

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ  
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

*Б1.В.ДВ.03.02 Биохимия сельскохозяйственной продукции*

**Направление подготовки** 35.03.07 Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции

**Профиль подготовки** Хранение и переработка сельскохозяйственной продукции

**Форма обучения** заочная

## СОДЕРЖАНИЕ

<b>1. Конспект лекций.....</b>	<b>3</b>
1.1 Лекция 1 Биохимия как наука. Обиций химический состав живых организмов. Клетка и ее структуры.....	3
1.2 Лекция 2 Биохимия злаковых культур .....	10
1.3 Лекция 3 Биохимия зернобобовых культур .....	19
1.4 Лекция 4 Биохимия масличных и технических культур .....	29
1.5 Лекция 5 Биохимия картофеля, корнеплодов .....	36
1.6 Лекция 6 Биохимия овощей, плодов и ягод.....	43
1.7 Лекция 7 Биохимия молока и мяса .....	48
 <b>2. Методические материалы по выполнению лабораторных работ.....</b>	 <b>79</b>
2.1. Лабораторная работа № ЛР-1 <i>Определение белков колориметрическими методами.....</i>	79
2.2 Лабораторная работа № ЛР-2 <i>Активность амилалитических ферментов в зерне и солоде.....</i>	82
2.3 Лабораторная работа № ЛР-3 <i>Активность нитратредуктазы и содержание нитратов в растительной продукции.....</i>	84
2.4 Лабораторная работа № ЛР-4 <i>Липиды и продукты первичного распада белков в мясе.....</i>	86
 <b>3. Методические материалы по проведению практических занятий .....</b>	 <b>103</b>
3.1 Практическое занятие № ПЗ – 1 <i>Определение редуцирующих сахаров и суммы сахаров в растительной продукции.....</i>	103
3.2 Практическое занятие № ПЗ – 2 <i>Кислотность молока и молочных продуктов. Изучение кислотной денатурации белков молока .....</i>	107

# 1. КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ

## 1.1 Лекция №1 (2 часа).

**Тема:** «Биохимия как наука. Общий химический состав живых организмов. Клетка и ее структуры»

### 1.1.1 Вопросы лекции:

1. Биологическая химия как наука. Предмет, задачи, основные направления развития биохимии.
2. Биомолекулы и клеточные структуры.

### 1.1.2 Краткое содержание вопросов:

1. Биологическая химия как наука. Предмет, задачи, основные направления развития биохимии.

**Биологическая химия** (биохимия) – наука, изучающая химический (молекулярный) состав живых организмов и протекающие в них химические реакции, которые лежат в основе жизнедеятельности.

Объектами изучения биохимии являются различные живые организмы - вирусы, бактерии, растения, животные и организм человека. Совокупность биохимических превращений органических соединений (биомолекул) в живых организмах называется **обменом веществ или метаболизмом**. Метаболизм, в свою очередь, состоит из процессов биосинтеза веществ, то есть **анаболизма**, и процессов расщепления веществ, то есть **катаболизма**.

Биохимия состоит из нескольких разделов:

**1.Статическая биохимия** изучает химический состав организмов и структуру составляющих их молекул (белков, аминокислот, нуклеиновых кислот, нуклеотидов, углеводов и их производных, липидов, витаминов, гормонов).

**2.Динамическая биохимия** изучает химические реакции, представляющие обмен веществ (метаболизм), а именно пути превращения молекул и механизмы происходящих между ними реакций. Простые молекулы и их производные (моносахариды, жирные кислоты, аминокислоты, нуклеотиды и др.), образующиеся в процессе метаболизма, называются **метаболитами**.

**Биоэнергетика** представляет раздел динамической биохимии, который изучает закономерности образования, аккумуляции и потребления энергии в биологических системах.

**3.Функциональная биохимия** изучает биохимические реакции, лежащие в основе физиологических функций. Она изучает биохимические основы переваривания питательных веществ в желудочно-кишечном тракте; механизмы мышечного сокращения, проведения нервного импульса, дыхательной функции крови, регуляции кислотно-щелочного равновесия, функции печени и почек, иммунной системы и др.

**4.Биохимия человека или медицинская биохимия** – это раздел биохимии, который изучает закономерности обмена веществ в человеческом организме, в том числе и при заболеваниях. С целью изучения механизмов развития болезней широко используют метод моделирования патологических процессов на животных.

**История развития биохимии.** Во второй половине XIX века биологическая химия стала выделяться в самостоятельную науку. Во многих университетах были учреждены кафедры медицинской химии (в 1863 г. в Казанском университете А.Я.Данилевским, а в Московском университете А.Д.Булыгинским. Однако наиболее значительные открытия в области биохимии были сделаны в XX веке. В этот период были открыты «гормоны» и «витамины», сведения о которых и легли в основу первых учебников биохимии.

Хроника важных открытий в биохимии: 1904 г. – **Кнооп** открыл механизм окисления жирных кислот. 1926 г. – **год рождения энзимологии** - Самнер выделил в кристаллическом виде фермент уреазу. 1930 г. – **Энгельгарт** открыл окислительное фосфорилирование. 1930 г. – **Поллинг** открыл вторичную структуру белковой молекулы (Нобелевская премия). **Кребс** – открыл цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) и цикл мочевинообразования. 1953 г. – **Д.Уотсон** и **Ф.Крик** открыли структуру ДНК. Это открытие стало началом эры молекулярной биологии. 1961 г. – **М.Ниренберг** расшифровал генетический код. 90% Нобелевских премий, которые были присуждены в области химии и биологии касались биохимии.

Научная информация по биохимии очень велика: в мире выходят сотни биохимических журналов. Например, годовой объем J. Biological Chemistry составляет более 50000 страниц.

**Украинская история.** Академик А.В. Палладин основал институт биохимии в Харькове, который позже был перенесен в Киев. Сейчас директором института является академик С.В. Комисаренко. Первый биохимический журнал (на русском, украинском и английском языках) вышел на Украине. Кафедры биохимии есть в медицинских вузах, университетах, педагогических и сельскохозяйственных институтах.

**Вклад ученых Украины в развитие биохимии.** Данилевский – открыл пептидную связь. Палладин – впервые установил, что первым этапом тканевого дыхания является реакция дегидрования. Бах (из Золотоноши Черкасской области) в Москве основал Институт биохимии и биохимический журнал и изучал процессы биологического окисления (теория «активного» кислорода). Горбачевский (из Тернопольщины) – основатель чешской биохимии (открыл мочевую кислоту). Грабар – во Франции основал биохимический институт, открыл метод иммуноэлектрофореза. Парнас (львовский биохимик) – открыл механизм гликолиза. Чаргаф (Черновцы) открыл принцип комплементарности нуклеотидов ДНК.

**Преподавание биохимии** на кафедре включает чтение лекций, проведение практических занятий, самостоятельной работы студентов, выполнение контрольных работ, проведение экзаменов. Формы обучения: курсовые работы, олимпиады, научный кружок.

**Научная работа кафедры.** У преподавателей 60% времени отводится на педагогическую работу, а 40% – на научную. Научная работа кафедры связана с изучением ферментных систем биотрансформации чужеродных веществ (ксенобиотиков). Заведующий кафедрой, профессор А.А.Пентюк является ведущим специалистом в Украине в этой области. Второе направление – изучение обмена гомоцистеина (серосодержащей аминокислоты) в норме и патологии. Повышение уровня гомоцистеина в крови является фактором риска сердечно-сосудистой патологии, инфарктов, инсультов. На кафедре функционирует лаборатория Института химии поверхности НАН Украины, которая занимается разработкой лекарственных веществ (сорбентов). В аптеке можно купить препарат СИЛИКС созданный в лаборатории.

**Значение биохимии.** Современная биология и медицина невозможна без знаний молекулярной биологии и генетики. На их основе возникла геновая инженерия и биотехнология, которые изучают возможности направленных изменений генетического аппарата. Создаются различные рекомбинантные ДНК, которые используют для синтеза физиологически активных соединений и лекарственных веществ – антибиотиков, гормонов, ферментов и других.

Биохимические методы исследования широко используются для диагностики заболеваний, контроля эффективности лечения. Благодаря использованию моноклональных антител и использования цепной полимеразной реакции для исследования ДНК был осуществлен научный прорыв в диагностике многих заболеваний, включая – СПИД, туберкулез, вирусные гепатиты. Развитие иммуноферментных методов исследования сделало доступным определение гормонов, антител, маркеров опухолевого

роста и других веществ, которые содержатся в организме в очень низких количествах, практически в любой больнице.

## 2. Биомолекулы и клеточные структуры.

Биосфера Земли насчитывает около 1,2 млн. видов животных, в том числе и человека, а также более 500 тыс. видов растений. В живых организмах содержится около 40 различных химических элементов.

99% элементного состава живых организмов представляют такие элементы как углерод (С), кислород (О), водород (Н), азот (N), фосфор (Р) и сера (S). Из этих химических элементов (биоэлементов или органогенов) образуется весь спектр биоорганических соединений. Некоторые элементы входят в состав живых организмов в свободном состоянии в качестве макроэлементов (например, ионы Na, K, Ca, Mg, Cl), или микроэлементов (Fe, Cu, Zn, Mn, Co, Se, F, Mo, V и др.), выполняя важные структурные и регуляторные функции.

Первое место среди химических соединений занимает вода. В организме человека вода составляет около 60% массы тела. Основная часть макро- и микроэлементов находится в виде водных растворов и в большинстве случаев – в комплексе с органическими соединениями.

**Биомолекулы** – органические соединения, входящие в состав организмов, образующие клеточные структуры и участвующие в биохимических реакциях обмена веществ.

### **Функции биомолекул в живых организмах.**

а) участие в реакциях обмена веществ в роли промежуточных продуктов (метаболитов). Например, аминокислоты, моносахариды, жирные кислоты и др.

б) участие в образовании сложных молекул (белков, нуклеиновых кислот, липидов, полисахаридов) или биологических структур (мембран, рибосом, ядерного хроматина и др.).

в) участие в регуляции биохимических процессов и функций отдельных клеток и организма в целом (витамины, гормоны, циклические нуклеотиды цАМФ, цГМФ и др.).

