиолетовое окрашивание. Окраску дает комплексное соединение меди с пептидными группами:  $-\text{CO}-\text{NH}-$ . Биуретовая реакция получается также с продуктами неполного гидролиза белка – пептонами и полипептидами.

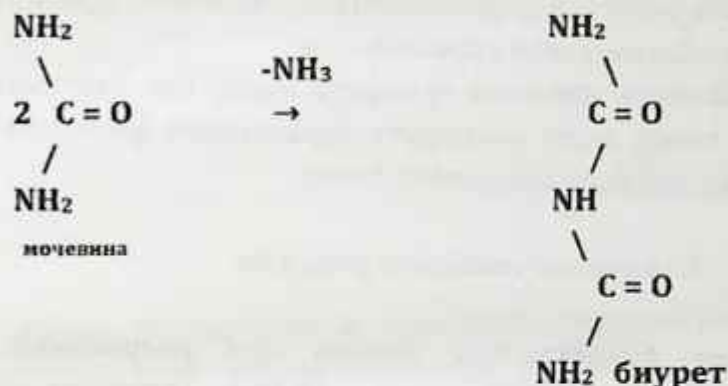
Эта реакция является универсальной для всех белков, так как она открывает наличие не менее двух пептидных связей (первичную структуру белка).

В основе биуретовой реакции лежит способность пептидных связей ( $-\text{CO}-\text{NH}-$ ) в щелочной среде образовывать с сульфатом меди окрашенные комплексные соединения, цвет которых зависит от длины полипептидной цепи.



Раствор нативного белка дает сине-фиолетовое окрашивание, а продукты его гидролиза (пептиды) – красно-фиолетовый цвет.

Свое название биуретовая реакция получила от производного мочевины - биурета, который дает эту реакцию. Биурет образуется при нагревании мочевины с отщеплением от нее аммиака.



Биуретовая реакция получается также с некоторыми немногочисленными соединениями, не содержащими пептидных групп (например, при наличии в молекуле групп  $-\text{CS}-\text{NH}-$  или  $=\text{CH}-\text{NH}-$ ).

Биуретовую реакцию дают: аминокислоты гистидин и амид аспарагиновой кислоты - аспарагин.

**Ход работы:** 1. Помещают в сухую пробирку несколько кристалликов мочевины и нагревают на слабом огне. Мочевина сначала плавится. Когда сплавленная масса начнет твердеть, нагревание прекращают и дают пробирке остыть. В результате нагревания из мочевины образуется биурет, а аммиак улетучивается (об этом узнают по запаху).

2. К полученному в пробирке биурету прибавляют около 1 мл 20% раствора сернокислой меди. При встряхивании получается

характерное розовато-фиолетовое окрашивание. Необходимо избегать прибавления избытка раствора серноокислой меди, так как голубая окраска получающегося гидрата окиси меди может маскировать реакцию.

3. Прodelьвают биуретовую реакцию с раствором белка. В пробирку вносят 5-10 капель растительного белка, 3-6 капель 10%-ного раствора гидроксида натрия и 1-2 капли 1%-ного раствора сульфата меди и перемешивают. Содержимое пробирки приобретает сине-фиолетовое окрашивание.

Нельзя добавлять избыток сульфата меди, так как синий осадок гидрата окиси меди маскирует характерное фиолетовое окрашивание биуретового комплекса белка.

### **Ксантопротеиновая реакция**

Подавляющее большинство белков при нагревании с крепкой азотной кислотой дает желтое окрашивание, переходящее в оранжевое при добавлении щелочи или аммиака. По-гречески «ксантос» - желтый, откуда реакция и получила название ксантопротеиновой. Такое желтое окрашивание можно наблюдать при попадании крепкой азотной кислоты на кожу, ногти, шерсть и т.п. Эта реакция характерна для бензольного ядра циклических аминокислот (тирозина, фенилаланина, и триптофана), которые содержится почти во всех белках. При действии крепкой азотной кислоты на эти аминокислоты происходит нитрование бензольного кольца с образованием нитросоединений желтого цвета. При добавлении щелочи желтое окрашивание переходит в оранжевое.

**Ход работы.** К 5-10 каплям растительного белка добавляют 3-6 капель концентрированной азотной кислоты и (осторожно!!!) нагревают. Появляется осадок желтого цвета.



После охлаждения в пробирку (желательно на осадок) добавляют 5-10 капель 10%-ного раствора едкого натра до появления оранжевого окрашивания (оно связано с образованием натриевой соли полученных нитросоединений).

## Занятие 2. Реакция Адамкевича (на триптофан)

Эта реакция открывает аминокислоту триптофан и основана на его способности в кислой среде взаимодействовать с альдегидами кислот, и образовывать окрашенные продукты конденсации.

Триптофан - это аминокислота гетероциклической структуры. Который относится к незаменимым, стимулятор роста, аминокислота, из неё синтезируется гетероауксин, путем деаминации, декарбоксилирования и окисления.

**Ход работы.** В пробирку вносят 5 капель раствора белка и 5 капель ледяной уксусной кислоты. Раствор вначале слегка

нагревают, затем охлаждают и по стенкам пробирки (осторожно!!!), чтобы жидкости не смешивались, приливают 10 капель концентрированной серной кислоты. При стоянии на границе двух слоев наблюдается красно-фиолетовое окрашивание в виде кольца.

**Реактивы:** 0,5 % раствор триптофана, ледяная уксусная кислота, концентрированная серная кислота, 1% раствор растительного белка.

### Занятие 3. Реакция Фоля на серосодержащие аминокислоты

В состав молекулы большинства белков входят содержащие серу аминокислоты - цистин и цистеин. Под действием щёлочи эти аминокислоты легко отщепляют серу в виде сероводорода или сульфида натрия. Поэтому почти все белки дают положительную реакцию на слабо связанную серу.



Ацетат свинца при реакции со щелочью дает плюмбит натрия  $\text{Na}_2\text{PbO}_2$ . При взаимодействии этих продуктов реакций образуется осадок сульфида свинца.



**Ход работы.** К 5 раствора белка приливают 5 капель 30%-ного раствора гидроокиси натрия и 1 каплю 5%-ного раствора ацетата свинца. Через 1-2 мин после интенсивного кипячения появляется бурый или черный осадок.

Ион серы  $S^{2-}$ , образующийся из цистеина или цистина в сильнощелочной среде можно обнаружить с помощью нитропруссидной реакции. К 10 каплям 1%-ного раствора яичного белка добавляют 10 капель 20%-ного раствора щелочи, интенсивно кипятят, затем после охлаждения приливают 3-5 капель свежеприготовленного 5%-ного раствора нитропрусида натрия, после чего появляется красно-фиолетовое окрашивание. Интенсивность окрашивания в данных реакциях зависит от количества аминокислот, содержащих серу, и от количества белка в растворе.

**Ход работы:** Берут три пробирки, в первую пробирку наливают 1 мл 0,05% раствора цистеина, во вторую пробирку набирают 1 мл растительного белка, в третью пробирку набирают 1 мл раствора желатины. Во все три пробирки добавляют по 1 мл 30% ного раствора едкого натри и разогревают в течение 2-5 минут на электрической плитке. Остудив к пробиркам, добавляют 0,5мл 5%ного раствора ацетата свинца. В первой и во второй пробирке наблюдается чёрный осадок, в третьей пробирке осадок не образуется, потому что в составе желатины нет серосодержащие аминокислоты.

**Реактивы:** 0,05% раствор цистеина, 30% раствор едкого натрия, 5% раствор ацетата свинца, 1% раствор растительного белка.

#### **Занятие 4. Реакции осаждения белков**

Белки разделяют на две группы: протеины, или простые белки, не содержащие небелковых групп, и протеиды, или

сложные белки, содержащие помимо собственно белка, ещё и небелковую (простетическую) группу.

Среди простых белков животного происхождения чаще всего приходится встречаться с альбуминами и глобулинами.

Альбумины растворимы в воде, осаждаются при насыщении раствора сернокислым аммонием, обычно не содержат аминокислоты – глицина. Примерами простых белков являются альбумины кровяной сыворотки, молока, яичного белка, альбумины мышц (миогены).

### **Цель работы:**

- ознакомить студентов с методиками проведения качественных реакций на белки;
- закрепить представления о структурах белковых молекул;
- выработать навыки обращения с химической посудой, реактивами;
- ознакомить со способами утилизации отработанных реактивов;
- привить навыки работы со справочной литературой и оформления отчета по лабораторной работе.

Устойчивость белков в биологических жидкостях организма человека обуславливают два фактора:

- заряд и водная оболочка – для гидрофильных белков
- только заряд – для гидрофобных белков.

Для каждого белка характерна по крайней мере одна трехмерная структура, в которой он стабилен и проявляет биологическую активность при физиологических условиях (рН, температура). Эта структура называется нативной конформацией белка.

## Обратимое осаждение белков.

Обратимое осаждение белков – это процесс, когда под воздействием факторов осаждения белки выпадают в осадок, но после прекращения действия (удаления) факторов осаждения белки вновь растворяются и приобретают свои нативные свойства. При этом молекулы белка не подвергаются глубоким нарушениям. Одним из видов обратимого осаждения является высаливание, которое проводится с помощью нейтральных растворов концентрированных солей щелочных и щелочноземельных металлов  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и др.

В основе осаждения лежит снятие заряда и удаление водной оболочки. Выпадение различных белков в осадок зависит от молекулярной массы и величины их молекул, заряда и степени гидрофильности. Поэтому с помощью метода высаживания можно разделять белки на фракции. Например, глобулины как более крупные и плотные молекулы белка будут выпадать в осадок при меньшей концентрации солей. Тогда как альбумины, молекулы которых намного меньше и легче высаливаются более концентрированными растворами солей.

Этот метод применяется в клинических лабораториях для разделения белков сыворотки крови на фракции и их исследования, в медицинской промышленности – при получении белковых препаратов (лечебные сыворотки), в научных исследованиях – для выделения и очистки различных белков (ферменты, гормоны и др.)

Высаливание белка: К 2мл солевого раствора белка приливают равный объем насыщенного раствора сернокислого аммония, выпадает осадок глобулина. При уменьшении концентрации соли (что достигается путём разведения водой), белок снова переходит в раствор.

**Ход работы:** К 2 мл солевого раствора белка приливают равный объем насыщенного раствора сернокислого аммония,

выпадает осадок глобулина. При уменьшении концентрации соли (что достигается путём разведения водой), белок снова переходит в раствор.

### **Занятие 5. Необратимые реакции осаждения белков**

Глобулины не растворимы в чистой воде, но растворимы в присутствии в ней нейтральных солей; осаждаются в полунасыщенном растворе сернокислого аммония, т.е. при добавлении к раствору белка равного объема насыщенного раствора этой соли. К глобулинам относят глобулины сыворотки крови и молока, куриного яйца, мышечные глобулины (миозин, глобулин Х), и глобулины растительных белков.

При изменении внешних условий белки теряют нативную структуру.

Денатурация – изменение уникальной структуры белковой молекулы, приводящее к потере характерных свойств (растворимости, электрофоретической подвижности, биологической активности и т.д.)

Наиболее ярким признаком денатурации является резкое снижение биологической активности, при этом разрушаются в основном ковалентные водородные и дисульфидные связи и не затрагиваются пептидные связи.

Необратимое осаждение белков связано с глубокими нарушениями вторичной и третичной структуры и потерей им нативных свойств, т.е. денатурацией белков. Она вызывается кипячением белка, действием солей тяжелых металлов, растворами минеральных и органических кислот и щелочей.

#### **Осаждение белка кипячением**

Белки являются термолабильными соединениями и при нагревании свыше 50°- 60° С наступает денатурация. Сущность

тепловой денатурации заключается в разворачивании специфической структуры полипептидной цепи и разрушении гидратной оболочки белковых молекул, что проявляется заметным уменьшением их растворимости. Наиболее полное и быстрое осаждение происходит в изоэлектрической точке белка, т.е. при таком значении pH среды, когда суммарный заряд белковой молекулы равен нулю. Белки, обладающие кислыми свойствами, осаждаются в слабокислой среде, а белки, обладающие щелочными свойствами – в слабощелочной. В сильноокислых и сильнощелочных средах денатурированный при нагревании белок в осадок не выпадает, так как частицы его перезаряжаются и несут в первом случае положительный, а во втором отрицательный заряд, что повышает его устойчивость в растворе.

**Ход работы:** В четыре пронумерованные пробирки приливают по 10 капель растительного белка. Затем:

а) первую пробирку нагревают до кипения. Раствор белка мутнеет, но так как частицы денатурированного белка несут заряд, они в осадок не выпадают. Это связано с тем, что белок имеет кислые свойства и в нейтральной среде заряжен отрицательно.

б) во вторую пробирку добавляют 1 каплю 1%-ного раствора уксусной кислоты и нагревают до кипения. Выпадает осадок белка, так как белок приближается к изоэлектрической точке и белок теряет заряд.

в) в третью пробирку добавляют 1 каплю 10%-ного раствора уксусной кислоты и нагревают до кипения. Осадка не образуется, так как в сильноокислой среде частицы белка приобретают положительный заряд (сохраняется один из факторов устойчивости белка в растворе).

г) в четвертую пробирку добавляют 1 каплю 10%-ного раствора гидроксида натрия и нагревают до кипения. Осадка не

образуется, так как в щелочной среде отрицательный заряд частиц увеличивается.

**Реактивы:** 1%-ного раствора уксусной кислоты, 10%-ного раствора уксусной кислоты, 10%-ного раствора гидроксида натрия, растительный белок.

### **Осаждение белков спиртом, ацетоном**

**Принцип метода:** Многие органические растворители осаждают белки из нейтрального или слабокислого раствора. Если к водному раствору белка прибавить, например, этиловый спирт, то можно достигнуть такой концентрации его (неодинакова для различных белков), когда происходит осаждение белка. Механизм действия спирта объясняют связыванием воды, что ведет к дегидратации мицелл белка и понижению их устойчивости в растворе. Если при этом присутствует небольшое количество солей (например, NaCl), то осадок образуется полнее и быстрее. Ионы солей связываются коллоидными частицами белка и нейтрализуют их заряд. Это обстоятельство еще более снижает устойчивость раствора белка. Если осаждение проводить на холоду и полученный осадок быстро отделить от спирта, то белок может быть снова растворен в воде, т.е. свойства его в этом случае не изменяются, денатурация не успевает произойти и осаждение обратимо. При стоянии со спиртом белок денатурирует и становится нерастворимым в первоначальном растворителе.

**Ход работы:** а) Приливают в пробирку 1-2 мл раствора белка, прибавляют щепотку сухого NaCl и взбалтывают. В пробирку постепенно приливают несколько мл этилового спирта и сильно взбалтывают. Через несколько минут выпадает мелкий осадок белка. б) В пробирку наливают 1 мл раствора белка, по

стенке осторожно добавляют 0,5 мл ацетона, на границе соприкосновения обеих жидкостей появляется белое кольцо денатурированного белка.

**Реактивы:** 1) белок, 4% р-р; 2) NaCl, порошок; 3) спирт этиловый; 4) ацетон.

### **Осаждение белков солями тяжелых металлов**

**Принцип метода:** Белки легко осаждаются солями металлов (свинца, меди, серебра, ртути и др.), образуя с ними прочные солеобразные и комплексные соединения. В отличие от высаливания солями щелочных и щелочноземельных металлов для осаждения солями тяжелых металлов требуются небольшие концентрации последних. В случае применения уксуснокислого свинца и  $\text{CuSO}_4$  избыток солей вызывает растворение образованного ими осадка. Такое растворение вызывается адсорбцией избытка ионов металла и перезарядкой белкового комплекса, вследствие чего в раствор переходит комплекс измененного белка с металлом. Благодаря тому же механизму добавление достаточного количества хлористого натрия вызывает растворение ртутного соединения белка. Белковые осадки, полученные действием солей тяжелых металлов, однако, нерастворимы в первоначальном растворителе, т.е. в воде или слабых растворах солей. Таким образом, осаждение белков солями тяжелых металлов следует отнести к необратимым реакциям осаждения, связанным с денатурацией белка. Осадки от солей тяжелых металлов, как правило, нерастворимы даже после удаления солей диализом или растворения водой. Свойством белков связывать тяжелые металлы пользуются в медицинской практике, употребляя белки (молоко, яйца) как противоядие при отравлении солями ртути (сулема), свинца (от недоброкачественной посуды) или меди (от окисления медной посуды), пока эти соли не успели всосаться. Реакции осаждения

**Реактивы:** 1) белок, раствор для осаждения; 2) ТХУ, 10% р-р;  
3) сульфосалициловая кислота, 20%.

### **ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ**

1. Дайте определение белкам.
2. Опишите строение первичной структуры белков.
3. Назовите типы связей, обуславливающих формирование четвертичной структуры белков.
4. Дайте определение понятию изоэлектрической точки белков.
5. Опишите процесс денатурации белков.
6. Укажите основные условия денатурации белков.
7. Расскажите о кислотной денатурации белков.
8. Дайте определение нативной структуры белков.

## РАЗДЕЛ II

### ФЕРМЕНТЫ

Ферменты - биологические катализаторы белковой природы. Термин фермент (от лат. *Fermentarium*- закваска) был предложен в начале XVII в. голландским ученым Ван-Гельмонтом для веществ, влияющих на спиртовое брожение. Ферменты и катализаторы неорганической природы, подчиняясь общим законам катализа, имеют сходные признаки:

- атаклизуют только энергетически возможные реакции;
- е изменяют направление реакции;
- не расходуется в процессе реакции;
- не участвуют в образовании продуктов реакции.

Почти все химические процессы в организмах и в различных производственных смесях протекают при участии ферментов.

Ферменты очень чувствительны к воздействию тепла, кислот, щелочей и солей металлов.

Большинство ферментов в водном растворе при комнатной температуре быстро теряет свою активность, поэтому растворы и препараты ферментов необходимо хранить при пониженных температурах. При длительной работе с растворами ферментов необходимо вносить антисептики (толуол или тимол) во избежание развития в растворах микроорганизмов.

Ферменты можно экстрагировать из растительного или животного материала водой, а затем водным экстрактом действовать на тот или иной субстрат (например, на крахмал или на белок). Учитывая количество образующихся продуктов реакции или изменения субстрата, определяют активность того или иного фермента. Так определяется активность ферментов, растворимых в воде. Однако ферменты не всегда растворяются в воде. Например, фермент липаза из семян клещевины не растворяется в воде. Поэтому в некоторых случаях применяются

автолитические методы, основанные на том, что размолотый и растертый испытуемый материал помещается в воду и оставляется на определенное время при температуре 40-45°C. Под действием как растворимых, так и нерастворимых ферментов, содержащихся в испытуемом материале, происходят соответствующие реакции. Таким образом, определяется суммарное действие ферментов, как растворимых в воде, так и нерастворимых.

Действие ферментов можно определить по вызываемому ферментами изменению окраски субстрата, по накоплению продуктов распада субстрата, по изменению вязкости, по изменению угла вращения плоскости поляризации и другими способами.

Белковую часть сложных белков ферментов называют апоферментом, а небелковую – кофактором. Кофактор условно делится на кофермент (коэнзим), легко диссоциирующий и простетическую группу, трудно диссоциирующую. Кофермент легко присоединяется к различным коферментам, а простетическая группа соединяется только с одним апоферментом.

#### **Цель занятия:**

- ознакомить студентов с методиками проведения ферментативных реакций на примере амилазы;
- исследовать влияние реакции среды, концентрации фермента и субстрата, температуры на ферментативные реакции; закрепить представления об особенностях строения молекул ферментов;
- выработать навыки обращения с химической посудой, реактивами;
- ознакомить со способами утилизации отработанных реактивов;
- привить навыки работы со справочной литературой и оформления отчета по лабораторной работе.

По своей химической природе ферменты являются белками, поэтому обладают всеми свойствами последних: термолабильностью, амфотерностью, способностью образовывать коллоидные растворы. Наряду с этим ферментам присущи и некоторые только для них характерные свойства, такие как, высокая специфичность, действие при определенном значении pH среды и др.

К общим свойствам ферментов относятся высокая каталитическая активность, специфичность действия, чувствительность к изменению температуры.

Действие почти всех ферментов связано с тем, что фермент временно вступает в химическое соединение со своим субстратом, тем самым видоизменяя его, а затем и отделяясь от него. Особенность ферментов – обратимость их действия. Они катализируют как процесс распада, так и синтеза, однако эти процессы могут катализироваться разными ферментами. Ферменты, являясь белками, обладают термолабильностью, их действие зависит от pH.

## **Занятие 6. Влияние температуры на активность ферментов**

Ферменты весьма чувствительны к температуре и проявляют свою наивысшую активность при оптимальном ее значении, которая для ферментов тела человека находится в пределах 35-45°C. При высокой температуре (свыше 50°C) их активность снижается, а затем наступает инактивация, так как при этом нарушается структура активного центра и не происходит соединения его с субстратом.

Степень инактивации зависит от длительности теплового воздействия. Вследствие тепловой денатурации белковой молекулы фермента происходит замедление и прекращение ферментативных реакций. При низких температурах ферменты хорошо сохраняются, но скорость ферментативного катализа

резко снижается. Температура, при которой каталитическая активность фермента максимальна, называется температурным оптимумом фермента. Различные клеточные ферменты имеют собственные температурные оптимумы, которые определяются экспериментально. Для ферментов животного происхождения температурный оптимум находится в интервале 40...50 °С.

В термолабильности ферментов можно убедиться на примере действия фермента амилазы слюны

**Ход работы.** В две пробирки прилить по 10 капель 1% раствора крахмала. Затем в одну из них добавить 5 капель амилазы разведенной, а в другую – такое же количество предварительно прокипяченной в течение 10 мин слюны. Пробирки встряхнуть и поставить в термостат на 15 мин при 37°C, после чего с содержимым каждой пробирки проделать реакции с йодом, Троммера. В пробирке с прокипяченной амилазой гидролиза крахмала не произойдет (почему?).

**Реактивы и оборудование:** 1% раствор крахмала, термостат или водяная баня, 1% раствор йода, 5 % раствор сульфата меди, 10% раствор гидроокиси натрия, амилаза, дистиллированная вода, 2% раствор соляной кислоты, 1% раствор хлорида натрия, 1% раствор сульфата меди, 5% эмульсия сухих сливок, 5% раствор панкреатина, 1% раствор фенолфталеина, 1% раствор карбоната натрия

### **Занятие 7. Определение специфичности ферментов**

Каждый фермент действует только на одно вещество или на группу сходных субстратов, что обусловлено соответствием структуры фермента, точнее его активного центра и структуры субстрата. Например, амилаза действует только на крахмал, сахараза – только на сахарозу и т.п.

Специфичность действия бывает абсолютная (действует только на определенный субстрат), относительная, групповая и стереохимическая. Высокая специфичность ферментов определяется только тем, что только некоторые строго определенные функциональные группы, входящие в состав ферментов, могут участвовать в образовании фермент – субстратного комплекса. Специфичность – это избирательность фермента по отношению к субстрату (или субстратам). Специфичность действия ферментов объясняется тем, что субстрат должен подходить к активному центру как "ключ к замку".

Амилаза ускоряет гидролиз только полисахаридов, не действуя на дисахариды. Сахароза состоит из двух молекул глюкозы, но на неё не действует амилаза, поэтому пробирка с сахарозой не даст реакции с реактивом Фелинга.

**Ход работы.** В две пробирки (№1 ) вносят 10 капель 1% раствора крахмала, в другую (№2) – 10 капель 2% раствора сахарозы. Затем в пробирки добавляют по 4 капли амилазы, разведенной в 5 раз. Перемешивают и оставляют в термостате на 15 мин. при 37°C. После этого с содержимым всех четырех пробирок проводят реакции с йодом, с реактивом Фелинга: к 5 каплям исследуемого раствора приливают 3 капли реактива, нагревают пробирку до кипения и кипятят в течение 1 мин. В случае положительной реакции на глюкозу наблюдается красное окрашивание вследствие образующейся закиси меди; результаты заносят в таблицу.

**Таблица - Определение специфичности действия ферментов**

| № пробирки | Субстрат | Фермент  | Реакция с йодом | Реакция Троммера |
|------------|----------|----------|-----------------|------------------|
| 1          | Крахмал  | Амилаза  |                 |                  |
| 2          | Сахароза | Амилаза  |                 |                  |
| 3          | Крахмал  | Сахараза |                 |                  |
| 4          | Сахароза | Сахараза |                 |                  |

В выводах следует отметить, в какой пробирке и при каких условиях обнаружено действие ферментов и почему.

**Приготовление реактива Фелинга:** медный купорос х.ч. выкристаллизовывают из горячего раствора и высушивают на фильтровальной бумаге. Готовят отдельно два раствора: а) 200 г сегнетовой соли и 150 г едкого натра разводят в мерной колбе (1 л) и доводят водой до метки; б) 40г медного купороса разводят в колбе вместимостью 1 л и доводят водой до метки. Перед употреблением смешивают эти два раствора в равных пропорциях.

### **Занятие 8. Влияние pH среды на активность ферментов**

Для каждого фермента существует определенное значение реакции среды, при которой он проявляет наивысшую активность. Изменения pH вызывают снижение или полное торможение деятельности фермента. В основе этого лежит нарушение структуры активного центра (при изменении реакции среды происходит изменение заряда функциональных групп, входящих в состав активного центра). Большинство ферментов проявляет максимальную активность при значениях pH, близких к нейтральным. Лишь отдельные ферменты "работают" в сильно кислой или сильно щелочной среде. Например, активность пепсина – фермента, гидролизующего белки в желудке, – максимальна при pH 1,5...2,5. В щелочной среде "работают" ферменты, локализованные в кишечнике. Изменение оптимального для данного фермента значения pH-среды может привести к изменению третичной структуры фермента, что скажется на его активности. С другой стороны, при изменении pH может измениться ионизация субстрата, что повлияет на образование фермент-субстратного комплекса.

Оптимум pH для амилазы можно определить при

взаимодействии её с крахмалом при различных значениях pH.

О степени расщепления крахмала судят по его реакции с раствором йода. При оптимальном значении pH расщепление крахмала произойдет полностью и реакция на крахмал с йодом будет отрицательная, но по мере удаления от этой точки в кислую или щелочную среду расщепление крахмала произойдет только частично, до стадии декстринов, которые дадут и йодом красно-бурую или фиолетовую окраску, или же крахмал вообще не будет расщепляться и реакция с йодом будет положительная.

**Ход работы.** а) В 8 пробирках приливают по 1 мл дистиллированной воды, а затем в пробирку №1 вносят 1 мл 0,2% раствора соляной кислоты, перемешивают и отбирают из нее 1 мл смеси, которую переносят в пробирку №3 и так далее. Из пробирки №8 отбирают 1 мл и выливают. Таким образом, получают различные разведения соляной кислоты, которые соответствуют различным значениям pH среды. После этого в каждую пробирку добавляют по 2 мл 1% раствора крахмала и по 1 мл амилазы, разведенной 1:10. Пробирки встряхнуть и поставить в термостат на 15 мин при 37°C. Затем охладить и добавить во все пробирки по 1 капле 1% раствора йода в йодиде калия. Отметить, что полный гидролиз крахмала произошел в пробирках № 5 и 6, где pH среды раствора находится в пределах 6,8 – 7,2, т.е. оптимальных для действия амилазы.

**Реактивы:** дистиллированная вода, 0,2% раствора соляной кислоты, 1% раствор крахмала, фермент амилаза, 1% раствор йода.

### **Занятие 9. Влияние активаторов и ингибиторов на активность ферментов**

Различные вещества могут вызывать или активирование действия фермента (активаторы) или тормозить его активность (ингибиторы). Примерами активаторов служат ионы хлора для амилазы, желчные кислоты для липазы поджелудочной железы,

тогда как в качестве ингибиторов амилазы выступают ионы меди; цитохромов, ферментов, участвующих в биологическом окислении, - цианиды и т.п.

Активаторы и ингибиторы влияют на активный центр фермента, способствуют образованию его или блокированию. Они могут взаимодействовать с аллостерическим центром и тем самым менять ферментативную активность. Например, сульфат меди оказывает тормозящее действие на активность амилазы. Ингибиторами нередко являются продукты промежуточных или конечных реакций какого-либо биохимического процесса. Некоторые природные или синтетические вещества оказывают избирательное ингибирующее действие на ферменты и используются в качестве лекарственных препаратов. В больших дозах подобные вещества могут оказаться ядами.

*Обратимые ингибиторы.* Различают три типа обратимого ингибирования ферментов; конкурентное, неконкурентное и бесконкурентное,

Конкурентным называют ингибитор, обратимо взаимодействующий с активным центром фермента. Как правило, конкурентные ингибиторы по структуре похожи на субстрат и могут вытесняться из фермент-ингибиторного комплекса избытком субстрата. Взаимодействие с конкурентным ингибитором не приводит к денатурации или инактивации фермента, поэтому при замене ингибитора на субстрат скорость ферментативной реакции не снижается.

Неконкурентные ингибиторы взаимодействуют с ферментами не в области активного центра, а на каком-то от него удалении, причем никаким избытком субстрата из комплекса не удаляются. При взаимодействии ингибитора с ферментом происходит изменение его конформации с последующей частичной дезинтеграцией активного центра.

Бесконкурентное ингибирование имеет место, когда ингибитор взаимодействует с ферментом только в составе

фермент-субстратного комплекса, препятствуя его распаду. Примером необратимого действия ингибиторов на ферменты могут служить фосфорорганические вещества, применяемые в качестве инсектицидов.

Действие ферментов может активизироваться веществами, которые называют активаторами, или замедляться веществами – ингибиторами

**Ход работы.** В пробирку №1 вносят 1 каплю 1% раствора хлорида натрия, в пробирку №2 – 1 каплю 1% раствора сульфата меди, а в пробирку №3 – 1 каплю воды. Затем во все пробирки добавляют по 10 капель амилазы в разведении 1:5. Перемешивают и вносят в каждую пробирку по 5 капель 1% раствора крахмала и оставляют 1-3 мин при комнатной температуре. После чего вносят во все пробирки по 1 капле 1% раствора йода в йодиде калия.

