



Федеральное агентство по рыболовству
БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»
Калининградский морской рыбопромышленный колледж

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель начальника колледжа
по учебно-методической работе
А. И. Колесниченко

ОП.01 БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Методическое пособие для выполнения практических занятий по специальности

35.02.10 Обработка водных биоресурсов

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ

РАЗРАБОТЧИК	Пляскина Н.М.
ЗАВЕДУЮЩИЙ ОТДЕЛЕНИЕМ	Судьбина Н.А.
ГОД РАЗРАБОТКИ	2023
ГОД ОБНОВЛЕНИЯ	2025

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.2/32

Содержание

Введение	3
Перечень лабораторных работ	5
РАЗДЕЛ 1 ЭЛЕМЕНТАРНЫЙ И МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ВОДНЫХ БИОРЕСУРСОВ.....	6
1.1 Элементарный и молекулярный химический состав водных биоресурсов, вода и минеральные вещества	6
Практическое занятие № 1 Качественный анализ минеральных веществ мышечной ткани рыбы.....	6
Практическое занятие № 2 Очистка белков методом диализа. Высаливание белков нейтральными солями. Цветные реакции белков.....	9
Практическое занятие № 5 Исследование восстанавливающих свойств углеводов ..	19
1.5 Витамины и гормоны	22
Практическое занятие № 6 Количественное определение витамина С	22
Практическое занятие № 7 Свойства ферментов, ферментативный гидролиз крахмала. Действие активаторов и ингибиторов. Специфичность действия ферментов амилазы и сахаразы	26
Список использованных источников.....	31

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.3/32

Введение

Рабочей программой дисциплины «Биохимия сырья водного происхождения» для специальности 35.02.10 «Обработка водных биоресурсов» предусмотрено проведение семи практических занятий.

Целью проведения практических занятий является закрепление теоретических знаний, отработка приемов и приобретение необходимых навыков лабораторных исследований. Лабораторный практикум направлен на стимулирование познавательного интереса обучающихся и ориентирован на будущую профессиональную деятельность.

Перед проведением практических занятий обучающиеся обязаны проработать соответствующий материал, уяснить цель занятия, ознакомиться с содержанием и последовательностью его проведения, а преподаватель – проверить их знания и готовность к выполнению работы, провести инструктаж по технике безопасности.

Практические занятия выполняются в оборудованной лаборатории химии. Для выполнения практических занятий учебная группа разбивается на две подгруппы (по 12–15 человек). Работа выполняется обучающимися индивидуально и самостоятельно. Некоторые опыты могут быть вынесены на демонстрационный эксперимент. Перед выполнением первой практического занятия проводится вводный инструктаж по технике безопасности для обучающихся об общих правилах работы и поведения в лаборатории по специальной инструкции. Отметка о проведении вводного инструктажа по технике безопасности делается в специальном журнале под роспись учащихся. При подготовке к лабораторной работе преподаватель и лаборант проверяют исправность необходимого оборудования и комплектование рабочего места обучающегося.

После выполнения опыта обучающийся должен записать результат испытания с приведением необходимых таблиц, уравнений реакций и расчетных формул. В конце отчета по лабораторной работе обучающийся должен сделать заключение (вывод), сопоставив опытные данные с теоретическими выкладками, со справочными данными.

Записи делаются лаконично и аккуратно в специальной тетради, таблицы и графики – карандашом.

В процессе выполнения практических занятий необходимо развивать познавательный интерес, самостоятельность обучающегося, обращать особое

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.4/32

внимание на интегративный принцип в обучении, прививать обучающимся умение тщательно выполнять работу, бережно относиться к лабораторной посуде и приборам, экономно расходовать реактивы, строго соблюдать меры безопасности при работе в лаборатории, рационально использовать рабочее время.

Контроль и оценка знаний обучающихся должны проводиться систематически после изучения каждой темы дисциплины. Это должно осуществляться путем фронтального и индивидуального опроса, тестирования, защитой контрольной задачи по результатам собеседования во время лабораторных работ. При оценке лабораторной работы учитываются техника ее выполнения, качество оформления лабораторного журнала, точность результатов анализа.

В последние годы в системе среднего профессионального образования широко стал использоваться тестовый контроль. Его популярность обусловлена многими причинами как содержательного, так и технологического характера. Сюда можно отнести выделение в содержании учебного предмета инвариантной части усвоения, которая обязательна для обучающихся, и внесения в учебные программы вариативного компонента, позволяющего развивать способности обучающихся, их познавательный и профессиональный интерес. Тестовый контроль может быстрее, чем традиционный, проверить знания обучающихся, прост для оценивания в современной системе обработки информации и, как правило, является обязательной составной частью новых педагогических технологий.

После каждого практического занятия работы проводится зачет. На зачете обучающийся должен: знать теорию по данной теме; пояснить, как проводится лабораторный эксперимент; уметь проанализировать полученные результаты (в соответствии с основными требованиями к знаниям и умениям по данной теме рабочей программы).

В результате освоения материала по практическим работам у обучающихся формируются следующие компетенции: ОК 01-ОК 02, ОК 09, ПК 1.4, ПК 2.4, ПК 3.4.

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.5/32

Перечень практических занятий

№ п/п	Наименование практического занятия	Количество часов
1	Практическое занятие № 1 Качественный анализ минеральных веществ мышечной ткани рыбы	2
2	Практическое занятие № 2 Очистка белков методом диализа. Высаливание белков нейтральными солями. Цветные реакции	2
3	Практическое занятие № 3 Определение кислотного числа жиров	2
4	Практическое занятие № 4 Определение йодного числа масел	2
5	Практическое занятие № 5 Исследование восстанавливающих свойств углеводов	2
6	Практическое занятие № 6 Количественное определение витамина С	2
7	Практическое занятие № 7 Свойства ферментов, ферментативный гидролиз крахмала. Действие активаторов и ингибиторов. Специфичность действия ферментов амилазы и сахаразы	2
Всего		14

РАЗДЕЛ 1 ЭЛЕМЕНТАРНЫЙ И МОЛЕКУЛЯРНЫЙ ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ ВОДНЫХ БИОРЕСУРСОВ

1.1 Элементарный и молекулярный химический состав водных биоресурсов, вода и минеральные вещества

Практическое занятие № 1 Качественный анализ минеральных веществ мышечной ткани рыбы

Цель работы:

Освоить технику извлечения и открытия отдельных ионов и экстрактивных веществ из мышечной ткани (ОК 01-ОК 02, ОК 09, ПК 1.4, ПК 2.4, ПК 3.4).

Реактивы и материалы:

Мышцы животного происхождения; трихлоруксусная кислота 10 % (или уксусная кислота); молибденовая жидкость; щавелевокислый аммоний; дистиллированная вода; химически чистый песок; пикриновая кислота насыщенный раствор; серная кислота 5 % раствор; сернокислый натрий 10 % раствор; реактив Уффельмана; азотнокислое серебро; FeCl_2 ; кобальтинитрит натрия $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$ сухой; $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Оборудование:

Ступка фарфоровая; стакан химический; скальпель; пробирки; электроплитка; колбы; спиртовка; бумажные фильтры; лакмусовая бумага; водяная баня.

Используемые источники: [1], [2].