### **Основные классы биомолекул:**

Белки и аминокислоты. Белки – протеины (protos - первый, значимый), важнейший класс биомолекул, с наличием которых связывают существование жизни в условиях Земли. Белки являются молекулами, в состав которых входят 20 аминокислот. Совокупность белков в организме составляет его **протеом**.

Нуклеиновые кислоты и нуклеотиды. Дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК) кислоты – биополимеры, состоящие из пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. Они являются носителями генетической информации у всех живых организмов. Последовательность мононуклеотидов в составе нуклеиновых кислот детерминирует (кодирует) последовательность аминокислотных остатков в белках. Последовательность из трех нуклеотидов (триплет или кодон) в молекуле ДНК соответствует одной из 20 аминокислот. Таким образом, генетический код определяет порядок включения аминокислот в полипептидную цепь в процессе синтеза белка на рибосомах. Совокупность генов в организме составляет его **геном**.

Нуклеиновые кислоты впервые обнаружил в ядрах клеток Фридрих Мишер (1869 г.). Приблизительно через 100 лет (в 1953 г) Д.Уотсон и Ф.Крик сделали фундаментальное открытие, описав структуру ДНК. Это позволяло раскрыть главную загадку жизни – обеспечение наследственности путем копирования наследственных признаков. Изучение функций РНК позволили сформулировать основную догму молекулярной биологии, которая определяет направление передачи генетической информации у всех живых организмов:



Совокупность информационных РНК в организме составляет его **транскриптом**.

Углеводы – молекулы, состоящие из моносахаридов и их производных (дисахаридов, гомо- и гетерополисахаридов). В животных организмах моносахариды и гомополисахарид гликоген в основном исполняют энергетические функции, а гетерополисахариды принимают участие в образовании мембран, гликокаликса, соединительной ткани и т.д..

Липиды – молекулы, особенностью которых является гидрофобная природа. Липиды выступают как энергетический материал (нейтральные жиры), являются структурными

компонентами мембран (фосфолипиды, гликолипиды) и биорегуляторами (стероидные гормоны, эйкозаноиды, жирорастворимые витамины).

Витамины – соединения с различным химическим строением, не синтезирующиеся в животных организмах, но необходимые для их жизнедеятельности. Они должны постоянно поступать в организм с продуктами питания, обеспечивая нормальное течение метаболических процессов, так как являются компонентами ферментных систем.

Гормоны и медиаторы – молекулы, передающие химические сигналы. Благодаря регуляторному действию гормонов и медиаторов нервной системы происходит интеграция отдельных анатомо-физиологических систем в целостный многоклеточный организм.

Кроме того в организме имеются свободные аминокислоты, азотистые соединения, нуклеотиды, низкомолекулярные моно-, ди- и трикарбоновые кислоты, спирты, амины, являющиеся промежуточными продуктами метаболизма (метаболитами или интермедиатами). Совокупность всех метаболитов в организме составляет его **метаболизм**.

**Клетка** – структурная, функциональная и генетическая единица живого организма. Все клетки способны к размножению путем деления, передавая потомкам свои биологические признаки. Клетки делятся на прокариотические (безядерные) и эукариотические (ядерные). Они отличаются по химическому составу и обмену веществ.

Клеточные компоненты постоянно обновляются. Для тела человека период полужизни белков ( $T_{1/2}$ ) составляет в среднем 12 недель, белков печени меньше – 2 недели, белков мышц – 27 недель, белков костной ткани – много месяцев.

**Происхождение биомолекул.** Фундаментальной проблемой биохимии является возникновение жизни на Земле. Согласно существующим представлениям, образование биомолекул и первых примитивных живых клеток происходило на Земле под действием физических факторов атмосферы приблизительно 3 млрд. лет тому назад по схеме:



Стенли Миллер (1953г.), обнаружил возможность образования аминокислот при действии электрических разрядов на смесь метана, аммиака, водорода и водяного пара. В этих реакциях синтеза центральное место занимает цианистый водород – HCN, который может образовываться в реакции:  $\text{CH}_4 + \text{NH}_3 \rightarrow \text{HCN} + 3\text{H}_2$

В дальнейшем цианистый водород превращается в цианамид, нитрит и цианоацетилен – предшественники аминокислот, пуринов, пиримидинов, порфиринов.



Пока необъяснимой проблемой в вопросе происхождения жизни является происхождение первичных информационных молекул.

#### **Принципы организации живой материи:**

1. Принцип молекулярной экономии – комбинация небольшого числа молекул дает бесконечное множество макромолекул. Например, миллионы белков составлены из набора в 20 аминокислот, а в состав ДНК входят в основном 4 азотистых основания.

2. Принцип простой сложности – все биомолекулы состоят из нескольких элементов – органоенов (C, H, O, N, S, P).

3. Принцип комплементарности – необходимость пространственного соответствия отдельных частей биомолекул при их образовании (например, для ДНК – это расположение азотистых оснований по правилам Чаргаффа), а также при взаимодействии макромолекул (например, комплексы антиген-антитело, фермент-субстрат и т.д.) по типу «ключ-замок».

#### **Принципы функционирования живой материи**

1. Все реакции в живых организмах подчиняются II закону термодинамики и происходят по закону действующих масс

2. Большинство реакций в живых организмах являются ферментативными, то есть протекают при участии ферментов – катализаторов белковой природы

3. Все реакции в живых организмах протекают в водной среде, в том числе и реакции окисления, при относительно невысоких температурах.

4. Энергия в организмах выделяется при окислении питательных веществ (углеводов, белков, жиров) и значительная ее часть аккумулируется в виде макроэргических связей АТФ.

Методы используемые в биохимии: химические; физические; ферментативные методы – есть только в биохимии; молекулярно-генетические и другие. Материал для биохимических исследований - кровь, моча, желудочный сок, спинномозговая жидкость, синовиальная жидкость, слюна, биоптаты органов.

### **1.2 Лекция №2 (1 час).**

**Тема:** «Биохимия злаковых культур»

#### **1.2.1 Вопросы лекции:**

1. Накопление белков.
2. Накопление углеводов.
3. Липиды и витамины.

#### **1.2.2 Краткое содержание вопросов:**

1. Накопление белков.

Основные процессы, происходящие при созревании зерновок злаковых культур, — синтез запасных белков и углеводов, структурных и запасных липидов, витаминов. Исходя из того, что зерновые культуры являются важными источниками пищевого и кормового белка, при их выращивании первостепенное значение уделяют созданию

необходимых условий для накопления запасных белков, содержание и состав которых в первую очередь будут определять качество зерна.

Наиболее высокобелковой культурой является пшеница, в ее зерновках содержание белков колеблется от 9 до 18 %, а при создании оптимальных условий может достигать 25 %. В зерне других злаковых культур количество белка обычно составляет 8-15 %, а в зерне риса и кукурузы – 6-10 %. Однако очень часто в полевых условиях содержание белков в зерновках злаковых растений находится на низком уровне (8-12 %) и для того, чтобы повысить их накопление хотя бы на 1-2 %, применяют специальные приемы и технологии выращивания зерновых культур. Использование для кормления сельскохозяйственных животных низкобелкового зерна влечет за собой повышенный расход кормов на создание единицы животноводческой продукции: по нормам кормления нужно, чтобы на каждую кормовую единицу приходилось не менее 100 г переваримого белка. Учитывая, что переваримость белков зерна в среднем составляет 70—90 %, для устранения дефицита кормового белка в зерне должно содержаться 14—15 % белковых веществ.

Ценность продовольственного зерна также зависит от содержания в нем белков. У мягкой и твердой пшеницы запасные белки образуют клейковину, количество и качество которой тесно коррелирует с хлебопекарными и макаронными свойствами зерна.

Клейковина представляет собой белковый сгусток, который образуется из муки при отмывании ее водой. На долю белков в клейковине приходится около 90 % сухого вещества, и они представлены в основном спирторастворимой фракцией — глиадинами и щелочерастворимой фракцией — глютелинами, т. е. запасными формами белков. Другие химические вещества, содержащиеся в клейковине, — липиды, сахара, крахмал, зольные элементы — составляют в сумме не более 10 %. Для характеристики качества зерна пшеницы обычно определяют сырую клейковину, в которой содержится 31—35 % сухого вещества.

По хлебопекарным качествам зерна мягкую пшеницу делят на три категории: сильная пшеница, средняя (или ценная) и слабая. В зерне сильной пшеницы должно содержаться не менее 28 % сырой клейковины первой группы качества, в зерне ценной пшеницы — 25—27 % сырой клейковины первой или второй группы качества. К слабой относится пшеница, в зерне которой содержится менее 25 % сырой клейковины или у которой клейковина очень низкого качества (третья группа). Из муки сильной или ценной пшеницы выпекают высококачественный хлеб, тогда как из слабой пшеницы можно получить хороший хлеб только при добавлении к ней сильной пшеницы, улучшающей хлебопекарные свойства зерна. Средняя по качеству пшеница не способна улучшать слабую пшеницу.

Запасные белки зерновых злаков - проламины (спирторастворимые) и глютелины (щелочерастворимые) — откладываются в эндосперме в виде белковых гранул или белковых тел. Основная часть белков альбумин-глобулинового типа, также содержащихся в зерне, локализована в зародыше, щитке зародыша и алейроновом слое.

При переходе злаковых растений к репродуктивной стадии развития в формирующемся зерне инициируется синтез фитогормонов — ауксина, гиббереллина, цитокининов, являющихся регуляторами физиолого-биохимических процессов, в результате чего резко усиливается аттрагирующая способность зерновок, они становятся центрами притяжения ассимилятов, образующихся в листьях, в том числе и низкомолекулярных азотистых веществ, из которых в зерновках синтезируются компоненты белоксинтезирующей системы и весь набор белковых веществ (каталитические, регуляторные, структурные, запасные белки).