**Реактивы:** 1% раствор хлорида натрия, 1% раствор сульфата меди, амилаза, 1% раствор йода в йодиде калия, 1% раствор крахмала

Результаты записывают в виде таблицы:

**Таблица - Влияние активаторов и ингибиторов на активность амилазы**

| №<br>Пробы | Субстрат | Фермент | Окраска раствора после добавления йода в присутствии |               |                |
|------------|----------|---------|------------------------------------------------------|---------------|----------------|
|            |          |         | воды                                                 | сульфата меди | хлорида натрия |
| 1          | Крахмал  | Амилаза |                                                      |               |                |
| 2          | Крахмал  | Амилаза |                                                      |               |                |
| 3          | Крахмал  | Амилаза |                                                      |               |                |

## ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Расскажите о ферментах, как биокатализаторах химических реакций живых организмов.
2. Какой участок на поверхности белка называется активным центром?
3. Перечислите функциональные группы, входящие в состав активных центров ферментов.
4. Назовите факторы среды, влияющие на активность ферментов.
5. Объясните влияние температуры и pH среды на активность ферментов.
6. Опишите механизм денатурации ферментов.
7. Раскройте основные принципы формирования названий ферментов.
8. Раскройте роль регуляторных участков на поверхности апофермента в регулировании активности ферментов.
9. Перечислите типы ингибирования и активирования ферментативных реакций.
10. Расскажите об использовании ферментов в биотехнологической промышленности и других отраслях.

### РАЗДЕЛ III СЛОЖНЫЕ БЕЛКИ

Сложными белками называются белки, которые кроме белковой части содержат небелковый компонент, называемый простатической группой. В зависимости от химической природы простатической группы сложные белки делятся на нуклеопротеиды, хромопротеиды, фосфопротеиды, гликопротеиды и липопротеиды.

#### Нуклеопротеиды

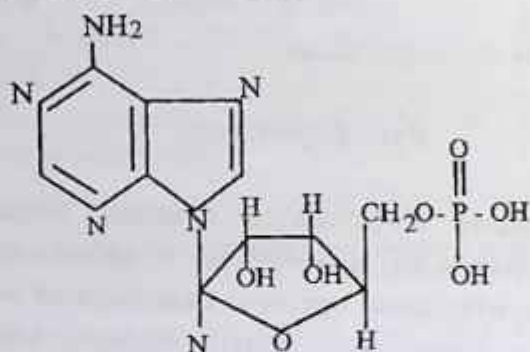
Нуклеопротеиды встречаются главным образом в ядрах клеток и в небольшом количестве в цитоплазме. Наиболее богаты нуклеопротеидами органы, содержащие много ядерной субстанции, как например, зубная железа, панкреатическая железа, селезенка, печень, почки и др.

Из растительных объектов особенно богаты нуклеопротеидами дрожжи. Нуклеопротеиды растворяются в разбавленных щелочах и легко осаждаются при подкислении.

При частичном гидролизе нуклеопротеиды распадаются на белок преимущественно основного характера (протамин или гистон) и нуклеиновые кислоты. Схема полного распада нуклеопротеидов может быть представлена в следующем виде:



Нуклеиновые кислоты, называемые также полинуклеотидами, представляют собой высокомолекулярные соединения, построенные из большого количества моновуклеотидов. Моновуклеотиды при гидролизе распадаются на пуриновые или пиримидиновое основание, углевод (рибоза или дезоксирибоза) и фосфорную кислоту. Примером такого моновуклеотида может служить адениловая кислота.



Аденин                  рибоза                  фосфорная кислота

АДЕНИЛОВАЯ КИСЛОТА

АДЕНОЗИН -5-ФОСФАТ

АМФ (АДЕНАЗИНМОНОФОСФАТ)

## Занятие 10. Гидролиз нуклеопротеинов дрожжей

Для изучения химического состава нуклеопротеидов удобно пользоваться дрожжевыми клетками. При непродолжительном гидролизе дрожжевой массы нуклеопротеиды распадаются на полипептиды, пуриновые и пиримидиновые основания, рибозу и дезоксирибозу и фосфорную кислоту. Продукты гидролиза могут быть обнаружены в гидролизате специфическими для каждого вещества реакциями.

**Ход работы:** В большой широкой пробирке (15 см x 1,5 см) 500 мг пекарских дрожжей или 100 мг сухих дрожжей заливают 4 мл 10% раствора серной кислоты. Пробирку закрывают пробкой,

в которую вставлена в качестве холодильника стеклянная трубка длиной 25-30 см, и ставят на асбестовую сетку на слабый огонь.

Через 1-1,5 часа начала кипения нагревание жидкости прекращается, дают ей остыть и фильтруют. В фильтрате открывают продукт-рибозу и фосфорную кислоту.

а) Биуретовая проба на полипептиды

К 5 каплям гидролизата добавляют 10 капель 10% раствора едкого натра и 1 каплю 1% раствора медного купороса. Жидкость окрашивается в розовый цвет.

б) Серебряная проба на пуриновые основания

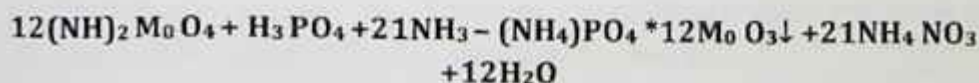
10 капель гидролизата нейтрализует 1 каплей концентрированного аммиака и добавляют 5 капель 1% раствора азотнокислого серебра. При стоянии через 3-5 минут выпадает небольшой рыхлый осадок серебряных соединений, пуриновых оснований (аденина, гуанина), окрашенных в бурый цвет.

в) Проба Троммера на рибозу и дезоксирибозу

К 5 каплям гидролизата добавляют 10 капель 30% раствора едкого натра и 5-10 капель 7% раствора сернокислой меди. Жидкость перемешивают и верхний слой ее нагревают до начала кипения. Выпадает красный осадок закиси меди (или желтый осадок гидрата закиси меди) вследствие окисления рибозы и восстановления гидрата окиси меди до закиси.

г) Молибденовая проба на фосфорную кислоту

К 10 каплям молибденового реактива (раствор молибденовокислого аммония в азотной кислоте) добавляют 5 капель гидролизата и кипятят несколько минут на голом огне. В присутствии фосфорной кислоты выпадает желтый кристаллический осадок комплексного соединения фосфорномолибденовокислого аммония.



*фосфорномолибденовокислый аммоний*

**Реактивы:** 10% раствор едкого натра, 1% раствор медного купороса, 1% раствор азотнокислого серебра, 30% раствор едкого натра, 7% раствор сернокислой меди, раствор молибденовокислого аммония в азотной кислоте.

### ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Расскажите о значении нуклеиновых кислот для живых организмов.
2. Перечислите азотные основания, входящие в состав РНК и ДНК.
3. Напишите структурные формулы азотистых оснований.
4. Назовите моносахариды, входящие в структуру ДНК и РНК.
5. Расскажите о различиях в строении нуклеозидов и нуклеотидов.
6. Опишите строение РНК и ДНК и укажите на их принципиальные отличия в строении.
7. Раскройте роль нуклеиновых кислот в хранении и передаче генетической информации.

## РАЗДЕЛ IV УГЛЕВОДЫ

К природным высокомолекулярным соединениям относятся углеводы, белки, нуклеиновые кислоты.

Углеводы (сахара) – обширная группа природных органических соединений, химическая структура которых часто отвечает общей формуле  $C_m(H_2O)_n$ , т.е. углерод + вода. Используемый термин возник более 100 лет назад, когда так называли природные соединения, отвечающие формуле  $(CH_2O)_n$ , т.е. гидраты углерода. Углеводы включают соединения, начиная с низкомолекулярных, содержащих всего несколько атомов углерода, до веществ, молекулярная масса которых достигает нескольких миллионов.

Углеводы образуются в растениях в результате фотосинтеза и служат главным средством питания человека, животных и микроорганизмов. К классу углеводов относятся органические соединения, содержащие альдегидную или кетонную группу, несколько спиртовых гидроксильных групп и обладающие разнообразными свойствами.

Во всех организмах углеводы служат материалом, при окислении которого выделяется энергия, которая используется в химических реакциях. Углеводы являются составными частями многих соединений, участвующих в превращениях веществ в организме и непосредственно используются для построения субклеточных структур, клеточных оболочек и др., выполняющих в организме опорные, защитные, рецепторные и др. функции.

В зависимости от состава, строения и свойств углеводы делят на две группы: простые и сложные. Простые углеводы не подвергаются гидролизу. Сложные углеводы при гидролизе распадаются с образованием простых углеводов.

| УГЛЕВОДЫ                             |                                                                |                                      |
|--------------------------------------|----------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| Моносахариды                         | олигосахариды                                                  | полисахариды                         |
| и их производные<br>и их производные | (число моносахаридов<br>от 2 до 10: ди-три-<br>тетра-сахариды) | (число<br>моносахаридов<br>свыше 10) |

Углеводы, имеющие альдегидную группу, называют альдозами, а кетонную – кетозами. Самыми простыми углеводами являются глицериновый альдегид и диоксиацетон.

Очень часто сахара вступают в соединение с другими веществами, образуя гликозиды. Окисление спиртовой группы до карбоксильной приводит к образованию уроновых кислот: глюкоуроновой, галактууроновой, манауроновой и др., которые входят в состав полисахаридов. Окисление двух концевых группы до карбоксильной дает оровые кислоты – глюкоровую, галакторовую.

Большую роль играют аминосахара – глюкозамин, галактозамин, которые участвуют в синтезе полисахаридов. Производными моносахаридов являются фосфорные эфиры.

К распространенным олигосахаридам относятся лактоза, содержащаяся в молоке; сахароза, распространенная в растительном мире; мальтоза – продукт гидролиза крахмала.

Полисахаридами называют высокомолекулярные углеводы. Чаще всего мономером их является Д-глюкоза, галактоза, фруктоза, манноза и др. производные моносахаридов. Например, крахмал или гликоген состоят только из глюкозы.

### Цель работы:

- ознакомить студентов с методиками проведения качественных реакций на углеводы;
- закрепить представления об особенностях строения молекул углеводов;
- выработать навыки обращения с химической посудой,

реактивами;

- ознакомить со способами утилизации отработанных реактивов;

- привить навыки работы со справочной литературой и оформления отчета по лабораторной работе.

### **Занятие 11. Качественные реакции на крахмал**

**Ход работы:** Берут 50 мл воды, нагретой до кипения, и прибавляют 1 г крахмала, предварительно размешанного в 10 мл холодной воды. При прибавлении крахмала в кипящую воду его следует все время размешивать стеклянной палочкой.

После прибавления крахмала жидкость кипятят до тех пор, пока она не станет более или менее прозрачной. Полученный коллоидный раствор крахмала будет иметь вид жидкого студня.

1. Взяв в пробирку 1-2 мл коллоидного крахмального клейстера, прибавляют несколько капель раствора йода с йодистым калием, клейстер окрашивается в синий цвет. При нагревании окраска исчезает, а при охлаждении появляется вновь.

2. Проделывают с клейстером реакцию Троммера - результат отрицательный.

3. Взяв в пробирку 5-10 мл горячего клейстера, прибавляют несколько капель кислоты размешивают, выдерживают в водяной бане 30 минут, нейтрализуют содой и делают реакцию Троммера. При нагревании с кислотой происходит гидролитический распад крахмала, конечным продуктом которого является глюкоза.

Реакция Троммера положительная - выпадает обильный осадок закиси меди.

Покажите строение крахмала.

**Реактивы:** раствор йода с йодистым калием, 1% крахмал, 10% раствор едкого натра, 1% раствор медного купороса.

## Занятие 12. Открытие сахарозы и глюкозы

**Ход работы:** Сахарозы много в корнеплодах сахарной свеклы, откуда ее и получают технически.

Для этого опыта берут 20 г натертой на терке сахарной свеклы, помещают в колбу, заливают 50 мл воды, тщательно перемешивают.

Через 20 минут раствор фильтруют или отжимают через чистый кусок белой материи. Затем берут в пробирки две пробы фильтрата по 10 мл. с одной проделывают немедленно реакцию Триммера. Осадка закиси меди не получается (реакция отрицательная), так как в сахарозе нет свободной альдегидной группы, и она не является редуцирующим сахаром.

Во вторую пробу прибавляют 2-3 колли концентрированной серной кислоты, тщательно перемешивают и ставят на 30 минут в водяную баню. В присутствии кислоты (катализатор) происходит гидролиз сахарозы на моно сахара – фруктозу и глюкозу.

Через 30 минут пробирку снимают с бани, охлаждают, нейтрализуют 10%-ным раствором соды, берут 1 мл нейтрализованного раствора и проделывают реакцию Триммера. Выпадает красный осадок закиси меди – реакция положительная.

Для получения моносахарида можно использовать корнеплод моркови. Очищенный и вымытый корнеплод моркови натирают на терке берут от 5 до 10 г мезги, помещают в колбу, наливают 10-15 мл воды, кипятят и отфильтровывают.

В фильтре содержится глюкоза, которую открывают реактивом Троммера. Для этой цели берут в пробирку 1 – мл фильтрата, прибавляют равный объем жидкости (реактив

Троммера), кипятят.

Выпадает красны осадок закиси меди.

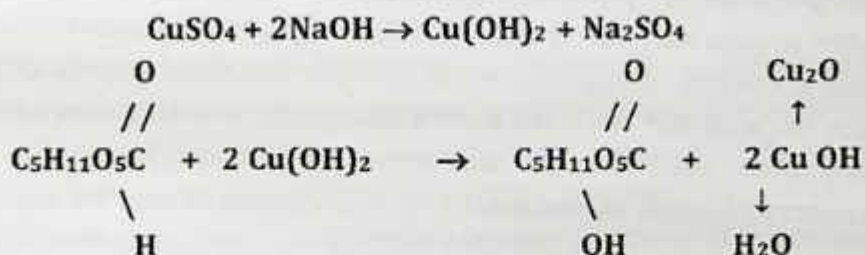
### Занятие 13. Реакции на восстанавливающие свойства сахаров

Среди различных свойств углеводов их способность восстанавливать металлы из окислов широко используется для открытия углеводов в клинике, в частности для обнаружения глюкозы в крови и моче.

#### Реакции на восстанавливающие свойства сахаров.

Моносахариды, как и некоторые дисахариды, имеющие свободную карбонильную группу (мальтоза, лактоза), обладают способностью восстанавливать в щелочной среде металлы из окислов в закисную форму или в свободное состояние.

а) **Реакция Троммера.** Глюкоза в щелочной среде восстанавливает окись меди в закись, а сама окисляется до глюконовой кислоты:



**Ход работы.** В 4 пробирки вносят по 10 капель последовательно в каждую 1% растворы глюкозы, мальтозы, сахарозы и крахмала, а затем добавляют по 10 капель 10% раствора гидроокиси натрия и по 1 капле 5% раствора сульфата меди и осторожно нагревают до кипения. Выпадает красный осадок (Cu<sub>2</sub>O) в пробирках №1 и №2.

**Реактивы:** 1% растворы глюкозы, мальтозы, сахарозы и крахмала, 10% раствор гидроокиси натрия, 5% раствор сульфата меди.

#### **Занятие 14. Количественное определение клетчатки в растениях**

Метод предложенный Кюршером и Банеком основан на выделение из растительного материала при помощи уксусной и азотной кислоты растворимых веществ, и определение остаточной клетчатки.

**Ход работы:** Из растительного материала берут 1 г , и в фарфоровой ступке размельчают до появления однородной массы.

Эту массу переводят в колбу 100-200 мл объема, и добавляют 40 мл смеси уксусной и азотной кислоты. К колбе присоединяют холодильное устройство и в течении одного часа выдерживают в песочной бане. После охладив, при помощи специальной фильтровальной посуды фильтруют или центрифугируют. Осадок промывают несколько раз 0,2 молярной жидкости едкого калия в спирту в горочек виде и в дистиллированной воды в конце промывают в 10 мл ах этилового спирта. После осадок до постоянного веса высушивают в сушильном шкафе (+105°C). По количеству осадка вычисляют в % ах количество клетки.

$$X = \frac{a \cdot 100}{m}$$

где:

X-количество клетчатки в % ах

a- количество осадка в опыте (г)

m- количество растительного материала (г)

**Реактивы:** фарфоровая ступка, смесь уксусной и азотной кислоты, песочная баня, сушильный шкаф.

### ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Биологическая роль углеводов и их распространение в природе.
2. Особенности строения углеводов, изомерия и конформации моноз.
3. Физические и химические свойства моносахаридов. Гликозиды, сахарные кислоты, аминсахара.
4. Олигосахариды. Характеристика основных дисахаридов животных и растительных организмов. Их строение и свойства (мальтоза, целлобиоза, лактоза, сахароза).
5. Полисахариды II порядка (гликаны). Строение и свойства основных представителей гомогликанов (крахмал, гликоген, целлюлоза, хитин, пектиновые вещества).
6. Гетерогликаны. Строение и биологическая роль (гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты, гепарин).
7. Перечислить групповые и специфические реакции на углеводы. Рассмотреть их химизм.
8. Химизм реакции Троммера и реакции с фелинговой жидкостью. Какие из перечисленных углеводов и почему можно открыть с помощью этих реакций: фруктоза, глюкоза, дезоксирибоза, мальтоза, сахароза.
9. Какие принципы положены в основу методов определения

## РАЗДЕЛ V

### ЛИПИДЫ

Липиды (от греч. липос – жир) – низкомолекулярные органические соединения, практически нерастворимые в воде, которые могут быть извлечены из клеток неполярными органическими растворителями (хлороформ, бензол, петролейный эфир). Отличительным свойством липидов является их гидрофобность (липофильность). Липиды представляют собой разнородные химические соединения

#### I Простые липиды:

- 1 ацилглицеролы (жиры, триглицериды и т.п.);
- 2 воска.

#### II Сложные липиды:

##### 1. Фосфолипиды:

- глицерофосфолипиды (фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол, фосфатидилглицерол, кардиолипин, плазмалоген);

- сфингофосфолипиды (сфингомиелин);

2. Стероиды (холестерол, эргостерол, ланостерол, стигмастерол, эхдистероиды);

3. Гликолипиды (цереброзиды, ганглиозиды, сульфатиды).

Для характеристики жира используют константы или жировые числа:

**Кислотное число** – масса КОН (мг), необходимая для нейтрализации свободных жирных кислот в 1 г жира.

**Число омыления** – это масса КОН (мг), необходимая для гидролиза нейтральных липидов (омыления) и нейтрализации всех жирных кислот (в том числе и свободных), содержащихся в 1 г жира. Чем выше число омыления, тем больше низкомолекулярных кислот входит в состав жира.

Йодное число – это масса йода (г), связываемая 100 г жира. Йодное число характеризует степень ненасыщенности, так как присоединение йода происходит по месту разрыва кратных связей в остатке жирной кислоты. Чем больше йодное число, тем выше ненасыщенность жира.

Липиды широко применяют в медицине и технике. Из них получают основу для мазей, мыло (соли жирных кислот), масляные краски, олифу и т.п.

### Занятие 15. Определение йодного числа различных масел

**Ход работы:** В предварительно взвешенную сухую колбу для титрования помещают 3-4 капли масла (жира).

Колбу повторно взвешивают на аналитических весах. По разности весов рассчитывают массу навески масла (жира). В колбу добавляют 25 мл спирта (при плохой растворимости слегка подогревают на водяной бане). Затем в колбу вносят 12,5 мл 0,2н спиртового раствора йода (из бюретки), 100 мл воды и перемешивают 5 мин. Содержимое колбы титруют 0,1н раствора тиосульфата натрия до появления слабо желтого окрашивания.

Для более точного определения в колбу приливают 1 мл раствора крахмала и титрование заканчивают до исчезновения синего окрашивания.

Опыт повторяют – контроль, но без масла (жира).

Расчет йодного числа проводят по формуле:

$$\text{Й.ч.} = (V_2 - V_1) \times 0,0127 \times 100 / m,$$

где:  $V_2$  – объем (мл) раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование контроля;  $V_1$  – объем (мл) раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование пробы масла; 0,0127 – титр тиосульфата по йоду;  $m$  – навеска масла (г)

**Материалы и оборудование:** аналитические весы, колбы, растительное масло, титровальное оборудование, бюретки, водная баня, 96° этиловой спирт, 1% раствор йода, 1% раствор крахмала, 0,1н раствор тиосульфата натрия, смеси спирта с эфиром (1:1), раствор фенолфталеина, 0,1н раствор КОН

### **Занятие 16. Определение кислотного числа различных масел**

**Ход работы:** В предварительно взвешенную сухую колбу для титрования помещают примерно 2 мл масла (жира) – 2...3 г. Колбу повторно взвешивают на аналитических весах. По разности рассчитывают массу навески масла (жира)  $\approx 2...3$  г. В колбочку добавляют 10...15 мл смеси спирта с эфиром (1:1), 1...2 капли фенолфталеина и титруют 0,1 н раствор КОН до появления слабо-розового окрашивания. Окраска после взбалтывания не должна исчезать в течение 0,5...1 мин.

Кислотное число рассчитывают по формуле:

$$K.ч. = VT/m,$$

где К.ч. – кислотное число; V – объем (мл) спиртового раствора КОН, пошедшего на титрование (мл); Т – титр 0,1 н раствора КОН; m – масса навески масла (жира), г.

**Материалы и оборудование:** аналитические весы, колбы, растительное масло, титровальное оборудование, бюретки, водная баня, 96° этиловой спирт, 1% раствор йода, 1% раствор крахмала, 0,1н раствор тиосульфата натрия, смеси спирта с эфиром (1:1), раствор фенолфталеина, 0,1н раствор КОН

## Занятие 17. Определение числа омыления масел

Количество едкого калия ушедшего на титрование свободных и связанных жирных кислот называется числом омыления.

Число омыления растительных масел под действием различных факторов изменяются. Например, кокосовое, пальмовое и др. растительные масла имеют высокое число омыления.

**Ход работы:** В сухую колбу наливают 0,5-1 г растительного масла. Для контроля на такую же колбу набирают 0,5-1 мл воды.

В обе колбы наливают по 15 мл 0,5 нормального раствора едкого калия. Колбы закрывают резиновой пробкой, и соединяют к воздушному холодильнику, кипятят в водяной бане в течении 1 часа. Колбы временами взбалтывают. После завершения омыления к каждой колбе добавляют по 15-20мл дистиллированной воды и добавляют 3-4 капли фенолфталеина. После титруют соляной кислотой до исчезновения розовой окраски. Раствор 1 мл 0,5н едкого натрия равен 28мг и делают расчет числа омыления по следующей формуле:

$$X = \frac{(a-v) \cdot t \cdot 2,8}{H}$$

где:

X - число омыления;

a - количество соляной кислоты ушедший для титрование контроля;

v - количество соляной кислоты ушедший для титрование опытной пробы;

t - поправка к титру соляной кислоты;

H-навеска масла (г);

2,8-коэффенциент, содержание в 1 мл 0,5 н соляной кислоты.

**Материалы и оборудование:** аналитические весы, колбы, растительное масло, титровальное оборудование, бюретки, водная баня, 96° этиловый спирт, 1% раствор йода, 1% раствор крахмала, 0,1н раствор тиосульфата натрия, смеси спирта с эфиром (1:1), раствор фенолфталеина, 0,1н раствор КОН

## **Занятие 18. Определение изменения кислотного числа при хранении масел**

### **Определить наличие порчи исследуемых масел или жиров**

Освоить теоретический материал о видах порчи масла (жира) при хранении. Теоретический материал представлен в главе 3 «Биохимия молока. Изменения молочного жира при хранении. Антиоксиданты»

Изучить сущность методов выявления перекисного прогорания жиров и масел.

Освоить методику проведения эксперимента.

Проверить знания, ответив на вопросы для самоконтроля.

Сравнить полученные данные с литературными, сделать вывод о качестве исследуемых масел (жиров).

**Сущность метода.** Перекисную порчу масел (жиров) характеризуют перекисным числом. В свежих продуктах оно равно нулю, но по мере хранения в неблагоприятных условиях повышается.

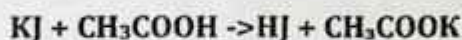
Перекисное число соответствует количеству перекисей в пробе, выраженному в миллимолях активного кислорода ( $1/2 O_2$ ) на 1 кг масла (жира), который при данных условиях определения окисляет йодид калия.

Определение перекисного числа основано на способности перекисей восстанавливать йод из йодида водорода.

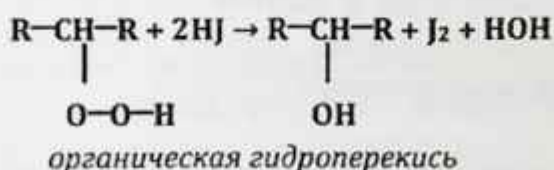
Массу восстановленного йода определяют по объему

раствора тиосульфата натрия, пошедшего на его титрование. В качестве индикатора используют крахмал.

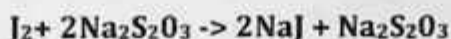
Йодид водорода образуется в результате реакции между йодидом калия и уксусной кислотой по уравнению:



Йодид водорода способен окисляться гидроперекисями с выделением йода:



Йод оттитровывают раствором тиосульфата натрия:



Метод пригоден для определения перекисных чисел в пределах от 0 до 45 моль активного кислорода ( $1/2 O_2$ ) на 1 кг масла или жира.

**Ход работы:** Определение проводят при искусственном освещении или дневном рассеянном свете.

Массу навески продукта определяют в соответствии с таблицей 46 в зависимости от предполагаемого перекисного числа.

Берут две колбы вместимостью по 100 см<sup>3</sup> с притертыми пробками. В одну отвешивают пробу продукта (г), масса которого выбрана в соответствии с таблицей 31 (опытная проба), другую оставляют пустой (контрольная проба).

В обе колбы центрифужными пробирками вносят по 10 см<sup>3</sup>

хлороформа, быстро растворяют пробу, приливают по 15 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты (реактив 30). Колбы закрывают пробками. В опытной колбе растворяют жир, покачивая колбу круговыми движениями. Затем в обе колбы пипетками добавляют по 1 см<sup>3</sup> водного раствора йодида калия, насыщенного на холоде (реактив 28а), смесь равномерно перемешивают в течение 1 мин и оставляют в темном месте на 5 мин при комнатной температуре.

После выдержки в темном месте в колбы добавляют по 75 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и раствор 1%-ного раствора крахмала (реактив 10) до появления слабого однородного фиолетово-синего окрашивания раствора.

**Таблица** - Определение массы навески масла (жира) в зависимости от предполагаемого перекисного числа, ммоль (1/2 Ог) кг

| Предполагаемое перекисное число, ммоль (1/2 Ог) кг | Масса навески продукта, г |
|----------------------------------------------------|---------------------------|
| От 0 до 6                                          | (5,0...2,0)±0,01          |
| Свыше 6 до 10                                      | (2,0...1,2)±0,01          |
| Свыше 10 до 15                                     | (1,2...0,8)±0,01          |
| Свыше 15 до 25                                     | (0,8...0,5)±0,001         |
| Свыше 25 до 45                                     | (0,5...0,3)±0,001         |

Выделившийся йод оттитровывают из микробюретки раствором тиосульфата натрия ( $C_2 = 0,01$  моль/дм<sup>3</sup>) (реактив 96) до молочно-белого окрашивания реакционной смеси, устойчивого в течение 5 с.

Если на титрование расходуется менее 0,5 см<sup>3</sup> раствора тиосульфата натрия, то определение повторяют, используя для титрования раствор концентрацией 0,002 моль/дм<sup>3</sup>.

Допускается наличие различных оттенков окраски в соответствии со специфическими особенностями исследуемых

жиров и масел.

Для перекисных чисел менее 6 ммоль/кг рекомендуется использовать раствор тиосульфата, натрия с эквивалентной концентрацией 0,002 моль/дм<sup>3</sup>

**Обработка результатов.** Перекисное число вычисляют по формуле:

$$K = \frac{(V_0 - V_k) * c * T * 1000}{m} \left( \text{ммоль } \frac{1}{2} \text{ O}_2 \text{ на 1 кг} \right)$$

где:  $K$  — перекисное число, ммоль активного кислорода на 1 кг продукта;  $V_0$  — объем раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование опытной пробы, см<sup>3</sup>;  $V_k$  — объем раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование контрольной пробы, см<sup>3</sup>;  $c$  — концентрация раствора тиосульфата натрия, моль/дм<sup>3</sup>;  $T$  — титр раствора тиосульфата;  $m$  — масса продукта, г; 1000 — коэффициент пересчета на 1000 г продукта.

Вычисления проводят до второго десятичного знака с последующим округлением до первого десятичного знака.

**Реактивы:** коническая колба с притертой пробкой вместимостью 100 см<sup>3</sup>; весы лабораторные ВЛКТ-500 4-го класса точности с ценой деления 0,01 г; центрифужная пробирка градуированная вместимостью 10 см<sup>3</sup>; пипетка градуированная вместимостью 1 и 5 см<sup>3</sup>; секундомер; микробюретка вместимостью 5 см<sup>3</sup>; встряхиватель.

Полученные данные сравнить с литературными и сделать вывод о наличии или отсутствии перекисного окисления масла (жира).

Литературные данные: пищевой топленый жир, полученный от убойного скота, считают свежим, если он имеет перекисное

число не более 0,5 моль активного кислорода на 1 кг продукта. Свежее сливочное масло не должно иметь перекисное число более 0,3, растительные масла — более 10,0 моль активного кислорода на 1 кг продукта.

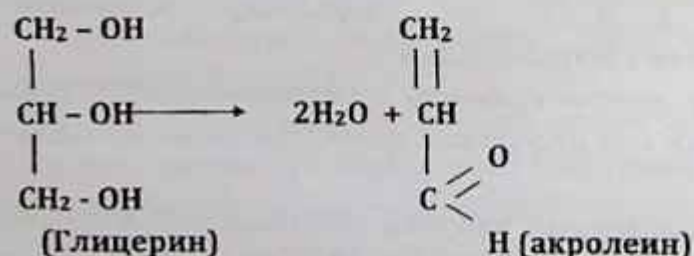
## Занятие 19. Определение глицерина в составе масел. Реакция акролеина

Липиды являются составной частью мембранных структур клеток и их органелл (митохондрий, ядер, ЭР, лизосом и др.), а также участвуют в энергетических процессах, обеспечивая синтез АТФ. Кроме того, липиды регулируют протекание метаболических процессов в клетках, управляют экспрессией генов. В составе нуклеиновых кислот липиды выполняют защитную функцию.