Теоретическая часть:

Мышцы содержат 72-80 % воды и 20-28 % сухого остатка, главной составной частью последнего является белок, составляющий 16-21 % сухого остатка от массы мышцы. Прочие вещества небелковой природы, переходящие в раствор (экстракт) после осаждения мышечных белков носят название э к с т р а к т и в н ы х веществ. К ним относятся азотсодержащие вещества – АТФ, креатин фосфат, креатин, САК (свободные аминокислоты) и другие вещества.

К безазотистым веществам относятся – гликоген, глюкоза, пировиноградная, молочная кислоты и другие вещества.

Наконец, мышцы содержат сравнительно большое количество минеральных ионов. В наибольшем количестве содержатся ионы K^+ , $(\text{PO}_4)^{3-}$, несколько меньше Ca^{2+} , Cl^- , Na^+ , еще меньше Fe^{3+} и другие.

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.7/32

Все эти вещества могут быть выделены из мышц, обнаружены с помощью специфических качественных реакций и определены количественно.

Содержание и порядок выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью.
2. Выполнить лабораторные исследования.

Опыт 1. Открытие ионов

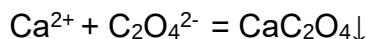
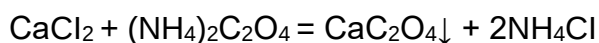
10 граммов мышц животного происхождения растирают в фарфоровой ступке с химически чистым песком, переносят в стакан, заливают 30 мл воды, настаивают 15 минут, время от времени, помешивая стеклянной палочкой, затем жидкость фильтруют в чистую колбочку, а остаток ткани снова заливают 30 мл воды, настаивают и фильтруют.

К приготовленному водному экстракту мышц добавляют трихлоруксусную кислоту (или уксусную) из расчета 10 капель 10 % раствора на 30 мл и кипятят. Белки выпадают в осадок, жидкость оттитровывают через бумажный фильтр в колбу и открывают в фильтрате минеральные ионы. Открытие минеральных ионов основано на образовании ими с соответствующими реактивами нерастворимых, плоходиссоциирующих, а нередко и окрашенных соединений.

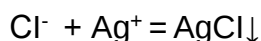
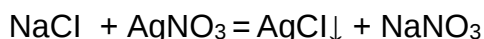
1. Фильтрат разливают по 1 мл в ряд пробирок для открытия ионов:

в 1 – для открытия ионов PO_4^{3-} добавляют молибденовую жидкость (смесь молибденового аммония и азотной кислоты) и кипятят на спиртовке. В случае выпадения осадка желтого цвета, делают вывод о присутствии ионов PO_4^{3-} .

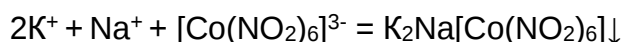
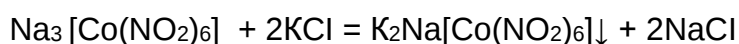
Во 2 – для открытия ионов Ca^{2+} прибавляют щавелевокислый аммоний. В случае присутствия Ca^{2+} выпадает осадок белого цвета:



В 3 – для открытия Cl^- прибавляем несколько капель AgNO_3 (азотнокислое серебро). В случае присутствия Cl^- выпадает творожистый осадок белого цвета:

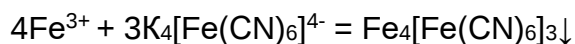
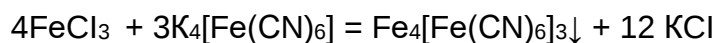


В 4 – для открытия K^+ прибавляем кобальтинитрит натрия $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$. В случае присутствия K^+ выпадает желтый осадок:



МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.8/32

В 5 – для открытия Fe^{3+} прибавляем ферроцианид калия $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, образуется темно-синее окрашивание:



Опыт 2. Открытие некоторых экстрактивных веществ

Открытие креатина и креатинина

Креатин – азотсодержащая кислота. Креатинин – это конечный продукт обмена креатина в организме.

Креатинин дает с пикриновой кислотой в щелочной среде цветную реакцию (оранжево-красная окраска). Для того, чтобы получить цветную реакцию с креатином, его надо перевести в креатинин с помощью нагревания с серной кислотой.

В две пробирки наливают по 1 мл безбелкового фильтрата. В 1-ю добавляют 1 мл 5 % раствора серной кислоты и нагревают 30 минут на кипящей водяной бане. Жидкость нейтрализуют (по лакмусу) 10 % раствором Na_2CO_3 и фильтруют в новую пробирку через бумажный фильтр. Затем в обе пробирки наливают по 3 мл 10 % раствора Na_2CO_3 и по 5-8 капель насыщенного раствора пикриновой кислоты. В обеих пробирках появляется оранжево-красная окраска, более интенсивная в первой пробирке.

Открытие молочной кислоты

Молочная кислота дает с реактивом Уффельмана (100 мл 2 % раствора фенола плюс 10 капель хлористого железа FeCl_2) зелено-желтое окрашивание вследствие образования молочнокислого железа. В пробирку наливают 10 мл реактива Уффельмана и добавляют по каплям водный раствор – безбелковый фильтрат – фиолетовый цвет реактива переходит в зелено-желтый.

Содержание отчета:

Наименование лабораторной работы

Цель работы

Исследуемый образец жидкости

Отчет о выполнении работы

Выводы по работе

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.9/32

Дата выполнения и подписи курсанта и преподавателя

Вопросы для самопроверки:

- 1 Какие из минеральных ионов обнаружены в мышечной ткани?
- 2 Какую роль играют минеральные вещества в обмене?
- 3 Какие вещества называются экстрактивными?
- 4 Какие соединения относятся к азотсодержащим экстрактивным веществам?
- 5 Какие соединения относятся к безазотсодержащим экстрактивным веществам?

1.2 Белковые вещества водных биоресурсов

Практическое занятие № 2 Очистка белков методом диализа. Высаливание белков нейтральными солями. Цветные реакции белков

Цель работы:

С помощью диализа очистить раствор белка от примесей солей. Освоить методику установления изoeлектрической точки белка. Произвести разделение белковых фракций методом высаливания нейтральными солями. Изучить цветные реакции на белки (ОК 01-ОК 02, ОК 09, ПК 1.4, ПК 2.4, ПК 3.4).

Реактивы и материалы:

Раствор белка с NaCl; 0,5 % раствор AgNO₃; 10 % раствор CuSO₄; 10 % раствор HNO₃; 10 % раствор KOH; 0,5 % раствор желатина; 0,1 н раствор уксуснокислого натрия CH₃COONa; 0,1 н раствор уксусной кислоты CH₃COOH; этиловый спирт; дистиллированная вода.

Раствор белка с NaCl (1 белок + 200 мл дист. воды + 100 мл насыщенного раствора хлорида натрия отфильтровать через 3-4 слоя марли); 20 мл насыщенного раствора сульфата аммония; сухой кристаллический сульфат аммония; кристаллический хлорид натрия; 15 % раствор сернокислой меди; кристаллический сернокислый магний; 2 мл 1 % раствора уксусной кислоты; 10 % раствор едкого натра.

Белки, водные растворы; едкий натр 2 н раствор; едкий натр, концентрированный раствор; азотная кислота ($\rho=1,4 \text{ г/см}^3$); 0,2 н раствор сульфата меди; 0,1 н раствор уксуснокислого свинца; азотнотуртунный реактив; белая шерсть.

Оборудование:

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.10/32

Диализатор; штатив с пробирками; пипетка мерная градуированная на 1 мл; пипетка мерная на 5 мл.