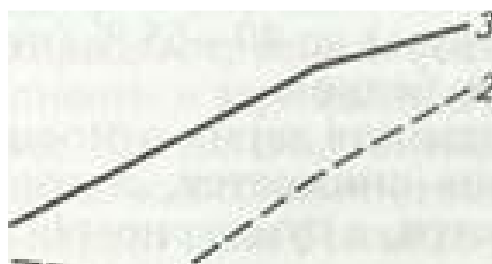
Синтез и накопление белков в зерновках злаковых культур происходят в основном за счет оттока азотистых веществ (главным образом аминокислот) из вегетативных органов, так как поглощение минерального азота корнями и использование его в биосинтетических процессах после цветения сокращаются (особенно у яровых культур). Наибольшее



количество азотистых веществ поступает в формирующиеся зерновки из листьев, особенно верхнего яруса, меньше из колосковых чешуй и стеблей. После цветения в листьях, стеблях и колосковых чешуях активизируются процессы гидролиза высокомолекулярных веществ (полисахаридов, белков, липидов, нуклеиновых кислот) и усиливается отток образующихся низкомолекулярных продуктов в зерно.

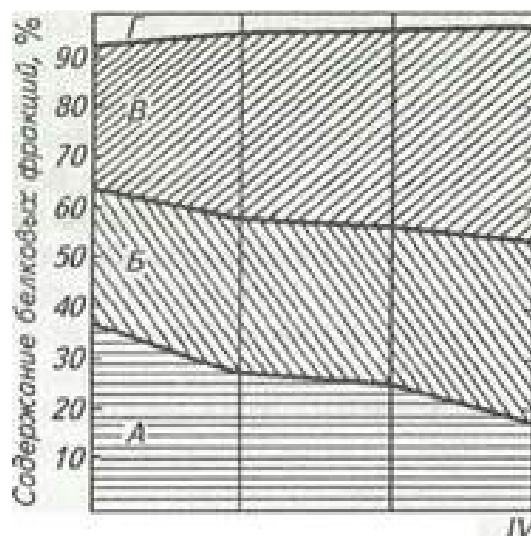
При определенных условиях выращивания зерновых культур может наблюдаться снижение концентрации белков в фазе молочной спелости зерна. Это обычно происходит при затягивании созревания, когда интенсивный отток азотистых веществ из листьев в формирующиеся зерновки смещается на более поздние фазы развития, или вследствие недостаточного азотного питания растений.

При высоком уровне азотного питания у большинства злаковых культур снижения концентрации белковых веществ при созревании зерна обычно не происходит.



**Рис. 1. Изменение содержания азотистых веществ в процессе созревания зерна пшеницы, % сухой массы:**

I — фаза формирования зерна; II — молочная спелость; III — молочно-восковая спелость; IV — полная спелость; / — небелковый азот; 2 — белковый азот при низком уровне азотного питания; J — белковый азот при высоком уровне азотного питания.



**I и III Фаза созревания зерна**

**Рис. 2. Интенсивность синтеза различных групп белков в созревающем зерне пшеницы (поступление меченого азота некорневой подкормки в белковые фракции зерна, %):**

I — фаза формирования зерна; II — молочная спелость; III — молочно-восковая спелость; IV — полная спелость; /1 — легкорастворимые белки — альбумины и глобулины; £ — спирторастворимые белки — глиадины; Л — щелочерастворимые белки — глютенины; Г — экстрагируемые белки.

Белковые фракции зерна различаются по аминокислотному составу, в том числе по содержанию незаменимых аминокислот, от которых зависит биологическая питательная

ценность белков. Наиболее высокую биологическую ценность имеют водорастворимые белки — альбумины, в их составе все незаменимые аминокислоты содержатся практически в оптимальных соотношениях, наблюдается лишь некоторый дефицит по содержанию метионина и изолейцина. Солерастворимые белки зерна — глобулины — также характеризуются довольно хорошо сбалансированным аминокислотным составом, хотя содержание некоторых незаменимых аминокислот у них по сравнению с альбуминами ниже (метионин, триптофан, лейцин).

Щелочерастворимые белки — глютелины у ряда злаковых культур (рис, овес, ячмень, сорго) по содержанию незаменимых аминокислот близки к глобулинам, а у других культур (пшеница, рожь, кукуруза, просо) характеризуются довольно сильным дефицитом лизина, триптофана и метионина. Самую низкую биологическую ценность имеют спирторастворимые белки — проламины, которые накапливаются только в семенах злаковых растений. Они отличаются очень низким содержанием таких незаменимых аминокислот, как лизин, триптофан, метионин, и высокой концентрацией глутаминовой кислоты и пролина, на долю которых приходится от 20—35 % (рис, просо, кукуруза) до 40—55 % (пшеница, рожь, ячмень, сорго, овес) массы этих белков.

В связи с тем что в процессе созревания зерна относительное содержание альбуминов и глобулинов снижается, а количество проламинов и глютелинов увеличивается, в суммарном белке зерна происходят соответствующие изменения концентрации аминокислот. Поскольку при созревании в зерновках увеличивается доля запасных белков с низким содержанием лизина, триптофана и метионина, то и в общем суммарном белке зерна также усиливается дефицит этих незаменимых аминокислот. Поэтому биологическая ценность суммарного белка в процессе созревания зерна снижается.

У пшеницы по мере накопления запасных белков происходит формирование клейковинного комплекса зерна, в процессе созревания зерновок содержание клейковины повышается, ее качество улучшается.

## 2. Накопление углеводов.

Основным запасным углеводом зерновки злаков является крахмал, который представлен двумя полисахаридами — амилозой и амилопектином. Соотношение между ними в зерновках может изменяться в зависимости от условий выращивания; в среднем количество амилозы обычно варьирует в пределах 15-25 %, а амилопектина — 75-85 % от общего количества крахмала в зерне.

Запасной крахмал откладывается в мучнистой части эндосперма в виде крахмальных зерен величиной 5-50 мкм. Размеры и строение крахмальных зерен у разных видов и даже сортов злаковых растений имеют свою специфику и могут использоваться для характеристики генотипа. Вначале крахмал накапливается в пластидах (амилопластах), затем их мембранная структура разрушается и они превращаются в крахмальные зерна. Содержание крахмала в зерновках большинства злаковых растений составляет 50—70 %, а в рисе и кукурузе — до 80 %.

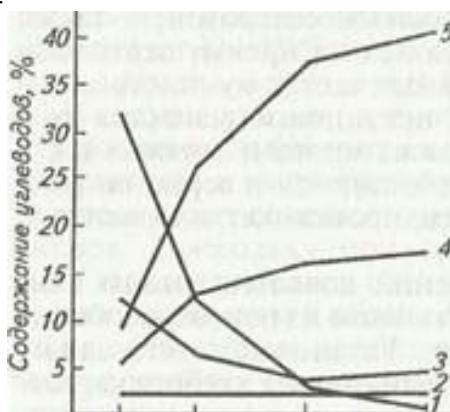
Кроме крахмала в зерновках злаков накапливаются и другие углеводы, но в меньших количествах: сахара — 2-5 % массы зерна, клетчатка — 2-3 % у голозерных и до 10-15 % у пленчатых форм, гемицеллюлозы, слизи, пектиновые вещества, полифруктозиды — в сумме до 18 %.

Сахара в зерне наполовину представлены сахарозой, а также моносахаридами, мальтозой и рафинозой; они преимущественно локализованы в зародыше и периферийных частях мучнистого эндосперма. Клетчатка, гемицеллюлозы, пектиновые вещества входят в состав клеточных стенок, и их также много в пленках и семенных оболочках. Полифруктозиды образуются в зерне на ранних стадиях созревания, в дальнейшем происходят их распад и превращение в другие углеводы.

В оболочках семян злаковых растений довольно много слизей — полисахаридов, построенных в основном из пентоз, особенно много слизей (2-3 %) в зерновках ржи. Установлено, что слизи, содержащиеся в зерне ржи, оказывают влияние на хлебопекарные качества ржаной муки. При увеличении количества слизей укрепляется тесто, улучшается его формоудерживающая способность, в результате оно не растекается при выпечке хлеба.

Запасные полисахариды зерна синтезируются из углеводных продуктов, поступающих из вегетативных органов - листьев, стеблей, колосковых чешуй. В репродуктивный период развития злаков наиболее высокой фотосинтетической активностью обладают листья верхнего яруса и колосья, тогда как в стеблях и листьях нижнего яруса усиливаются процессы распада веществ и происходит отток образующихся при распаде продуктов в формирующиеся зерновки. Из углеводистых веществ гидролизу подвергаются в той или иной степени все полисахариды. В ряде опытов установлено, что в процессе распада полисахаридов в вегетативных органах растений наряду с моносахаридами образуется много сахарозы, являющейся важной транспортной формой углеводов.

Наряду с крахмалом происходят также синтез и накопление гемицеллюлоз, пектиновых веществ, слизей.



**Рис. 3. Изменение содержания углеводов в созревающем зерне ржи, % сухой массы (по Кизелю, Кротовичу):**

У - фруктозиды; 2-целлюлоза; 3-сахара; гемицеллюлозы; 5-крахмал

При затягивании созревания, что очень часто бывает при влажной погоде или избыточном азотном питании, может наблюдаться снижение концентрации углеводов в зерне, и прежде всего крахмала, вследствие потерь на дыхание.

### 3. Липиды и витамины.

Важными качественными компонентами зерна являются также липиды и витамины, которые синтезируются непосредственно в созревающих семенах или поступают из вегетативных органов.

На первых этапах формирования зерна образуются главным образом структурные липиды (стеролы, фосфолипиды, гликолипиды), а в более поздние стадии происходит накопление их запасных форм - ацилглицеринов (жиров), свободных фосфатидных кислот, фитина, фосфатидилхолинов и фосфатидилэтаноламинов. Запасные липиды накапливаются преимущественно в зародыше и алейроновом слое, а в эндосперме их значительно меньше. Общее содержание структурных липидов в зрелом зерне злаковых растений составляет 0,5-0,9%, запасных - 1,5-3 %, а в зерновках овса, кукурузы, проса и сорго - 4-6 %.

Липиды зерновых культур содержат довольно много ненасыщенных жирных кислот, в том числе линолевой, относящейся к незаменимым кислотам, которые не могут синтезироваться в организме человека и животных. Фитин, содержащийся в зерне, представляет собой важный источник органического фосфора. Почти все запасные липиды, взаимодействуя с белками и углеводами в процессе созревания теста, улучшают хлебопекарные качества зерна.