Липиды откладываются в основном в семенах растений. Так, в семенах ржи, ячменя, пшеницы 2-3%, хлопчатника, сои- 20-30%, льна, конопли, подсолнечника – 30-50% , мака клещевины-50—60%. Защитную функцию выполняют воски, которые покрывают поверхности листьев и стеблей растений.

Акролеин образуется из глицерина. Это осуществляется при помощи обезвоживающих веществ (гидросульфит калий, борная кислота, сульфит магния).

Акролеин является простым альдегидом в ряду этилена



Реакция акролеина используется для открытия глицерина в составе масел.

**Ход работы:** В пробирку набирают 2-3 капли хлопкового и другого масла, к нему добавляют 0,3-0,5г гидросульфата калия или другое обезвоживающее вещество и нагревают, появляется белый дым.

Образовавшийся неприятный запах показывает образование акролеина.

**Реактивы:** хлопковое или другое масло, гидросульфат калия

### ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

1. Назовите основных представителей карбоновых кислот.
2. Напишите структурные формулы основных липидов.
3. Опишите физико-химические свойства липидов.
4. Назовите высшие жирные кислоты растений.
5. Перечислите отличительные признаки насыщенных и ненасыщенных жирных кислот.
6. Раскройте биологическую роль высших жирных кислот.
7. Напишите структурные формулы основных фосфолипидов.
8. Расскажите о биологической роли стероидов растений.
9. Приведите примеры терпенов и расскажите об их биологической роли.

## **РАЗДЕЛ VI ВИТАМИНЫ**

Витаминами называются органические вещества разнообразной химической природы, которые необходимы в малых дозах для нормального обмена веществ и жизнедеятельности животного и человеческого организма

Витамины образуются, главным образом, в растениях. Животные и человек, получают их с пищей в готовом виде или в виде провитаминов, из которых затем образуются витамины. Витамины необходимы также для нормального роста и развития растений и микроорганизмов.

Витамины разделяются на водорастворимые и жирорастворимые. Водорастворимые витамины в пищевых продуктах могут быть обнаружены по ряду качественных реакций.

### **Занятие 20. Открытие аскорбиновой кислоты в шиповнике**

Витамин С – аскорбиновая кислота является антицинготным или антискорбутным витамином. Витамин С содержится в хлорофиллоносных частях растений, ягодах, плодах, клубнях

Аскорбиновая кислота легко окисляется при действии ферментов: аскорбиноксидазы, пероксидазы, полифенолоксидазы.

Метод определения аскорбиновой кислоты по Тольмансу основан на ее восстанавливающих свойствах. При титровании раствором дихлорфенолиндофенола происходит окисление аскорбиновой кислоты в дегидроаскорбиновую кислоту. Конец реакции можно установить по изменению окраски: восстановленная форма дихлорфенолиндофенола приобретает

розовую окраску.

Аскорбиновая кислота, содержащаяся в вытяжке из шиповника, восстанавливает феррицианид калия (железосинеродистый калий) в ферроцианид (железистосинеродистый), который, взаимодействуя с хлорным железом, образует плохо растворимую в воде соль трехвалентного железа - берлинскую лазурь.

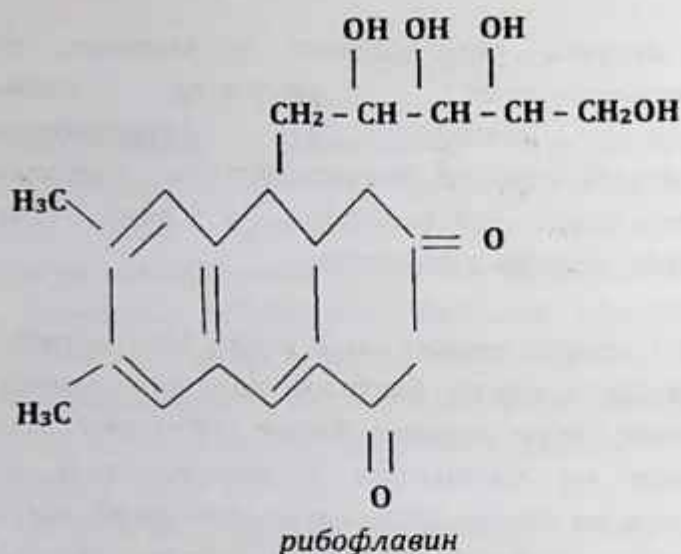
**Ход работы.** В пробирку вносят по 2 капли 5% раствора феррицианида калия и 1 каплю раствора хлорного железа. Жидкость приобретает бурую окраску. Затем добавляют 5-10 капель 1% вытяжки из шиповника (приготовленной из экстракта) и цвет раствора переходит в зеленовато-синий, после чего выпадает осадок темно-синего цвета (берлинская лазурь), который при добавлении воды становится более отчетливым.

**Реактивы:** 5% раствор феррицианида калия, раствор хлорного железа, экстракт шиповника,

## **Занятие 21. Открытие рибофлавина (витамин В<sub>2</sub>)**

В основе молекулы витамина В<sub>2</sub> лежит гетероциклическое соединение – изоаллаксазин, к которому присоединен пятиатомный спирт рибитол.

Витамин синтезируется только в растениях и микроорганизмах. Особенно высокое содержание его в активно растущих частях растений, а также зародышах и оболочках злаковых культур. Богаты витамином бобовые культуры. Кроме того витамин содержится в дрожжах, яичном белке, мясе, рыбе, печени и др.



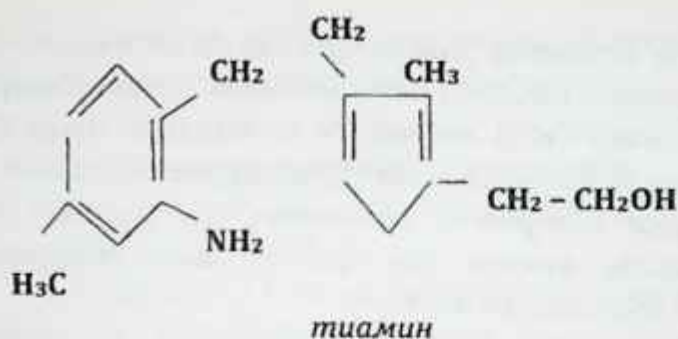
Реакция основана на способности витамина легко восстанавливаться, что сопровождается изменением окраски раствора из желтой в розовый с дальнейшим обесцвечиванием.

**Ход работы.** В пробирку приливают 10 капель 0,025% раствора рибофлавина, 5 капель концентрированной соляной кислоты и зернышко металлического цинка. Выделяющийся водород реагирует с витамином, восстанавливая его, и раствор меняет окраску (из желтого на красную и розовую), а затем обесцвечивается.

**Реактивы:** 0,025% раствора рибофлавина, концентрированной соляной кислоты, металлический цинк.

## Занятие 22. Качественная реакция на тиамин (витамин B<sub>1</sub>)

Основными частями витамина являются пиримидин и тиазонт, соединенные между собой метиленовой связью.



Тиамин содержится в дрожжах, в зародышах и оболочках пшеницы, овса, гречихи. Он накапливается в основном в зеленых листьях на свету, а также при созревании вещества почвы, в частности азот, фосфор, калий и сера. Витамин В<sub>1</sub> больше всего определяется в клетках печени и мозга. В молоке содержание витамина В<sub>1</sub> доходит до 0,8-1,2 мг/кг. Роль витамина В<sub>1</sub> в метаболических процессах проявляется через действие кофермента, который участвует в реакциях декарбоксилирования α-аминокислот.

При авитаминозах витамина В<sub>1</sub> развивается полиневрит (болезни «бери-бери»).

Играет важную роль в обмене веществ. Тиамин определяют на основании окисления в щелочной среде под действием гексоцианоферрата.

Ход работы: В пробирку набирают 2-3 мг тиамин-хлорида к нему добавляют 5-10 капель 5% ного раствора гексоцианоферрата и хорошо смешивают. После, пробирку разогревают и раствор приобретает желтую окраску. В этой реакции тиамин окисляясь превращается в тioxром.

В основе реакции лежит способность витамина в щелочной среде с диазореактивом образовывать окрашенное комплексное соединение.

**Ход работы.** В пробирку приливают по 5-10 капель 1% раствора сульфаниловой кислоты и 5% раствора нитрата натрия (состав диазореактива). Сюда же вносят на кончике ножа или стеклянной палочки небольшое количество порошка тиамин и по стенке пробирки осторожно добавляют 5-7 капель 10% раствора бикарбоната натрия. На границе двух жидкостей появляется кольцо оранжевого цвета.

**Диазореакция.** В щелочной среде тиамин с диазореактивом образует сложное комплексное соединение оранжевого цвета.

**Ход работы:** К диазореактиву, содержащему 5 капель 1%-ного раствора сульфаниловой кислоты и 5 капель 5%-ного раствора нитрата натрия, добавляют 1-2 капли 5%-ного раствора тиамин и затем по стенке, наклонив пробирку, осторожно добавляют 5-7 капель 10%-ного бикарбоната натрия. На границе двух жидкостей появляется кольцо оранжевого цвета.

**Реактивы:** 1% раствора сульфаниловой кислоты,

### **Занятие 23. Количественное определение витамина С в соках и напитках**

Определение содержания витамина С основано на способности аскорбиновой кислоты к окислению в дегидроаскорбиновую. 2,6-дихлорфенолиндофенол, окислению аскорбиновую кислоту, восстанавливается в бесцветное соединение (лейкоформу).

Раствор натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола (реактив Тильманса) в нейтральной и щелочной среде обладает синей окраской, в кислой среде принимает розовое окрашивание.

**Подготовка материала к исследованию.** При исследовании картофеля из каждого клубня вырезают сектор наподобие

лимонной дольки, чтобы захватить все слои клубня. При анализа качественной капусты срез делают через все слои кочана. Томаты и другие сочные плоды разрезают по вертикальной оси на 4-6 частей и для исследования берут одну часть.

Пробы, взятые из нескольких клубней, кочанов, плодов, составляют среднюю пробу.

Среднюю пробу плодов, овощей, листьев быстро разрезают ножом из нержавеющей стали или хромированным (на стеклянной пластинке или в фарфоровой чашке).

Мелкие плоды и ягоды растирают в ступке. При исследовании вишен, черешен, слив удаляют косточки. Листья разрезают на кусочки. Из измельченного (разрезанного или растертого) и тщательно перемешанного материала берут две параллельные навески на технических весах в стаканчики или на часовые стекла. В навесках определяют содержание аскорбиновой кислоты.

В зависимости от предполагаемого содержания витамина С навеса должны составлять 5-20 г.

**Ход работы:** Навеску на ступке сразу же заливают 20 мл 10-ного раствора соляной кислоты и быстро растирают до образования однородной кашицеобразной массы. Для облегчения процесса растирания можно добавить немного хорошо промытого и высушенного стеклянного порошка. Растертую гомогенную массу при помощи воронки и стеклянной палочки переводят в мерную колбу на 100 мл. Ступку и пестик несколько раз ополаскивают 1%-ным раствором щавелевой кислоты. Который вливают в ту же мерную колбу. Содержимое колбы доводят до метки той же 1%-ной щавелевой кислотой. Колбу закрывают пробкой, тщательной взбалтывают в течение 1-2 мин. и оставляют на 8-10 мин, после чего ее содержимое фильтруют через сухой бумажный фильтр или центрифугируют.

Смесь соляной и щавелевой кислот не только извлекает из

тканей аскорбиновой кислоту, но и повышает ее устойчивость в вытяжке.

В 2-3 конические колбы на 50-100 мл пипеткой вносят по 10 мл фильтрата, который титруют из микробюретки раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления розовой окраски, удерживающейся в течение 0,5-1 мин. параллельно проводят не менее двух-трех титрований.

Одновременно проводят контрольный опыт для проверки восстанавливающих свойств растворов соляной и щавелевой кислот, которые применялись для извлечения витамина С. В мерную колбу на 100 мл вносят 20 мл 1%-ного раствора соляной кислоты и доводят до метки 1%-ным раствором щавелевой кислоты. Содержимое колбы перемешивают и пипеткой берут для титрования две пробы по 10 мл, которые титруют тем же раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления розового окрашивания. Полученную поправку (так называемую поправку на реактивы) вычитают из результатов титрования опытного раствора. Величина ее обычно составляет 0,05-0,1 мл.

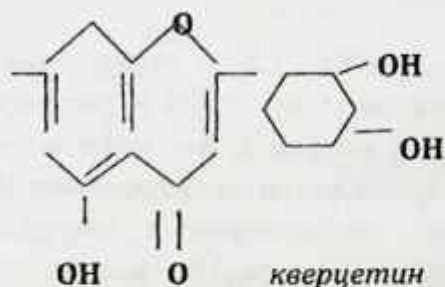
Содержание витамина С (в миллиграммах на 100 г растительного материала) рассчитывают по формуле:

$$T = \frac{0,088 \cdot A}{B \cdot H}$$

где: А-количество 2,6-дихлорфенолиндофенола, израсходованное на титрование опытного раствора (среднее из 2-3 титрований), мл; В- количество 2,6-дихлорфенолиндофенола, израсходованное в контрольном пробе, мл; Т - титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола по аскорбиновой кислоте, мг; Н - навеска растительного материала, г;

## Занятие 24. Количественное определение рутина (витамин Р)

Это гетерогенная группа низкомолекулярных фенольных соединений, в составе которой катехины, лейкоантоцианы, флавононы, флавонолы, антоцианы, флавоны. Предшественником этих фенолов является шикимовая кислота.



Р- витаминная активность выявлена в листьях и цветках растений. Однако кверцетин в большом количестве содержится в древесине хвойных пород деревьев. В растениях витамин накапливается в виде производных гликозидов, таких как гелеридин и рутин. Недостаток витамина Р у животных сопровождается потерей устойчивости и проницаемости капилляров, приводящих к мелкоочечным кровоизлияниям.

Из ряда соединений, обладающих Витаминной активностью, наиболее изучен рутин, действие которого на организм связано с аскорбиновой кислотой. Рутин, как и витамин С, участвует в окислительно-восстановительных реакциях, влияет на проницаемость капилляров. Недостаточность витамина Р обычно сопутствует цинге. Наиболее богатыми источниками являются цитрусовые, чай, черная смородина.

В основу количественного определения рутина положена его способность окисляться перманганатом калия.

**Ход работы.** К 0,1 г чая приливают 50 мл горячей дистиллированной воды и кипятят 5 мин. Отбирают 10 мл экстракта чая в коническую колбу, куда добавляют 10 мл дистиллированной воды и 10 капель индигокармина в качестве индикатора. Титруют 0,05 N раствором перманганата калия до устойчивости желтой окраски. Расчет производят по формуле:

$$X = 3,2 \cdot A \cdot 50 \cdot 100 / 10 \cdot 0,1 \cdot 1000$$

где: X – количество рутина (мг%); 3,2 – стандартный пересчетный коэффициент титрования (1 мл 0,05 N раствора перманганата калия окисляет 3,2 мг рутина); A – количество миллилитра перманганата калия, прошедшего на титрование; 50 – количество миллилитров воды, добавленное к чаю для экстракции; 100 – коэффициент для пересчета; 10 – количество миллилитров экстракта, взятое для титрования; 0,1 – количество сухого вещества в граммах, взятое для анализа; 1000 – коэффициент пересчета (1 мг = 1000 мкг).

После приведения формула имеет следующий вид:

$$X = A \cdot 16 \text{ мг\%}$$

Для определения рутина в граммах на 1 кг массы тела следует воспользоваться формулой:

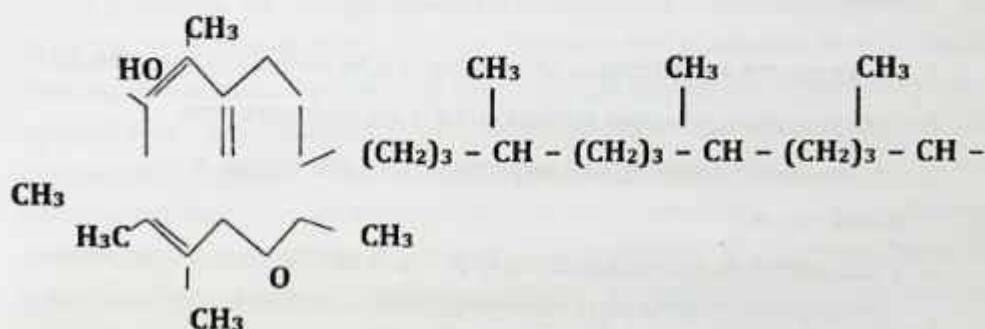
$$X = *0,16 \text{ г/кг} A$$

*Примечание.* Данную работу можно рекомендовать на группу в 3-4 учащихся. При этом экстракция чая делается одна на группу, а титрование и расчет производит каждый.

## Жирорастворимые витамины

### Занятие 25. Открытие токоферола (витамин Е)

Токоферолы отличаются числом и расположением метильных групп в бензольном кольце.



*$\alpha$ -токоферол*

Все они нерастворимы в воде, но растворимы в неполярных растворителях. Устойчивы к нагреванию, и быстро окисляются под действием УФ-лучей. Высокое содержание витамина Е в растительных маслах (подсолнечное, хлопковое, соевое, кукурузное и др.). Много витамина в капусте, салате, семенах злаков, проростках пшеницы (25-30 мг%). Витамин Е может накапливаться в животных тканях (мышцы, поджелудочная железа, жировая ткань). В молоке содержание витамина Е может достигать 1-2 мг/кг. Основной функцией витамина Е является антиокислительная. Токоферолы способны защищать от окисления полиненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав биомембран, жировых шариков молока.

При действии концентрированной азотной кислоты на спиртовой раствор витамина Е происходит его окисление, что сопровождается развитием красного окрашивания, свойственного продуктам окисления витамина.

**Ход работы.** В сухой пробирке смешивают при энергичном встряхивании 5 капель 0, 1% спиртового раствора витамина Е и 10 капель концентрированной азотной кислоты. Верхний масляный слой расслоившейся эмульсии окрашивается в красный цвет.

### **ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ**

1. Расскажите о значении витаминов для живых организмов.
2. Приведите примеры витаминов и их кофакторов.
3. Расскажите о значении каротина для растений и животных.
4. Раскройте антиоксидантную роль аскорбиновой кислоты, дигидрокверцетина и токоферолов.
5. Напишите структурную формулу и расскажите о значении витамина А для растений и животных.

## РАЗДЕЛ VII

### ВТОРИЧНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Первичных метаболитов — углеводов, аминокислот, жирных кислот, хлорофиллов, цитохромов, нуклеотидов, а также соединений, являющихся интермедиатами различных метаболических реакций, растения содержат огромное количество веществ, которые не участвуют в основном обмене.

В отличие от первичных метаболитов, присутствующих во всех растительных клетках, вторичные метаболиты могут быть специфичны для одного или нескольких видов растений. Термин «вещества вторичного происхождения» весьма условный, поскольку многие из этих веществ являются важнейшими физиологически активными соединениями, играющими первостепенную роль в процессах дыхания и фотосинтеза. К настоящему времени на предмет присутствия вторичных метаболитов исследовано около 20–30 тыс. видов растений — примерно 10–15 % от всей флоры Земли. Наиболее многочисленными группами вторичных метаболитов являются: изопrenoиды, фенольные соединения и алкалоиды. Каждая из этих групп подразделяется на многочисленные подгруппы. Кроме этих основных групп, выделяют минорные классы вторичных соединений растительного происхождения: цианогенные гликозиды, серосодержащие гликозиды (тиогликозиды), растительные амины, небелковые аминокислоты, полиацетилены, беталаины, тиофены и др. Некоторые авторы к веществам вторичного метаболизма относят также органические кислоты алифатического ряда, фитогормоны.

Вещества вторичного метаболизма разных групп в растительном мире распределены неравномерно. Например, фенольные соединения имеют всеобщее распространение в растениях, в то время как алкалоиды образуются лишь у 10–15 %

сосудистых растений. Причем отдельные представители этого класса синтезируются у очень узкого круга растений. Беталаины обнаружены только у растений одного порядка, а серосодержащие и цианогенные гликозиды встречаются лишь в растениях нескольких семейств.

Вещества вторичного метаболизма не имеют собственных путей синтеза и для своего образования используют основные метаболические пути растений. Их биосинтез происходит на ответвлениях метаболических путей белков, углеводов, липидов, где функционирует широкий спектр ферментов, обуславливающих способность растений синтезировать разнообразные вещества. Вторичные метаболиты могут находиться в различных частях клетки, ткани, органа растения. Фенольные соединения образуются в каждом растении и присутствуют в разных органах и тканях (корень, стебли, листья, цветы, плоды, семена) и в каждой растительной клетке. Алкалоиды чаще всего накапливаются не в тех тканях, в которых синтезируются. Например, никотин синтезируется в корнях табака, а затем переносится и запасается в листьях.

Очевидно, четкую границу между первичным и вторичным метаболизмом, а следовательно, между первичными и вторичными метаболитами во многих случаях провести невозможно. Отнести соединение к первичным или вторичным метаболитам можно только на основе выяснения его функциональной значимости. Наиболее аргументированной к настоящему времени является гипотеза, что, в отличие от первичных метаболитов, соединения вторичного метаболизма имеют функциональное значение не на уровне клетки, а на уровне целого организма. Вторичные метаболиты являются «средством общения и взаимоотношения между организмами»

## **Занятие 26. Определение массовой доли влаги и сухого вещества в растительном материале методом высушивания**

**Цель занятия:** Определить массовую долю влаги и сухого вещества в исследуемом продукте.

### **Задачи занятия:**

- изучить теоретический материал. Теоретический материал представлен в главе 1 «Вода»
- освоить сущность метода и методику проведения эксперимента.
- проверить знания, ответив на вопросы для самоконтроля.
- провести эксперимент.
- сделать вывод о качестве исследованного продукта.

**Сущность метода.** Сущность метода состоит в высушивании пробы растительного материала до равновесной влажности.

Определение сухого вещества в растительном материале имеет большое значение для оценки качества продукта, поскольку по этому показателю судят с его ценности. Обычно содержание сухого вещества коррелирует с количеством соединений, полезных в пищевом отношении.

Сведения о содержании влаги в отдельных фруктах, бахчевых, грибах и овощах представлены в таблице.

**Таблица - Содержание влаги в отдельных фруктах, бахчевых, грибах и овощах**

| <b>Массовая доля влаги (в среднем), %</b> |      |                       |      |
|-------------------------------------------|------|-----------------------|------|
| <b>Фрукты, бахчевые, грибы</b>            |      | <b>Овощи</b>          |      |
| Абрикосы                                  | 86.0 | Баклажаны             | 91.0 |
| Апельсины                                 | 87.5 | Капуста белокочанная  | 90.0 |
| Арбузы                                    | 89.5 | Картофель             | 75.0 |
| Виноград                                  | 80.2 | Лук репчатый          | 86.0 |
| Груши                                     | 87.5 | Морковь красная       | 88.5 |
| Земляника садовая                         | 84.5 | Огурцы грунтовые      | 95.0 |
| Персики                                   | 86.5 | Перец красный сладкий |      |

|                      |      |                  |      |
|----------------------|------|------------------|------|
| Яблоки               | 86,5 | Редис            | 93,0 |
| Грибы белые сушеные  | 13,0 | Салат            | 95,0 |
| Лисички свежие       | 91,5 | Свекла           | 86,5 |
| Подберезовики свежие | 91,6 | Томаты грунтовые | 93,5 |

**Ход анализа.** Плоды или овощи быстро измельчают ножом из нержавеющей стали на деревянной или пластмассовой доске до частиц размером около 3 мм (сушеные плоды или овощи — до 1... 2 мм).

Если анализируют семечковые плоды или корнеплоды, то их измельчают на терке из нержавеющей стали, а ягоды — в фарфоровой ступке. Полученную массу перед высушиванием перемешивают с двойным количеством чистого кварцевого песка.

Для проведения измерений массовой доли сухого остатка и влаги в исследуемом материале вначале подготавливают бюкс. Для этого бюкс помещают в сушильный шкаф при температуре  $102 \pm 2^\circ\text{C}$ , где выдерживают 30...40 мин. Рядом с бюксом кладут крышку. После этого бюкс вынимают из сушильного шкафа, закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе и взвешивают с точностью до  $\pm 0,001$  г.

Далее в бюкс вносят приблизительно 2...3 г измельченного продукта, закрывают крышкой и взвешивают с точностью до  $\pm 0,001$  г. Открытый бюкс и крышку помещают в сушильный шкаф при температуре  $102 \pm 2^\circ\text{C}$  на 30 мин. После этого температуру понижают до  $85 \pm 5^\circ\text{C}$  и продолжают высушивание в течение 2 ч.

По истечении 2 ч бюкс вынимают из сушильного шкафа, закрывают крышкой, охлаждают в эксикаторе в течение 40 мин и взвешивают. Бюкс вновь помещают при открытой крышке в сушильный шкаф при температуре  $85 \pm 5^\circ\text{C}$ , через 1 ч вновь охлаждают и взвешивают. Последующие высушивания и взвешивания повторяют до тех пор, пока разность между двумя последовательными взвешиваниями будет не более 0,001 г.

**Обработка результатов.** Массовую долю сухого вещества (СВ) в продукте вычисляют по формуле

$$СВ \frac{(m_1 - m_0)}{(m - m_0)} \cdot 100 (\%)$$

где  $m_1$  — масса бюкса с продуктом и крышкой после высушивания, г;  $m_0$  — масса пустого бюкса с крышкой, г;  $m$  — масса бюкса с навеской продукта и крышкой до высушивания, г,

Массовую долю влаги (W) вычисляют по формуле:

$$W = 100 - СВ (\%)$$

**Реактивы:** Нож из нержавеющей стали; деревянная или пластмассовая доска; терка из нержавеющей стали; фарфоровая ступка с пестиком; бюкс металлический вместимостью 50 см<sup>3</sup>; весы лабораторные 2-го класса точности с ценой поверочного деления 0,001 г; эксикатор; шкаф сушильный.

## **Занятие 27. Определение алкалоидов в растениях**

Алкалоиды относятся к азотсодержащим гетероциклическим соединениям обладающим высокой функциональной активностью, многие из которых являются ядами. Большинство алкалоидов влияют на нервную систему, оказывая в малых дозах возбуждающее действие, а в больших угнетающую. Образование алкалоидов в растениях связано в обменом азотистых веществ. Они имеют важное значение в азотообмене, образуя промежуточное вещество в обеззараживании и хранение азотных соединений.

Алкалоиды с определенными реактивами входят в цветные реакции и образуют нерастворимые осадки, к ним относятся

раствор йода и йодита калия, фосфовольфрамовая кислота, фосфомолибденовая кислота и др.

**Ход работы:** Берут растительного материала (люпин, листья табака, семена мака) в количестве 1-2г и растирают в ступке до однородной массы. К этой массе добавляют 4-6 капель йода в растворе йодата калия. Образование красно-коричневого цвета показывает о существовании алколоидов.

**Реактивы:** растительный материал, раствор йода в йодате калия (5 г йода, 10г  $KJO_3$  растворяют в 10-15 мл ах воды и доводят объем до 100 мл).

### **Занятие 28. Определение гликозидов в растениях**

Гликозидами являются сложные органические соединения, в составе которых углевод соединен за счет гликозидной связи с агликоном. Гликозиды, содержащиеся в растениях, входят в состав ароматических веществ, выполняющих роль природных красителей цветков и придающих к цветному растению индивидуальный запах. Кроме того, гликозиды обладают способностью стимулировать функциональную деятельность различных органов и систем животных организмов, в частности сердечные гликозиды, они активируют деятельность сердца.

Гликозиды имеют горький вкус и специфичный аромат. В листьях и косточковых многих растений содержится амигдалин. Он содержится в большом количестве в горьком миндале.

Гликозиды по строению агликона делятся на следующие группы:

1. Алкилгликозиды-агликонами являются представители алкилов (метильные и этильные группы)
2. Азотсодержащие (цианоген) гликозиды гидролизуясь образуют сенильную кислоту. Например, амигдалин в горьком

миндале.

3. Тиогликозиды являются производными циклических тиосахаров, атом водорода сульфгидрильной группы заменен агликоном. (гликозид-синигрин).

4. Стероидные гликозиды являются производными циклопентан-пергидрофенантрена. К ним относятся сердечным гликозиды, стероидные сапонины и гликоалкалоиды.

5. Терпеноидные гликозиды-являются производными изопрена ( $C_5H_8$ )<sub>n</sub>

6. Фенолгликозиды- агликоновая часть соединен с фенольным соединением. К ним относятся флавоноиды, кумарины, производные антрацена и дубильные вещества.

Реакция Келлер-Клиани для дезоксисахаридов в молекулах сердечных гликозидов.

**Ход работы:** В 5 мл концентрированной уксусной кислоты растворяется сердечный гликозид и к пробирке добавляется по каплям осторожно концентрированная серная кислота содержащая 5%  $FeCl_2$  (хлорид железа). Верхний слой образует синюю окраску в виде кольца.

**Необходимые реактивы и оборудования:** пробирки, пипетки, концентрирования серная кислота ( $H_2SO_4$ ), уксусная кислота ( $CH_3COOH$ ), 5% раствор хлорида железа ( $FeCl_2$ ) сердечный гликозид содержащий растение.

## **Занятие 29. Определение каротина в растениях**

В группу каротиноидов входят каротины и ксантофиллы и их называют каротиноидами. Эти пигменты растворимы в жирах и в растворителях жиров. При обработке концентрации серной кислотой они дают окраску в виде синюю цвета разделяется группа каротиноидов на составляющие их индивидуальные

компоненты.

Разделяют два вида каротина:  $\alpha$ -каротина и  $\beta$ -каротины, и имеют одну и ту же химическую формулу и лишь несколько различаются по своей структуре.

В молекуле  $\alpha$ -каротина 11 двойных связей, из которых 10 составляют конъюгированную систему, имеется один асимметрический атом углерода связи с чем  $\alpha$ -каротин обладает оптической активностью, вращая плоскость поляризации вправо. При обработке крепкими щелочами в спиртовом растворе  $\alpha$ -каротин частично переходит в изомерную В-форму, в виде которой каротин главным образом встречается в растениях. При гидролиза  $\beta$ -каротин образуется две молекул витамина А.  $\beta$ -каротин является предшественником витамина А. Такой гидролиз осуществляется в организме животных.