Воронка – 2 шт.; фильтры бумажные – 3 шт.; штатив с пробирками – 1 шт.; цилиндр мерный на 10 мл – 1 шт.; марля.

Используемые источники: [1], [2].

Теоретическая часть:

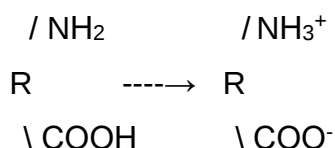
Диализ – это освобождение коллоидов от низкомолекулярных органических и минеральных примесей с помощью диффузии последних через мембраны, практически непроницаемые для коллоидов.

Белки в растворе благодаря значительной величине белковых частиц не диффундируют сквозь полупроницаемую мембрану. Этим свойством белка пользуются для его очистки от низкомолекулярных примесей.

Белки следует рассматривать как вещества, содержащие большое количество кислых и основных групп. Кислотные группировки белка происходят главным образом за счет карбоксильных групп дикарбоновых аминокислот.

Щелочные группы белка обязаны аминным ($-NH_2$), гуанидиновым и иминным ($-NH-$) группам аминокислот. На кислотно-щелочные свойства белка влияет также характер остатков аминокислот в белковой молекуле.

Обладая одновременно кислотными и основными свойствами, белки образуют биполярные ионы:



В щелочных растворах белок играет роль аниона, в кислых растворах, наоборот, белок играет роль катиона. Таким образом, фактором, определяющим поведение белка как аниона или как катиона, является концентрация водородных ионов. Ее повышение (кислая среда) уменьшает кислотную диссоциацию белка и переводит его в катион; понижение (щелочная среда), наоборот, понижает щелочную диссоциацию и переводит белковые частицы в анионы. Однако при определенном значении pH (неодинаковом для различных белков) кислотная диссоциация белковой частицы становится равной щелочной – число

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.11/32

положительных зарядов амфотерного иона белка сравнивается с числом отрицательных зарядов и заряд в целом может стать практически равным нулю.

В этих условиях белок находится в изоэлектрическом состоянии и в электрическом поле не будет обнаруживать передвижение ни к катоду, ни к аноду. При этом рН раствора, при котором белок находится в изоэлектрическом состоянии, называется *изоэлектрической точкой белка*.

Растворы белка в изоэлектрической точке наименее устойчивы.

Для большинства белков изоэлектрическая точка близка к нейтральной среде, но несколько сдвинута в кислую сторону (см. опыты 1-2),

В ы с а л и в а н и е м называется реакция осаждения белков из их растворов нейтральными солями. Реакция высаливания обусловлена дегидратацией коллоидных частиц белка и одновременно нейтрализацией белка. Белок обычно почти не теряет присущих ему физико-химических и биологических свойств при высаливании.

Выпадение белков в осадок – явление противоположное растворению, поэтому легче высаливаются белки, которые труднее растворяются. Поэтому глобулины высаливаются легче, чем альбумины при действии полунасыщенного $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, альбумины выпадают из раствора при более сильном насыщении $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, начиная с 65 % и до полного насыщения.

При разделении белковых фракций методом высаливания с помощью таких солей как NaCl, MgSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ для выделения глобулинов требуется полное насыщение солью, а для выделения альбуминов, помимо насыщения необходимо подкисление растворов уксусной кислотой CH_3COOH . Высаливанием пользуются для разделения белковых фракций, очистки белков, получения их в кристаллическом виде (см. опыты 3-4).

Белки – высокомолекулярные соединения, построенные из остатков α – аминокислот. Аминокислоты содержат две функциональных группы: $[-\text{NH}_2]$ – аминогруппу и $[-\text{COOH}]$ – карбоксильную группу. Аминогруппа обладает основными свойствами, а карбоксильная группа – кислотными свойствами. Это значит, аминокислоты имеют амфотерный характер. Соединяясь друг с другом посредством пептидных связей, аминокислоты образуют белки. Белки имеют ряд специфических свойств (см. опыт 5).

Содержание и порядок выполнения работы:

*Документ управляется программными средствами 1С Колледж
Проверь актуальность версии по оригиналу, хранящемуся 1С Колледж*

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.12/32

- 1 Ознакомиться с теоретической частью.
- 2 Выполнить лабораторные исследования.

Опыт 1. Диализ белка

В мешочек из целлофана наливают до половины раствор белка, мешочек подвешивают на стеклянной палочке и погружают в стакан с дистиллированной водой. Диализ проводят при комнатной температуре. Через 30-40 минут из стакана берут в две пробирки по 2 мл воды. В одной пробирке производят реакцию на ионы хлора, для чего воду подкисляют несколькими каплями 10 % раствора HNO_3 и добавляют 2-3 капли AgNO_3 .

С пробой во второй пробирке производят биуретовую реакцию. Если диализ проводится правильно, биуретовая реакция будет отрицательна.

Диализ можно ускорить, периодически меняя воду в стакане (через каждые 15-20 минут) или же используя проточный диализатор. Диализ проводят до получения отрицательной реакции на ионы хлора.

Опыт 2 Определение изоэлектрической точки желатина

В пять пробирок наливают растворы CH_3COOH и CH_3COONa в количествах, указанных в таблице, после чего в каждую пробирку добавляют по 1 мл раствора желатина и хорошо перемешивают, затем прибавляют по 4 мл этилового спирта $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ и снова перемешивают, через 5-10 минут просматривают все пробирки и оценивают степень мутности смеси. В каждой из пробирок pH наиболее мутной смеси соответствует изоэлектрической точке желатина. Результаты записывают в таблицу.

№	Состав буферной смеси		pH смеси	0,5 % р-р желатина	Этиловый спирт	Степень мутности по 5 бальной системе
	0,1 н CH_3COOH	0,1 н CH_3COONa				
1	0,2	1,8	5,7	1,0	4,0	
2	0,6	1,4	5,1	1,0	4,0	
3	1,0	1,0	4,7	1,0	4,0	
4	1,4	0,6	4,4	1,0	4,0	
5	1,8	0,2	3,8	1,0	4,0	

Примечание. + – помутнение раствора;
 x – явная коагуляция, образование хлопьев;
 интенсивность явления соответствует числу значков.

Опыт 3 Осаждение сернокислым аммонием

*Документ управляется программными средствами 1С Колледж
 Проверь актуальность версии по оригиналу, хранящемуся 1С Колледж*

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.13/32

В пробирку наливают 2-5 мл раствора белка, добавляют равный объем насыщенного раствора сернокислого аммония и перемешивают, образуется осадок глобулина, его отфильтровывают через бумажный фильтр.

К фильтрату, содержащему альбумины, добавляют порошок сернокислого аммония до полного насыщения, последние порции соли уже не растворяются. Выпадает осадок альбуминов, который тоже отфильтровывают.

С фильтратом проводят биуретовую реакцию. Если произошло полное осаждение белков, она должна быть отрицательная.

Опыт 4 Осаждение сернокислым магнием и хлористым натрием

В две пробирки наливают 2-3 мл раствора белка и добавляют до получения насыщенного раствора в одну пробирку хлористого натрия, в другую – сернокислого магния. Через 5-6 минут в пробирках замечается выпадение осадков (глобулинов).

Альбумины в нейтральных растворах солей щелочных и щелочноземельных металлов не осаждаются.