Зерно и зерновые продукты — источники витаминов: тиамина (В<sub>1</sub>), рибофлавина (В<sub>2</sub>), пиридоксина (В<sub>6</sub>), никотиновой кислоты (РР), пантотеновой кислоты (В<sub>3</sub>), токоферола (Е) и др. Их содержание в зерне колеблется от 0,1 до 10 мг%: В<sub>1</sub> - 0,4-0,7, В<sub>2</sub> - 0,2-0,3, В<sub>6</sub> - 0,4-0,6, РР - 6-9, В<sub>3</sub> - 0,5-1,5, Е - 1-4.

Витамины группы В, никотиновая и пантотеновая кислоты откладываются в основном в тканях щитка зародыща, в самом зародыше и клетках алейронового слоя, тогда как их содержание в мучнистой части эндосперма в несколько раз ниже. Токоферол накапливается преимущественно в зародыше. В процессе созревания зерна содержание витаминов, как правило, увеличивается в 1,5-2 раза.

В зерновках кукурузы, пшеницы, проса, сорго в значительном количестве содержатся каротин (провитамин А), лютеин, зеаксантин и некоторые другие пигменты, ценность которых определяется в основном их влиянием на окраску зерна и получаемых из него продуктов. Желтый и кремовый цвета макаронной муки, различных круп, продуктов из кукурузного зерна определяются главным образом содержанием в них каротиноидов. На долю каротиноидов приходится 2-4 % липидной фракции зерна.

### **1.3. Лекция №3 (1 час).**

**Тема:** «Биохимия зернобобовых культур»

#### **1.3.1 Вопросы лекции:**

1. Накопление белков.
2. Накопление углеводов.
3. Липиды и витамины.

#### **1.3.2 Краткое содержание вопросов:**

##### **1. Накопление белков**

Зернобобовые культуры отличаются от зерновых злаков более высоким содержанием азотистых веществ, как в вегетативной массе, так и в семенах. Эти их особенности обусловлены тем, что они способны с помощью симбиотических микроорганизмов фиксировать молекулярный азот атмосферы и использовать его на синтез аминокислот и белков, в связи с чем бобовые культуры не испытывают дефицита азота даже при выращивании на сравнительно бедной почве.

Кроме того, зернобобовые культуры обладают более интенсивной системой синтеза запасных белков, в результате чего в их зерне в 2-3 раза больше белков, чем у злаковых растений. Наряду с белками ценность зерна зерновых бобовых культур также определяют крахмал, липиды, витамины и минеральные вещества.

Белки семян зернобобовых растений хорошо сбалансированы по содержанию незаменимых аминокислот и поэтому имеют высокую биологическую ценность. Особенно отличается в этом отношении такая культура, как соя, в белках которой концентрация незаменимых (кроме метионина и триптофана) аминокислот значительно выше, чем требуется по нормам питания людей или кормления сельскохозяйственных животных (табл.3.1).

Исходя из этого, белки сои могут быть использованы как добавка для обогащения незаменимыми аминокислотами других растительных белков, имеющих низкую биологическую ценность, например, запасных белков злаковых растений. Такими же

свойствами обладают белки и других зернобобовых культур - бобов, гороха, фасоли, люпина, вики и т.д. Большое количество белков локализовано в ростках семени (до 35-45 %) и значительно меньше их содержится в семенных оболочках (3-11 %). Концентрация белков в семядолях обычно составляет 25-30 %.

Основными запасными белками зернобобовых растений являются глобулины, на долю которых в общем белковом комплексе семян приходится 60-70 %. Большая часть этих белков представлена двумя типами глобулинов - легуминоподобные 11S-белки и вицилиноподобные 7S-белки. Соотношение между ними в зрелом зерне чаще всего 2:1.

Таблица -3.1. Содержание незаменимых аминокислот в белках зерна бобовых культур (% в белке)

Аминокислоты	Соя	Горох	Фасоль	Кормовые бобы	Чина	Эталон ФАО*
Лизин	6,6	5,6	5,7	8,3	5,9	4,2
Триптофан	1,3	1,3	1,8	1,8	1,7	1,4
Метионин	1,4	1,2	1,3	1,1	1,4	2,2
Треонин	3,8	4,7	4,1	4,6	4,8	2,8
Валин	5,4	3,9	4,9	4,6	5,4	4,2
Лейцин	7,9	6,3	8,1	8,2	9,3	4,8
Изолейцин	5,3	5,1	5,0	6,5	6,3	4,2
Фенилаланин	5,1	4,3	6,1	2,4	4,1	2,8

\* оптимальное содержание незаменимых аминокислот в кормовых белках для крупного рогатого скота, рекомендованное продовольственной и сельскохозяйственной организацией ООН.

**Легумины и вицилины** - запасные белки семян гороха; первые из них имеют молекулярную массу 300-360 тыс., вторые - 110-220 тыс. Как было выяснено, в семенах всех бобовых растений содержатся белки, сходные по многим свойствам с легуминами и вицилинами, - глицинин сои, фазеолин фасоли, конглоутин люпина и др. Как правило, эти белки имеют довольно сложную четвертичную структуру, включающую от 2 до 12 полипептидных субъединиц.

Кроме глобулинов в зерне бобовых содержатся альбумины в количестве 6-11 % от общей массы белков и глютелины – 5-15 %. Большая часть альбуминов локализована в зародыше, а глютелины - в основном в семядолях.

Запасные глобулины семян зернобобовых культур, как и запасные белки злаков, синтезируются с участием 80S-рибосом, связанных с мембранами ГЭР, и откладываются в вакуолях клеток семядолей в виде алейроновых зерен. По мере созревания семян клетки семядолей заполняются алейроновыми и крахмальными зернами, другими запасными веществами.

Водорастворимая фракция белков зерна бобовых (альбумины) содержит белки-ингибиторы протеолитических ферментов пищеварительной системы человека, что необходимо учитывать при использовании зерна и белков бобовых культур для приготовления пищевых продуктов. Наибольшее количество ингибиторных белков

выявлено в зерне сои и фасоли. В частности, в зерне сои идентифицировано два белковых ингибитора трипсина.

Кроме белков, в зерне зернобобовых культур содержатся другие азотистые вещества, но в значительно меньшем количестве – в среднем около 5 % от массы зерна. Фракция небелковых азотистых соединений включает свободные аминокислоты и их амиды, азотистые основания, липиды, нуклеотиды и нуклеиновые кислоты, фосфатидилхолины и фосфатидилэтаноламины, а также некоторые другие соединения азота. Наибольшую часть этой фракции составляют свободные аминокислоты, в том числе и незаменимые аминокислоты, которые вместе с аминокислотами белков повышают питательную ценность зерна зернобобовых культур.

Изучение биосинтетических процессов, происходящих в семенах бобовых при их созревании, показывает, что запасные белки в них образуются из аминокислот и амидов, поступающих из листьев и створок бобов. Начиная с фазы цветения, в этих органах усиливаются гидролитические процессы и начинается отток образующихся продуктов распада в репродуктивные органы. Значительное количество аминокислот и амидов поступает в созревающие семена из корней, где с помощью клубеньковых бактерий связывается атмосферный азот и восстанавливается до аммонийной формы.

На первых этапах формирования в семенах много содержится небелковых азотистых веществ структурных и каталитических белков, а запасных белков очень мало. В дальнейшем содержание небелковых азотистых веществ снижается и усиливается синтез запасных белков, однако общее количество белковых веществ в созревающем зерне не подвержено большим изменениям.

В процессе созревания в семенах заметно изменяется соотношение вицилино- и легуминоподобных белков. В незрелых семенах содержится очень много низкомолекулярных белков - вицилиноподобных глобулинов (до 70 % общего количества запасных белков), а в более поздние фазы созревания зерна усиливается синтез высокомолекулярных глобулинов - легуминоподобных белков. Общее количество белков в зрелом зерне зернобобовых культур обычно достигает 20-30 %, а в сое и люпине 30-40 %.

## 2.Накопление углеводов.

Основные углеводы, определяющие качество зерна зернобобовых культур, - это крахмал, сахара, гемицеллюлозы, клетчатка. Главный запасной углевод - крахмал, содержание которого в семенах различных зернобобовых культур колеблется в пределах 35-50 %. В сое и люпине его очень мало, в них накапливаются другие запасные вещества. Состав крахмала у многих бобовых культур примерно такой же, как у злаков, - 20-30 % амилозы и 70-80 % амилопектина. Однако в крахмале гороха доля амилозы может достигать 50-80 %.

В созревающих семенах запасной крахмал и другие полисахариды синтезируются из сахаров, образующихся в листьях, а также в створках бобов, в которых много содержится моносахаридов и крахмала. В процессе налива зерна крахмал в створках бобов распадается и образующиеся продукты поступают в семена. В листьях в это время также усиливается распад структурных полисахаридов (гемицеллюлоз, пектиновых веществ) и ассимиляционного крахмала. В процессе распада этих веществ наряду с моносахаридами и их фосфорнокислыми эфирами образуется много сахарозы.

На первых этапах созревания семян вследствие усиливающегося оттока углеводов из вегетативной массы в них много накапливается сахаров (до 30 % сухой массы), а крахмала содержится очень мало. Интенсивный синтез крахмала начинается во время налива зерна, тогда как концентрация сахаров в семенах в этот период понижается; происходит также образование других полисахаридов. От фазы восковой до полной спелости в зерне наблюдается постепенное снижение интенсивности синтеза крахмала вследствие сокращения поступления углеводов из листьев.

В зародышах семян зернобобовых культур накапливается значительное количество сахаров, представленных в основном сахарозой, а в оболочках семян синтезируется много клетчатки и пентозанов. Общее содержание сахаров в семенах бобовых обычно составляет 3-5 %, клетчатки 3-6 %, а у некоторых культур может достигать 10-15 %. У люпина в процессе созревания семян много синтезируется гемицеллюлоз и пектиновых веществ.

### 3. Липиды и витамины.

У большинства бобовых культур содержание в зерне липидов составляет 2-3 % и они в основном представлены жирами и фосфолипидами, которые локализованы преимущественно в зародыше. В семядолях синтезируются структурные липиды. У некоторых бобовых растений в семенах может накапливаться значительно больше липидов, главным образом за счёт синтеза жиров (нут, люпин, соя). Особенно много жира содержится в зерне сои (18-25%), у которой поступающие из вегетативных органов углеводы используются не на синтез крахмала, а на образование ацилглицеринов, в связи с чем, соя является не только высокобелковой, но и масличной культурой.