Каротина больше в зеленых частях растений а именно в моркови. Впервые был выделен каротин из моркови. Каротин выделяют путем экстракции и хроматографии, определяют калориметрическим измерением.

**Ход работы:** 5гр растительного материала (листья или морковь) размельчают в ступке при помощи ацетона с добавлением стеклянных порошков. После смесь наливают цилиндрическую мензурку объемом 50 или 100 мл. доводят до метки. Берут 1 мл экстракта и закапывают в хроматографическую бумагу оставляя с нижней части 4 см и потом сушат хроматографическую бумагу закручивают и с верхней части закрепляют скрепкой. Хроматографическую бумагу помещают в цилиндрическую посуду в которой имеется эфир 2-3 см толщины. Через 20-30 минут бумага снимается и образованное желтое пятно вырезается ножницами и кладут в бюкс. Каротин смывается при помощи 1 мл эфира 3-4 раза (до исчезновения цвета) из хроматографической бумаги. После добавления эфирных растворов определяют калориметрическим методом на ФЭКе.

Количество каротина определяется по следующей формуле:

$$X = \frac{0,00235 \cdot a \cdot v \cdot c \cdot B \cdot 100}{H \cdot v \cdot B_1} \text{ мг/100г}$$

где:

В-число стандартного раствора полученный на ФЭКе  
(обычно=10)

В<sub>1</sub>-число опытного раствора полученного на ФЭКе

а-объем ацетонового концентрата

в-объем взятый для определения каротина

с-объем готового каротинного эфира

Н-количество растительного материала взятой для опыта (г)

**Реактивы:** растительный материал, ацетон, эфир и хроматографическая бумага.

### **Занятие 30. Определение общей кислотности растительных материалов.**

Изучить теоретические положения о влиянии кислотности на растворимость растительных белков и подтвердить их на практике. Теоретический материал приведен в главе 1 «Белки. Общие свойства белков животной и растительной пищи. Растворимость белков»

#### **Задачи работы:**

- освоить теоретический материал.
- проверить знания, ответив на вопросы для самоконтроля.
- изучить сущность метода и методику проведения экспериментов.
- провести эксперимент.

- сделать вывод.

**Ход анализа:** В коническую колбу вместимостью 100... 150 см<sup>3</sup> (колба 3) пипеткой вносят 10 см<sup>3</sup> раствора пшеничного белка и из бюретки по каплям раствор гидроксида натрия с эквивалентной концентрацией 0,01 моль/дм<sup>3</sup> (реактив 1в).

После добавления каждой капли щелочи содержимое колбы несильно перемешивают. Щелочь добавляют до тех пор, пока раствор не станет мутным.

Затем часть смеси из колбы переливают в другую коническую колбу вместимостью 100... 150 см<sup>3</sup> (колба 4).

В колбу 1 продолжают добавлять из бюретки по каплям раствор гидроксида натрия, в колбу 2 вносят из бюретки по каплям раствор соляной (или серной) кислоты с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> (реактивы 2б или 3б).

**Оценка результатов.** Помутнение раствора белка в колбе 1 при добавлении щелочи свидетельствует о коагуляции белка; дальнейшее добавление щелочи в колбу 1 приводит к растворению белка, т. е. его пептизации.

Кислота, внесенная в колбу 2 к раствору, содержащему коагулированный белок, нейтрализует щелочь, вследствие чего не достигается изoeлектрическое состояние белков, они растворяются.

**Реактивы и приборы.** Коническая колба вместимостью 100... 150 см<sup>3</sup>; мерная пипетка вместимостью 10 см<sup>3</sup>; бюретка вместимостью 25 см<sup>3</sup> с ценой деления 0,10 см<sup>3</sup>, каплям раствор соляной (или серной) кислоты с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, раствор гидроксида натрия

**Вывод.** Белок коагулирует только в изoeлектрической точке. В случае растительных белков как избыток щелочи, так и ее недостаток способствуют растворению белка.

### **Занятие 31. Действие кислотной среды на растворимость растительных и животных белков**

**Цель работы:** Изучить теоретические положения о влиянии кислотности на растворимость животных белков и подтвердить их на практике. Теоретический материал приведен в главе 1 «Белки. Общие свойства белков животной и растительной пищи. Растворимость белков»

#### **Задачи работы:**

- освоить теоретический материал.
- проверить знания, ответив на вопросы для самоконтроля.
- изучить сущность метода и методику проведения эксперимента.
- провести эксперимент.
- сделать вывод.

**Ход анализа:** В коническую колбу вместимостью 100...150 см<sup>3</sup> (колба 1) пипеткой вносят 10 см<sup>3</sup> раствора животного белка и из бюретки по каплям раствор серной (или соляной) кислоты с эквивалентной концентрацией 0,01 моль/дм<sup>3</sup> (реактивы 36 или 26).

После добавления каждой капли кислоты содержимое колбы несильно перемешивают. Кислоту добавляют до тех пор, пока раствор не станет мутным.

Затем часть смеси из колбы 1 переливают в другую коническую колбу вместимостью 100... 150 см<sup>3</sup>. В колбу 1 продолжают добавлять из бюретки по каплям раствор серной (или соляной) кислоты, в колбу 2 вносят из бюретки по каплям раствор гидроксида натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>

**Оценка результатов.** Помутнение раствора белка в колбе 1 при добавлении щелочи свидетельствует о коагуляции белка;

дальнейшее добавление щелочи в колбу 1 приводит к растворению белка, т. е. его пептизации.

Кислота, внесенная в колбу 2 к раствору, содержащему коагулированный белок, нейтрализует щелочь, вследствие чего не достигается изоэлектрическое состояние белков, они растворяются.

**Реактивы и приборы:** Коническая колба вместимостью 100... 150 см<sup>3</sup>; мерная пипетка вместимостью 10 см<sup>3</sup>; бюретка вместимостью 25 см<sup>3</sup> с ценой деления 0,10 см<sup>3</sup>. раствор серной (или соляной) кислоты, раствор гидроксида натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, раствор животного белка

**Вывод.** Белок коагулирует только в изоэлектрической точке. В случае растительных белков как избыток щелочи, так и ее недостаток способствуют растворению белка.

### **ВОПРОСЫ И ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ**

1. Какова доля видов растений, исследованных на наличие вторичных метаболитов?
2. Чем объясняется огромное разнообразие соединений, участвующих во вторичном обмене растений?
3. Можно ли отличить вторичные метаболиты от соединений, участвующих в первичном обмене, по химической структуре?
4. Назовите основные классы вторичных метаболитов.

## **РАЗДЕЛ VIII**

### **ЧАСТНАЯ БИОХИМИЯ**

#### **Занятие 32. Количественное определение йодометрическим методом глюкозу и сахарозу в корнеплодах и плодах**

**Цель занятия:** Определить массовую долю суммы моносахаридов и сахарозы в ряде растительных объектов.

**Задачи занятия:**

- освоить теоретический материал по углеводному составу растительного сырья. Теоретический материал приведен в главе 1 «Углеводы. Олигосахариды. Свойства дисахаридов»
- изучить сущность йодометрического метода определения редуцирующих сахаров в растворах и освоить методику проведения эксперимента.
- проверить знания, ответив на вопросы для самоконтроля.
- провести эксперимент.
- сделать вывод о соответствии качества исследуемых продуктов стандартным.

**Сущность метода.**

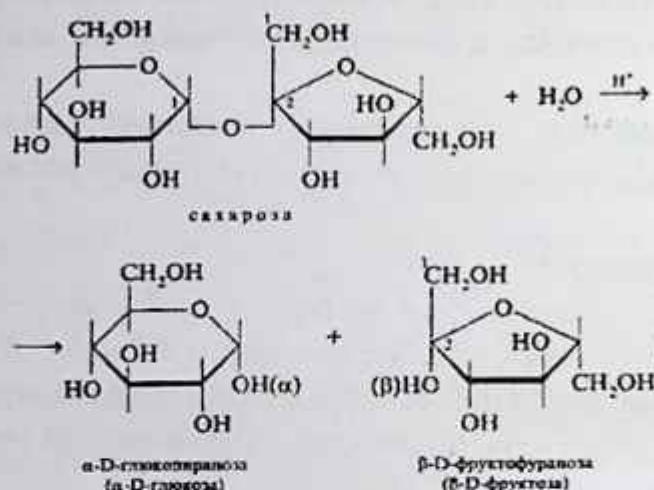
Водная вытяжка из проб корнеплодов и ягод содержит наряду с моносахаридами (глюкоза, фруктоза и др.) и сахарозу.

Метод основан на способности альдозы окисляться йодом в щелочной среде, свободной от белков.

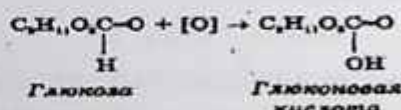
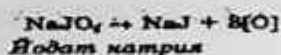
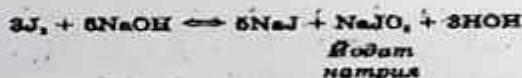
Сахароза не является альдозой и не может быть определен этим методом непосредственно. Однако ее гидролиз приводит к образованию смеси моноз: глюкозы и фруктозы. Фруктоза в щелочной среде изомеризуется в глюкозу, поэтому в результате гидролиза сахарозы накапливаются редуцирующие

сахара.

Следовательно, массовую долю сахарозы можно определить по разнице массы альдоз после и до гидролиза.



**Окисление альдоз йодом в щелочной среде:**

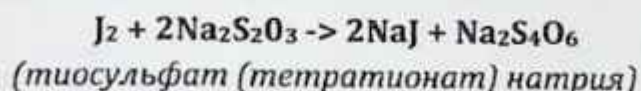


Согласно закону действующих масс при наличии альдоз в растворе реакция взаимодействия йода со щелочью сдвигается вправо.

Общее содержание йода (свободного и связанного) в реакции (148) уменьшается до тех пор, пока не закончится окисление всех альдегидных групп моноз.

С целью получения йода только в свободном виде

(непрореагировавшего йода) в реакционную смесь добавляют соляную кислоту. Она нейтрализует гидроксид натрия в левой части уравнения (148), и реакция сдвигается влево. Выделившийся йод титруют раствором тиосульфата натрия в присутствии крахмала, как индикатора на йод:



По количеству йода, принявшего участие в реакции окисления углеводов, рассчитывают их массовую долю.

Очевидно, что количество йода, оставшегося свободным в колбе с гидролизованной сахарозой, гораздо меньше, чем в колбе с исходной. Это связано с тем, что в первом случае йод расходуется как на окисление свободных, так и освободившихся в результате гидролиза сахарозы альдоз, а во втором — только на окисление свободных альдоз.

Для устранения ошибки, связанной с неустойчивым титром используемых реактивов, проводят контрольный опыт.

**Ход работы:** На подготовительном этапе эксперимента готовят водную вытяжку исследуемого продукта и проводят гидролиз сахарозы в ней.

*Приготовление водной вытяжки исследуемого продукта.* В стакан вместимостью 200 см<sup>3</sup> отвешивают 10,00±0,01 г сырого или сухого измельченного продукта, цилиндром добавляют 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды с температурой около 50°C и, периодически помешивая содержимое стеклянной палочкой, нагревают на водяной бане с такой же температурой в течение 1 ч.

После этого над осадочную жидкость фильтруют через сухой складчатый бумажный фильтр в мерную колбу на 500 см<sup>3</sup>.

К осадку в стакане вновь приливают 100 см<sup>3</sup> дистиллированной воды с температурой около +50°C, вновь

нагревают на водяной бане с такой же температурой в течение 1 ч. Над осадочную жидкость фильтруют через тот же фильтр в ту же колбу, что и в первом случае. Экстракцию и фильтрование повторяют еще раз.

Далее содержимое колбы охлаждают под струей воды до 20°C и доводят до метки дистиллированной водой той же температуры.

Гидролиз сахарозы. В коническую колбу (колба № 2) вместимостью 250... 300 см<sup>3</sup> пипеткой вносят 50 см<sup>3</sup> фильтрата. Колбу неплотно закрывают пробкой с пропущенным через нее термометром так, чтобы ртутный шарик находился в жидкости, и нагревают на водяной бане до температуры 65...70°C. Затем в колбу пипеткой вносят 1 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты с эквивалентной концентрацией 7,3 моль/дм<sup>3</sup> (реактив 2e) для гидролиза сахарозы. Содержимое колбы перемешивают и выдерживают на водяной бане при той же температуре 10 мин. Первые 3 мин раствор в колбе осторожно перемешивают.

Через 10 мин колбу, **не вынимая термометр**, помещают под струю водопроводной воды и охлаждают ее содержимое до 20°C.

Далее раствор в колбе нейтрализуют. С этой целью в нее вносят 2...3 капли раствора метилоранжа (реактив 5b) и из пипетки медленно приливают раствор гидроксида натрия с эквивалентной концентрацией 1 моль/дм<sup>3</sup> (реактив 1a), которым вначале ополаскивают кончик термометра, после чего термометр из колбы убирают. Раствор гидроксида натрия продолжают приливать, непрерывно и тщательно перемешивая содержимое колбы, до перехода розового окрашивания раствора в оранжево-желтое, что соответствует слабокислой реакции среды (предполагается, что на нейтрализацию израсходуется 7...8 см<sup>3</sup> щелочи).

*Приступают к основному этапу эксперимента. В две конические колбы вместимостью по 200 см<sup>3</sup> вносят пипетками*

соответственно 50 см<sup>3</sup> дистиллированной воды (колба № 1 — контрольная) и 50 см<sup>3</sup> исходного фильтрата (колба № 3). Во все три колбы добавляют из бюреток по 15 см<sup>3</sup> раствора гидроксида натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> (реактив 16) и по 10 см<sup>3</sup> раствора йода такой же концентрации (реактив 86); после добавления каждого реактива содержимое колб перемешивают. Колбы закрывают пробками и помещают в темное место на 20 мин при 20°C.

После выдержки в каждую колбу из бюретки вносят по 5 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты с эквивалентной концентрацией 0,5 моль/дм<sup>3</sup> (реактив 2ж).

Выделившийся йод титрую раствором тиосульфата натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> (реактив 9а).

Процесс титрования содержимого колб различен. Так, в колбах № 1 и 3 содержится большое количество непрореагировавшего йода, который во избежание потерь необходимо быстро связать. В первую очередь производят титрование содержимого колбы № 1. Для этого в нее быстро добавляют около 5 см<sup>3</sup> раствора тиосульфата натрия, затем 1 см<sup>3</sup> 1%-ного раствора крахмала (реактив 10а) и 2-3 капли метилоранжа (реактив 56). Раствор при этом принимает сине-фиолетовое окрашивание. Затем содержимое колбы медленно, по каплям, до-титруют раствором тиосульфата натрия до момента, когда от одной капли реактива вся смесь в колбе примет розовое окрашивание. На титрование при этом расходуется около 10 см<sup>3</sup> раствора тиосульфата натрия.

Аналогично титруют содержимое колбы № 3.

Результаты титрования —  $V_x$  и  $V_z$  — записывают.

В колбе № 2 количество выделившегося йода незначительно, так как раствор содержал большое количество альдоз. Поэтому в него сразу же после внесения раствора соляной кислоты добавляют 1 см<sup>3</sup> 1%-ного раствора крахмала, 2...3 капли метилоранжа (реактив 5) и титруют раствором тиосульфата на-

трия медленно, по каплям до момента, когда от одной капли реактива вся смесь в колбе примет розовое окрашивание. Результат титрования —  $V_2$  — записывают

**Реактивы и приборы.** Стакан химический вместимостью 200 см<sup>3</sup>; весы лабораторные ВЛКТ-500 4 класса точности с ценой деления 0,01 г; мерная колба вместимостью 500 см<sup>3</sup>; мерный цилиндр вместимостью 100 см<sup>3</sup>; пипетка Мора вместимостью 50 см<sup>3</sup>; автомат для отмеривания соляной кислоты вместимостью 1 см<sup>3</sup>; мерная пипетка вместимостью 10 см<sup>3</sup>; коническая колба вместимостью 200 см<sup>3</sup>; бюретка вместимостью 25 см<sup>3</sup> и ценой деления 0,1 см<sup>3</sup>; термометр ртутный с диапазоном измерения от 0 до 100°C с ценой деления шкалы 1°C; баня водяная с обогревом; воронка, дистиллированной воды

**Обработка результатов.** Массовую долю моносахаридов вычисляют по формуле, а сахарозы — по:

$$W_M = (V_x \cdot V_3) \cdot 0,0354 \cdot 100/m (\%)$$

где  $W_M$  -массовая доля моносахаридов в продукте, %;  $V_x$  - объем растворитиосульфата натрия, израсходованного на титрование избытка йода в колбе № 1 (контрольной), см<sup>3</sup>;  $V_3$  - объем раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование избытка йода в колбе № 3 (до гидролиза сахарозы), см<sup>3</sup>; 0,0354 - масса глюкозы, соответствующая 1 см<sup>3</sup> раствора тиосульфата натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, г; 100 - коэффициент пересчета на 100 г продукта;  $m$  - масса продукта, соответствующая 50 см<sup>3</sup> фильтрата, г;  $m = 1$  г.

$$W_c = (V_3 \cdot V_2) \cdot 0,0171 \cdot 100/m (\%)$$

где  $W_c$  - массовая доля сахарозы в продукте, %;  $V_3$  - объем

раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование избытка йода в колбе № 3 (до гидролиза сахарозы), см<sup>3</sup>;  $V_2$  - объем раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование избытка йода в колбе № 2 (после гидролиза сахарозы), см<sup>3</sup>; 0,0171 - масса сахарозы, соответствующая 1 см<sup>3</sup> раствора тиосульфата натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, г; 100 — коэффициент пересчета на 100 г продукта;  $m$  - масса продукта, соответствующая 50 см<sup>3</sup> фильтрата, г;  $m$  - 1 г;

### **Занятие 33. Определение количество нитратов ионометрическим методом**

Растения усваивают нитраты в различных органах и восстанавливают до аммиака в процессах обмена веществ. Количество нитратов в растениях увеличивается за счет увеличения питания минеральными удобрениями. Нитраты из растений вовлекаются полностью за счет воды. Нитраты в метаболическом отношении бывают резко изменчивыми, поэтому их количество определятся в свежесобранных растительных материалах нитраты в растительных образцах определяют при помощи ряда методов. Во многих образцах нитраты в слабокислой среде образуют нитросоединения и интенсивность окраски определяется калориметрическим методом.

Этот метод основан нитраты при нейтральной или слабо щелочной среде с салициловой кислотой входят в реакцию и образуют нитрофенолы желто-зеленой окраски. Интенсивность окраска пропорционален с количеством нитратов в растительных образцах.

**Ход работы:** Берут свежесобранный растительный материал в количества 5 г и добавляют 10-15 мл дистиллированной воды и растирают до однородной массы в ступке. Для подавления

активности фермента нитратредуктаза в ступку добавляют 3-5 мл 10% растворы серной кислоты. Образовавшиеся массу наливают в 100 мл колбу. Ступка промывается дистиллированной водой и доливаеся в 100 мл. колбу. Общий объем колбы должен составлять не более 30-40мл. Экстракт в колбе встряхивается в течении 30 минут в механической мешалке. После фильтрует экстракт через бумажный фильтр в 50 мл. всю мерную колбу и добавляют водой до метки. В колбу емкостью 50-100мл берут 0,2мл. фильтрата и 0,8мл салициловой кислоты. Смесь оставляют в течении 20 минут. После осторожно по стенке колбы доливают 19мл 2 м NaOH (едкого натрия) и смешивают. Остудив колбу в образце определяют при помощи фиолетового фильтра интенсивность окраски на ФЭКе. Количество нитратов определяют по калибровочной кривой. Для получения калибровочной кривой из соли нитрата калия готовят стандартный раствор. Берут 0,1631г. соли нитрата калия и доводят дистиллированной водой до 1 л и растворяют. На каждом 1 мл раствора содержится 10 мкг нитратов.

Количество нитратов определяют по следующей формуле:

$$X = \frac{a \cdot v \cdot 1000}{H \cdot v}$$

X-количество нитратов в составе растительного образца (мкг).

a- количество нитратов взятых для определения по калибровке (мкг).

v- объем взятой пробы (мл)

H-масса растительного образца (г)

v- количество раствора взятый для определения нитратов (мл)

Реактивы: 5% раствор салициловой кислоты в

концентрированной серной кислоты (для каждого определения должны приготовить свежий раствор. 2 м раствор едкого нитрата, 10% раствор серной кислоты, стандартный раствор.).

### **Занятие 34 Определение кислотности плодов и бахчевых культур**

Определить титруемую кислотность в различных плодах и овощах.

#### **Задачи занятия:**

- изучить теоретический материал. теоретический материал представлен в главе 1 «органические кислоты и вторичные метаболиты» (с. 106...108).

- освоить сущность метода и методику проведения эксперимента.

- проверить знания, ответив на вопросы для самоконтроля.

- провести эксперименты.

- сделать вывод о качестве исследованных продуктов.

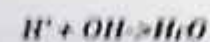
**Сущность метода.** Показатель титруемой кислотности используют для оценки качества свежих или переработанных плодов и овощей.

Титруемая, иначе общая кислотность, включает в себя как диссоциированную, так и недиссоциированную части кислот (молочной, угольной, лимонной, аскорбиновой и др.), минеральных солей и иных титруемых соединений, находящихся в продукте.

В исходном продукте существует динамическое равновесие между недиссоциированными молекулами (НА) и ионами ( $H^+$ , А):



При добавлении щелочи ионы водорода связываются ее гидроксидными в слабодиссоциированные молекулы воды



В результате из раствора удаляются ионы водорода и равновесие диссоциации (40) сдвигается вправо — в сторону распада молекул на ионы. Таким образом, по мере добавления щелочи все молекулы кислых соединений постепенно распадаются на ионы и вся кислота нейтрализуется щелочью.

Титруемую кислотность разных продуктов выражают разными показателями. Например, в соках определяют общую кислотность в граммах на 1 л, в молоке — в градусах Тернера, кислотность плодов и овощей выражают в процентах преобладающей кислоты.

**Общая методика.** Подготовка плодов и овощей к анализу. Плоды и овощи быстро измельчают ножом из нержавеющей стали на деревянной или пластмассовой доске до частиц размером около 3 мм (сушеные плоды или овощи — до 1...2 мм).

Для анализа семечковых плодов или корнеплодов, то их измельчают на терке из нержавеющей стали, а ягоды — в фарфоровой ступке.

**Определение титруемой кислотности.** Вначале на технических весах взвешивают химический стакан вместимостью 150 см<sup>3</sup> с точностью до 0,01 г ( $m_0$ ); помещают в него около 25 г анализируемого материала; стакан с материалом вновь взвешивают с точностью до 0,01 г ( $m_1$ ). Далее навеску без потерь переносят через воронку в мерную колбу вместимостью 200 см<sup>3</sup>, ополаскивая стакан несколько раз дистиллированной водой с температурой 20±1°C и сливая ее в ту же мерную колбу.

Колбу помещают в водяную баню с температурой 80±1°C на 15 мин. За это время происходит экстракция органических кислот из исследуемого материала. Затем колбу охлаждают под струей холодной водопроводной воды до температуры 20±1°C; ее содержимое доводят до метки дистиллированной водой той же

температуры и тщательно перемешивают, переворачивая колбу несколько раз. Если жидкость в колбе не прозрачная, то фильтруют ее через сухой складчатый фильтр в коническую колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup>.

Пипеткой Мора вносят 20 см<sup>3</sup> прозрачного фильтрата в коническую колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, добавляют 3 капли 1%-ного раствора фенолфталеина (реактив 5а) и титруют из бюретки раствором гидроксида натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> (реактив 16) до появления слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин. Объем щелочи (У) записывают.

#### Обработка результатов.

Титруемую кислотность (К) рассчитывают по формуле:

$$K = (T \cdot 71 \cdot K/\tau) \cdot 100 (\%)$$

где К — коэффициент для пересчета раствора гидроксида натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> на преобладающую в образце кислоту (см. примечание 1); Т — поправка к титру раствора щелочи;  $m_1$  — масса навески исследуемого продукта, соответствующая 20 см<sup>3</sup> фильтрата, см<sup>3</sup>,  $m = 0,1 \cdot (m_1 - m_0)$  г; 100 — коэффициент пересчета на 100 г продукта.

**Примечание 1.** Значения К при пересчете на:

- яблочную кислоту (семечковые и косточковые плоды) — 0,0067;
- лимонную (цитрусовые плоды и ягоды) — 0,0064;
- щавелевую (щавель, шпинат) — 0,0063;
- молочную (солено-квашеные продукты) — 0,0090;
- уксусную (маринады) — 0,0060;
- винную (виноград) — 0,0075.

За окончательный результат принимают среднее значение

двух параллельных определений, округляемых до второго десятичного знака.

Сравнив полученные результаты с данными таблицы, сделать вывод о качестве исследованного продукта.

| Продукт                   | Содержание органической кислоты |           |          |          |        |
|---------------------------|---------------------------------|-----------|----------|----------|--------|
|                           | Лимонная                        | щавелевая | яблочная | молочная | винная |
| <b>Овощи:</b>             | 0,1                             | 0,01      | 0,15     | —        | —      |
| капуста                   | 0,03                            | 0,03      | 0,05     | —        | —      |
| картофель                 | 0,03                            | 0,03      | 0,07     | —        | —      |
| морковь                   | 0,02                            | 0,10      | 0,03     | —        | —      |
| свекла                    |                                 |           |          |          |        |
| <b>Плоды:</b>             | 0,08                            | 0,01      | 0,70     | —        | 0,10   |
| яблоко                    | 0,20                            | 0,01      | 0,30     | —        | —      |
| груша                     | 0,10                            | 0,01      | 0,90     | —        | —      |
| слива                     | 5,70                            | следы     | 0,05     | —        | —      |
| лимон                     | 0,03                            | 0,01      | 0,40     | —        | 0,40   |
| виноград                  |                                 |           |          |          |        |
| <b>Ягоды:</b>             | 0,04                            | 0,01      | 1,00     | —        | —      |
| малина                    | 0,10                            | 0,01      | 1,17     | —        | следы  |
| клубника                  | 2,00                            | 0,06      | 0,25     | —        | —      |
| черная смородина          | 0,40                            | 0,01      | 1,30     | —        | следы  |
| крыжовник                 | следы                           | следы     | 2,00     | —        | 0,03   |
| облепиха                  | 1,10                            | 0,02      | 1,00     | —        | —      |
| клюква                    |                                 |           |          |          |        |
| <b>Молочные продукты:</b> | —                               | —         | —        | 0,98     | —      |
| кефир жирный              | —                               | —         | —        | 0,97     | —      |
| простокваша               | —                               | —         | —        | 1,00     | —      |
| йогурт                    | 0,1                             | 0,01      | 0,15     | —        | —      |

**Примечание 2.** При анализе жидких продуктов поступают следующим образом: пипеткой Мора вносят 20 см<sup>3</sup> продукта в коническую колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, добавляют 3 капли 1%-ного раствора фенолфталеина (реактив 5а) и титруют из бюретки раствором гидроксида натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> до появления бледно-малинового (слабо-розового) окрашивания,, не исчезающего в течении 1 мин. Объем щелочи (V) записывают.

Титруемую кислотность рассчитывают по формуле

$$K=(V*T*K/20)*100(\%)$$

**Реактивы и приборы.** Нож из нержавеющей стали; деревянная или пластмассовая доска; терка из нержавеющей стали; фарфоровая ступка с пестиком; химический стакан вместимостью 100 см<sup>3</sup>; весы лабораторные ВЛКТ-500 4-го класса точности с ценой деления 0,01 г; воронка; мерная колба вместимостью 200 см<sup>3</sup>; водяная баня с обогревом; термометр ртутный стеклянный лабораторный с диапазоном измерения от 0 до 100°С с ценой деления 1°С; коническая колба вместимостью 250 см<sup>3</sup>; коническая колба вместимостью 100 см<sup>3</sup>; пипетка Мора вместимостью 20 см<sup>3</sup>; бюретка вместимостью 25 см<sup>3</sup> с ценой деления 0,1 см<sup>3</sup>; капельница для раствора фенолфталеина.

### **Занятие 35. Определение термоустойчивости молока**

#### **Задачи занятия:**

- изучить теоретический материал. теоретический материал представлен в главе 3 «биохимия молока. термокальциевая коагуляция казеина. соли-стабилизаторы»
- изучить сущность метода и освоить методику проведения эксперимента.
- проверить знания, ответив на вопросы для самоконтроля.

- провести эксперимент с различными образцами молока.
- сделать вывод о термоустойчивости молока.

### **Сущность метода**

Под термоустойчивостью молока понимают свойство продукта выдерживать воздействие высоких температур без видимой коагуляции белков.

В промышленности для определения термоустойчивости молока используют алкогольную пробу при помощи водного раствора этилового спирта с объемной долей этилового спирта 68, 70, 72, 75 и 80% (реактив 35).

Сущность алкогольной пробы состоит в том, что этанол действует на белки подобно нагреванию, т. е. способствует дегидратации и частичной денатурации белков, вызывая их коагуляцию.

Определение термоустойчивости используют для отбраковки молока, направляемого на стерилизацию, и в производстве детских продуктов.

**Ход работы:** Пробу молока перед проведением алкогольной пробы подогревают в стакане на водяной бане до температуры  $43 \pm 2^\circ\text{C}$  и охлаждают при перемешивании до  $20^\circ\text{C}$ .

Берут 5 чистых сухих чашек Петри. В каждую наливают по 2 см<sup>3</sup> исследуемого молока или сливок, приливают по 2 см<sup>3</sup> этилового спирта с различной объемной долей этилового спирта: 68, 70, 72, 75 и 80%.

Смесь в каждой чашке Петри тщательно перемешивают круговыми движениями.

Через  $2 \pm 0,1$  мин анализируют появление хлопьев на дне чашек.

**Оценка результатов.** Если на дне чашки Петри при стекании анализируемых смесей молока или сливок со спиртом не появились хлопья, а дно чашки оставалось чистым, то считается, что такое молоко можно направлять на стерилизацию.

В зависимости от того, какой раствор этилового спирта не вызвал осаждения хлопьев в испытуемых молоке или сливках, их подразделяют на группы. За окончательный результат принимают среднее значение двух параллельных определений расхода этанола.