Содержимое пробирок отфильтровывают через бумажные фильтры. В фильтрах – альбумины. Их подкисляют 1 % раствором уксусной кислоты CH_3COOH – появляется осадок альбуминов. Их отфильтровывают, а в фильтратах с помощью биуретовой реакции доказывают отсутствие белка.

Свои наблюдения о высаливании белков нейтральными солями оформить в виде таблицы:

Наименование фракции	Употребляемая соль	Реакция среды	Степень насыщения

Опыт 5 Цветные реакции на белки

1. Биуретовая реакция

В пробирку помещают 2 капли исследуемого раствора белка, 1 каплю раствора щелочи и 1 каплю раствора сульфата меди. Жидкость окрашивается в фиолетовый цвет, который заметен даже в окрашенной водной вытяжке мяса. Биуретовая реакция связано с наличием в белках пептидных группировок - $\text{CO} - \text{NH}$ -, которые обуславливают появление окраски при взаимодействии с солями меди.

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.14/32

2. Ксантопротеиновая реакция

В пробирку вводят 3 капли водного раствора белка и 1 каплю азотной кислоты. Появляется белый осадок. При нагревании реакционной смеси раствор и осадок окрашиваются в ярко-желтый цвет. Смесь охлаждают и добавляют 1-2 капли едкого натра. При этом желтое окрашивание переходит в ярко-оранжевое. Ксантопротеиновая реакция обусловлена наличием в белках ароматических аминокислот. Желтое окрашивание появляется как результат нитрования ароматических ядер. Появление оранжевой окраски определяется образованием более интенсивно окрашенных анионов.

3. Реакция на серу

В пробирку вводят комочек белой шерстяной пряжи, 2 капли раствора едкого натра, каплю раствора уксуснокислого свинца и нагревают содержимое пробирки в пламени горелки. Появляется коричнево-черный осадок сульфида свинца. Эта реакция на содержание серы в белках. Ее дают белки, содержащие цистин, цистеин и метионин.

4. Азотнортутная реакция белков

В пробирку помещают 2 капли белка и 1 каплю раствора азотнортутного реактива, встряхивают содержимое пробирки и нагревают. Появляется характерное красное окрашивание. Эту реакцию дают белки, в состав которых входят аминокислоты, содержащие свободный фенольный гидроксил (тирозин, триптофан).

Содержание отчета:

Наименование лабораторной работы

Цель работы

Отчет о выполнении работы

Выводы по работе.

Дата выполнения и подписи курсанта и преподавателя

Вопросы для самопроверки:

1 Что называется диализом?

2 Где используется диализ?

3 Что называется изоэлектрической точкой белка?

*Документ управляется программными средствами 1С Колледж
Проверь актуальность версии по оригиналу, хранящемуся 1С Колледж*

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.15/32

- 4 Объясните, почему в изоэлектрической точке растворы белка неустойчивы и выпадают в осадок?
- 5 К какому виду осаждения относится высаливание?
- 6 Что происходит с молекулой белка при высаливании?
- 7 Как можно разделить методом высаливания альбумины и глобулины?
- 8 Что нужно сделать, чтобы осадок белка, полученный при высаливании, перевести в раствор?
- 9 Какие соединения называются белками?
- 10 Сколько аминокислот входит в состав белков?
- 11 Для чего проводят цветные реакции белков?
- 12 Какой реакцией обнаруживают пептидные связи?
- 13 Чем объясняется амфотерный характер белков?

1.3 Липиды водных биоресурсов

Практическое занятие № 3. Определение кислотного числа жиров

Цель работы:

Познакомить обучающихся с методикой определения кислотного числа жиров, подчеркнуть важность определения этой константы как одной из характеристик масел (ОК 01-ОК 02, ОК 09, ПК 1.4, ПК 2.4, ПК 3.4).

Реактивы и материалы:

Смесь спирта с эфиром (1:2) гидроксид калия 0,1 н раствор; масло растительное или рыбий жир, фенолфталеин.

Оборудование:

Весы аналитические; колбы конические на 50 мл или на 100 мл, цилиндры мерные на 10 мл или 25 мл; пипетка с одной меткой на 1 мл или 2 мл; бюретка с краном на 25 мл или на 50 мл; пробирка.

Используемые источники: [1], [2].

Теоретическая часть:

Кислотное число характеризует кислотность жира и измеряется количеством миллиграммов гидроксида калия, необходимого для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 грамме жира. Кислотное число наряду с другими физико-химическими показателями характеризует качество жира.

*Документ управляется программными средствами 1С Колледж
Проверь актуальность версии по оригиналу, хранящемуся 1С Колледж*

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.16/32

При хранении жиров и масел наблюдается их гидролиз, который приводит к накоплению свободных жирных кислот, то есть к возрастанию кислотности.

Повышенная кислотность жира указывает на снижение его качества.

Содержание и порядок выполнения работы:

1. Ознакомиться с теоретической частью.
2. Выполнить лабораторные исследования.

Опыт 1. Определение кислотного числа жиров

Коническую колбу емкостью 100 мл взвешивают на технических весах с точностью до 0,01 г, затем берут навеску жира примерно 2 г.

Жир растворяют добавлением 20-40 мл спиртоэфирной смеси (1:2), прибавляют несколько капель фенолфталеина, после полного растворения жира и титруют жидкость 0,1 н раствором КОН до розовой окраски, устойчивой в течение 5-10 секунд. Кислотное число, X , мг КОН/1 г жира, находят по формуле

$$X = 5,61 \cdot a / c,$$

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

c – навеска жира в г;

5,61 – количество мг КОН соответствующее 1 мл 0,1 н раствора.

Содержание отчета:

Наименование лабораторной работы

Цель работы

Отчет о выполнении работы

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи курсанта и преподавателя

Вопросы для самопроверки:

- 1 Что показывает кислотное число?
- 2 Что называется кислотным числом?
- 3 Какой метод титриметрического анализа используется при определении кислотного числа?
- 4 Почему увеличивается кислотное число при порче жира?

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ» БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.17/32
----------------------	--	---------

Практическое занятие № 4. Определение йодного числа масел

Цель работы:

Освоить методику определения йодного числа масел, привить навыки самостоятельной работы в лаборатории (ОК 01-ОК 02, ОК 09, ПК 1.4, ПК 2.4, ПК 3.4).

Реактивы и материалы:

Растительное масло (рыбий жир); эфир серный, солянокислый раствор хлористого йода 0,2 н; раствор йодистого калия 10 %; 0,1 н раствор тиосульфата натрия; хлороформ; крахмал 1 % раствор; вода дистиллированная.

Оборудование:

Весы аналитические; бюретка с краном на 25 мл; колбы конические на 250 мл с пробкой; цилиндр мерный на 50 мл; пипетка, градуированная на 10 мл.

Используемые источники: [1], [2].

Теоретическая часть:

Насыщенность жира зависит от присутствия в его составе ненасыщенных жирных кислот. Ненасыщенные соединения легко присоединяют по два атома галогена по месту каждой двойной связи. Обычно степень ненасыщенности определяют йодным числом. Йодное число является одним из наиболее важных химических показателей для масла и жиров. Йодное число измеряется количеством граммов йода, присоединившегося к 100 г жира. Оно позволяет судить о степени ненасыщенности жира, о склонности его к «высыханию», прогорканию и другим изменениям, происходящим при хранении и переработке пищевых и технических жиров и масел.