Наряду с липидами в зародышах семян зернобобовых культур накапливается много жирорастворимых витаминов и особенно токоферола (10-50 мг% массы семян), а в оболочках семян - водорастворимых витаминов: В<sub>1</sub> (0,5-1 мг%), В<sub>2</sub> (0,2-0,3 мг%), В<sub>5</sub> (1-2 мг%), РР (2-4 мг%), фолиевая кислота (0,3-0,4 мг%). Количество этих витаминов увеличивается в процессе созревания семян, в результате чего питательная и кормовая ценность зерна повышается. В незрелых семенах зернобобовых культур содержится много аскорбиновой кислоты. В зелёном горошке концентрация этого витамина составляет 30-50 мг%.

## 1.4. Лекция №4 (1 час).

**Тема:** «Биохимия масличных и технических культур»

### 1.4.1 Вопросы лекции:

1. Накопление жиров.
2. Накопление белков.
3. Углеводы.

### 1.4.2 Краткое содержание вопросов:

#### 1. Накопление жиров.

Масличные растения возделывают с целью получения растительных жиров, называемых маслами, которые синтезируются и накапливаются как запасные вещества в семенах. Кроме жиров, ценность семян масличных растений также определяется содержанием в них белков, хорошо сбалансированных по аминокислотному составу, и растворимых в жирах витаминов. Исходя из особенностей химического состава семян масличных культур, видно, что основное направление их хозяйственного использования - получение растительных масел и жмыхов, которые образуются как побочные продукты после экстракции масла и характеризуются высоким содержанием белков (40-50% сухой массы).

Основные запасные вещества семян масличных растений - жиры, или ацилглицерины, содержание которых в семенах льна, конопли, горчицы, подсолнечника составляет 30-50 %, а в маке и клещевине достигает 50-60 %. В семенах сои, хлопчатника, кориандра количество жира значительно ниже - 17-25 %.

**Растительные жиры** - богатые энергией продукты и при их окислении высвобождается значительно больше энергии, чем при окислении такой же массы углеводов или белков. Установлено, что энергетическая ценность 1 г жира в среднем составляет 39 кДж, углеводов - 17 кДж, белков - 22-24 кДж. Питательная ценность жиров

определяется также содержанием в них полиненасыщенных жирных кислот - линолевой и линоленовой, которые не синтезируются в организме человека и животных и должны поступать с пищей. В связи с этим растительные жиры представляют собой важные источники незаменимых жирных кислот для человека и сельскохозяйственных животных. В маслах льна, конопли, мака, подсолнечника, сои, хлопчатника, арахиса содержание этих кислот достигает 40-80% общего количества жирных кислот.

Жиры откладываются в ядрах семян, образуя упорядоченные внутриклеточные структуры, называемые сферосомами. Сферосомы – это сферические частицы диаметром 0,5 мкм, окружённые липопротеиновой мембраной. Кроме жиров, в сферосомах содержатся фосфолипиды, фитин и ферменты, участвующие в гидролизе жиров (во время прорастания семян). Образование структурных компонентов жира - глицерина, насыщенных и ненасыщенных с одной двойной связью жирных кислот - происходит в цитоплазме, а ненасыщенных жирных кислот с двумя и тремя двойными связями и ацилглицеринов - в гладком эндоплазматическом ретикулуме. Синтезируются жиры из углеводов, поступающих в семена из листьев, стеблей и элементов соцветия.

Вскоре после цветения в завязавшихся семенах довольно интенсивно синтезируются структурные элементы клеток, каталитические белки, крахмал, нуклеиновые кислоты. В этот период в семенах также содержится много растворимых углеводов и небелковых азотистых веществ, а жира очень мало. Интенсивное превращение углеводов в жир начинается после того, как завершается формирование семенных тканей, которое продолжается у большинства масличных культур 2-3 недели.

Накопление жира сопровождается уменьшением концентрации сахаров, крахмала, пентозанов. О начале интенсивного синтеза жиров можно судить по изменению дыхательного коэффициента, который в этот период значительно повышается. Интенсивный синтез жира продолжается почти до полного созревания семян и заметно снижается лишь в самом конце их созревания. Динамика содержания жиров и углеводов в созревающих семенах масличных культур показана на примере клецвины.

Степень зрелости семян оценивают по изменению кислотного числа, характеризующего содержание в масле свободных жирных кислот. На первых этапах созревания семян кислотное число обычно составляет 30-40 мг КОН на 1 г масла, что свидетельствует о высоком содержании свободных жирных кислот и низкой скорости синтеза жиров. К концу созревания семян кислотное число понижается до 1,5-2,5.

В процессе созревания семян изменяется качество масла, которое зависит от состава жирных кислот. Масло из незрелых семян отличается повышенным содержанием насыщенных кислот - пальмитиновой и стеариновой, вследствие чего йодное число такого масла очень низкое. По мере созревания семян усиливается синтез ненасыщенных кислот, и особенно полиненасыщенных - линолевой и линоленовой, в связи с чем, йодное число повышается на 20-30 единиц и более. Так, например, в процессе созревания семян подсолнечника количество пальмитиновой и стеариновой кислот уменьшается от 25-30% до 6-10% общего количества жирных кислот в масле, а содержание линолевой кислоты удваивается и составляет в масле зрелых семян 65-80%. Содержание в масле олеиновой кислоты также снижается.

В семенах льна в процессе созревания повышается интенсивность синтеза линоленовой кислоты и включение её в состав ацилглицеринов, тогда как количество других кислот в масле уменьшается.

В семенах масличных культур накапливаются и другие липиды, главным образом фосфолипиды, стероидные липиды (0,1-1 %) и фитин (1-3%), которые при экстракции растворяются в масле. В растительных жирах содержатся также жирорастворимые витамины, особенно много токоферола (витамина Е) - 50-100 мг%. Фосфолипиды, фитин, жирорастворимые витамины - ценные компоненты растительного масла, повышающие его питательную ценность, их содержание в процессе созревания семян существенно повышается.



При уборке незрелых семян масличных растений возможен значительный недобор растительных жиров, других липидов, витаминов. Масло, полученное из таких семян, характеризуется низким качеством (низкое йодное и повышенное кислотное число).

## **2.Накопление белков.**

У большинства масличных культур основные белки семян – глобулины, на их долю приходится 55-70 % от общего количества белков, тогда как альбумины составляют 10-28 %, глютелины 10-15 %. В семенах льна и арахиса больше альбуминов – до 40-50 % общей суммы белков и меньше глобулинов – 30-35 %. В семенах горчицы много содержится глютелинов – 20-30 %, но понижено количество глобулинов (20-40 %).

В связи с тем, что основную часть белков семян масличных культур составляют глобулины и альбумины, суммарные белки семян хорошо сбалансированы по содержанию незаменимых аминокислот и поэтому имеют высокую биологическую ценность (80-90 %). Общее количество белков в семенах масличных растений 15-30 %. Запасные белки синтезируются в семенах из аминокислот, поступающих из вегетативных органов растений. Механизм синтеза примерно такой же, как у зернобобовых культур.

На первых этапах созревания семян в основном образуются структурные, каталитические и регуляторные белки, а синтез запасных белков начинается несколько позже, когда заканчивается формирование семенных тканей, и продолжается до полного созревания семян. Концентрация небелковых соединений азота в процессе созревания семян понижается.

В белковом комплексе семян в процессе их формирования увеличивается концентрация высокомолекулярных белков - глобулинов. У некоторых культур наблюдается накопление глютелинов (в горчице до 30 % общего количества белков). Кроме белков, в семенах масличных растений в небольшом количестве содержатся небелковые азотистые вещества – свободные аминокислоты и их амиды, азотистые основания, нуклеиновые кислоты.

## **3.Углеводы.**

В семенах масличных растений не откладывается крахмал, так как у них основным запасным веществом является жир. Однако в ядрах семян содержится 2-5 % сахаров, значительную часть которых представляет сахароза. Кроме того, в тканях ядер семян имеются структурные углеводы – 2-6 % клетчатки, гемицеллюлоз и пектиновых веществ. Оболочки семян в основном состоят из целлюлозы и гемицеллюлоз, а также пектиновых веществ.

В целых семенах масличных культур, имеющих более толстую оболочку, количество клетчатки обычно составляет 15-25 % (подсолнечник, конопля, клещевина, хлопчатник, кориандр). У других масличных культур в семенах содержится меньше клетчатки – 5-10 %. Содержание гемицеллюлоз и других углеводов изменяется в довольно значительных пределах – 10-25 %, а в семенах клещевины оно составляет 2-14 %.

### **1.5.Лекция №5 (1 час).**

**Тема:** «Биохимия картофеля, корнеплодов»

#### **1.5.1 Вопросы лекции:**

1. Накопление крахмала и других углеводов.
- 2.Накопление азотистых веществ.
- 3.Динамика других соединений.
- 4.Корнеплоды
- 5.Накопление углеводов.
- 6.Азотистые вещества.
- 7.Липиды и витамины.

### 1.5.2 Краткое содержание вопросов:

#### 1. Накопление крахмала и других углеводов.

Хозяйственная ценность картофеля определяется довольно высоким содержанием в его клубнях крахмала, белков, аскорбиновой кислоты и других веществ. На кулинарные свойства картофеля также очень сильное влияние оказывают сахара и небелковые азотистые вещества. В связи с тем, что картофель даёт высокий выход полезных веществ с 1 га, эта культура является важным источником возобновляемых природных ресурсов, используемых в качестве сырья для пищевой и биотехнологической промышленности.

В сырых клубнях картофеля содержание крахмала чаще всего составляет 12-18%, и он представлен двумя полисахаридами - амилозой и амилопектином. В среднем на долю амилозы в клубнях картофеля приходится 20-25% общего количества крахмала.

Полисахариды крахмала синтезируются в клубнях из углеводов, поступающих по флоэме из надземных органов, и откладываются в клетках запасающей паренхимы в виде крахмальных зёрен, большая часть которых сконцентрирована в камбиальном слое и внешней части сердцевины, значительно меньше их содержится во внутренних слоях сердцевины.