Оценка термоустойчивости молока по алкогольной пробе

|                                 |           |           |            |           |           |
|---------------------------------|-----------|-----------|------------|-----------|-----------|
| <b>Объемные доли этанола, %</b> | <b>80</b> | <b>75</b> | <b>72</b>  | <b>70</b> | <b>68</b> |
| <b>Качество молока, группа</b>  | <b>I</b>  | <b>II</b> | <b>III</b> | <b>IV</b> | <b>V</b>  |

Установлено, что для стерилизации пригодно молоко не ниже III группы по алкогольной пробе.

Молоко термоустойчивостью ниже IV группы для выработки стерилизованного молока не используют.

Термоустойчивость молока IV группы повышают до III или II группы путем добавления солей-стабилизаторов: цитратов калия и натрия, которые способствуют восстановлению солевого равновесия в молоке, предотвращая его свертывание.

Оптимальную дозу солей-стабилизаторов определяют опытным путем. В три колбы вместимостью 100 см<sup>3</sup> наливают молоко с термоустойчивостью IV группы и добавляют водный раствор соли-стабилизатора с массовой долей соли в нем 10%.

В первую колбу добавляют 0,1 см<sup>3</sup>, во вторую — 0,2, в третью — 0,3 см<sup>3</sup>. При этом массовая доля соли-стабилизатора в молоке составляет, соответственно, 0,01, 0,02 и 0,03%.

Смесь перемешивают и определяют термоустойчивость по алкогольной пробе.

Минимальная доза солей-стабилизаторов, повышающая термоустойчивость молока IV группы до III или II группы является оптимальной дозой для исследуемого молока.

**Реактивы и приборы.** Стакан вместимостью 100 см<sup>3</sup>; баня водяная; термометр стеклянный ртутный лабораторный с диапазоном измерения от 0 до 100°C с ценой деления 1°C; пипетка вместимостью 2 см<sup>3</sup>; чашка Петри; секундомер, этиловый спирт, солей-стабилизаторов: цитратов калия и натрия

**Вывод.** Обосновать термоустойчивость исследуемого молока и, при необходимости, количество солей-стабилизаторов.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 1

### СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

**Аденозинтрифосфат (АТФ)** - сложное соединение, образованное из азотистого основания аденина, рибозы и последовательно соединенных трех остатков фосфорной кислоты; АТФ содержит макроэргические связи, гидролиз которых обеспечивает энергетические потребности, необходимые для протекания метаболических процессов в живых организмах; при расщеплении АТФ последовательно образуются АДФ и АМФ.

**Азотистые основания** - низкомолекулярные азотистые соединения, основными структурными элементами которых являются пиримидин и пурин; А.о. входят в состав РНК и ДНК, определяя их принадлежность; так в составе ДНК аденин, гуанин, цитозин и тимин, а в РНК вместо тимина присутствует урацил.

**Активный центр** - участок, расположенный на поверхности белковой глобулы, образованный из разных аминокислотных остатков, собранных из различных участков полипептидной цепи, где происходит связывание и превращение субстрата; аминокислотные остатки имеют определенное пространственное расположение в А.Ц., что обеспечивает специфичность (избирательность) механизма действия фермента.

**Аминокислоты** - низкомолекулярные органические соединения, относящиеся к группе карбоновых кислот, в составе которых присутствует аминогруппа ( $-NH_2$ ).

**Анаболизм** - (анаболические пути)-процессы ферментативного синтеза сложных биологических молекул (углеводов, нуклеиновых кислот, белков, жиров) из простых предшественников с потреблением свободной энергии, которая поставляется в форме фосфатных связей АТФ.

**Антикодон** - триплет, содержащийся в составе молекулы т РНК, комплементарный какому-нибудь кодону и РНК.

**Антиоксиданты** - это соединения, действие которых связано с обрывом цепной радикальной реакции, в результате чего образуются гидропероксид субстрата и обладающий низкой реакционной способностью свободный радикал ингибитора; А. регулируют процессы свободнорадикального окисления в биогенных системах, создают оптимальные условия для нормального метаболизма и функционирования клеток и тканей, их основной функцией в растительных и животных клетках является торможение процессов свободнорадикального окисления.

**Апофермент** - белковая часть холофермента.

**Белок** - высокомолекулярное соединение, образованное за счет последовательного соединения α-L- аминокислот в полипептидную цепь, связанных между собой пептидной связью (-CO-NH-) согласно генетической информации, хранящейся в гене, и обладающее функционально активной третичной или четвертичной структурой; информация о природе аминокислот, последовательности их связывания в полипептидной цепи и количестве передается по следующей цепи: ДНК- преРНК-мРНК-белок.

**Витамины** - это группа биологически активных веществ, синтез которых преимущественно происходит в бактериях и растениях, являющихся предшественниками кофакторов или простетических групп; недостаток В. Вызывает у животных и человека развитие симптомов гиповитаминозов, а их избыток - гипервитаминозы; В. Условно можно разделить на растворимые в полярных (водорастворимые: В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>4</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>8</sub>, В<sub>12</sub>, В<sub>13</sub>, В<sub>15</sub>, С, Р, РР, Н, U, убихинон, ПАБК) и неполярных (жирорастворимые: А, Е, К) растворителях.

**Воски** - сложные эфиры высших многоатомных спиртов и высших жирных кислот.

**Ген** - элементарная единица наследственности, в которой заключена информация о всех белках и рибонуклеиновых кислотах, участвующих в метоболических процессах, входящих в структуру мембран клеток.

**Геном** - это совокупность генов, входящих в состав ДНК хромосом.

**Гидролазы** - класс ферментов, катализирующих расщепление связей с участием молекулы воды в качестве нуклеофила.

**Гликопротеины** - сложные белки, в состав которых входят углеводы; выполняют Г. функции рецепторов мембран, участвующих в процессах биологического распознавания соединений и клеток (гормонов, бактерий и вирусов); ряд Г. являются транспортными белками; каталитическая функция выполняется такими белками, как пероксидаза, холинэстераза, глюкооксидаза, энтерокиназа и др., содержащими углеводы в своем составе; входя в состав межклеточного вещества соединительной ткани, Г. Выполняют структурно-механическую функцию.

**Дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)** - это высокомолекулярное соединение, образованное за счет последовательного связывания нуклеотидов в полинуклеотидную цепь, в упорядоченном расположении которых заложена индивидуальная информация о живом организме, реализуемая через упорядоченный синтез белков и формирование специализированных клеточных структур, определяющих индивидуальные признаки организма; ДНК является полинуклеотидом (биополимер), в составе которого азотистое основание (аденин, гуанин, цитозин и тимин), моносахарид (дезоксирибоза) и остаток фосфорной кислоты.

**Денатурация** - представляет собой внутримолекулярное изменение пространственного расположения по отношению друг к другу отдельных пептидных фрагментов в белковой

макромолекуле или ДНК без разрыва ковалентных связей в результате действия химических или физических факторов (ионы тяжелых металлов, органические растворители, кислоты, щелочи, температура, ионизирующее излучение и др.), приводящих к изменению их физико-химических свойств и к утрате функциональной активности.

**Диссимиляция** - (реакции энергетического обмена)- процессы направленного распада веществ в клетках живых организмов; при этом накопившаяся в результате распада веществ энергия генерируется в связях высокоэнергетических молекул (АТФ, ГТФ, ЦТФ, УДФ и др.), используемых в дальнейшем для синтеза пластических веществ; к процессам Д. можно отнести гликолиз- распад глюкозы, липогенез- окисление жирных кислот, гликогенез – расщепление гликогена и др.

**Ингибитор** - это вещество. Замедляющее или полностью останавливающее скорость ферментативной реакции, которое по той или иной причине частично или полностью препятствует образованию продуктивного фермент- субстратного комплекса; ингибиторами могут быть лекарственные препараты; яды и другие вещества.

**Кодон** - это три последовательно соединенных мононуклеотида в мРНК, кодирующих определенную аминокислоту; генетический код для аминокислот является вырожденным, т.к. некоторые аминокислоты закодированы 2...6 кодонами; всего имеется 64 кодона, три из которых не кодируют никакой аминокислоты; УАГ, УАА а УГА – обозначают конец матрицы; на этих триплетах обрывается дальнейшее наращивание пептидной цепи - терминирующие триплеты.

**Кофактор** (кофермент) – низкомолекулярное соединение небелковой природы, связанное с апобелком нековалентными связями в активном центре и участвующее в каталитическом процессе; в отсутствие кофермента фермент не активен и каталитическая реакция не протекает; к кофакторам

относятся: НАД, НАДФ, ФАД, ТПФ и др.; предшественниками некоторых К. являются витамины В<sub>1</sub> (тиамин) → ТПФ (тиаминпирофосфат), В<sub>2</sub> (рибофлавин) → ФАД (флавинадениндинуклеотид), В<sub>3</sub> (пантотеновая кислота) → SHCoA, В<sub>5</sub> (никотиновая кислота) → ФП (фосфопиридоксин), В<sub>12</sub> (цианокобаламин) → МК (метилкобаламин), В<sub>с</sub> (фолиевая кислота) → ТГФК (тетрагидрофолиевая кислота), Н (биотин) → КБ (карбоксибиотин).

**Лигазы** (синтетазы) – это класс ферментов, катализирующих реакции соединения двух и более молекул, используя АТФ.

**Липиды** – это гетерогенная группа органических веществ, нерастворимых или плохо растворимых в полярных растворителях, но хорошо растворимых в неполярных растворителях; различают следующие группы липидов: жирные кислоты, нейтральные липиды, фосфолипиды, сфинголипиды, воска, стероиды.

**Макроэлементы** – это элементы биогенных систем, присутствующие в организме животных и человека в миллимолярных и выше концентрациях; к этой группе элементов можно отнести Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, P, Cl<sup>-</sup>, S; при этом их действие проявляется только в составе белков и биологически активных соединений или биогенных структур.

**Метоболизм** (обмен веществ) – совокупность биохимических процессов, протекающих в организме и обеспечивающих его жизнеспособность.

**Нуклеозиды** – соединения, в которых азотистые основания (пурины и пиримидины) связаны – гликозидной связью с рибозой или дезоксирибозой (аденозин, гуанозин, тимидин, уридин, цитидин).

**Нуклеотиды** – фосфорные эфиры нуклеозидов, например: аделовая кислота (АМФ), гуаниловая кислота (ГМФ), цитидиловая кислота (ЦМФ), уридиловая кислота (УМФ), тимидиловая кислота (ТМФ); они также могут называться:

аденозин-5'- фосфат, гуанозин – 5'- фосфат, цитидин – 5'-фосфат, уридин - 5'- фосфат, тимидин-5'- фосфат.

**Полисахариды** – высокомолекулярные полимерные производные углеводов, образованные из последовательно соединенных моносахаридов, связанных между собой О-гликозидной связью; основными представителями П. являются: крахмал, гликоген, целлюлоза, клетчатка, хитин, агар –агар.

**Сателлитная ДНК** (от лат. *Satellitis* - спутник, сопровождающий) - ДНК эукариот, содержащая многократно повторяющиеся последовательности нуклеотидов.

**Трансляция** (от англ. Translation - перевод) - процесс перевода информации, заложенной в последовательности нуклеотидов мРНК, в последовательность аминокислотных остатков полипептидной цепи.

**Углеводы** - вещества органической природы, основными компонентами которых являются альдегиды и кетоны многоатомных спиртов, а также полимеры этих соединений; У. условно делят на три группы: моносахариды, олигосахариды и полисахариды.

**Ферменты** (энзимы; от англ. enzyme) – белки, обладающие каталитической активностью, способные ускорять протекание химических реакций в живых организмах.

**Фитогормоны** – низкомолекулярные биологически активные вещества (ауксины, цитокинины, гиббереллины, абсцизины и др.), регулирующие процессы запуска и протекание различных биохимических процессов в растительной клетке; Ф. контролируют процессы роста растений, созревание, старение, транспорта и т.д.

**Фосфолипиды** – сложные эфиры трехатомного спирта глицерина с высшими жирными кислотами и фосфорной кислотой; последняя соединяется сложноэфирной связью с полярной группировкой, в составе которой может быть холин, этаноламин, серин, инозит и др.

**Хемосинтез** - процесс ассимиляции (усвоения)  $\text{CO}_2$  за счет энергии, выделяемой при окислении неорганических соединений.

**Ядро** – органоид, обеспечивающий хранение и передачу генетической (наследственной) информации; основными элементами Я. являются ДНК, РНК и белки, комплекс которых обеспечивает протекание в ядре основных трансформационных процессов; в Я. протекают процессы, обеспечивающие удвоение ДНК – репликация и процессы передачи генетической информации с ДНК → преРНК → иРНК – транскрипция и процессинг.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 2

### ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАСТВОРОВ

#### ГИДРОКСИД НАТРИЯ (NaOH)

Молекулярная масса-40,00. Молярная масса эквивалента-40,00.

Растворы гидроксида натрия готовят из его насыщенного раствора.

Для приготовления насыщенного раствора в фарфоровую чашку вместимостью 1000см<sup>3</sup> вносят определенную массу свежепрокипяченной (для удаления CO<sub>2</sub>) и охлажденной до комнатной температуры дистиллированной воды (например, 200см<sup>3</sup>). Сюда же отдельными порциями при непрерывном помешивании раствора вносят равное по массе количество гидроксида натрия. Следует иметь в виду, что раствор в чашке при этом сильно разогревается. Приблизительная эквивалентная концентрация полученного раствора составляет 16 моль/дм<sup>3</sup>.

Раствор переливают в бутыль с резиновой пробкой. В течение одной-двух недель дают отстояться осадку карбоната натрия.

#### Гидроксид натрия (NaOH) с эквивалентной концентрацией

1 моль/дм<sup>3</sup>

В мерную колбу вместимостью 1000см<sup>3</sup> вносят 70 см<sup>3</sup> прозрачного насыщенного раствора NaOH, после чего содержимое колбы доводят до метки свежепрокипяченной и охлажденной до 20 + 1°С дистиллированной водой. Вода должна быть защищена от действия CO<sub>2</sub> воздуха пробкой с хлоркальциевой трубкой.

Титр раствора NaOH устанавливают по растворам соляной или серной кислот с эквивалентной концентрацией 1 моль/дм<sup>3</sup>.

приготовленными из фиксаналов, в присутствии фенолфталеина.

### СОЛЯНАЯ КИСЛОТА (HCL)

Молекулярная масса-36,47. Молярная масса эквивалента-36,47.

#### А. Концентрированная соляная кислота

Концентрацию соляной кислоты находят по таблице П.1.1в зависимости от плотности. Плотность определяют ареометром при 20°C.

Массовая доля соляной кислоты в растворах различной плотности, в %

| Плотность<br>при 20°,<br>кг/м³ | Массовая доля HCL |       | Плотность<br>при 20°,<br>кг/м³ | Массовой доля HCL |       |
|--------------------------------|-------------------|-------|--------------------------------|-------------------|-------|
|                                | %                 | кг/м³ |                                | %                 | кг/м³ |
| 1003,2                         | 1                 | 10,03 | 1108,3                         | 22                | 243,8 |
| 1008,2                         | 2                 | 20,16 | 1118,7                         | 24                | 268,5 |
| 1018,1                         | 4                 | 40,72 | 1129,0                         | 26                | 293,5 |
| 1027,9                         | 6                 | 61,67 | 1139,2                         | 28                | 319,0 |
| 1037,6                         | 8                 | 83,01 | 1149,3                         | 30                | 344,8 |
| 1047,4                         | 10                | 104,7 | 1159,3                         | 32                | 371,0 |
| 1057,4                         | 12                | 126,9 | 1169,1                         | 34                | 397,5 |
| 1067,5                         | 14                | 149,5 | 1178,9                         | 36                | 424,4 |
| 1077,6                         | 16                | 172,4 | 1188,5                         | 38                | 451,6 |
| 1087,8                         | 18                | 195,8 | 1198,0                         | 40                | 479,2 |
| 1098,0                         | 20                | 219,6 |                                |                   |       |

### СЕРНАЯ КИСЛОТА (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)

Молекулярная масса - 98.08. Молярная масса эквивалента - 49.04.

Титрованные растворы готовят из концентрированной химически чистой кислоты путем разведения ее до нужной концентрации дистиллированной водой. Массовую долю в процентах находят по таблице П.1.2 в зависимости от плотности. Плотность определяют ареометром со шкалой 1500...1850 кг/м³ при 20°C. Если температура кислоты при

определении плотности отличается от 20°C, то на каждый градус вносят поправку к показаниям ареометра, пользуясь таблицей П.1.3. Если температура кислоты была ниже 20°C, то поправку вычитают, если выше – прибавляют.

**Массовая доля серной кислоты в растворах различной плотности, в %**

| Плотность при 20°C, | Массовая доля H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , % | Плотность при 20°C, | Массовая доля H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , % | Плотность при 20°C, | Массовая доля H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , % | Плотность при 20°C, | Массовая доля H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , % |
|---------------------|--------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------|---------------------|--------------------------------------------------|
| 1495                | 59,70                                            | 1585                | 67,79                                            | 1675                | 75,49                                            | 1765                | 83,57                                            |
| 1505                | 60,62                                            | 1595                | 68,66                                            | 1685                | 76,34                                            | 1775                | 84,61                                            |
| 1515                | 61,54                                            | 1605                | 69,58                                            | 1695                | 77,20                                            | 1785                | 85,74                                            |
| 1525                | 62,45                                            | 1615                | 70,39                                            | 1705                | 78,06                                            | 1795                | 86,99                                            |
| 1535                | 63,36                                            | 1625                | 71,25                                            | 1715                | 78,93                                            | 1805                | 88,43                                            |
| 1545                | 64,26                                            | 1635                | 72,09                                            | 1725                | 79,81                                            | 1815                | 90,12                                            |
| 1555                | 65,15                                            | 1645                | 72,95                                            | 1735                | 80,70                                            | 1820                | 91,11                                            |
| 1565                | 66,03                                            | 1655                | 73,80                                            | 1745                | 81,62                                            | 1825                | 92,25                                            |
| 1575                | 66,91                                            | 1665                | 74,64                                            | 1755                | 82,57                                            | 1835                | 95,72                                            |

**Поправки к плотности серной кислоты на градус температуры.**

| Плотность, кг/м <sup>3</sup> | Поправка, кг/м <sup>3</sup> |
|------------------------------|-----------------------------|
| 1495...1670                  | 1,0                         |
| 1670...1700                  | 1,1                         |
| 1700...1800                  | 1,2                         |
| 1800...1835                  | 1,4                         |

**ФЕНОЛФТАЛЕИН (C<sub>20</sub>O<sub>4</sub>H<sub>14</sub>)**

**Раствор фенолфталейна с массовой долей 1%**

В коническую колбу вместимостью 150...200см<sup>3</sup> вносят 1,0+0,1г фенолфталейна и 70 см<sup>3</sup> 95<sup>0</sup>-ного этанола. После полного растворения реактива в колбу добавляют 29 см<sup>3</sup>

дистиллированной воды с температурой  $20 \pm 1$  °С, содержимое колбы перемешивают.

### МЕТИЛОРАНЖА ( $C_{10}O_3N_{15}N_3S$ )

#### Раствор метилоранжа с массовой долей 0,1%

В мерную колбу вместимостью  $100\text{см}^3$  вносят  $0,10 \pm 0,01\text{г}$  метиленового оранжевого, добавляют примерно  $80\text{ см}^3$  дистиллированной воды с температурой  $50 \dots 60$  °С, содержимое колбы тщательно перемешивают, охлаждают до  $20 \pm 1$  °С и доводят до метки дистиллированной водой той же температуры. Раствор вновь перемешивают.

### ЙОД ( $I_2$ )

Молекулярная масса-253,8. Молярная масса эквивалента-126,9.

#### Раствор йода с эквивалентной концентрацией 0,2 моль/дм<sup>3</sup>

В мерную колбу вместимостью  $1000\text{см}^3$  вносят  $25,38 \pm 0,01\text{г}$  химически чистого йода, растворяют его в  $200\text{ см}^3$  95<sup>0</sup>-ного этанола. Колбу доливают до метки 95<sup>0</sup>-ным этанолом; содержимое колбы тщательно перемешивают.

Установка титра раствора: в коническую колбу вместимостью  $150 \dots 200\text{см}^3$  пипеткой вносят  $25\text{ см}^3$  приготовленного раствора йода, добавляют  $30\text{ см}^3$  дистиллированной воды и титруют раствором тиосульфата натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> до перехода бурого окрашивания в соломенно-желтое, прибавляют  $1\text{ см}^3$  1 %-ного раствора крахмала, 2..3 капли метилоранжа и титруют раствором тиосульфата натрия до появления от одной капли розового окрашивания раствора. Титр раствора тиосульфата натрия рассчитывают по формуле (П.1.2):

$$T = \frac{25 \cdot 2}{V}$$

Где 25-объем раствора йода,  $\text{см}^3$ ; 2- коэффициент, учитывающий разницу в концентрациях растворов йода и тиосульфата натрия; V- объем раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование,  $\text{см}^3$ .

Раствор хранят в склянке темного стекла в темном месте.

### ТИОСУЛЬФАТ НАТРИЯ ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )

Молекулярная масса-248,22. Молярная масса эквивалента-248,22.

**Раствор тиосульфата натрия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/ $\text{дм}^3$**

В мерную колбу вместимостью  $1000 \text{ см}^3$  вносят  $25,0 \pm 0,1 \text{ г}$  тиосульфата натрия, растворяют его в  $100 \text{ см}^3$  свежeproкипяченной и охлажденной до комнатной температуры дистиллированной воды. Содержимое колбы охлаждают до  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  и доводят до метки дистиллированной водой той же температуры. Раствор оставляют в покое на 10..15 дней, затем определяют его титр. Для повышения стойкости рекомендуется добавлять  $0,20 \pm 0,05 \text{ г}$   $\text{Na}_2\text{SO}_3$  на  $1000 \text{ см}^3$  раствора тиосульфата натрия.

Титр раствора тиосульфата натрия устанавливают по раствору химически чистого бихромата калия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/ $\text{дм}^3$ .

Химически чистый  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  получают двукратной перекристаллизацией из водного раствора.

Для перекристаллизации бихромата калия готовят насыщенный раствор соли. В химический стакан вместимостью  $450 \dots 500 \text{ см}^3$  с  $200 \text{ см}^3$  кипящей дистиллированной воды вносят  $103,0 \pm 0,1 \text{ г}$  бихромата калия, раствор перемешивают стеклянной палочкой в течение нескольких минут и, не охлаждая, фильтруют

через воронку с коротко обрезанным концом и бумажным обеззоленным фильтром в стакане из термостойкого стекла вместимостью 350..400 см<sup>3</sup>. Стакан должен быть помещен в холодную воду или смесь воды со льдом. Раствор в стакане непрерывно и быстро помешивают стеклянной палочкой для получения возможно более мелких кристаллов бихромата калия. Затем раствор фильтруют через обеззоленный фильтр на воронке Бюхнера а колбу Бунзена при слабом отсасывании, стремясь к максимальному обезвоживанию осадка на фильтре. Кристаллический осадок переносят в ступку и сушат 2..3 ч при 100... 105°C, после чего измельчают и досушивают при 150°C в течение 10...12 ч до постоянной массы.

Повторную перекристаллизацию проводят аналогично.

Для приготовления раствора  $K_2Cr_2O_7$  с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> в бюкс отвешивают 4,9038+0,0002 г  $K_2Cr_2O_7$  и переносят навеску через воронку в мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup>. Затем обмывают бюкс и воронку несколько раз небольшими объемами дистиллированной воды, сливая ее в мерную колбу. После полного растворения бихромата калия в колбе раствор охлаждают до 20+1 °C и доводят до метки дистиллированной водой той же температуры.

Для установки титра тиосульфата натрия в коническую колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup> с притертой пробкой вносят 20 см<sup>3</sup> раствора йодида калия с массовой долей 10%, 5 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты, 20 см<sup>3</sup> раствора бихромата калия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> и 200 см<sup>3</sup> дистиллированной воды комнатной температуры. Колбу закрывают пробкой, содержимое тщательно перемешивают, колбу оставляют в покое на 3..5 мин в темном месте для полного растворения йода. Затем содержимое колбы титруют из бюретки раствором тиосульфата натрия, титр которого устанавливают. Титрование ведут сначала без индикатора, энергично перемешивая раствор. Когда цвет раствора перейдет в

желтовато-зеленый, прибавляют 1 см<sup>3</sup> раствора крахмала, раствор в колбе принимает синее окрашивание. Титрование продолжают до перехода синего окрашивания в изумрудное, обусловленное ионами трехвалентного хрома.

Титр (Т) для раствора тиосульфата натрия вычисляют по формуле (П.1.3) :

$$T = \frac{20}{V}$$

Где 20- объем раствора бихромата калия, см<sup>3</sup>; V- объем раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование, см<sup>3</sup>.

### **КРАХМАЛ (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub>**

#### **Раствор крахмала с массовой долей 1%**

В коническую колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup> вносят 1,0±0,1г крахмала, добавляют 10 см<sup>3</sup> дистиллированной воды с температурой 20±1°С, содержимое колбы тщательно перемешивают. Полученную смесь приливают тонкой струей при непрерывном помешивании стеклянной палочкой в стакане вместимостью 150..200 см<sup>3</sup> с 90см<sup>3</sup> кипящей дистиллированной воды. Горячий раствор фильтруют через бумажный фильтр. Фильтрат помещают в бутылку которую закрывают пробкой.

### **СУЛЬФАТ АММОНИЯ ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)**

#### **Приготовление насыщенного раствора сульфата аммония**

43,0±0,1г сульфата аммония растворяют в 57см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Насыщенным раствором сульфата аммония считают примерно 43%- ный его раствор.

### СУЛЬФАТ МЕДИ ( $\text{CuSO}_4$ )

#### Раствор сульфата меди с массовой долей 10%

В коническую колбу вместимостью 150..200 см<sup>3</sup> вносят 10,0±0,1 г сульфата меди и 90 см<sup>3</sup> дистиллированной воды с температурой 20±1°C. Содержимое колбы перемешивают.

### МОЛИБДАТ АММОНИЯ $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$

#### Раствор молибдата аммония с массовой долей 2,5%

В коническую колбу вместимостью 150..200 см<sup>3</sup> вносят 2,5±0,1 г молибдата аммония и 97,5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды с температурой 20±1°C. Содержимое колбы перемешивают.

### 2,6-ДИХЛОРФЕНОЛИНДОФЕНОЛ ( $\text{C}_6\text{H}_2\text{OCl}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{OH}$ )

Молекулярная масса-267. Молярная масса эквивалента-267.

2,6- дихлорфенолиндофенол не отвечает требованиям, предъявляемым к исходным веществам, поэтому раствор точной концентрации по его навеске приготовить нельзя. Сначала готовят раствор приблизительной концентрации (0,001н). В мерную колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup> вносят 0,1335±0,0001 г 2,6-дихлорфенолиндофенола, добавляют примерно 200 см<sup>3</sup> дистиллированной воды с температурой 20±1°C и 10 капель раствора гидроксида натрия с эквивалентной концентрацией 0,01 моль/дм<sup>3</sup>. Раствор тщательно перемешивают до полного растворения реактива. Содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой с температурой 20±1°C, перемешивают, несколько раз переворачивая колбу, и фильтруют через бумажный фильтр в сухую склянку темного стекла с притертой пробкой. Реактив устойчив в течение трех суток.

Для определения титра раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола используют 0,1%-ный раствор

аскорбиновой кислоты:  $2 \text{ см}^3$  0,1%-ного раствора аскорбиновой кислоты растворяют в  $50 \text{ см}^3$  2%-ного раствора серной кислоты. Затем  $5 \text{ см}^3$  полученного раствора вносят в колбу для титрования и титруют его 2,6-дихлорфенолиндофенолом до появления розового окрашивания. Определяют объем 2,6-дихлорфенолиндофенола ( $V_1$ ), который прошел на титрование.

Затем берут такой же объем аскорбиновой кислоты ( $5 \text{ см}^3$ ), добавляют в него несколько кристаллов (не более 0,1г) йодида калия, 5 капель 1%-ного раствора крахмала и титруют из другой микробюретки раствором йодида калия с  $C_2 = 0,001 \text{ моль/дм}^3$ . Титрование ведут до появления едва заметного синего окрашивания, объем йодида калия записывают ( $V_2$ ).

Поскольку титруются одинаковые объемы аскорбиновой кислоты, то объемы йодита калия и 2,6-дихлорфенолиндофенола, пошедших на титрование, эквивалентны друг другу. Известно, что  $1 \text{ см}^3$  раствора йодида калия с  $C_2 = 0,0-1 \text{ моль/дм}^3$  эквивалентен 0,088 мг аскорбиновой кислоты, поэтому титр раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола (в мг аскорбиновой кислоты) будет определяться по формуле

$$T = \frac{0,088 \cdot V_1}{V_2}$$

### ХЛОРИД КАЛЬЦИЯ ( $\text{CaCl}_2$ )

Молекулярная масса-110,99. Молярная масса эквивалента-55,495.

#### Раствор хлорида кальция с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>

Карбонат кальция сушат при  $100^\circ\text{C}$  в течение 1,5ч и охлаждают в эксикаторе над прокаленным хлоридом кальция. В химический стакан вместимостью  $200 \text{ см}^3$  вносят  $5,555 + 0,001 \text{ г}$  подготовленного карбоната кальция, добавляют около 9

см<sup>3</sup> раствора концентрированной соляной кислоты, по окончании реакции вносят еще несколько капель соляной кислоты до прекращения бурного выделения углекислоты. В стакане прибавляют 100... 150 см<sup>3</sup> дистиллированной воды и нагревают до кипения. Содержимое стакана охлаждают под струей водопроводной воды до температуры 20+1°C, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> и доливают до метки дистиллированной водой той же температуры.

### **АММИАЧНАЯ БУФЕРНАЯ СМЕСЬ (NH<sub>4</sub>OH (pH 9,8))**

В мерную колбу вместимостью 500 см<sup>3</sup> отвешивают 10,0+0,1 г хлорида аммония и цилиндром вносят 50 см<sup>3</sup> концентрированного раствора аммиака. Содержимое колбы растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, устанавливают температуру раствора 20,0+1°C, доливают до метки дистиллированной водой той же температуры и тщательно перемешивают.

В качестве концентрированного раствора аммиака используют 25%-ный раствор плотностью 907+3 кг/м<sup>3</sup>

### **ХЛОРИД МАГНИЯ (MgCl<sub>2</sub>)**

Молекулярная масса-95,21. Молярная масса эквивалента-47,605.