По месту разрыва двойных связей, кроме йода, могут присоединяться и другие галогены – хлор, бром, но они не только присоединяются по двойным связям, но и замещают атомы водорода в радикале. Йод же в определенных условиях реагирует преимущественно по месту разрыва двойных связей.

Избыток хлористого йода вступает в реакцию с йодистым калием. Выделившийся йод титруют раствором тиосульфата натрия.

Содержание и порядок выполнения работы:

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.18/32

1. Ознакомиться с теоретической частью.
2. Выполнить лабораторное исследование.

Опыт 1. Определение йодного числа масел

В чистую сухую колбу емкость 200-300 мл отвешивают по разности 0,08-0,12 г жира. Для растворения в колбу приливают 3 мл серного эфира и добавляют из бюретки 25 мл 0,2 н раствора солянокислого хлористого йода.

После перемешивания жидкость оставляют стоять 5-15 минут, затем вносят 10 мл 10 % раствора йодистого калия, 50 мл воды и оттитровывают выделившийся йод 0,1 н раствором тиосульфата натрия до светло-желтой окраски. Затем прибавляют 1 мл 1 % свежеприготовленного раствора крахмала, 2-3 мл хлороформа и продолжают титрование жидкости до полного исчезновения синего окрашивания.

Одновременно с рабочим определением проводят, строго придерживаясь тех же условий, контрольное определение без навески жира.

Йодное число X , г йода/100 г жира, определяют по формуле

$$X = (a - b) \cdot 0,01269 \cdot 100 / c,$$

где a – объем 0,1 н раствора тиосульфата натрия, израсходованный при контрольном титровании, мл;

b – объем 0,1 н раствора тиосульфата натрия, израсходованный при рабочем титровании, мл;

0,01269 – количество йода в граммах, эквивалентное 1 мл 0,1 н раствора тиосульфата натрия;

c – навеска жира, г.

Содержание отчета:

Наименование лабораторной работы

Цель работы

Отчет о выполнении работы

Выводы по работе

Дата выполнения и подписи курсанта и преподавателя

Вопросы для самопроверки:

- 1 Что показывает йодное число?
- 2 Методика определения йодного числа.

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.19/32

3 Какой метод титриметрического анализа используется при определении йодного числа?

4 У какого жира будет больше йодное число, у твердого или жидкого?

1.4 Углеводы водных биоресурсов

Практическое занятие № 5 Исследование восстанавливающих свойств углеводов

Цель работы:

Закрепить знания учащихся по теме, изучить восстанавливающие свойства моносахаридов и дисахаридов (ОК 01-ОК 02, ОК 09, ПК 1.4, ПК 2.4, ПК 3.4).

Реактивы и материалы:

Глюкоза 1 % раствор; мальтоза 1 % раствор; сахароза 1 % раствор; крахмал, 1 % раствор; едкий натр 10 % раствор; сернокислая медь 5 % раствор; фелингова жидкость; фенилгидразин солянокислый; уксуснокислый натрий; глюкоза 0,5 % раствор; фруктоза 1 % раствор; реактив Селиванова (0,05 г резорцина растворяют в 100 мл 20 % соляной кислоты).

Оборудование:

Штатив с пробирками; водяная баня; стакан со льдом и водой; микроскоп; предметное стекло; пипетка.

Используемые источники: [1], [2].

Теоретическая часть:

Все моносахариды, а также более сложные сахара, имеющие свободную карбонильную (альдегидную или кетонную) группу, обладают способностью восстанавливать металлы (серебро, медь, висмут, железо и др.) в щелочной среде. Поскольку восстановление металлов происходит при наличии карбонильной группы (или, что тоже самое, свободного глюкозидного гидроксила) сахара, то, естественно, что реакции восстановления металлов дают только углеводы, имеющие свободную гидроксильную группу (или глюкозидный гидроксил), а именно все моносахариды и большинство дисахаридов (например, мальтоза). Такие дисахариды, как сахароза, где связаны обе карбонильные группы, а также высокомолекулярные полисахариды, как крахмал, реакций восстановления не дают.

Наиболее употребительна реакция Троммера, заключающаяся в восстановлении окисной меди в закисную. Нередко пользуются так называемой Фелинговой жидкостью, в которой ион двухвалентной меди находится в виде комплексного соединения с винной солью. Механизм реакции с Фелинговой жидкостью такой же, как и реакция Троммера.

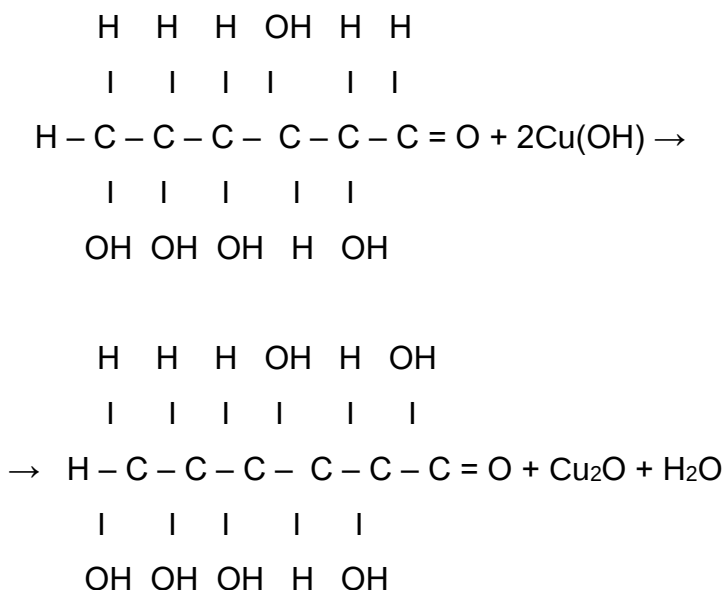
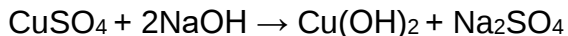
Содержание и порядок выполнения работы:

- 1 Ознакомиться с теоретической частью.
- 2 Выполнить лабораторные исследования.

Опыт 1 Реакция Троммера

1. В пробирку наливают 1-2 мл раствора глюкозы и добавляют равный объем раствора едкого натра NaOH. Добавляют по каплям раствор медного купороса до появления не исчезающей мути гидроксида меди (II) $\text{Cu}(\text{OH})_2$. Осторожно нагревают верхнюю часть содержимого пробирки. Появление желтого окрашивания гидроксида меди (I) Cu_2O , указывает на положительную реакцию Троммера.

Химизм процесса:



2. Прodelывают реакцию Троммера с растворами мальтозы, сахарозы и крахмала. Наблюдают положительную реакцию с мальтозой и отрицательную с сахарозой и крахмалом.

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.21/32

Написать структурные формулы мальтозы, сахарозы, крахмала и объяснить, почему мальтоза обладает восстанавливающими свойствами, а сахароза и крахмал не обладают.