Величина крахмальных зёрен оказывает влияние на кулинарные свойства картофеля. Установлено, что если крахмальные зёрна имеют диаметр менее 20 мкм, то они при варке картофеля сильнее набухают, вызывая разрыв клеточных стенок, в результате клубни приобретают полужидкую консистенцию.

В начале клубнеобразования, когда происходит интенсивное формирование структурных элементов клеток, скорость синтеза крахмала невелика и его содержание в молодых клубнях не превышает 8-10%. Однако в период интенсивного клубнеобразования синтез крахмала заметно усиливается и его концентрация в клубнях возрастает до 15-20% (рис. 60). На завершающих этапах созревания, когда происходит отмирание листьев, количество крахмала в клубнях картофеля может понижаться вследствие прекращения притока углеводов из надземных органов и их расхода на дыхание.

В зависимости от интенсивности синтеза крахмала изменяется содержание сахаров, в молодых клубнях их концентрация в несколько раз выше, чем в зрелых.

Количество сахаров заметно повышается при хранении клубней, особенно при пониженной температуре, когда процессы образования крахмала ингибируются сильнее, чем его распад, в результате значительная часть крахмала превращается в сахара и клубни приобретают сладкий вкус.

Повышение концентрации сахаров в клубнях картофеля ухудшает их технологические свойства, так как при тепловой обработке клубней сахара взаимодействуют с аминокислотами, вследствие чего образуются тёмноокрашенные продукты - меланоидины, ухудшающие качество получаемых пищевых продуктов. В целях предотвращения повышения концентрации сахаров рекомендуется хранение клубней картофеля при температуре не ниже 3-4<sup>0</sup>С. При более высокой температуре усиливается дыхание клубней и жизнедеятельность микроорганизмов, что приводит к быстрой порче картофеля.

Для закладки на хранение, а также переработки в различные пищевые продукты следует использовать только зрелые клубни, имеющие более низкую концентрацию сахаров.

В полностью вызревших и не подвергнутых хранению клубнях картофеля концентрация сахаров обычно не превышает 0,6-0,9 %, а в процессе хранения может возрасти до 3-4 %. Более половины содержащихся в клубнях сахаров представлены сахарозой.

В кожуре клубней картофеля откладывается много пектиновых веществ и клетчатки. Среднее содержание клетчатки в клубнях составляет около 1 %, пектиновых веществ 0,5-

0,7 %. Пектиновые вещества клубней картофеля на 80-90 % представлены протопектинами.

## 2. Накопление азотистых веществ.

Большая часть азотистых веществ клубней картофеля представлена белками, тогда как на долю небелковых форм азота обычно приходится 30-40%. Больше азотистых веществ накапливается в кожуре и сердцевине клубня и значительно меньше в камбиальном слое и периферийной части сердцевины.

Белки клубней на 50-65% состоят из запасных форм - глобулинов, тогда как альбумины составляют 20-30% и глютелины 15-20% общего количества белков. Они довольно хорошо сбалансированы по составу незаменимых аминокислот, вследствие чего имеют высокую биологическую ценность (80-85% по сравнению с белками молока или яйца).

Небелковые азотистые вещества клубней картофеля примерно на 90% представлены свободными аминокислотами и их амидами, однако сбалансированность этой фракции по содержанию незаменимых аминокислот хуже, чем белков. Поэтому в целях улучшения качества клубней при выращивании картофеля желательно добиваться увеличения доли белков и снижения концентрации свободных аминокислот, тем более, что, как указано выше, свободные аминокислоты участвуют в реакциях меланоидинообразования, снижающих качество пищевых продуктов, получаемых при переработке картофеля.

Свободные аминокислоты также могут быть причиной потемнения тканей клубня в результате окисления кислородом воздуха тирозина и фенилаланина под действием фермента тирозиназы. Образующиеся продукты - меланины - представляют собой вещества чёрного цвета.

Интенсивность синтеза белков в процессе клубнеобразования постепенно повышается и существенно возрастает на завершающих этапах их созревания. Синтезируются белки из аминокислот, поступающих в клетки клубней из корней и листьев растений.

Концентрация в клубнях белков оказывает заметное влияние на формирование кулинарных свойств картофеля, при этом важное значение имеет соотношение белков и крахмала. При чрезмерном повышении белковости клубней они после варки имеют очень вязкую консистенцию, тогда как при слишком высокой концентрации крахмала клубни при варке растрескиваются. Выяснено, что хорошие кулинарные качества имеет картофель, у которого отношение крахмал/белки находится в пределах 12-16.

На практике для оценки количества белков и общего содержания азотистых веществ в клубнях картофеля используется показатель - сырой протеин. Среднее содержание сырого протеина в картофеле обычно составляет 1,5-2% сырой массы клубней.

## 3. Динамика других соединений.

Кроме белков и углеводов питательную и кормовую ценность клубней картофеля определяют также органические кислоты, липиды, витамины, гликоалкалоиды.

Содержание органических кислот в картофеле достигает 1-1,5% сырой массы клубней, преобладающими являются лимонная и яблочная. В процессе созревания клубней концентрация в них кислот постепенно понижается.

Количество липидов в клубнях в среднем составляет 0,1%, больше их накапливается в перидерме и меньше в сердцевине. В составе липидов ненасыщенные и насыщенные кислоты находятся примерно поровну, однако при хранении клубней доля ненасыщенных жирных кислот возрастает, что улучшает биологическую ценность липидов. В процессе созревания количество липидов в клубнях почти не изменяется.

**Картофель** - важный источник аскорбиновой кислоты, содержание которой в зрелых клубнях составляет 15-25 мг%, а в молодых может достигать 40 мг%. В процессе созревания клубней содержание в них аскорбиновой кислоты снижается, увеличивается

доля её дегидроформы. Особенно заметно понижается концентрация этого витамина при хранении (за зимний период в 2-3 раза).

Содержание в картофеле других витаминов изменяется меньше и в среднем составляет, мг%: В<sub>1</sub> и В<sub>2</sub> - 0,05-0,1, В<sub>6</sub> - 0,2-0,9, РР - 0,5-1,5, пантотеновой кислоты - 0,2-0,4, К<sub>1</sub> - 0,05-0,1, фолиевой кислоты - 0,05-0,1.

В зависимости от состава сахаров различают две группы гликоалкалоидов - соланины и чаконины, обладающие токсическим действием на организм человека и животных.

Большая часть гликоалкалоидов локализована в коже и значительно меньше их содержится в запасающей ткани. При созревании клубней количество гликоалкалоидов в них понижается в 2-3 раза и в зрелых клубнях не превышает 4-5 мг%. Картофель, содержащий свыше 20 мг% соланинов и чаконинов, не пригоден для употребления в пищу и на корм скоту. Концентрация гликоалкалоидов резко возрастает при позеленении клубней.

#### 4. Корнеплоды

Характерная особенность **корнеплодов** - способность накапливать в клетках запасающих тканей большое количество сахаров, которые главным образом и определяют их хозяйственную ценность. При оценке качества сахарной свеклы, кроме сахаров, учитывается также содержание небелковых азотистых веществ (вредный азот) и солей калия и натрия, снижающих выход сахара при переработке корнеплодов. Питательная ценность кормовых и столовых корнеплодов зависит также от содержания в них полисахаридов, белков и небелковых азотистых соединений, витаминов минеральных веществ.

#### 5. Накопление углеводов.

Углеводный комплекс корнеплодов на 70-80% представлен легкорастворимыми формами - сахарозой и моносахаридами, которые обычно называют сахарами. Больше всего сахаров содержится в корнеплодах сахарной свёклы - 16-20% и основную часть их (80-90%) составляет сахароза. Общее количество моносахаридов (глюкозы и фруктозы) не превышает 1% от сырой массы корнеплода. Кроме сахарозы, в корнеплодах сахарной свёклы также образуется небольшое количество других олигосахаридов - мальтозы и рафинозы.

В корнеплодах кормовой и столовой свёклы, моркови, турнепса среднее содержание сахаров - 7-12%, в репе, редисе и редьке - 5-8%. У столовой и кормовой свёклы, турнепса состав сахаров примерно такой же, как у сахарной свёклы, а в корнеплодах репы большая часть сахаров представлена моносахаридами (80%). Много моносахаридов содержится и в моркови.

Сахара в корнеплодах в наибольшем количестве накапливаются в клетках запасающей ткани, концентрируясь в основном в вакуолях, а в других тканях их содержание существенно ниже. В корнеплодах свёклы максимальная концентрация сахара наблюдается в наиболее широкой части корня (шейке) между периферической и центральной зонами. Минимальное количество сахаров содержится в верхней части корнеплода - головке. В корнеплодах моркови больше сахаров накапливается в периферийных тканях и значительно меньше - в центральной части.

Накопление сахаров в корнеплодах определяется двумя главными факторами - поступлением углеводов из листьев и интенсивностью синтеза сахарозы в корнях. Важным условием для процессов сахаронакопления в корнеплодах является развитие фотосинтетического аппарата растений. При создании мощного ассимиляционного аппарата в листьях образуется много растворимых углеводов и крахмала, которые, превращаясь в транспортные формы, обеспечивают постоянный приток моносахаридов и сахарозы в корнеплоды.

Синтез сахарозы из моносахаридов в запасующих тканях у разных корнеплодов происходит с неодинаковой скоростью. Наиболее интенсивный он у сахарной свёклы и очень слабый в корнеплодах репы. Накопление сахаров зависит также от продолжительности вегетации растений, обычно раннеспелые корнеплоды характеризуются низким содержанием сахара.

Динамика содержания сахаров у разных корнеплодов также неодинакова. У сахарной свёклы в молодых корнеплодах содержится значительно меньше сахаров, чем в зрелых, и сахара в основном представлены моносахаридами, поэтому отношение количества сахарозы к содержанию моносахаридов обычно находится на очень низком уровне.

В процессе роста и развития корнеплодов сахарной свёклы общее содержание сахаров в них увеличивается в 2.5-3 раза, при этом происходит значительное усиление биосинтетических реакций, связанных с синтезом сахарозы, в результате чего отношение сахарозы к моносахаридам во время созревания корнеплодов постоянно увеличивается. При уборке недозрелых корнеплодов сахарной свёклы отмечается значительный недобор продовольственного сахара.