Раствор хлорида магния с эквивалентной концентрацией  
0,1 моль/дм<sup>3</sup>

Раствор готовят из фиксанала.

### **СОЛЬ МОРА (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.FESO<sub>4</sub>.6H<sub>2</sub>O ИЛИ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.FE(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O)**

Молекулярная масса-392,13.

Молярная масса эквивалента-392,13.

Раствор соли мора с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>

В мерную колбу вместимостью 1000см<sup>3</sup> вносят 39,21±0,01 г соли Мора (железа (II)-аммония сульфата гексагидрат), растворяют в дистиллированной воде с температурой 20,0±1°C, после чего доводят до метки дистиллированной водой той же температуры. Колбу закрывают пробкой, несколько раз переворачивают для перемешивания ее содержимого.

### **ПЕРМАНГНАТ КАЛИЯ (KMnO<sub>4</sub>)**

Молекулярная масса-158,04. Молярная масса эквивалента-31,60.

#### **Раствор перманганата калия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>**

В колбу вместимостью 2000см<sup>3</sup> вносят 3,2±0,1г химически чистого перманганата калия и 1000см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Содержимое колбы кипятят в течение 1 ч, охлаждают до 19±1°C и оставляют при этой температуре на 10..15 дней. Затем раствор осторожно сливают с выделившегося бурого осадка MnO<sub>2</sub> и фильтруют через пористый стеклянный фильтр № 3 или асбестовый фильтр в чистую темную склянку с притертой пробкой. Готовый раствор перманганата калия хранят в темном месте, не допуская контакта с резиновыми пробирками.

Титр раствора KMnO<sub>4</sub> устанавливают по щавелевой кислоте или перекристаллизованному оксалату натрия. При титровании пользуются бюреткой со стеклянным краном, который слегка смазывают концентрированной H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Для перекристаллизации оксалата натрия в коническую колбу вместимостью 300..400см<sup>3</sup> вносят 6,0±0,1г C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> Na<sub>2</sub> и 200 см<sup>3</sup> дистиллированной воды с температурой 50..60°C, слегка подщелачивают и дают отстояться в течение нескольких часов. Нерастворимые вещества осаждаются. Раствор фильтруют через бумажный фильтр, после чего выпаривают на кипящей водяной бане до 1/3 первоначального объема. Выпавшие кристаллы оксалата натрия отфильтровывают, растирают в ступке,

промывают дистиллированной водой комнатной температуры и высушивают при 240...250°C. Безводный оксалат натрия хранят в плотно закрытой банке.

В коническую колбу вместимостью 250..300 см<sup>3</sup> вносят 0,2...0,25г щавелевой кислоты или оксалата натрия и 100см<sup>3</sup> дистиллированной воды с температурой 80...90°C, содержимое колбы хорошо перемешивают до растворения реактива и охлаждают до комнатной температуры. Затем в колбу прибавляют 15см<sup>3</sup> раствора концентрированной серной кислоты, разбавленной дистиллированной водой в соотношении 1:1. Раствор нагревают до 80+1°C и медленно титруют из бюретки со стеклянным краном раствором КМ пО<sub>4</sub> при непрерывном сильном перемешивании до появления слабо-розового окрашивания. Титрование ведут по каплям, не прибавляя следующей, пока не обесцветится предыдущая. Первые капли перманганата калия обесцвечиваются медленно. К концу титрования температура раствора в колбе не должна быть ниже 60+1°C.

Титр (Т) раствора перманганата калия вычисляют по формулам (П.1.7) и (П.1.8):

Для оксалата натрия:

$$T = \frac{g}{V \cdot 0,0067}$$

Для щавелевой кислоты:

$$T = \frac{g_1}{V_1 \cdot 0,0063}$$

где g и g<sub>1</sub>-навеска, соответственно, оксалата натрия и щавелевой кислоты, г;

V и V<sub>1</sub>- объем раствора перманганата калия, израсходованного на титрование растворов, соответственно, оксалата натрия и щавелевой кислоты, см<sup>3</sup>.

## **ГИДРОКСИД КАЛИЯ (КОН)**

Молекулярная масса-56,11. Молярная масса эквивалента-56,11.

**Спиртовой раствор гидроксида калия с эквивалентной концентрацией 0,5моль / дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 1000см<sup>3</sup> вносят 28,0550+0,0001г химически чистого гидроксида калия и 30см<sup>3</sup> прокипяченной дистиллированной воды с температурой 20+1°C; содержимое колбы тщательно перемешивают до полного растворения реактива, после чего доливают до метки 95<sup>0</sup>-ным этанолом. Колбу закрывают пробкой, имеющей трубку с натронной известью. В течение нескольких суток при комнатной температуре дают отстояться осадку карбоната калия, после чего раствор сифонируют в склянку темного стекла, освобожденную от углекислого газа. Склянку закрывают пробкой, снабженной трубкой с натронной известью.

## **ЙОДИД КАЛИЯ (КJ)**

### **Раствор йодкалиевого крахмала**

В химическом стакане вместимостью 150...200см<sup>3</sup> из термостойкого стекла смешивают 3,0+0,1г крахмала с небольшим количеством холодной воды до получения однородной массы. К разведенному крахмалу приливают при непрерывном помешивании стеклянной палочкой 100см<sup>3</sup> дистиллированной воды с температурой 98+2°C. В охлажденный до комнатной температуры раствор вносят 3,0+0,1г йодида калия и перемешивают до полного растворения кристаллов KJ.

Раствор йодида калия нестойкий, поэтому его приготавливают в небольшом количестве и хранят в темном прохладном месте.

## РАСТВОР ЛЮГОЛЯ

1,0+0,1г кристаллического йода растирают в ступке. Затем количественно переносят в стакан вместимостью 400см<sup>3</sup> с помощью 300см<sup>3</sup> дистиллированной воды, сюда же вносят 2,0+0,1г йодида калия. Содержимое перемешивают стеклянной палочкой до полного растворения реактивов. Хранят раствор в плотно закупоренной склянке темного стекла, в холодном месте.

## УКСУСНАЯ КИСЛОТА (CH<sub>3</sub>COOH)

Молекулярная масса 60,05

Растворы уксусной кислоты готовят из безводной, иначе ледяной, химически чистой кислоты ( $d_4^{20} = 1049,7 \text{ кг/м}^3$ ) путем разведения ее до нужной концентрации дистиллированной водой либо из кислоты с другой массовой долей.

Массовую долю в процентах находят по таблице П.1.4 в зависимости от плотности. Плотность определяют ареометром при 20°C.

Следует иметь в виду, что пары уксусной кислоты раздражают слизистые оболочки верхних дыхательных путей, поэтому работать с ней необходимо под вытяжкой. Хроническое действие паров уксусной кислоты ведет к заболеваниям носоглотки и конъюнктивитам. Предельно допустимая концентрация в воздухе 0,005 мг/дм<sup>3</sup>. Растворы с массовой долей более 30% вызывают ожоги.

Ледяную уксусную кислоту хранят в плотно закупоренной, защищенной от света бутылки. Гарантийный срок хранения 1 год. При затвердевании, которое наступает при температуре ниже 16,75°C, уксусная кислота увеличивается в объеме, что может привести к разрушению тары.

**Массовая доля уксусной кислоты в растворах различной плотности**

| Массовая доля уксусной кислоты, % | Плотность при 20°C, кг/м³ | Массовая доля уксусной кислоты, % | Плотность при 20°C, кг/м³ |
|-----------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| 1                                 | 999,7                     | 60                                | 1064,2                    |
| 10                                | 1012,6                    | 70                                | 1068,6                    |
| 20                                | 1026,1                    | 77                                | 1070,0                    |
| 30                                | 1038,3                    | 80                                | 1069,9                    |
| 40                                | 1048,8                    | 90                                | 1066,0                    |
| 50                                | 1057,5                    | 100                               | 1049,7                    |

**Раствор уксусной кислоты с массовой долей 10%**

Определяют плотность имеющейся кислоты при 20°C с помощью ареометра и рассчитывают необходимый ее объем для приготовления 10%-ного раствора.

*Пример.*

Плотность уксусной кислоты составляет 1057,5 кг/м³, что соответствует ее массовой доле 50%. Следовательно, для приготовления 100 см³ раствора с массовой долей 10% необходимо в коническую колбу вместимостью 150..200 см³ отмерить (с соблюдением правил техники безопасности) 20 см³ кислоты и смешать их с 80 см³ дистиллированной воды с температурой 20+1°C.

**ХЛОРИД НАТРИЯ (NaCl)**

Молекулярная масса -58.

**Насыщенный раствор хлорида натрия**

В коническую колбу вместимостью 150...200 см³ вносят 26,43±0,01 г хлорида натрия и 100 см³ дистиллированной воды с температурой 25±1°C. Содержимое колбы перемешивают. Колбу закрывают пробкой и выдерживают при температуре 25±1°C в течение нескольких часов. После этого содержимое колбы

фильтруют через бумажный фильтр.

**Раствор хлорида натрия с молярной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 5,80 + 0,01 г хлорида натрия, растворяют его в небольшом количестве дистиллированной воды с температурой 20 + 1°C. Содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой с температурой 20 + 1°C.

**Раствор хлорида натрия с молярной концентрацией 0,01 мол/дм<sup>3</sup>**

В мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> пипеткой вносят 10 см<sup>3</sup> раствора с молярной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>, содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой с температурой 20 + 1°C.

**БУФЕРНЫЕ СМЕСИ**

**Фосфорно-цитратная буферная смесь**

Составляется из двух растворов: моногидрата лимонной кислоты с молярной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> гидроортофосфата натрия с молярной концентрацией 0,2 моль/дм<sup>3</sup>.

Для приготовления раствора лимонной кислоты (0,1M) в мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят 21,0180 + 0,0001 г моногидрата лимонной кислоты, растворяют в небольшом количестве дистиллированной водой с температурой 20 + 1°C, содержимое колбы доводят до метки дистиллированной водой той же температуры и тщательно перемешивают.

Для приготовления раствора гидроортофосфата натрия (0,2M) в мерную колбу вместимостью 1000 см<sup>3</sup> вносят

35,5980+0,0001 г  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  и далее поступают так же, как описано выше.

Растворы смешивают в соотношениях, приведенных в таблице.

**Необходимые объемы растворов моногидрата лимонной кислоты(0,1М) и гидроортофосфата натрия(0,2М) для приготовления буферных растворов в пределах значений рН от 2,2 до 8,0**

| Лимонная кислота, см <sup>3</sup> | $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , М <sup>3</sup> | рН  | Лимонная кислота, см <sup>3</sup> | $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , М <sup>3</sup> | рН  | Лимонная кислота, см <sup>3</sup> | $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , М <sup>3</sup> | рН  |
|-----------------------------------|--------------------------------------------|-----|-----------------------------------|--------------------------------------------|-----|-----------------------------------|--------------------------------------------|-----|
| 19,60                             | 0,40                                       | 2,2 | 11,72                             | 8,28                                       | 4,2 | 6,78                              | 13,22                                      | 6,2 |
| 18,76                             | 1,24                                       | 2,4 | 11,18                             | 8,82                                       | 4,4 | 6,15                              | 13,85                                      | 6,4 |
| 17,82                             | 2,18                                       | 2,6 | 10,65                             | 9,35                                       | 4,6 | 5,45                              | 14,55                                      | 6,6 |
| 16,83                             | 3,17                                       | 2,8 | 10,14                             | 9,86                                       | 4,8 | 4,55                              | 15,45                                      | 6,8 |
| 15,89                             | 4,11                                       | 3,0 | 9,70                              | 10,30                                      | 5,0 | 3,63                              | 16,47                                      | 7,0 |
| 15,06                             | 4,94                                       | 3,2 | 9,28                              | 10,72                                      | 5,2 | 2,61                              | 17,39                                      | 7,2 |
| 14,30                             | 5,70                                       | 3,4 | 8,85                              | 11,15                                      | 5,4 | 1,83                              | 18,17                                      | 7,4 |
| 13,56                             | 6,44                                       | 3,6 | 8,40                              | 11,60                                      | 5,6 | 1,27                              | 18,73                                      | 7,6 |
| 12,90                             | 7,10                                       | 3,8 | 7,91                              | 12,09                                      | 5,8 | 0,85                              | 19,15                                      | 7,8 |
| 12,29                             | 7,71                                       | 4,0 | 7,37                              | 12,63                                      | 6,0 | 0,55                              | 19,45                                      | 8,0 |

## ЖИДКОСТИ ФЕЛИНГА

### Жидкость фелинга I

Для приготовления раствора используют перекристаллизованный сульфат меди  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  готовят насыщенный раствор соли. Для этого в химический стакан из термостойкого стекла вместимостью 450... 500 см<sup>3</sup> с 200см<sup>3</sup> кипящей дистиллированной воды вносят 148 г сульфата меди, раствор перемешивают стеклянной палочкой в течение нескольких минут и, не охлаждая, фильтруют через воронку с коротко обрезанным концом и бумажным обеззоленным фильтром в стакан из термостойкого стекла вместимостью 250..300см<sup>3</sup>; стакан должен быть помещен в холодную воду или

смесь воды со льдом. Раствор в стакане непрерывно и быстро перемешивают стеклянной палочкой для получения возможно более мелких кристаллов сульфата меда. Затем раствор фильтруют через обеззоленный фильтр на воронке Бюхнера в колбу Бунзена при слабом отсасывании, стремясь к максимальному обезвоживанию осадка на фильтре. Кристаллический осадок вместе с фильтром переносят на двойной лист фильтровальной бумаги, отжимают между несколькими ее слоями и высушивают при комнатной температуре на сухом листе до тех пор, пока кристаллы перестанут прилипать к сухой стеклянной палочке.

Для приготовления жидкости Фелинга I в мерную колбу вместимостью  $1000\text{см}^3$  вносят  $69,25 \pm 0,01\text{г}$  перекристаллизованного сульфата меди  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , растворяют в небольшом объеме дистиллированной воды, устанавливают температуру раствора  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  и доводят до метки дистиллированной водой той же температуры. Содержимое колбы перемешивают.

### Жидкость фелинга II

В химический стакан из термостойкого стекла вместимостью  $1000\text{см}^3$  вносят  $346,0 \pm 0,1\text{ г}$  сегнетовой соли  $(\text{KООС}-(\text{СНОН})_2-\text{COONa} \cdot 4\text{H}_2\text{O})$  и  $600\text{см}^3$  дистиллированной воды. Содержимое стакан нагревают до  $50 \dots 60^\circ\text{C}$ , помешивая стеклянной палочкой, до полного растворения соли, фильтруют в мерную колбу вместимостью  $1000\text{см}^3$ . В эту же колбу добавляют раствор гидроксида натрия (реактив Iг). Содержимое колбы перемешивают, доводят его температуру до  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  и доливают до метки дистиллированной водой той же температуры.

# ПРИЛОЖЕНИЕ 3

## ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ НЕКОТОРЫХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ПРОДУКТОВ

Мясо, птица, яйца (содержание в 100г продукта, г)

| Пищевые<br>вещества         | Единица<br>измерения | Суточная<br>потребность | Мясо                    |                         |                   | Птица, яйцо           |                        |                 |
|-----------------------------|----------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------|-----------------------|------------------------|-----------------|
|                             |                      |                         | Говядина 1<br>категории | Баранина 1<br>категории | Свинина<br>мясная | Курица 1<br>категории | Индейка 1<br>категории | Яйцо<br>куриное |
| Вода в продуктах<br>питания | г                    | 700                     | 66,4                    | 67,2                    | 51,5              | 62,6                  | 57,6                   | -               |
| Белки, всего                | г                    | 100                     | 18,6                    | 16,3                    | 14,6              | 18,2                  | 19,5                   | 12,7            |
| В том числе:                |                      |                         |                         |                         |                   |                       |                        |                 |
| Животные                    | г                    | 75                      | 18,6                    | 16,3                    | 14,6              | 18,2                  | 19,5                   | 12,7            |
| Растительные                | г                    | 25                      | -                       | -                       | -                 | -                     | -                      | -               |
| Незаменимые аминокислоты:   |                      |                         |                         |                         |                   |                       |                        |                 |
| Триптофан                   | г                    | 1                       | 0,210                   | 0,198                   | 0,191             | 0,293                 | 0,329                  | 0,204           |
| Лейцин                      | г                    | 6                       | 1,478                   | 1,116                   | 1,074             | 1,412                 | 1,587                  | 1,081           |
| Изолейцин                   | г                    | 4                       | 0,782                   | 0,754                   | 0,708             | 0,653                 | 0,963                  | 0,597           |
| Валин                       | г                    | 4                       | 1,035                   | 0,820                   | 0,831             | 0,877                 | 0,930                  | 0,772           |
| Треонин                     | г                    | 3                       | 0,803                   | 0,688                   | 0,654             | 0,885                 | 0,875                  | 0,610           |
| Лизин                       | г                    | 5                       | 1,589                   | 1,235                   | 1,239             | 1,588                 | 1,636                  | 0,903           |
| Метионин                    | г                    | 4                       | 0,445                   | 0,356                   | 0,342             | 0,471                 | 0,417                  | 0,424           |
| Фенилаланин                 | г                    | 7                       | 0,904                   | 0,611                   | 0,580             | 0,744                 | 0,803                  | 0,652           |
| Усвояемые<br>углеводы       | г                    | 300                     | 3,0                     | 3,0                     | 3,0               | -                     | -                      | 0,2             |
| Органические<br>кислоты     | г                    | 2                       | -                       | -                       | -                 | -                     | -                      | -               |
| Пищевые волокна             | г                    | 25                      | 1,60                    | 1,50                    | 1,43              | -                     | -                      | -               |
| Жиры, всего                 | г                    | 100                     | 16,0                    | 16,3                    | 33,3              | 8,0                   | 9,48                   | 7,45            |
| В том числе:                |                      |                         |                         |                         |                   |                       |                        |                 |
| Растительные                | г                    | 25                      | -                       | -                       | -                 | -                     | -                      | -               |
| Животные                    | г                    | 75                      | 16,0                    | 16,3                    | 33,3              | 8,0                   | 9,48                   | 7,45            |

|                                        |    |      |        |        |        |        |        |         |
|----------------------------------------|----|------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
| Полиненасыщенные ВЖК                   | г  | 11   | 0,49   | 0,49   | 3,64   | 1,69   | 3,71   | 1,26    |
| Холестерин                             | г  | 0,3  | 0,07   | 0,098  | 0,110  | 0,04   | 0,05   | 0,57    |
| Фосфолипиды                            | г  | 5    | 0,80   | 0,88   | 0,84   | 0,75   | 4,4    | 3,4     |
| <b>Минеральные вещества:</b>           |    |      |        |        |        |        |        |         |
| Кальций                                | Мг | 1000 | 9      | 3      | 6,0    | 16     | 12     | 55      |
| Фосфор                                 | Мг | 1500 | 188    | 178    | 160    | 165    | 200    | 192     |
| Натрий                                 | Мг | 2400 | 65     | 80     | 50     | 70     | 90     | 134     |
| Калий                                  | Мг | 3500 | 325    | 270    | 240    | 194    | 210    | 140     |
| хлориды                                | Мг | 7000 | 59,0   | 60     | 60     | 77     | 90     | 156     |
| Магний                                 | Мг | 400  | 22,0   | 18     | 20     | 16     | 19     | 12      |
| Железо                                 | Мг | 14   | 2,9    | 2      | 1,6    | 1,6    | 1,4    | 2,5     |
| Цинк                                   | Мг | 15   | 3,24   | 3      | 3      | 2,055  | 2,45   | 1,11    |
| Марганец                               | Мг | 10   | 0,035  | 0,035  | 0,32   | 0,019  | 0,014  | 0,029   |
| Медь                                   | Мг | 2    | 0,182  | 0,180  | 0,17   | 0,076  | 0,085  | 0,083   |
| Кобальт                                | Мг | 0,2  | 0,007  | 0,007  | 0,005  | 0,012  | 0,015  | 0,010   |
| Молибден                               | Мг | 0,5  | 0,012  | 0,012  | 0,010  | -      | 0,029  | 0,006   |
| Фториды                                | Мг | 1,0  | 0,063  | 0,063  | 0,060  | 0,130  | -      | 0,055   |
| Иодиды                                 | Мг | 0,2  | 0,007  | 0,007  | 0,006  | 0,006  | -      | 0,020   |
| Селен                                  | Мг | 0,5  | 0,0035 | 0,001  | 0,004  | 0,004  | 0,004  | 0,007   |
| <b>Витамины:</b>                       |    |      |        |        |        |        |        |         |
| Витамин С                              | Мг | 100  | -      | -      | -      | 1,8    | -      | -       |
| Тиамин (В <sub>1</sub> )               | Мг | 2,0  | 0,06   | 0,08   | 0,50   | 0,07   | 0,05   | 0,07    |
| Рибофлавин (В <sub>2</sub> )           | Мг | 2,5  | 0,15   | 0,14   | 0,09   | 0,15   | 0,22   | 0,44    |
| Ниацин (РР)                            | Мг | 25   | 4,7    | 3,8    | 2,1    | 7,7    | 7,8    | 0,19    |
| Пантотеновая кислота (В <sub>5</sub> ) | Мг | 10   | 0,50   | 0,55   | 0,5    | 0,8    | 0,6    | 1,3     |
| Перидоксин (В <sub>6</sub> )           | Мг | 3    | 0,37   | 0,30   | 0,25   | 0,5    | 0,3    | 0,14    |
| Кобаламин (В <sub>12</sub> )           | Мг | 0,01 | 0,0026 | -      | 0,002  | 0,0006 | 0,0006 | 0,00052 |
| Биотин (Н)                             | Мг | 0,3  | 0,003  | -      | 0,002  | 0,010  | -      | 0,020   |
| Фолацин (В <sub>9</sub> )              | Мг | 0,5  | 0,0084 | 0,0051 | 0,0041 | 0,0043 | 0,0096 | 0,007   |
| Витамин Д                              | Гм | 0,01 | -      | -      | -      | -      | -      | 0,0022  |
| Витамин А                              | Мг | 2,5  | -      | -      | -      | 0,07   | 0,01   | 0,25    |
| Витамин Е                              | Мг | 15   | 0,57   | 0,70   | 0,4    | 0,5    | 0,3    | 2,0     |

## Зерновые продукты, овощи

| Пищевые вещества                 | Единица измерения | Суточная потребность | Зерновые продукты |              |       | Овощи          |           |              |
|----------------------------------|-------------------|----------------------|-------------------|--------------|-------|----------------|-----------|--------------|
|                                  |                   |                      | Гречка            | Горох, зерно | Рис   | Капуста, кочан | Картофель | Лук репчатый |
| Вода в продуктах питания         | г                 | 700                  | 14                | 14           | 10,3  | 90,0           | 78,6      | 86,0         |
| Белки, всего                     | г                 | 100                  | 3,2               | 2,8          | 22,0  | 7,2            | 26,8      | 3,2          |
| В том числе:                     |                   |                      |                   |              |       |                |           |              |
| животные                         | г                 | 75                   | 3,2               | 2,8          | 22,0  | 7,2            | 26,8      | 3,2          |
| растительные                     | г                 | 25                   | -                 | -            | -     | -              | -         | -            |
| <b>Незаменимые аминокислоты:</b> |                   |                      |                   |              |       |                |           |              |
| Триптофан                        | г                 | 1                    | 0,05              | 0,036        | 0,180 | 0,095          | 0,700     | -            |
| Лейцин                           | г                 | 6                    | 0,283             | 0,241        | 1,850 | 0,338          | 2,300     | 0,280        |
| Изолейцин                        | г                 | 4                    | 0,189             | 0,162        | 1,000 | 0,418          | 1,170     | 0,150        |
| Валин                            | г                 | 4                    | 0,191             | 0,185        | 0,990 | 0,453          | 1,570     | 0,190        |
| Треонин                          | г                 | 3                    | 0,153             | 0,117        | 0,800 | 0,304          | 0,649     | 0,120        |
| Лизин                            | г                 | 5                    | 0,261             | 0,198        | 1,450 | 0,540          | 1,580     | 0,300        |
| Метионин                         | г                 | 4                    | 0,109             | 0,095        | 0,480 | 0,150          | 0,775     | 0,070        |
| Фенилаланин                      | г                 | 7                    | 0,359             | 0,256        | 0,930 | 0,320          | 2,730     | 0,170        |
| Усвояемые углеводы               | г                 | 300                  | 4,830             | 3,780        | 3,30  | 56,000         | 1,800     | 4,5          |
| Органические кислоты             | г                 | 2                    | 0,160             | 0,170        | 1,220 | 0,400          | 2,200     | 0,140        |
| Пищевые волокна                  | г                 | 25                   | -                 | -            | -     | -              | -         | -            |
| Жиры, всего                      | г                 | 100                  | 3,6               | 20,0         | 0,6   | 8,5            | 27,3      | 0,5          |
| В том числе:                     |                   |                      |                   |              |       |                |           |              |
| растительные                     | г                 | 25                   | -                 | -            | -     | -              | -         | -            |
| Животные                         | г                 | 75                   | 3,6               | 20,0         | 0,6   | 8,5            | 27,3      | 0,5          |
| Полиненасыщенные ВЖК             | г                 | 11                   | 0,22              | 0,95         | -     | 0,32           | 0,69      | 0,05         |
| Холестерин                       | г                 | 0,3                  | 0,004             | 0,08         | 0,008 | 0,03           | 0,51      | 0,02         |

|                                        |    |      |             |             |             |             |        |        |
|----------------------------------------|----|------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------|--------|
| Фосфолипиды                            | г  | 5    | 0,03        | 0,15        | 0,03        | 0,07        | 1,13   | 0,15   |
| <b>Минеральные вещества:</b>           |    |      |             |             |             |             |        |        |
| Кальций                                | мг | 1000 | 120         | 86          | 120         | 307         | 1000   | 120    |
| Фосфор                                 | мг | 1500 | 90          | 60          | 189         | 219         | 600    | 88     |
| Натрий                                 | мг | 2400 | 50          | 35          | 44          | 130         | 1100   | 30     |
| Калий                                  | мг | 3500 | 146         | 109         | 117         | 365         | 100    | 50     |
| Хлориды                                | мг | 7000 | 110         | 72          | 117         | 238         | 1640   | 110    |
| Магний                                 | мг | 400  | 14          | 8           | 24          | 34          | 55     | 18     |
| Железо                                 | мг | 14   | 0,067       | 0,200       | 0,300       | 0,206       | 0,700  | 0,100  |
| Цинк                                   | мг | 15   | 0,400       | 0,260       | 0,364       | 1           | 4,000  | 0,4    |
| Марганец                               | мг | 10   | 0,006       | 0,003       | 0,008       | 0,007       | 0,100  | -      |
| Медь                                   | мг | 2    | 0,012       | 0,021       | 0,060       | 0,030       | 0,070  | -      |
| Кобальт                                | мг | 0,2  | 0,0008      | 0,0003      | 0,002       | 0,002       | -      | 0,0003 |
| Молибден                               | мг | 0,5  | 0,005       | 0,005       | 0,007       | 0,007       | -      | 0,005  |
| Фториды                                | мг | 1,0  | 0,020       | 0,017       | 0,032       | 0,035       | -      | 0,020  |
| Йодиды                                 | мг | 0,2  | 0,009       | 0,009       | -           | 0,007       | -      | 0,009  |
| Селен                                  | мг | 0,5  | 0,0014      | 0,0003      | 0,01        | 0,003       | 0,012  | 0,002  |
| <b>Витамины:</b>                       |    |      |             |             |             |             |        |        |
| Витамин С                              | мг | 100  | 1,500       | 0,300       | 0,500       | 1,000       | 0,700  | 0,300  |
| Тиамин (В <sub>1</sub> )               | мг | 2,0  | 0,040       | 0,030       | 0,040       | 0,060       | 0,030  | 0,040  |
| Рибофлавин (В <sub>2</sub> )           | мг | 2,5  | 0,150       | 0,110       | 0,250       | 0,380       | 0,380  | 0,150  |
| Ниацин (РР)                            | мг | 25   | 0,100       | 0,100       | 0,450       | 0,200       | 0,200  | 0,140  |
| Пантотеновая кислота (В <sub>5</sub> ) | мг | 10   | 0,380       | 0,300       | 0,210       | 0,800       | 0,300  | 0,420  |
| Пиридоксин (В <sub>6</sub> )           | мг | 3    | 0,050       | 0,060       | 0,190       | 0,130       | 0,110  | 0,020  |
| Кобаламин (В <sub>12</sub> )           | мг | 0,01 | 0,0004      | 0,0004      | 0,0013      | 0,0005      | 0,0014 | 0,0004 |
| Биотин (Н)                             | мг | 0,3  | 0,0032      | 0,0040      | 0,0076      | 0,0032      | 0,0023 | 0,0037 |
| Фолатин (В <sub>9</sub> )              | мг | 0,5  | 0,0050      | 0,0075      | 0,040       | 0,003       | 0,013  | -      |
| Витамин D                              | мг | 0,01 | 0,0000<br>5 | 0,0001<br>2 | 0,0000<br>2 | 0,0000<br>5 | 0,0004 | -      |
| Витамин А                              | мг | 2,5  | 0,050       | 0,210       | 0,010       | 0,042       | 0,21   | 0,010  |
| Витамин Е                              | мг | 15   | 0,090       | 0,520       | -           | 0,230       | 0,310  | 0,070  |