Опыт 2. Проба на сахар с фенилгидразином

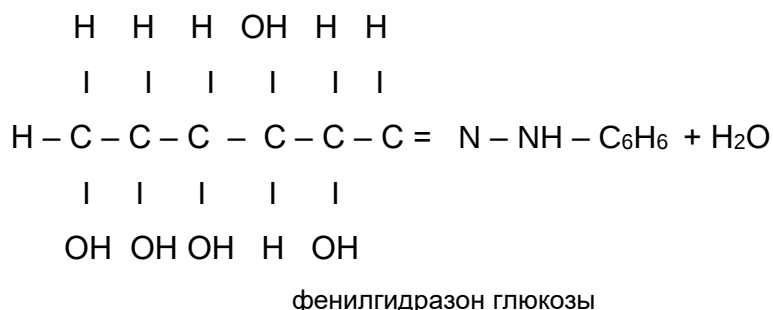
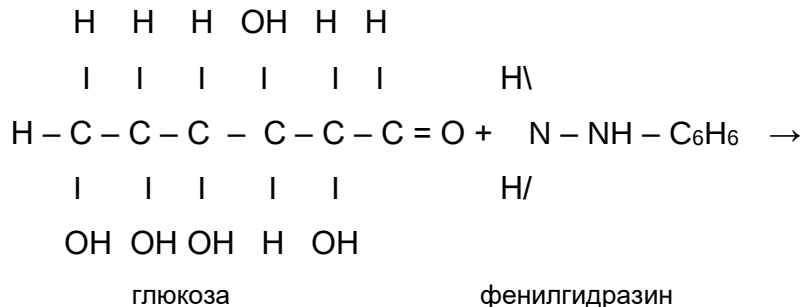
Очень чувствительной пробой на сахар со свободной карбонильной группой является реакция с фенилгидразином, при которой получаются нерастворимые в воде кристаллические соединения – о з а з о н ы.

В пробирку вносят 0,1 – 0,15 мл раствора глюкозы и ставят в кипящую водяную баню на 30-40 минут, время от времени, перемешивая содержимое пробирки встряхиванием.

Пробирку переносят из водяной бани в стакан со льдом. Выпадает кристаллический осадок озаона глюкозы, который частично образуется еще в водяной бане.

Выпавший осадок наносят пипеткой на предметное стекло и рассматривают под микроскопом.

Химизм процесса:



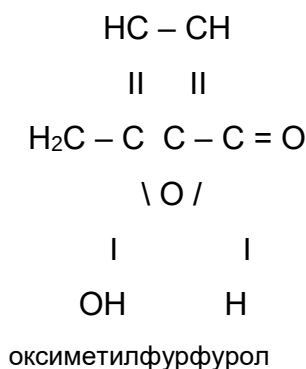
Опыт 3. Реакция Селиванова на фруктозу

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.22/32

Фруктоза и другие кетогексозы как в свободном состоянии, так и отщепляясь из более сложных соединений (например, сахарозы), дают вишнево-красное окрашивание при нагревании с соляной кислотой и резорцином.

В пробирку наливают 1-2 мл реактива Селиванова. Добавляют 1-2 капли раствора фруктозы и нагревают до кипения. Наблюдают красное окрашивание.

Получающаяся окраска зависит от резорцина с оксиметилфурфуролом, образующимся при нагревании кетоз с кислотой.



Содержание отчета:

Наименование лабораторной работы

Цель работы

Отчет о выполнении работы

Выводы по работе.

Дата выполнения и подписи курсанта и преподавателя

Вопросы для самопроверки:

- 1 От чего зависят восстанавливающие свойства сахаров?
- 2 Какая реакция лежит в основе реакции Троммера?
- 3 Какое характерное окрашивание при положительной реакции Троммера?
- 4 У какого атома углерода находится свободный глюкозидный гидроксил?
- 5 Глюкоза обладает восстанавливающими свойствами или нет и почему?
- 6 Почему не обладает восстанавливающими свойствами сахароза и крахмал?

1.5 Витамины и гормоны

Практическое занятие № 6 Количественное определение витамина С

Цель работы:

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.23/32

Исследование образца на содержание витамина С (ОК 01-ОК 02, ОК 09, ПК 1.4, ПК 2.4, ПК 3.4).

Реактивы и материалы:

Образец (икра рыб); колба коническая на 250 мл; бюретка на 25 мл; стекло часовое; воронка стеклянная; цилиндр мерный; 0,02 М раствор $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 6 М раствор H_2SO_4 ; 0,02 н раствор I_2 ; 1 % раствор крахмала; 1 н раствор $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$; 0,5 н раствор FeCl_3 .

Используемые источники: [1], [2].

Теоретическая часть:

Витамины – это низкомолекулярные органические вещества, различной химической природы, необходимые для нормального течения биохимических и физиологических процессов в организме. Витамины разделяют на жирорастворимые и водорастворимые. Называются витамины или по буквам латинского алфавита или по химической природе, или по их физиологическому действию на организм.

Витамины имеют очень большое значение для здоровья человека. Они способствуют росту организма, нормальному обмену веществ, участвуют в регуляции обмена веществ, участвуют в регуляции процессов его жизнедеятельности, повышают сопротивляемость организма к инфекционным заболеваниям.

Весьма важным для нормального развития организма является витамин С (аскорбиновая кислота), источником которого служат продукты растительного происхождения. Лучшими поставщиками его в организм являются овощи, фрукты: красная смородина, шиповник, красный перец, клубника, зеленый лук, цветная и белокочанная капуста, томаты, крыжовник и другие. Дневная норма витамина 70-120 мг.

Витамин С представляет собой аскорбиновую кислоту. Это белый кристаллический порошок, растворим в воде и спирте. При нагревании легко разрушается. Широко распространен в растительных продуктах. Содержание витамина С в мясе рыб (20-34 мг/кг) такое же как в яблоках, укропе, лимоне. Особенно много витамина С в икре рыб – до 1,8 г/кг.

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.24/32

Витамин С хорошо растворяется в воде и при кулинарной обработке продуктов легко разрушается под действием кислорода воздуха, особенно при постепенном повышении температуры. Большое значение для сохранения витамина С имеет материал, из которого изготовлена посуда. Известно, что железо и медь ускоряют процесс его окисления; усиливает разрушение витамина С и щелочная среда. Поэтому при кулинарной обработке продуктов, содержащих витамин С, в целях уменьшения потерь необходимо строго соблюдать установленный технологический режим.

Содержание витамина С снижается во время первичной и тепловой обработки продуктов, при хранении готовых кулинарных изделий, а также при повторных подогреваниях пищи. Нужно помнить, что витамин С разрушается при неправильной кулинарной обработке: если пищевой продукт не сразу варить и долго держать в воде, если готовую пищу хранить более двух часов или несколько раз подогревать, если варить пищу в открытой посуде.

Содержание и порядок выполнения работы:

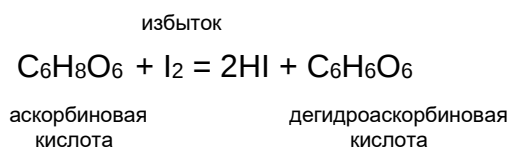
1. Ознакомиться с теоретической частью.
2. Выполнить лабораторные исследования.

Опыт 1. Качественная реакция на витамин С

К нескольким мл образца прибавляют каплю железосинеродистого калия, затем каплю хлорного железа (III). Появляется синее или зеленое окрашивание, при стоянии образуется синий осадок берлинской лазури. Для контроля ставят пробу с водой и теми же количествами реактивов, но при отсутствии витамина С получается бурое окрашивание жидкости, зависящее от образования железосинеродистой окиси железа.