У кормовых и столовых корнеплодов в динамике содержания сахаров в процессе их роста и развития наблюдаются примерно такие же изменения, как и у сахарной свёклы, однако параметры этих изменений значительно меньше. Например, содержание сахаров в молодых и зрелых корнеплодах моркови и редьки различается на 1-2%, у кормовой и столовой свёклы, турнепса - на 3-5%. При длительном хранении часть сахаров в корнеплодах используется на дыхание, вследствие чего общая их концентрация уменьшается.

Из полисахаридов в корнеплодах довольно много содержится пектиновых веществ (1,5-2,5% массы корня) и гемицеллюлоз (до 1.5%), в моркови - крахмала (до 1%). Эти соединения относятся к легкоусвояемым формам углеводов и поэтому повышают питательную ценность корнеплодов. Клетчатки больше содержится в незрелых корнеплодах, в которых происходит интенсивное формирование структурных элементов запасующих и других тканей, а к концу созревания корнеплодов её концентрация снижается.

В полностью сформировавшихся корнеплодах свёклы содержание клетчатки колеблется в пределах 0.5-1%, в моркови - 1.5-2%. Много клетчатки образуется в корнеплодах при засухе и недостатке питательных элементов, а также у цветущих растений, в результате резко понижается переваримость всех органических веществ корнеплодов и, следовательно, ухудшается их питательная ценность.

#### 6. Азотистые вещества.

**Азотистые вещества корнеплодов** - белки, свободные аминокислоты, амиды, нуклеиновые кислоты и продукты их распада. Белки составляют 40-60% общего количества азотистых веществ, содержащихся в корнеплодах, свободные аминокислоты и амиды - 30-40%. Белки корнеплодов на 60-70% представлены легкорастворимыми формами - альбуминами и глобулинами, хорошо сбалансированными по содержанию незаменимых аминокислот. Фракция свободных аминокислот также содержит незаменимые аминокислоты и поэтому повышает биологическую ценность азотистых веществ корнеплодов.

Содержание белков и небелковых азотистых веществ изменяется в процессе роста и созревания корнеплодов. В молодых корнеплодах содержится больше азотистых веществ, чем в зрелых. Особенно много белков и небелковых азотистых соединений наблюдается в корнях перед началом интенсивного сахаронакопления, к концу созревания концентрация азотистых веществ в корнеплодах снижается в 1.5-2 раза.

Для оценки питательных свойств корнеплодов обычно определяют общее содержание азотистых веществ в пересчёте на белки и этот показатель называют "сырым

протеином" или "сырым белком". Для того чтобы получить сырой протеин определяют содержание общего азота и умножают его на коэффициент пересчета - 6.25. В зрелых корнеплодах количество сырого протеина составляет 1-1.5%.

Чтобы повысить сбалансированность кормовых корнеплодов по содержанию белков проводится селекционная работа, направленная на получение генотипов, отличающихся повышенным накоплением в корнях полноценных белков, а также разрабатываются технологии выращивания этих культур, обеспечивающие изменение биосинтетических процессов в корнеплодах в направлении более интенсивного синтеза белков. При культивировании сахарной свёклы повышенное содержание азотистых веществ, и особенно аминокислот и бетаина, не допускается, так как они снижают выход сахара в процессе промышленной переработки корнеплодов.

#### 7. Липиды и витамины.

Большинство корнеплодов содержат в своих тканях 0,1-0,2 % липидов, в моркови 0,2-0,3 %. Богаче липидами периферические части корнеплодов. Липидный комплекс корнеплодов представлен структурными липидами и ацилглицеринами. В составе ацилглицеринов корнеплодов повышено содержание ненасыщенных жирных кислот, поэтому образующиеся из них жиры характеризуются низкими йодными числами.

Все корнеплоды являются важными источниками аскорбиновой кислоты для человека и сельскохозяйственных животных. В редисе, репе и редьке её содержание достигает 20-40 мг %, в моркови и столовой свёкле - 5-20 мг %, в кормовой свёкле и турнепсе - 3-6 мг % от массы корней. В корнеплодах моркови много синтезируется каротина (провитамина А) - 6-8 мг %. В кормовой свёкле и турнепсе количество каротина значительно меньше - 2-5 мг %. В корнеплодах содержатся другие витамины: тиамин, рибофлавин, пиридоксин - по 0.1-0.2 мг %, никотиновая кислота - 0,5-2 мг %, пантотеновая кислота - 0.1-0.5 мг %, фолиевая кислота - 0.1-2 мг % и цитрин 30-50 мг %.

### 1.6. Лекция №6 (1 час).

**Тема:** «Биохимия овощей, плодов и ягод»

#### 1.6.1 Вопросы лекции:

1. Накопление сахаров и других углеводов.
2. Азотистые вещества.
3. Органические кислоты.
4. Липиды и витамины.
5. Плодово-ягодные культуры
6. Динамика углеводов.
7. Органические кислоты.
8. Азотистые вещества.
9. Витамины.

#### 1.6.2 Краткое содержание вопросов:

##### 1. Накопление сахаров и других углеводов

Основные химические компоненты **овощных растений** - сахара, белки, органические кислоты, витамины, минеральные вещества. Важным показателем, характеризующим питательную ценность овощей, является также содержание сухих веществ, определяющих выход полезной продукции. У многих овощей содержание сухих веществ вследствие высокой оводнённости тканей небольшое (4-9%). Оно значительно больше у капусты и лука (10-15 %), а также чеснока (30-35 %).

В продуктивных органах овощных растений накапливается довольно много сахаров - 3-8 % сырой массы, а в сухом веществе овощей концентрация сахаров может достигать

40-60%. Очень мало сахаров содержится в огурцах 1-1,5%. Сахара овощей на 70-90% представлены глюкозой, фруктозой и сахарозой. В капусте, томатах, перце, огурцах, баклажанах, зелёном горошке, арбузах преобладают моносахариды, а в луке - сахароза. В дынях моносахариды и сахароза представлены примерно поровну.

Крахмала в большинстве овощей содержится очень мало - не более 0,1% и лишь в листовых овощах его концентрация составляет 0,5-2 %, а в зелёном горошке – до 5-7 %. В чесноке образуется довольно много полифруктозидов - 20-30% сырой массы. В овощах содержатся также пектиновые вещества в количестве 0,3-0,6%, а в капусте - до 1-2%, в томатах пектиновых веществ меньше – 0,1-0,2 %. Все эти углеводы относятся к легкоусвояемым веществам и поэтому повышают питательную ценность овощной продукции.

Питательные свойства овощей зависят от количества в них клетчатки. При повышении её содержания ухудшается переваримость всех питательных веществ овощей. У большинства овощей содержание клетчатки составляет 0.5-1%, у томатов - 0.2%, у капусты - 1-2%.

В процессе созревания овощей содержание в них легкоусвояемых углеводов увеличивается, а количество клетчатки уменьшается. Так, например, количество сахаров в незрелых плодах томатов, перцев, баклажан на 1-1.5% ниже, чем в зрелых. В репчатом луке количество сахаров при созревании луковиц увеличивается в 1.5-2 раза. При дозревании овощей вне растения содержание сахаров снижается вследствие их расхода на дыхание. В результате старения растений у листовых и ряда других овощей (огурцы, кабачки, патиссоны) повышается содержание клетчатки, вследствие чего резко снижается их питательная ценность.

По характеру углеводного обмена от других овощей отличаются овощной горох, овощная фасоль и сахарная кукуруза. У этих овощей при созревании происходит превращение сахаров в крахмал, поэтому концентрация сахаров у них в процессе формирования продуктивных органов понижается, а содержание крахмала увеличивается в 2-3 раза. Процесс превращения сахаров в крахмал продолжается и при хранении указанных овощей, что снижает их товарные качества.

## 2. Азотистые вещества.

Овощные растения - ценные источники полноценных белков и незаменимых аминокислот. Общее количество сырого протеина в них обычно составляет 0.5-2% сырой массы, а в пересчёте на сухое вещество - 10-30%. У некоторых овощей накапливается очень много белков и других азотистых веществ: в цветной капусте и овощной фасоли – 2-4 % сырого протеина, в брюссельской капусте и зелёном горошке – 5-6 %, в чесноке – до 8 %. У большинства овощей азотистые вещества на 40-60% состоят из свободных аминокислот и их амидов, у перцев и капусты в составе азотистых веществ преобладают белки (60-70% сырого протеина).

Белки овощей обладают высокой биологической питательной ценностью, так как на 60-70% представлены легкопереваримыми формами (альбуминами и глобулинами), хорошо сбалансированными по содержанию незаменимых аминокислот. Фракция небелкового азота также содержит все незаменимые аминокислоты и, следовательно, повышает питательную ценность азотистых веществ овощей.

При созревании овощей в них довольно интенсивно происходит синтез азотистых веществ, однако общее их содержание во многом определяется накоплением сахаров и других углеводов. В незрелых овощах, имеющих мало сахаров, очень часто содержание сырого протеина выше, чем в зрелых. Более заметно это выражено у зеленных овощей.

## 3. Органические кислоты.

В тканях большинства овощей накапливается значительное количество органических кислот, в количестве 0,1-1,5 % сырой массы. Меньше их содержится в луке,

огурцах, капусте, дынях, арбузах в листьях шпината – 0,1-0,2 %, значительно больше в томатах (0,5%), щавеле и ревене (1-1,5 %). Во многих овощах преобладает яблочная кислота, в щавеле и ревене – щавелевая кислота, в капусте много лимонной кислоты, в томатах содержится яблочная и лимонная кислоты, а в перезревших томатах – янтарная кислота. Кроме указанных кислот в овощах в небольших количествах присутствуют уксусная, щавелевоуксусная, пировиноградная, фумаровая, изолимонная и некоторые другие кислоты.

Кислоты в овощах в основном находятся в свободном состоянии, однако в листовых овощах они связаны с катионами металлов, поэтому у них pH клеточного сока близок к нейтральному (6,2-6,9). У других овощей клеточный сок имеет слабокислую реакцию (pH 4,5-6), а у щавеля и ревеня ощущается кислый вкус (pH 3,5-4). В процессе созревания овощей концентрация органических кислот, как правило, повышается, однако усиления кислого вкуса не наблюдается, так как одновременно происходит накопление сахаров.