### Эфирные масла растений и их состав

| Эфирные масло<br>(название растения) и<br>{чистые эфиры}                                   | Выход на<br>сырье, % | Плавление –<br>отношение объем<br>этанола<br>(концентрация<br>спирта) и<br>эфирных масел | Основные<br>компоненты                                                                                                                                      |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1                                                                                          | 2                    | 3                                                                                        | 4                                                                                                                                                           |
| Аир ( <i>Acorus calamus</i> )                                                              | 1-3,5                | 1:30 (90%)                                                                               | Азарин, камфора,<br>пиненлар, камфен,<br>сесквитерпенлар                                                                                                    |
| Апильсин ( <i>Citrus<br/>sinensis</i> ){БФ, Orange<br>Oil}                                 | 0,5-0,7              | 1:7 (90%)                                                                                | Лимонен (90%),<br>деканаль (0,9-3,2%)                                                                                                                       |
| Кора бергамота<br>( <i>Citrus bergamia</i> )                                               | 0,5 гача             | 1:1 (90%)                                                                                | Линалилацетат (32-<br>44%), лимонен (18-<br>30%), линалоол (12-<br>15%), фурукумарин,<br>бергаптен (5-6%)                                                   |
| Лимон ( <i>Citrus lemon</i> )<br>{ДФ IX}                                                   | 0,6 гача             | 1:10 (90%)                                                                               | Лимонен (90% гача),<br>цитраль (3-5%)                                                                                                                       |
| Лимон {Limonis<br>fetherolebm, PhEur}                                                      |                      |                                                                                          | Цитраль,<br>бергамотин,<br>цитроптек                                                                                                                        |
| Цитронелла<br>( <i>Cymbopogon<br/>winterianus</i> ){Citronella<br>e aetheroleum, PhEur}    | 1,2-2,4              | 1:1 (80%)                                                                                | Гераниол (20-25%),<br>цитронеллаль (30-<br>45%), цитронеллол<br>(9-15%),<br>геранилацетат (3-<br>8%), лимонен (1-5%),<br>цитраль, 2 метил-2-<br>гептин-6-ОН |
| Померанце ( <i>Citrus<br/>aurantium</i> ){Aurantii<br>amari floris<br>aetheroleum, Ph Eur} | -                    | -                                                                                        | Линалоол (18-42%),<br>лимонен (9-18%), β-<br>пинен (7-17%),<br>линалилацетат (3-<br>16%), фурукумарин<br>баргаптен                                          |
| Роза { <i>Rosa<br/>damascena</i> }                                                         | 0,03-0,1             | Барча нисбатларда<br>(90%)                                                               | Цитронеллол (30-<br>35%), гераниол (5%),<br>нерол, фенилэтил<br>спирт (40-50%)                                                                              |

|                                                                                                      |          |                          |                                                                                                                                                 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Герань { <i>Pelargonium roseum</i> }                                                                 | 0.1-0,15 | 1:(2-3) (70%)            | Цитронеллол (38-46%), линалоол (10-12%), гераниол (15-18%), ментон ва изоментон (15-18%)                                                        |
| Кориандр ( <i>Coriandrum sativum</i> ) {ДФ IX}                                                       | 0,9-1,2  | 1:3 (70%)                | Линалоол (65%), линалилацетат, пинен, борнеол, терпинен, мирцен, деканаль                                                                       |
| Лаванда ( <i>Lavandula vera</i> ) {ДФ IX}                                                            | 0,6-1,1  | 1:3 (70%)                | Линалилацетат (30-56%), линалоол (10-20%), цинеол (2,5% гача), 3-октанол (2,5% гача), камфора (1,2% гача)                                       |
| Лаванда ( <i>Lavandula angustifolia</i> )                                                            |          | 90% спирт ва ёғлар билан | Линалилацетат (20-25%), линалоол (10-20%), цинеол (2,5% гача), октанол (2,5% гача), камфора (1,2% гача)                                         |
| Мята ( <i>Menthe piperica</i> ) {ДФ X}                                                               | 2 гача   | 1:4 (70%)                | Ментол (55%), ментон (20-25%), ментилацетат (4-10%), цинеол (6%)                                                                                |
| Мята <i>Menthae piperitae aetheroleum</i> , Ph Eur}                                                  | -        | -                        | Ментол (30-55%), ментон (14-32%), изоментол (1,5-10%), ментилацетат (8-10%), цинеол (3,5-14%)                                                   |
| Дементолизированный мята <i>Mentha arvensis</i> var. <i>Piperascens</i> {БФ, Dementholised mint oil} | -        | 1:4 (70%)                | Бразилия (хитой) мойи: ментолга хисобланганда 35 дан 55% гача (41-58%) эркин спиртлар; метилацетатга хисоблаганда 3 дан 10% гача (3-8%) эфирлар |
| Мята ( <i>Mentha spicata</i> ) {БФ Spirmint oil}                                                     | -        | 1:1 (80%)                | 55,0% камм бўлмаган микдорда                                                                                                                    |

|                                                                                       |          |             |                                                                                                                                                              |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----------|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                       |          |             | карвон                                                                                                                                                       |
| Шалфей ( <i>Salvia sclarea</i> )                                                      | 0,1-0,13 | 1:0,5 (90%) | Линалилацетат (75% гача), линалоол (20% гача), цинеол, боренол, камфора, туйон                                                                               |
| Эвкалипт ( <i>Eucalyptus globulus</i> ) {ДФ Х}                                        | 1,6-3    |             | Цинеол (70-75%), пинокарвеол (20% гача), эвдесмол (5% гача), бутанол, пентеналь, гексаналь (6% гача)                                                         |
| Эвкалипт { <i>Eucalypti aetheroleum</i> Ph Eur}                                       | 16-19    | 1:4 (70%)   | Цинеол (70% кам эмас)                                                                                                                                        |
| Гвоздика ( <i>Eugenia caryophyllus</i> )                                              | -        | 1:1,2       | Эвгенол (85-96%), эвгенилацетат (2-3%), кариофиллен                                                                                                          |
| Гвоздика { <i>Caryophylli floris aetheroleum</i> . Ph Eur}                            | -        | -           | Эвгенол (75-88%), кариофиллен (5-145%), ацетилэвгенол (4-15%)                                                                                                |
| Душица ( <i>Thymus vulgaris</i> ) { <i>Thymi aetheroleum</i> . Ph Eur}                | -        | -           | Тимол (36-55%), п-цимен (15-28%), линалоол (4-6,5%), α-терпинен (5-10%), карвакрол (1-4%)                                                                    |
| Корица ( <i>Cinnamomum verum</i> ) { <i>Cinnamomi zeylanici aetheroleum</i> . Eur Ph} | -        | -           | Эвгенол (70-85%), линалоол (1,5-3,5%), β-кариофиллен (1,5-7%), сафрол – 3% кам эмас, цинеол – 1% кам эмас, кумарин – 1% кам эмас                             |
| Корица { <i>Cinnamomi zeylanici folii aetheroleum</i> . Eur Ph}                       | -        | -           | Транс-долчин альдегид (55-75%), эвгенол – 7,5% кам эмас, эвгенол – 0,5% кам эмас, линалоол (1-6%), β-кариофиллен (1-4%), цинеол – 3% кам эмас, сафрол – 0,5% |

|                                                                                      |        |             |                                                                                                                                          |
|--------------------------------------------------------------------------------------|--------|-------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                      |        |             | кам эмас, линалоол                                                                                                                       |
| Корица ( <i>Cinnamomum cassia</i> ) { <i>Cinnamomi cassiae aetheroleum</i> . Eur Ph} | -      | -           | Транс-долчин альдегид (70-90%), транс-метил-коричный альдегид (3-15%), кумарин (1,5-4%), циннамоилацетат (1-6%), эвгенол – 0,5% кам эмас |
| Пачули ( <i>Pogostemon patchuli</i> )                                                | 0,25-5 | 1:0,5 (90%) | Сесквитерпен спиртлар, эвгенол, бензальдегид, долчин альдегид                                                                            |
| Чайная дерево ( <i>Malaleuca aeterfolia</i> )                                        | -      | 1:2 (85%)   | 1,8% цинеал (4,5-16,5%), терпинен-4-ол (29-45%), α-терпинен (10-28%), п-цимен (0,5-12%)                                                  |

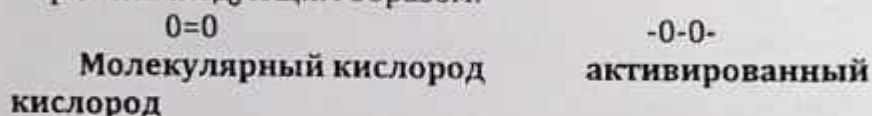
# КРАТКИЕ СВЕДЕНИЯ О СТАНОВЛЕНИИ БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ И ОБ УЧЕНЫХ БИОХИМИКАХ

## БАХ АЛЕКСЕЙ НИКОЛАЕВИЧ

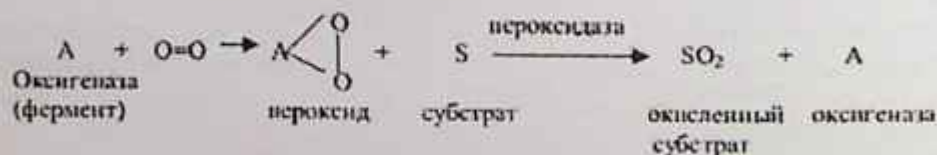


Бах Алексей Николаевич (1857-1946) – создатель перекисной теории биологического окисления. Он исходил из представления, что молекулярный кислород способен выступать как окислитель лишь в том случае, если с помощью энергии, привлеченной со стороны, будут разорваны и освобождены связи, удерживающие атомы в его молекуле. Для этой цели может быть использована

тепловая, электрическая и другие виды энергии. По Баху, непосредственно подвергаться медленному окислению могут только соединения ненасыщенные, обладающие запасом легко используемой энергии. Вступая во взаимодействие с кислородом воздуха, такие соединения способствуют разрыву одной связи между атомами в молекуле кислорода. Химически эта реакция может быть выражена следующим образом:



Активированный кислород, соединяясь с окисляемым веществом, образует перекись по схеме:



Таким образом, активирование кислорода при дыхании осуществляется, согласно Баху, посредством «внедрения» к молекуле окисляемого вещества.

Другой путь окисления органического вещества состоит, по теории Баха, в окислении водорода, предварительно активированного и отнятого от субстрата.

### КОСТЫЧЕВ СЕРГЕЙ ПАВЛОВИЧ



**Костычев Сергей Павлович (1877-1931)** – российский биохимик, физиолог растений и микробиолог, академик АН СССР (1925; академик РАН с 1923). Автор трудов по дыханию растений, физиологии и биохимии микроорганизмов (биологическим основам микробиологической промышленности).

Экспериментально обосновал и развил теорию о генетической связи дыхания и брожения. В основе теории Костычева лежат представления, согласно которым две физиологические функции-

дыхание и брожение- отнюдь не разделены, а непосредственно связаны друг с другом. Начальная фаза превращения сахара- анаэробный распад молекулы дыхательного субстрата- является общей и для дыхания, и для брожения. Через целую цепь последовательных превращений этот распад приводит к образованию промежуточных продуктов, опять-таки общих как для дыхания, так и для брожения. Пути этих двух процессов расходятся позднее, когда распад сахара достигает определенного этапа. Таким образом, устанавливается определенная связь между дыханием и брожением через пировиноградную кислоту (ПВК).

## ЦВЕТ МИХАИЛ СЕМЕНОВИЧ



Цвет Михаил Семенович (1872-1919)-русский физиолог и биохимик растений. Исследования М.С.Цвета были посвящены изучению процесса фотосинтеза, пигментов растительной клетки, в первую очередь хлорофилла. Для выделения пигментов из растительной ткани в неизменном виде он считал более рациональными не химические, а физические методы. Открытый им новый метод выделения пигментов из

клетки был назван хроматографическим. Этот основывается на адсорбции пигментов нерастворимыми нейтральными порошками. М.С.Цвет нашел, что наиболее удобными для разделения пигментов хлорофилльной вытяжки являются углекислый кальций, тростниковый сахар и инуклин. Растирая свежие листья в петролейном эфире с прибавкой небольшого количества спирта или в бензоле, или в сероуглероде, М.С.Цвет получал вытяжку пигментов. Взбалтыванием вытяжки с дистиллированной водой он удалял спирт, после чего отфильтровывал вытяжку через трубку, заполненную порошкообразным адсорбентом. Адсорбируясь в различной степени, пигменты располагаются в трубке в виде различно окрашенных слоев. В типичной хроматограмме М.С.Цвет наблюдал следующие слои: бесцветный, желтый, желто-зеленый, зелено-синий, три слоя желтых и последний стальной - серый. Адсорбционным методом разделения пигментов М.С.Цвета совершил переворот в изучении химии хлорофилла, позволил быстро двинуться вперед исследованиям фотосинтеза. Адсорбционным методом используются биохимики для выделения и очистки витаминов, гормонов, энзиме.

## **АБДУВАЛИ ИМОМАЛИЕВИЧ ИМОМАЛИЕВ**



**Академик Абдували Имомалиевич Имомалиев (1931-1993)** - известный и крупный ученый в области физиологии и биохимии растений, внес огромный вклад в развитие хлопководства не только Узбекистана, но и всей Средней Азии. Он всю свою жизнь посвятил развитию биологической и сельскохозяйственной науки. Основные научные работы посвящены разработке теоретических и практических основ применения

дефолиантов и десикантов и изучению биологических основ плодообразования и опадения коробочек у хлопчатника. Автор 400 научных работ, 29 книг и брошюр, 5 монографий и автор 5 свидетельств на изобретения.

Выявил новые эффективные дефолианты и десиканты и разработал оптимальные условия их применения. Разработал проблему программирования получения высокого урожая хлопка.

## **БЕКЖОН ОЙБЕКОВИЧ ТОШМУХАМЕДОВ**

**Академик Бекжон Ойбекович Тошмухамедов (1935-2020)** -



является великим ученым в области биохимии и биофизики, он внес огромный вклад в развитии фундаментальных исследований клеточного обмена веществ, и переноса ионов через мембранных. Он читал лекции в ведущих университетах мира. Неоднократно представлял Узбекскую науку за рубежом выступая с докладами в США, Англии, Болгарии, Канаде и в других странах ближнего и дальнего

зарубежья. Подготовил 20 докторов наук и более 40 кандидатов наук. Заслуженный деятель науки Республики Узбекистан.

### **ЁРКИН ХОЛМАТОВИЧ ТУРАКУЛОВ**

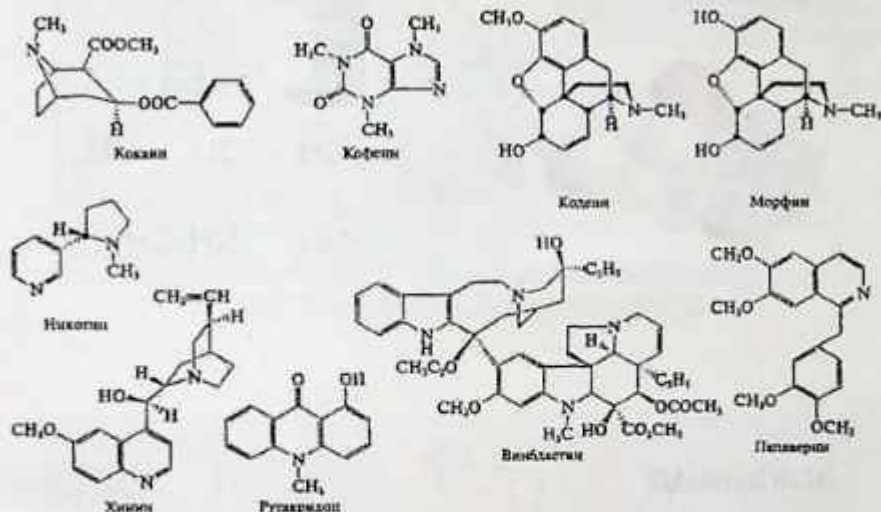


Академик Ёркин Холматович Туракулов (1917-2005) – видный ученый, общественный деятель. Его научные труды посвящены изучению в основном гормонов человека и животных. Он вместе с профессором Исламбековым определили недостаточность йода и разработали метод лечения зоба в Среднеазиатском регионе. В опубликованном учебнике «Биохимия» подробно описаны биохимия гормонов их функции и свойства.

# ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ

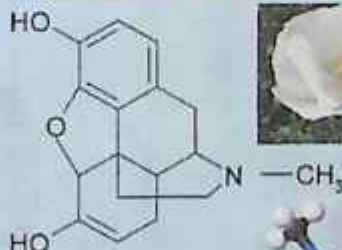
## АЛКАЛОИДЫ

Структуры некоторых истинных алкалоидов



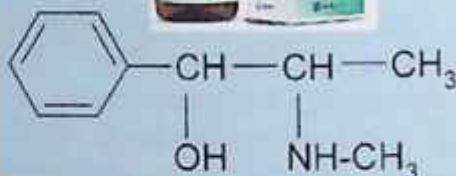
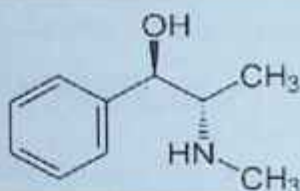
### алкалоид морфин

из сгущённого  
молочного  
сока (опия)  
коробочек  
мака  
снотворного  
*Papaver  
somniferum*



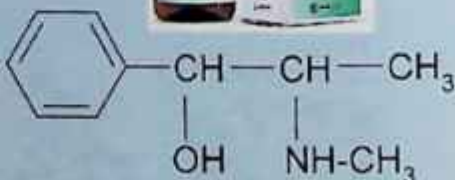
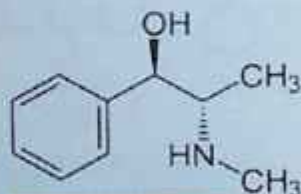
**алкалоид  
эфедрин**

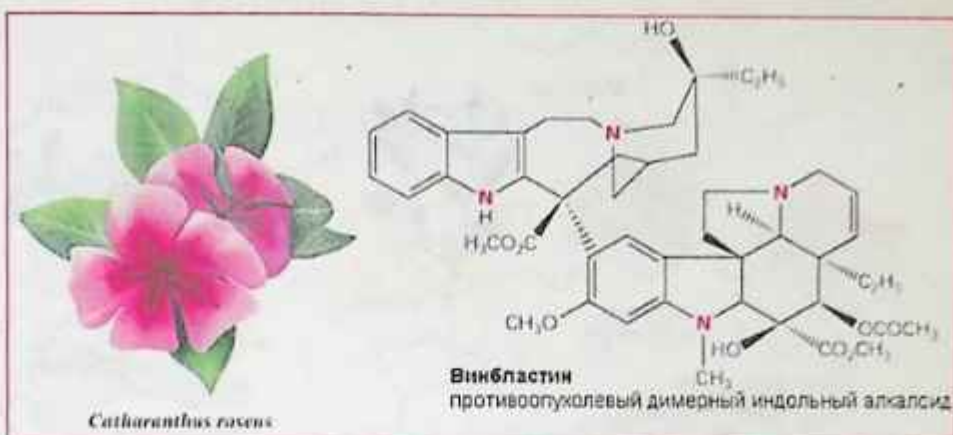
из травы  
эфедры  
хвощевой  
*Ephedra  
equisetina*



**алкалоид  
эфедрин**

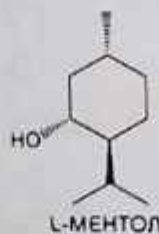
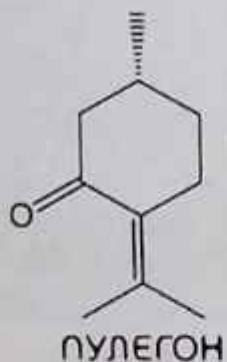
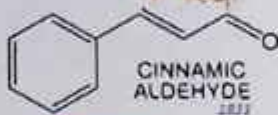
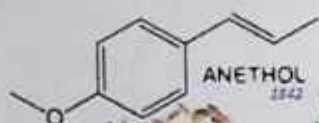
из травы  
эфедры  
хвощевой  
*Ephedra  
equisetina*





## ТЕРПЕНОИДЫ. Эфирные масла

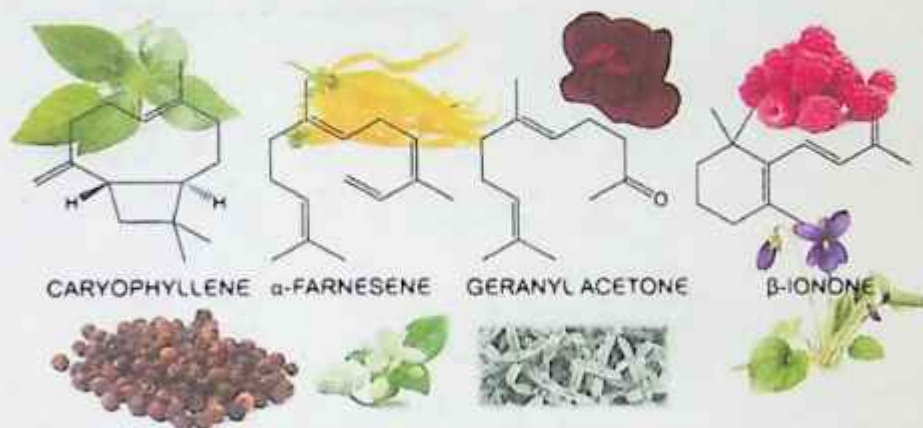




**МЯТА**  
**ПОЛЕВАЯ**  
*Mentha arvensis*

## ТЕРПЕНОИДЫ. Сесквитерпеноидлар

### SESQUITERPENOIDS



## ПОЛИФЕНОЛЫ

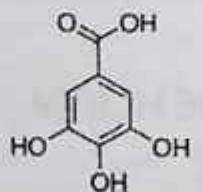
### ФЕНОЛЫ



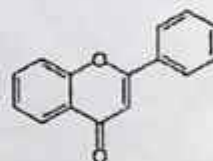


## ПОЛИФЕНОЛЫ. Танины

Структурные  
элементы:



Галловая кислота



Флавоон

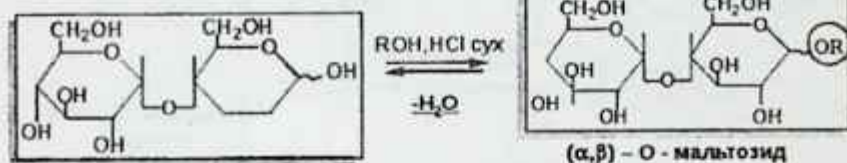
Классы  
танинов:

Гидролизуемые танины

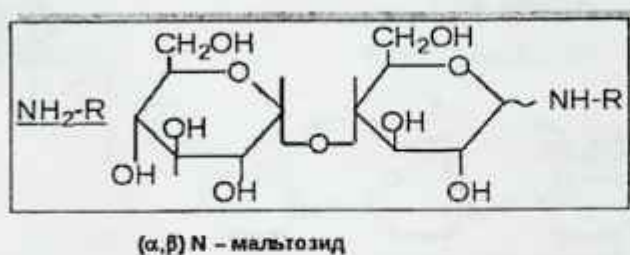
Конденсированные танины

# ГЛИКОЗИДЫ

## а) О- гликозиды

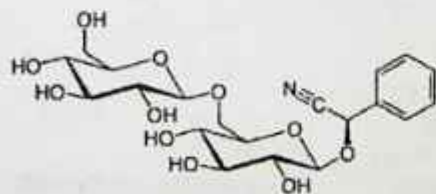
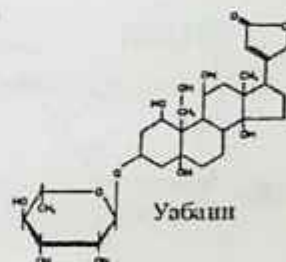
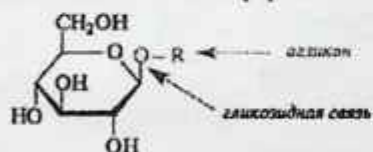


## б) N-гликозиды

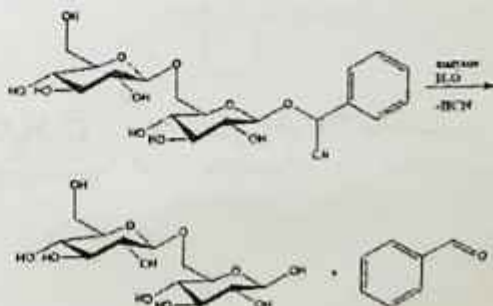


108

# Гликозиды

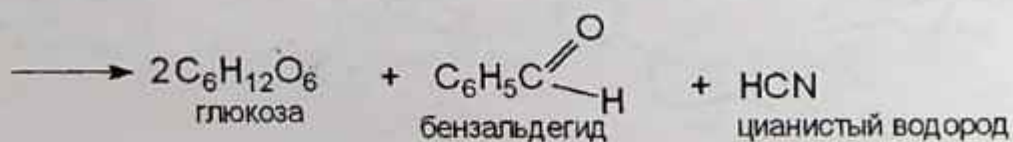
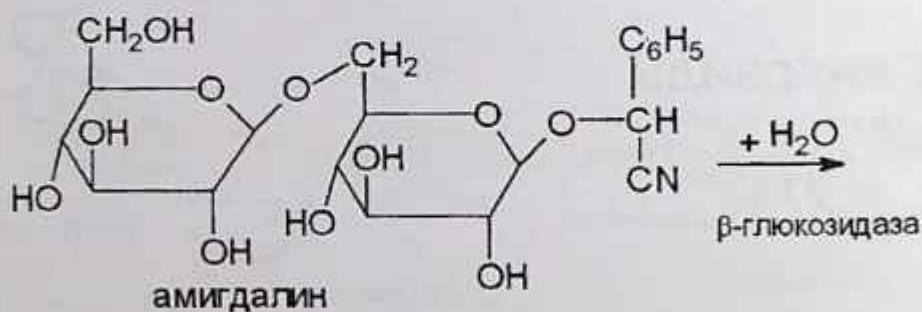
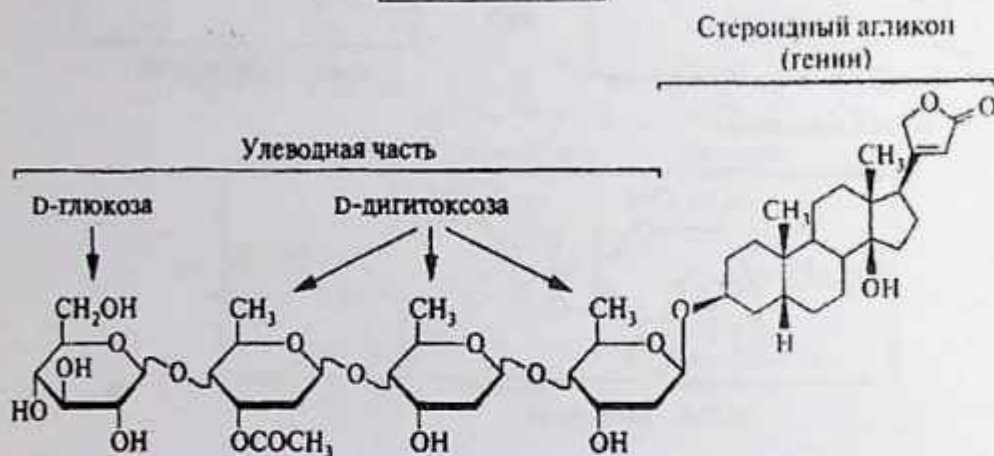


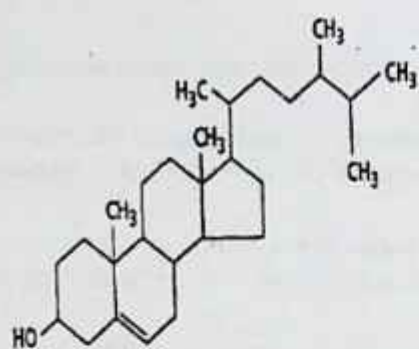
Амигдалин (две глюкозы и  
манделонитрил)



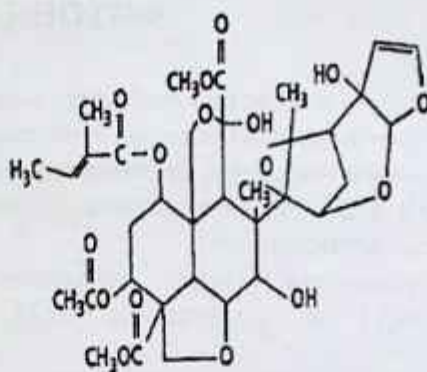
# Сердечные гликозиды

Ланатозид А

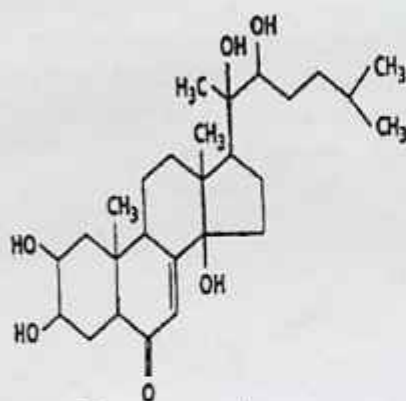




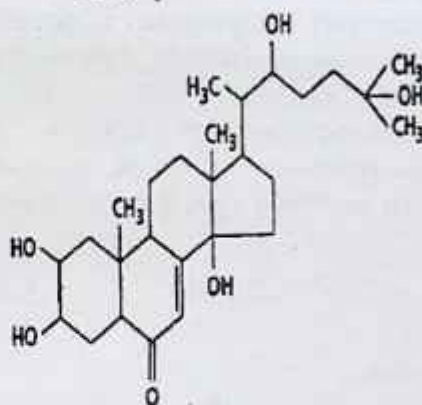
Ситостерол



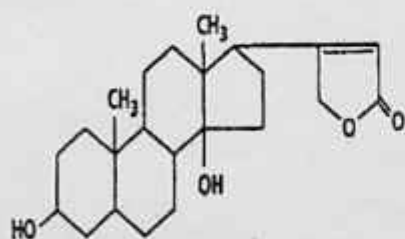
Азадирахтин



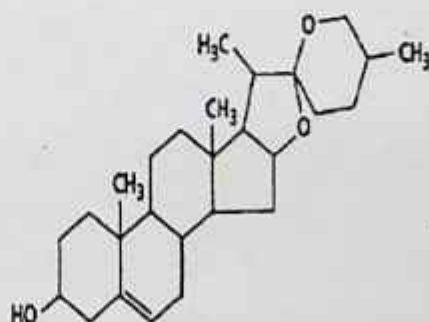
Понастерон А



α-Экдизон



Дигитоксигенин



Ямогенин

## ФИТОНЦИДЫ

Фитонциды – вещества растительного происхождения, обладающие бактерицидным и фунгицидным действием.