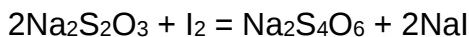
Опыт 2. Определение количественного содержания аскорбиновой кислоты (витамина С)

Для определения содержания аскорбиновой кислоты применяют метод обратного титрования:



МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.25/32

Непрореагировавшее количество (избыток) йода титруют раствором тиосульфата натрия:



натрия тетрагидрат

Молярная масса эквивалента аскорбиновой кислоты (численно равная прежнему грамм-эквиваленту) в соответствии с приведенным выше уравнением реакции (I) равна $\frac{1}{2}M(\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6)$, т.е. 88 г/моль.

В коническую колбу из бюретки наливают 40 мл образца, подкисляют 4 мл 6 М раствора серной кислоты и вводят из бюретки 20 мл 0,02 н раствора йода. Колбу закрывают часовым стеклом, оставляют в темноте на 3-5 мин. и затем избыток йода оттитровывают раствором тиосульфата натрия, используя в качестве индикатора раствор крахмала.

Сначала титруют без индикатора. Когда окраска раствора из темно-бурой превратится в бледно-желтую (цвет соломы), прибавляют 2-5 мл раствора крахмала и продолжают титровать до перехода синей окраски в бледно-зеленую от одной капли раствора тиосульфата натрия. Последние капли надо прибавлять медленно, чтобы не перетитровать раствор.

В указанных условиях другие восстановители (например, глюкоза) не реагирует с йодом. По результатам титрования рассчитывают содержание аскорбиновой кислоты m , в миллиграммах на 100 мл сока по формуле (в упрощенном виде)

$$m = (20 - V_{\text{тиос}}) \cdot 4,4 \text{ мг} / 100 \text{ мл},$$

где $V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}$ – объем раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование избытка йода, мл.

Содержание и порядок выполнения работы:

1 Проверить готовность курсантов подгруппы к выполнению работы.

2 Получить у лаборанта образец.

Исследуемый образец: _____

3 Провести определение содержания аскорбиновой кислоты (витамина С).

4 Сделать заключение о качестве исследуемого образца на предмет содержания в нем витамина С.

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.26/32

Содержание отчета:

Наименование лабораторной работы

Цель работы

Отчет о выполнении работы

Даты и подписи курсанта и преподавателя.

Вопросы для самопроверки:

1 Какое значение в питании имеет витамин С (аскорбиновая кислота)?

2 Под влиянием каких факторов разрушается витамин С?

3 В чем сущность йодометрического определения содержания витамина?

4 Какой прием (метод) титрования используется в данной методике определения? В чем его смысл?

5 Какой индикатор используется в йодометрическом определении? Его назначение и момент добавления.

1.6 Ферменты

Практическое занятие № 7 Свойства ферментов, ферментативный гидролиз крахмала. Действие активаторов и ингибиторов. Специфичность действия ферментов амилазы и сахаразы

Цель работы:

Изучить реакцию гидролиза крахмала под действием амилазы. Изучить специфичность действия ферментов на примере амилазы слюны и сахаразы (ОК 01-ОК 02, ОК 09, ПК 1.4, ПК 2.4, ПК 3.4).

Реактивы и материалы:

0,1 н раствор йода; 0,2 % раствор соляной кислоты; 5 % раствор сернокислой меди; 5 % раствор едкого натра; дистиллированная вода; фелингова жидкость; 1 % раствор крахмала; раствор соды.

Раствор сахарозы; дрожжи; 5 % раствор сернокислой меди.

Оборудование:

Пробирки; стаканчик; предметное стекло; пипетка на 10 мл; водяная баня; электроплитка; воронка; термометр; фильтр; стеклянные палочки.

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.27/32

Цилиндр мерный на 50 мл; колба коническая на 100 мл; воронка; электроплитка; водяная баня; ступка; вата; речной песок.

Используемые источники: [1], [2].

Теоретическая часть:

Ф е р м е н т ы или **э н з и м ы** – биологические катализаторы белковой природы, образующиеся в живой клетке. Подавляющее большинство химических превращений, происходящих в тканях и жидкостях организма, протекает под действием ферментов.

Важнейшие свойства ферментов: потеря активности при нагревании, ярко выраженная зависимость активности от концентрации водородных ионов, специфичность действия на субстрат.

Простым и наглядным примером действия ферментов и некоторых их свойств, является гидролиз крахмала под действием слюны. Под действием фермента амилазы слюны, крахмал гидролизует до мальтозы. Крахмал, растворимый крахмал и более близкие к крахмалу декстрины дают с и н е е окрашивание с йодом; декстрины, являющиеся продуктами дальнейшего расщепления крахмала, дают к р а с н о – б у р о е окрашивание, продукты расщепления крахмала, близкие к мальтозе, и мальтоза н е д а ю т о к р а ш и в а н и я.

При низкой температуре ферментативные реакции идут медленно. По мере повышения температуры скорость ферментативных реакций обычно повышается. По достижении некоторого оптимума повышение температуры уже ведет к падению активности фермента и вследствие этого к понижению скорости ферментативных реакций. Так, уже при температуре раствора в 50-60 °С часто происходит температурная инактивация ферментов. Для огромного большинства ферментов температурный режим лежит в пределах 37-50 °С.

Низкие температуры не инактивируют ферменты. Как правило, они лишь замедляют или останавливают их действие (см. опыты 1-3).

Ферменты обладают специфичностью действия, т.е. каждый фермент действует только на одно вещество или на группу сходных веществ. Так, например, амилаза гидролизует крахмал, а липаза – жиры. Несмотря на то, что в том и другом случае мы имеем дело с гидролизом, липаза не может заменить амилазу и наоборот. В качестве объектов исследования специфичности ферментов удобно

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.28/32

взять фермент слюны (амилазу и мальтозу) и сахаразу, а в качестве субстратов – соответственно крахмал и сахарозу.

Под действием ферментов слюны крахмал легко гидролизует до мальтозы и частично до глюкозы, которые, имея свободные альдегидные группы, дают положительные реакции Троммера и с Фелинговой жидкостью.

Молекула сахарозы состоит из остатков глюкозы и фруктозы. Сахароза не имеет свободных альдегидных или кетонных групп и не дает реакций восстановления металлов. Эти реакции оказываются отрицательными и после действия на сахарозу ферментов слюны, т.е. сахароза под влиянием амилазы и мальтозы не расщепляется на глюкозу и фруктозу (см. опыты 4-5).

Содержание и порядок выполнения работы:

- 1 Ознакомиться с теоретической частью.
- 2 Выполнить лабораторные исследования.

Опыт 1. Ферментативный гидролиз крахмала

Приготовление разбавленной слюны

Ополаскиваем рот дистиллированной водой и тем очищают его от остатков пищи. Набирают новую порцию дистиллированной воды в рот и держат ее во рту в течении 1-2 минуты, смешивая со слюной. Жидкость выпускают в стаканчик и профильтровывают в пробирку. Фильтрат используют для опытов.

Выполнение опыта

Наносят на предметное стекло, под которое подложен лист белой бумаги, ряд капель раствора йода.

Наливают в пробирку около 5 мл раствора крахмала и около 3 мл дистиллированной воды (контрольный опыт). В другую пробирку наливают около 5 мл раствора крахмала и около 3 мл разбавленной слюны.

Встряхивают обе пробирки, ставят на водяную баню при 37 °С и помещают в них по стеклянной палочке.

Время от времени берут стеклянными палочками из каждой пробирки капли жидкости и наносят их на капли раствора йода.