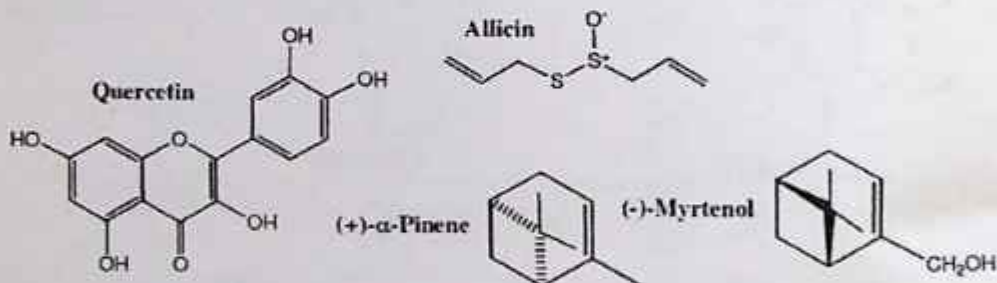
- из чеснока выделен антибиотик аллицин. он подавляет бактерии в концентрации 1:250 000. аллицин образуется из содержащейся в чесноке аминокислоты аллиина.

- из тюльпана (*tulipa gesneriana*) выделены два соединения - тулипозид а(1) и тулипозид в(2), обладающие антибиотическим действием.

- листья желтой акации, дуба, ольхи, смородины и ряда других растений выделяют гексен-2-аль ( $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CHO}$ ), который в малых концентрациях убивает простейших.

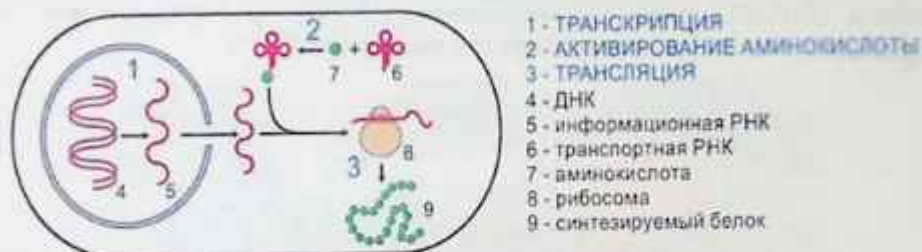
- из таких лишайников, как «исландский мох» (*cetraria islandica*, или *usnea barbata*), выделен, например, антибиотик, получивший название усниновой кислоты, которая угнетает рост туберкулезных бактерий.

- хлорогеновая кислота, по-видимому, играет роль в создании устойчивости картофеля к фитофторе (*phytophthora infestans*).

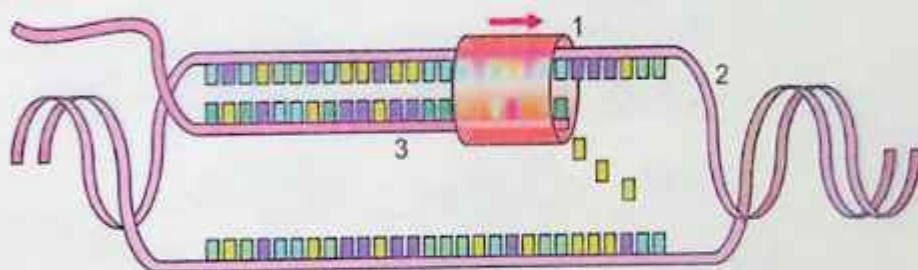


## СТРОЕНИЕ И ОБМЕН НЕКОТОРЫХ МАКРОМОЛЕКУЛ

### БИОСИНТЕЗ БЕЛКА (общая схема)

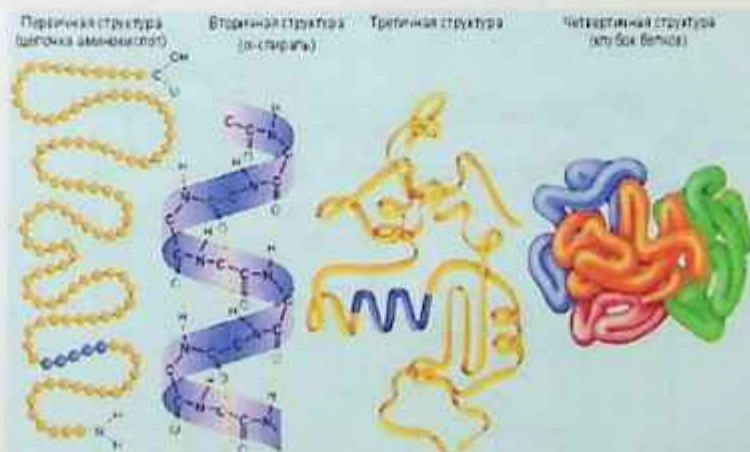


### ТРАНСКРИПЦИЯ



■ Аденин    ■ Гуанин  
■ Тимин    ■ Цитозин  
■ Урацил

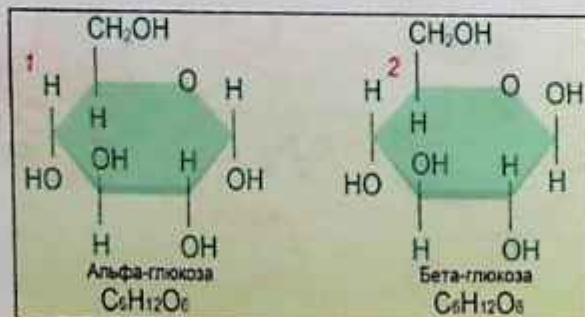
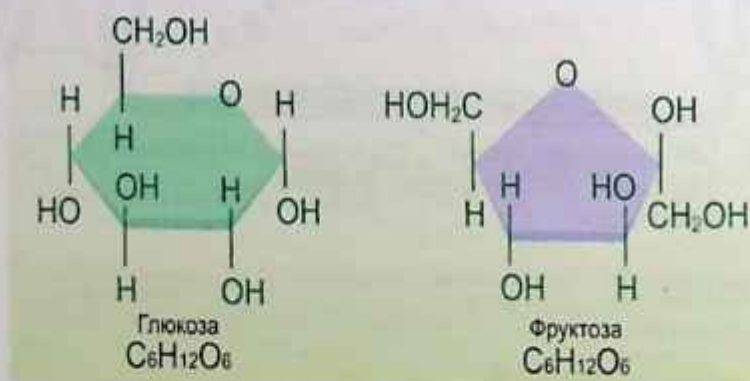
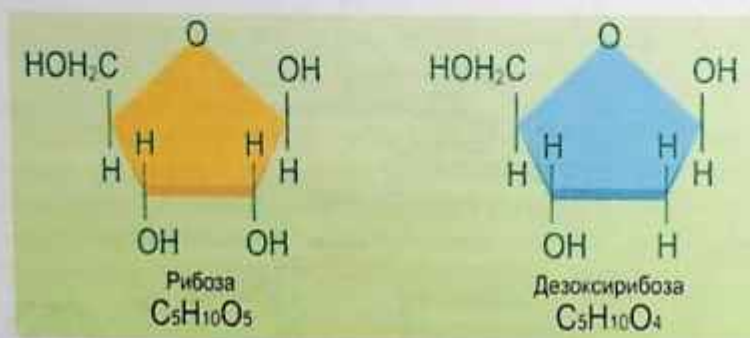
1 - Фермент РНК-полимераза  
 2 - ДНК  
 3 - синтезируемая и-РНК



## ХАРАКТЕРИСТИКА УГЛЕВОДОВ

Свойства моносахаридов: низкая молекулярная масса; сладкий вкус; легко растворяются в воде; кристаллизуются; относятся к редуцирующим (восстанавливающим) сахарам.

Важнейшие моносахариды: Пентозы — рибоза и дезоксирибоза, входящие в состав ДНК, РНК. Дезоксирибоза ( $C_5H_{10}O_4$ ) отличается от рибозы ( $C_5H_{10}O_5$ ) тем, что при втором атоме углерода имеет атом водорода, а не гидроксильную группу как у рибозы.

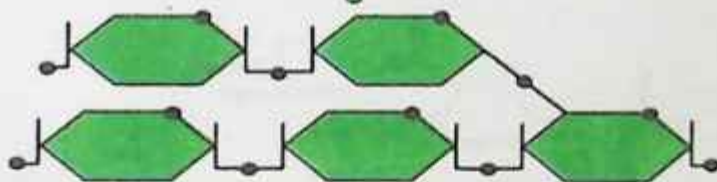
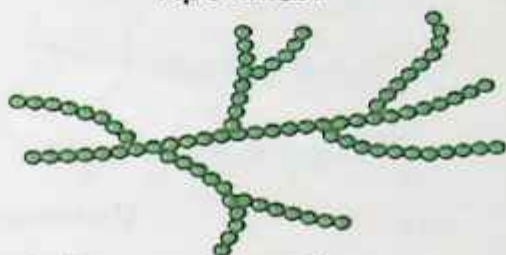




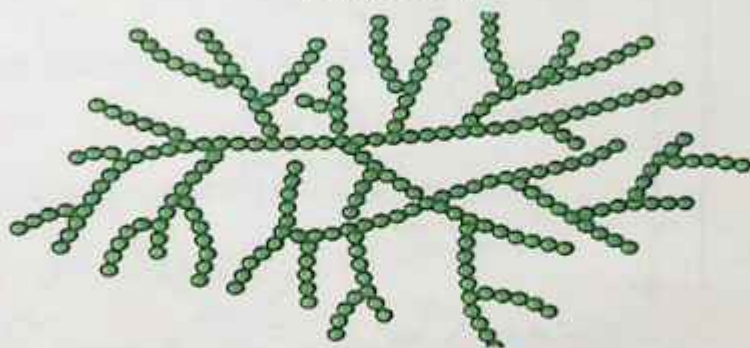
Целлюлоза

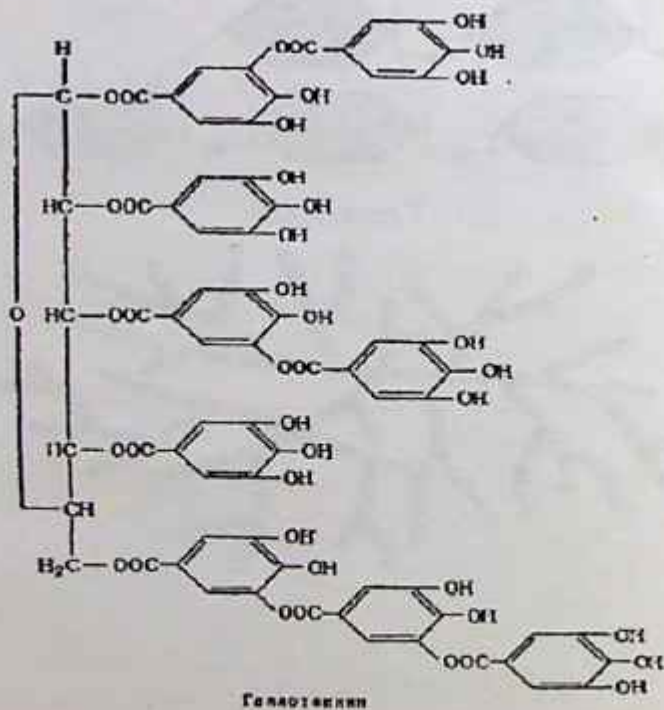


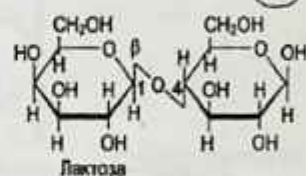
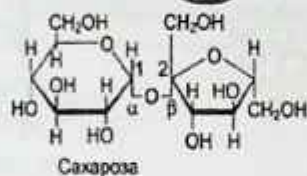
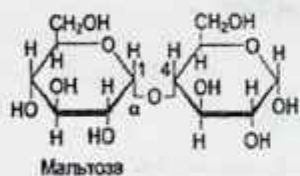
Крахмал



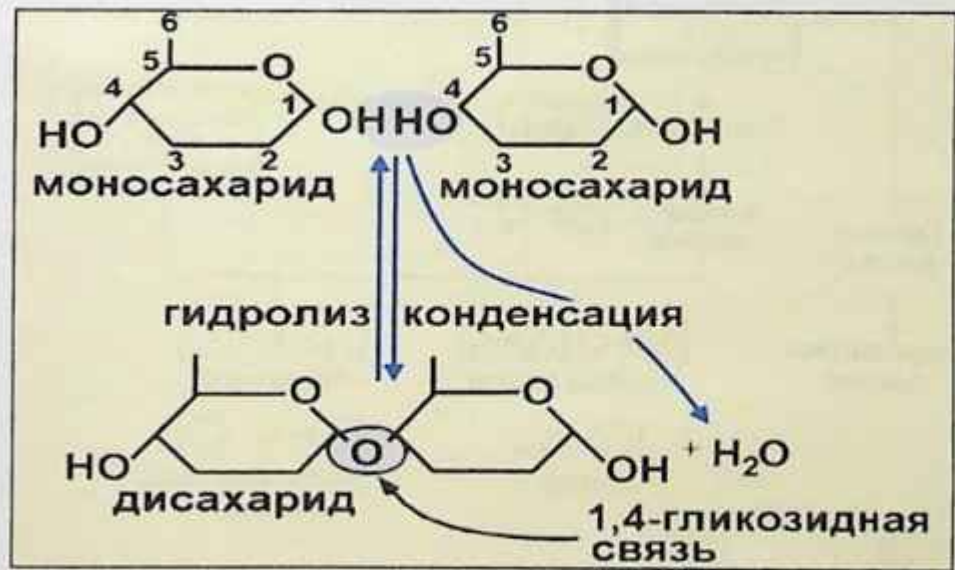
Гликоген

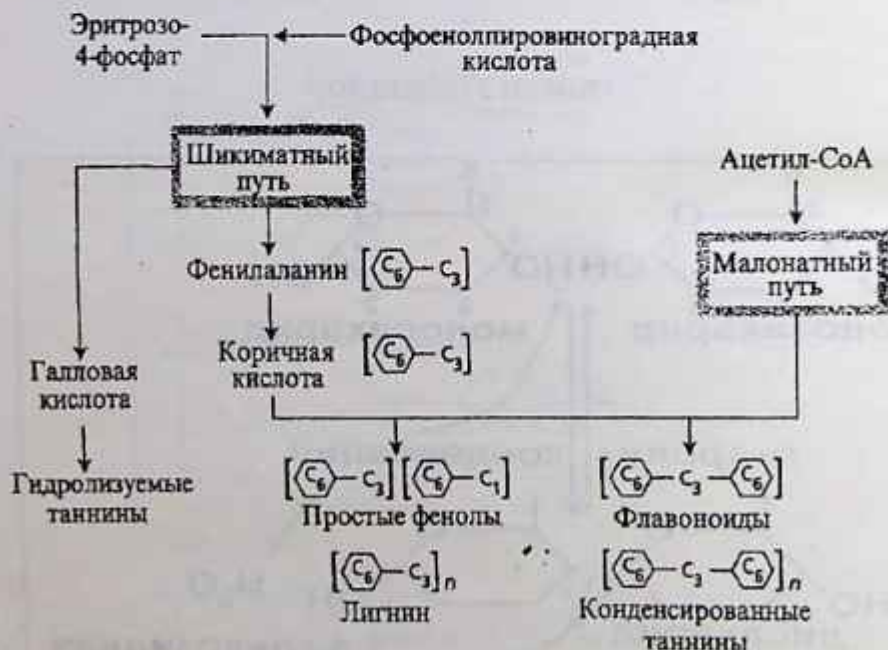
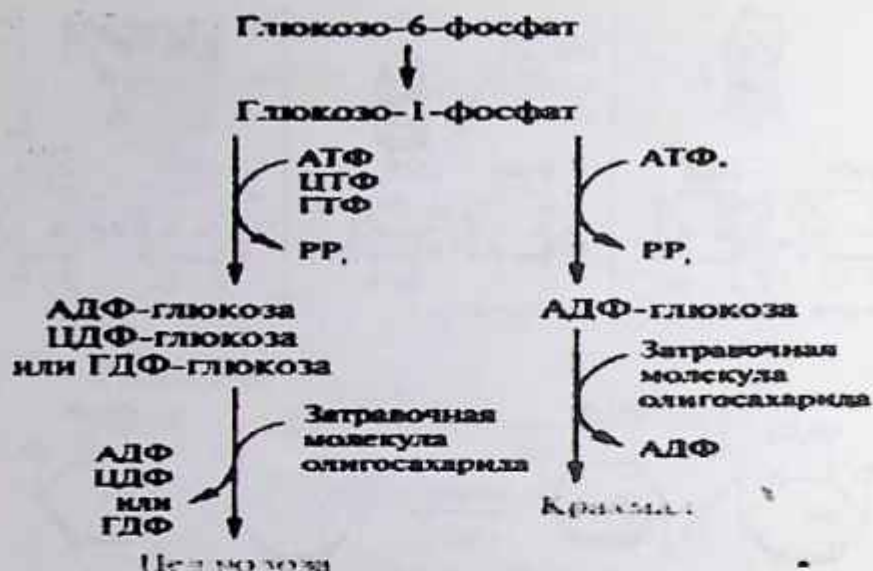


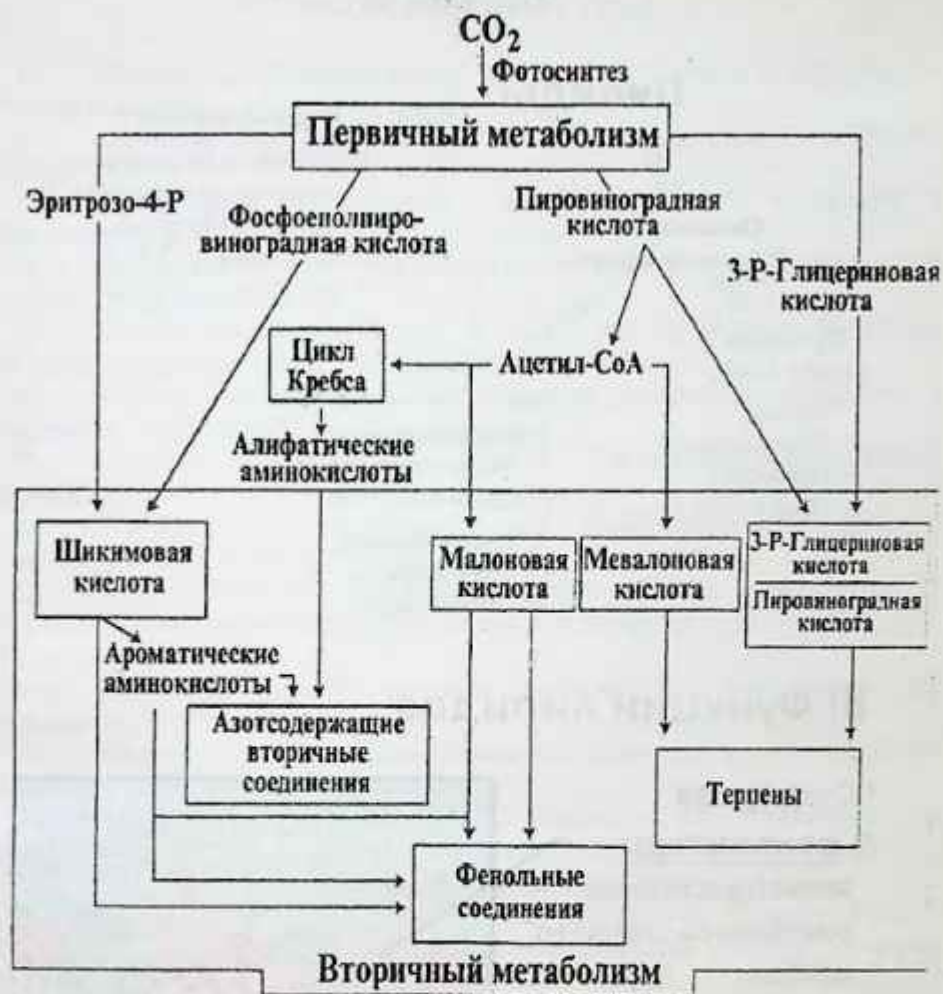




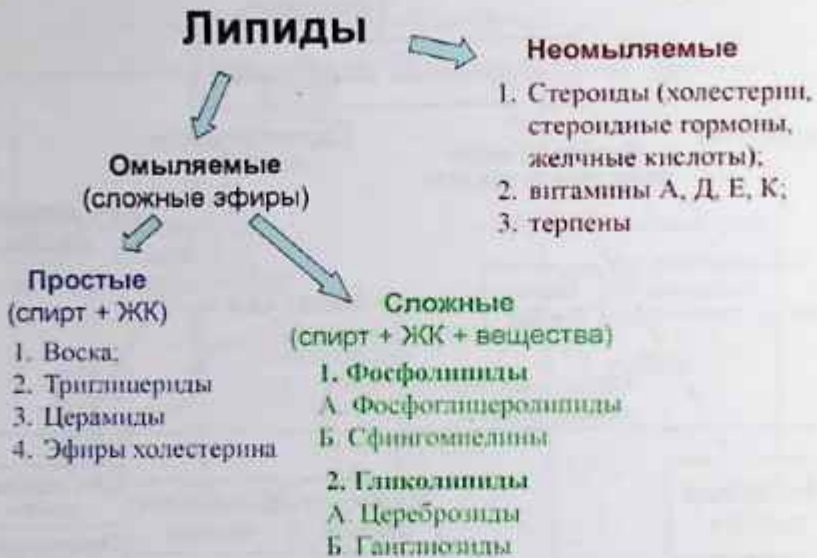
# ОБМЕН УГЛЕВОДОВ







## ЛИПИДЫ



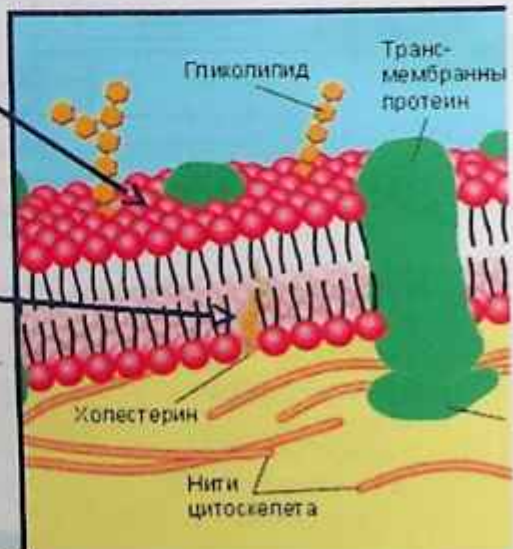
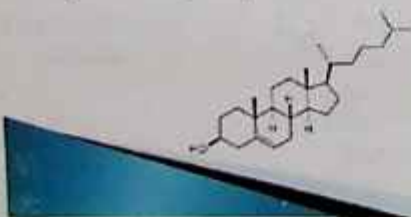
## III. Функции липидов

### 1. Структурная

#### А) фосфолипиды

являются основным компонентом клеточных мембран.

#### Б) Холестерин (холестерол)



## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кнорре Д.Г. Биологическая химия \ Д.Г.Кнорре, С.Д.Мызина. – М.: Высш. шк., 1998. – 479 с.
2. Кретович В.Л. Биохимия растений \ В.Л. Кретович. – М.: Высш. шк., 1986. – 503 с.
3. Метлицкий Л.В. Основы биохимии плодов и овощей \ Л.В.Метлицкий. – М.: Экономика, 1976. – 349 с.
4. Плешков Б.П. Биохимия сельскохозяйственных растений \ Б.П. Плешков. – М.: Агропромиздат, 1987. – 494 с.
5. Рогов И.А. Химия пищи. В 2 кн. Кн. 1. Белки \ И.А.Рогов, Л.В.Антипова, Н.И.дунченко. – М.: Колос, 2000. – 384 с.
6. Рогожин В.В. Биохимия молока и молочных продуктов \ В.В.Рогожин. – СПб.: ГИОРД, 2006. – 320 с.
7. Рогожин В.В. Биохимия растений \ В.В.Рогожин. – СПб.: ГИОРД, 2012. – 428 с.
8. Рогожин В.В. Практикум по биологической химии \ В.В.Рогожин. – СПб.: Лань, 2006. – 256 с.
9. Солдатенков А.Т. Основы органической химии лекарственных веществ \ А.Т. Солдатенков, Н.М. Колядина, И.В.Шендрик. – М.: Химия, 2001. – 192 с.
- ✓ 10. Якушкина Н.И. Физиология растений \ Н.И. Якушкина. – М.: Просвещение, 1993. – 335 с.
11. Белозерский А.Н., Проскуряков Н.И. Практическое руководство по биохимии растений. – М., 1951.
12. Вальтер О.А., Пиневиц Л.М., Варасова Н.Н. Практикум по физиологии растений с основами биохимии. М.-Л., 1965.
- ✓ 13. Биохимия. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 766 с.
- ✓ 14. Зикиреев А. Биохимиядан амалий мағулотлар. – Тошкент 1985.
15. Алимова Р.А. Ўсимликлар биохимиясидан амалий тажриба машғулотларига методик қўлланма. – Тошкент - 1991й. 2005
16. Алимова Р.А., Сагдиев М.Т. Ўсимликлар физиологияси ва биокимёси. – Тошкент, 2015.

### Сайты интернета:

1. [www.ziyonet.uz](http://www.ziyonet.uz)
2. [www.uforum.uz](http://www.uforum.uz)
3. [www.fizrast.ucoz.ru](http://www.fizrast.ucoz.ru)
4. [www.twirpx.com](http://www.twirpx.com)
5. [www.biokhimiya.ru](http://www.biokhimiya.ru)
6. [www.biohimiya.narod.ru](http://www.biohimiya.narod.ru)

## СОДЕРЖАНИЕ

|                                                                              |          |
|------------------------------------------------------------------------------|----------|
| <b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>                                                         | <b>5</b> |
| <b>Раздел I. Белки</b>                                                       |          |
| Занятие 1. Цветные реакции на белки.....                                     | 8        |
| Занятие 4. Реакция Адамкевича на триптофан.....                              | 13       |
| Занятие 3. Реакция Фоля на серосодержащие<br>аминокислоты.....               | 14       |
| Занятие 4. Обратимые реакции осаждения белков.....                           | 15       |
| Занятие 5. Необратимые реакции осаждения белков.....                         | 18       |
| <b>Раздел II. Ферменты</b>                                                   |          |
| Занятие 6. Влияние температуры на активность<br>ферментов.....               | 27       |
| Занятие 7. Определение специфичности ферментов.....                          | 28       |
| Занятие 8. Влияние pH среды на активность ферментов.....                     | 30       |
| Занятие 9. Влияние активаторов и ингибиторов на<br>активность ферментов..... | 31       |
| <b>Раздел III. Сложные белки</b>                                             |          |
| Занятие 10. Гидролиз нуклеопротеинов дрожжей.....                            | 36       |
| <b>Раздел: IV. Углеводы</b>                                                  |          |
| Занятие 11. Качественные реакции на крахмал.....                             | 41       |
| Занятие 12. Открытие сахарозы и глюкозы.....                                 | 42       |

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| Занятие 13. Реакции на восстанавливающие свойства сахаров..... | 43 |
|----------------------------------------------------------------|----|

|                                                                   |    |
|-------------------------------------------------------------------|----|
| Занятие 14. Количественное определение клетчатки в растениях..... | 44 |
|-------------------------------------------------------------------|----|

### Раздел V. Липиды

|                                                       |    |
|-------------------------------------------------------|----|
| Занятие 15. Определение йодного числа различных масел | 47 |
|-------------------------------------------------------|----|

|                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------|----|
| Занятие 16. Определение кислотного числа различных масел..... | 48 |
|---------------------------------------------------------------|----|

|                                                   |    |
|---------------------------------------------------|----|
| Занятие 17. Определение числа омыления масел..... | 49 |
|---------------------------------------------------|----|

|                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------|----|
| Занятие 18. Определение изменения кислотного числа при хранении масел..... | 50 |
|----------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|
| Занятие 19. Определение глицерина в составе масел<br>Реакция акролеина..... | 54 |
|-----------------------------------------------------------------------------|----|

### Раздел VI. Витамины

|                                                            |    |
|------------------------------------------------------------|----|
| Занятие 20. Открытие аскорбиновой кислоты в шиповнике..... | 56 |
|------------------------------------------------------------|----|

|                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------|----|
| Занятие 21. Открытие рибофлавина (витамин B <sub>2</sub> )..... | 57 |
|-----------------------------------------------------------------|----|

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| Занятие 22. Качественные реакции на тиамин (витамин B <sub>1</sub> )..... | 58 |
|---------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| Занятие 23. Количественное определение витамина C в соках и напитках..... | 60 |
|---------------------------------------------------------------------------|----|

|                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------|----|
| Занятие 24. Количественное определение рутина (витамин P)..... | 63 |
|----------------------------------------------------------------|----|

|                                                  |    |
|--------------------------------------------------|----|
| Занятие 25. Открытие токоферола (витамин Е)..... | 65 |
|--------------------------------------------------|----|

## Раздел VII. Вторичные вещества

|                                                                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Занятие 26. Определение массовой доли влаги<br>и сухого вещества в растительном материале<br>методом высушивания..... | 69 |
| Занятие 27. Определение алкалоидов в растениях.....                                                                   | 71 |
| Занятие 28. Определение гликозидов в растениях.....                                                                   | 72 |
| Занятие 29. Определение каротина в растениях.....                                                                     | 79 |
| Занятие 30. Определение общей кислотности<br>растительных материалов.....                                             | 75 |
| Занятие 31. Действие кислотной среды на растворимость<br>растительных и животных белков.....                          | 77 |

## Раздел VIII. Частная биохимия

|                                                                                                                     |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Занятие 32. Количественное определение<br>йодометрическим методом глюкозу и сахарозу<br>в корнеплодах и плодах..... | 79  |
| Занятие 33. Определение количество нитратов<br>ионометрическим методом.....                                         | 85  |
| Занятие 34. Определение кислотности плодов и<br>бахчевых культур.....                                               | 87  |
| Занятие 35. Определение термоустойчивости молока.....                                                               | 91  |
| ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Словарь терминов.....                                                                                 | 95  |
| ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Приготовление растворов.....                                                                          | 102 |

|                                                                                                         |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 3. Химический состав некоторых</b><br>сельскохозяйственных продуктов.....                 | 120 |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 4. Краткие сведения о становлении</b><br>биохимии растений и об ученых<br>Биохимиках..... | 128 |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 5. Вторичные метаболиты .....</b>                                                         | 133 |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ 6. Строение и обмен некоторых</b><br>макромолекул.....                                    | 143 |
| <b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....</b>                                                                           | 151 |

ISBN 978-9943-602-62-5



9 789943 602625