Сначала синее окрашивание будет появляться от капель, взятых из обеих пробирок. Затем из пробирки, где есть амилаза, капля начнет давать с йодом красно-белый оттенок. Скоро отмечают, что капли жидкости из пробирки со слюной

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.29/32

окрашивания больше не дают. Капли же, взятые из контрольного опыта, все время дают синее окрашивание.

Наблюдают наличие опалесценции в контрольной пробирке (без слюны) и отсутствие опалесценции во второй пробирке (со слюной).

Отдельно проделывают с 1-2 мл содержимого каждой пробирки реакцию Троммера. С содержимым контрольной пробирки (без слюны) реакция будет отрицательная, с содержанием второй пробирки (со слюной) – положительная.

Отдельно проделывают с частью содержимого обеих пробирок реакцию с Фелинговой жидкостью. Для этого к 1-2 мл исследуемой жидкости добавляют около 1 мл Фелинговой жидкости и нагревают. С раствором крахмала реакция будет отрицательная, с раствором гидролизата крахмала (продукта частичного гидролиза) со слюной – положительная, т.е. образуется красный осадок оксида меди (I) Cu_2O .

Опыт 2. Влияние температуры на активность амилазы слюны

Наливают в 2 пробирки приблизительно по 5 мл раствора крахмала, в одну из них добавляют около 1 мл разбавленной слюны, которая должна быть предварительно тщательно прокипячена. В другую пробирку добавляют около 1 мл некипяченой слюны.

Перемешивают содержимое и ставят обе пробирки в водяную баню при 37 °С на 10 минут.

Убеждаются с помощью раствора йода и реакции Троммера (или реакции с Фелинговой жидкостью) в том, что гидролиз крахмала в пробирке с прокипяченной слюной не произошел, т.к. фермент в ней разрушился, но имел место в пробирке с кипяченой слюной.

Опыт 3. Влияние pH на действие ферментов

Ферменты очень чувствительны к изменению кислотности среды, в которой они действуют, можно считать, что для каждого фермента имеется определенная оптимальная концентрация водородных ионов, при которой он наиболее активен.

Изменение активной кислотности среды в ту или иную сторону от оптимума pH вызывает понижение нейтральной реакции ($\text{pH} = 6,8$) и подавляется как кислотами, так и щелочами.

1. Наливают пипеткой в восемь пронумерованных пробирок по 1 мл дистиллированной воды. В первую пробирку отмеривают 1 мл соляной кислоты. Перемешивают жидкость. В первой пробирке при помощи троекратного втягивания

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.30/32

пипеткой и последовательного выпускаемого содержимого пробирки из пипетки, а затем переносят 1 мл полученной смеси из первой во вторую.

2. Перемешивают таким же образом из второй пробирки в третью и т.д. Из восьмой пробирки 1 мл смеси как излишней выливают, и таким образом, получают различное разведение соляной кислоты во всех пробирках.

3. Наливают во все пробирки из бюретки по 2 мл раствора крахмала и из пипетки по 1 мл разведенной слюны. Перемешивают встряхиванием содержимое пробирок и ставят на водяную баню при 37 °С.

4. Вынимают через 15 минут пробирки из бани, охлаждают их в холодной воде, добавляют в каждую пробирку по 2-3 капли раствора йода и перемешивают содержимое. Определяют, при какой концентрации кислоты происходит расщепление крахмала.

Аналогичный опыт проделывают с раствором соды, беря ее вместо соляной кислоты.

Опыт 4. Специфичность амилазы

Приготовление сахарозы

5 г дрожжей растереть в ступке 2-3 мл воды и небольшим количеством речного песка. К растертой массе добавить около 40 мл воды. Жидкость процедить через вату. Мутный раствор использовать как раствор сахарозы.

Выполнение опыта

Испытывают раствор сахарозы с помощью реакции Троммера или с раствором Фелинговой жидкости. Реакция, если препарат чист, будет отрицательной.

Наливают в одну пробирку 4-5 мл раствора сахарозы, а в другую – крахмала. Добавляют в обе пробирки приблизительно по 1 мл разбавленной слюны и, перемешав содержимое каждой пробирки, ставят их на водяную баню при 37 °С.

Исследуют через 10 минут содержимое обеих пробирок с помощью реакции Троммера или реакции с Фелинговой жидкостью и убеждаются в гидролизе крахмала и в отсутствии гидролиза сахарозы.

Написать уравнение реакции гидролиза крахмала под действием амилазы.

Опыт 5. Специфичность сахаразы

В одну пробирку наливают 4-5 мл раствора крахмала, а в другую – сахарозы. В обе пробирки добавить приблизительно по 1 мл фермента сахаразы и перемешав содержимое каждой пробирки, ставят их на 10 минут в водяную баню при 37 °С.

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.31/32

В обеих пробирках проделывают реакцию Троммера или с Фелинговой жидкостью и убеждаются в отсутствии гидролиза крахмала и в гидролизе сахарозы.

Написать уравнение гидролиза сахарозы под действием фермента сахаразы. Назвать вид специфичности фермента.

Содержание отчета:

Наименование лабораторной работы

Цель работы

Отчет о выполнении работы

Выводы по работе.

Дата выполнения и подписи курсанта и преподавателя

Вопросы для самопроверки:

1 Написать уравнение реакции гидролиза крахмала. Конечный продукт кислотного гидролиза и ферментативного.

2 На какие углеводы действует амилаза слюны?

3 Какой реакцией определить конец гидролиза?

4 Как действует температура на активность амилазы?

5 Как действует pH среды на активность фермента?

6 Назовите виды специфичности ферментов.

7 Какой конечный продукт гидролиза крахмала под действием амилазы слюны?

8 Как определить конец гидролиза сахарозы?

Список использованных источников

Виды источников	Наименование рекомендуемых учебных изданий
Основные	1. Байдалинова, Л. С. Биохимия гидробионтов: лабораторный практикум : учебное пособие для спец. "Продукты питания животного происхождения" / Л. С. Байдалинова. - Москва : Моркнига, 2017. 2. Байдалинова Л.С., Яржомбек А.А. Биохимия сырья водного происхождения. – М. : Моркнига, 2011.
Дополнительные	<i>Методические пособия для выполнения лабораторных работ</i>
Электронные образовательные ресурсы	1. ЭБС «Book.ru», https://www.book.ru 2. ЭБС «ЮРАЙТ» https://www.biblio-online.ru 3. ЭБС «Академия», https://www.academia-moscow.ru 4. Издательство «Лань», https://e.lanbook.com 5. Электронно-библиотечная система «Университетская библиотека онлайн», https://www.biblioclub.ru
Основные электронные	3. Комов В.П., Шведова В.Н. Биохимия, в 2-х частях. Часть 1: учебник для академического бакалавриата. – 4 – е изд., испр. и доп. – М: Издательство

*Документ управляется программными средствами 1С Колледж
Проверь актуальность версии по оригиналу, хранящемуся 1С Колледж*

МО-35 02 10-ОП.01.ПЗ	КМРК БГАРФ ФГБОУ ВО «КГТУ»	
	БИОХИМИЯ СЫРЬЯ ВОДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	С.32/32

издания	Юрайт, 2019. 4. Новокшанова А.Л. Биохимия для технологов, в 2-х частях. Часть 1: учебник и практикум для академического бакалавриата. – 2 – е изд. испр. – М.: Издательство Юрайт, 2019.
---------	---