#### 4. Липиды и витамины.

В паренхимных тканях овощей на долю липидов приходятся десятые доли процента (0,1-0,3 %). Однако в листовых овощах количество липидов значительно больше (0,5-1 %). Особенно много их в семенах некоторых овощей – тыквы, кабачков (45-55 %). В составе жиров овощей преобладают ненасыщенные жирные кислоты, что свидетельствует об их высокой биологической ценности. В овощах много содержится аскорбиновой кислоты, цитрина и провитамина А - каротина.

Для большинства овощей содержание аскорбиновой кислоты составляет 10-60 мг%, а в цветной капусте, перцах, укропе и петрушке - до 100-200 мг%. При варке овощей аскорбиновая кислота в них частично разрушается. Её содержание также уменьшается в процессе хранения овощей. Большое количество веществ, обладающих Р-витаминной активностью, накапливается в перцах, баклажанах, листовых овощах - 50-250 мг%. Много каротина содержится в листовых овощах (4-10 мг%), томатах и перце (1-4 мг%).

Содержание в овощах других витаминов составляет в среднем, мг%: Е - 3-10; К - 2-5; В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>6</sub> - по 0,05-0,1; РР – 0,1-0,2; пантотеновая кислота – 0,1-0,5; фолиевая кислота – 0,1-0,6. Овощи - основные источники витамина U. Особенно много его содержится в капусте, томатах, сельдерее (25-80 мг %), а также в спарже (100-150 мг %).

Содержание витаминов в овощах зависит от фазы развития растений. У листовых овощей максимальное накопление витаминов наблюдается в ранние фазы их развития, а в дальнейшем содержание витаминов в вегетативной массе растений уменьшается. Такая же закономерность наблюдается у капусты и репчатого лука. У других овощных растений (томаты, перцы, баклажаны, огурцы) по мере созревания плодов концентрация витаминов существенно возрастает.

#### 5. Плодово-ягодные культуры.

**Плодово-ягодные культуры** выращивают с целью получения плодов и ягод, богатых сахарами, органическими кислотами, пектиновыми и минеральными веществами, витаминами и другими полезными химическими соединениями, определяющими питательную и биологическую ценность плодово-ягодной продукции. Накопление ценных для человека органических веществ происходит в паренхимных тканях плодов, образующих плодовую мякоть, а в семенах откладываются запасные вещества, необходимые для образования проростков. Семена и плодовые оболочки в питательном отношении не представляют ценности, поэтому в пищу и для переработки не используются. Плоды и ягоды представляют собой сочные растительные продукты, в которых повышено содержание воды, а сухое вещество составляет 10-20 %.

Плодовая мякоть образуется в результате разрастания околоплодника под воздействием фитогормонов, поступающих из семенных тканей, где происходит их синтез. Клетки околоплодника начинают усиленно делиться, вызывая интенсивный рост



плодов. В дальнейшем происходит формирование зародыша и эндосперма, которое сопровождается значительными изменениями биохимических процессов во всех тканях плодов. В этот период, хотя рост плодов за счёт образования новых клеток и замедляется, продолжается интенсивное увеличение их массы вследствие усиления биосинтетических процессов и накопления сухого вещества, в связи с чем ранняя уборка плодов приводит к недобору урожая и ухудшению его качества.

Наиболее высокая активность биосинтетических процессов в созревающих плодах наблюдается в период максимальной активизации дыхания, которое называют климактерическим подъёмом дыхания. После прохождения климактерической фазы созревания начинается уже период старения плодов. В процессе созревания плодов происходит синтез веществ, необходимых для формирования полноценных в биологическом отношении репродуктивных органов, - специфических белков, липидов, различных веществ, обуславливающих вкус и аромат плодов, структурных элементов покровных тканей, витаминов и некоторых других веществ.

Важную роль в процессах созревания плодов играют фитогормоны, и особенно этилен, образующийся в тканях околоплодника. На первых этапах созревания плодов и ягод действие этилена подавляется ауксином, в дальнейшем после завершения формирования семенных тканей концентрация ауксина снижается и усиливается синтез этилена. Под влиянием этилена повышается дыхание и проницаемость клеточных мембран, а также ускоряются превращения запасных веществ, которые вначале подвергаются окислению, а на завершающих этапах созревания плодов - декарбоксилированию.

#### 6. Динамика углеводов.

На ранних стадиях образования плодов и ягод в них много синтезируется структурных углеводов - пектиновых веществ, гемицеллюлоз, клетчатки, а у некоторых культур образуется крахмал. При переходе плодово-ягодных культур к стадии созревания плодов в них активизируются процессы превращения полисахаридов в сахара (рис. 63, 64), причём состав этой фракции определяется спецификой обмена веществ данной культуры. В ягодах очень мало синтезируется сахарозы и фракция сахаров в них представлена в основном глюкозой и фруктозой. В других плодах, кроме глюкозы и фруктозы, образуется много сахарозы. Из моносахаридов в семечковых плодах обычно преобладает фруктоза, а в косточковых - глюкоза.

Общее количество сахаров в плодах и ягодах в среднем составляет 6-12% сырой массы, в лимоне - 1-3%, персиках, хурме некоторых сортах яблок - 12-20%, а в винограде - до 26%. Накопление в плодах углеводов зависит от сроков вегетации растений, вследствие чего поздние сорта характеризуются более высоким содержанием сахара. В некоторых плодах и ягодах накапливаются восстановленные производные моносахаридов - спирты, например, в рябине - сорбит, в ананасах и оливках - маннит.

У ряда плодовых культур на первых этапах формирования плодов синтезируется довольно много крахмала (бананы, яблоки, груши), который на последующих этапах созревания превращается в сахара и другие углеводы, что очень хорошо видно из данных, представленных на рисунках 63 и 64. При хранении плодов увеличение концентрации сахаров происходит также в результате распада сахарозы, а также частичного гидролиза пектиновых веществ, гемицеллюлоз и даже целлюлозы.

В косточковых плодах при созревании снижается концентрация пектиновых веществ, однако это происходит не в результате их распада, а вследствие усиления синтеза сахаров и органических кислот.

В семечковых плодах в процессе созревания довольно активно происходит превращение протопектинов в пектины. В зрелых плодах и ягодах содержание пектиновых веществ колеблется в пределах 0.3-1.5% сырой массы и они способны образовывать желе. При созревании плодов и ягод снижается содержание клетчатки (в 2-3

раза) и гемицеллюлоз, в связи с чем они приобретают мягкую консистенцию. В зрелых плодах содержится 0,3-1% клетчатки, в землянике и айве – 1-1,7 %, особенно много в шиповнике - до 20 %. Массовая доля гемицеллюлоз в плодах и ягодах может составлять до 4-8 %.

#### 7. Органические кислоты.

Важную роль при созревании плодов и ягод играют органические кислоты, которые используются как субстраты дыхания, кроме того, они определяют вкусовые свойства плодово-ягодной продукции. Если в плодах содержится много кислот и мало сахаров, то они имеют кислый вкус. Увеличение количества сахаров повышает степень сладости плодов и при отношении сахаров к органическим кислотам, равном 25-30, кислый вкус не ощущается.

В зрелых плодах органические кислоты в основном локализованы в плодовой мякоти, а в плодовых оболочках и семенных тканях их очень мало. В яблоках, грушах, винограде, мандаринах содержится сравнительно немного органических кислот (0,2-1% сырой массы), существенно больше в землянике, апельсинах, вишне, сливах - 1-2% и особенно много в грейпфрутах, смородине (2-3%) и лимонах (5-7%). Свыше 90% всех органических кислот в плодах и ягодах представлены яблочной, лимонной и янтарной кислотами, то есть метаболитами цикла ди- и трикарбоновых кислот, на долю других кислот обычно приходится не более 3-5% (α-глутаровая, щавелевоуксусная, пировиноградная, хлорогеновая, хинная, шикимовая и др.). Однако, несмотря на их низкое содержание, эти кислоты играют очень важную роль в определении вкусовых качеств и аромата плодов.

В семечковых и косточковых плодах, а также в большинстве ягод преобладает яблочная кислота, а в цитрусовых плодах и некоторых ягодах (малина, смородина, земляника) много накапливается лимонной кислоты. Количество янтарной кислоты заметно возрастает при неблагоприятных условиях хранения (пониженная температура, высокая концентрация CO<sub>2</sub> и др.). В винограде много содержится винной кислоты. Некоторые ягоды характеризуются наличием в них бензойной кислоты (брусника, клюква), которая является антисептиком, поэтому такие ягоды могут длительное время храниться, не подвергаясь воздействию микроорганизмов. В отличие от листьев, где органические кислоты находятся в связанном состоянии, в плодах они содержатся преимущественно в виде свободных форм, локализованных в вакуолях, где образуется фонд запасных веществ.

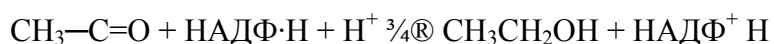
При созревании плодов под воздействием этилена повышается проницаемость мембран и из вакуолей органические кислоты поступают в цитоплазму, вызывая активацию ферментных систем, катализирующих их превращения. Ключевым из этих ферментов является малатдегидрогеназа декарбоксилирующая, с участием которой происходит декарбоксилирование яблочной кислоты и превращение её в пировиноградную, при этом образуются восстановленные динуклеотиды НАДФ·Н, используемые в реакциях синтеза запасных веществ:



Образовавшаяся пировиноградная кислота далее окисляется в реакциях дыхания, а её избыток подвергается снова декарбоксилированию под действием фермента пируватдекарбоксилазы с образованием уксусного альдегида:



Уксусный альдегид далее восстанавливается с образованием спирта под действием фермента алкогольдегидрогеназы:



Накопление в тканях плодов уксусного альдегида и этилового спирта обычно происходит на завершающих стадиях их созревания и вызывает ингибирование фермента малатдегидрогеназы декарбоксилирующей, в результате чего не образуются восстановленные динуклеотиды НАДФ·Н и происходит замедление биосинтетических процессов. Понижение активности этого фермента в более ранние фазы созревания плодов под влиянием низкой температуры, повышенной концентрации углекислоты уменьшает количество кислот, затрачиваемых на дыхание, в связи с чем при хранении плодов важное значение имеет поддержание необходимого температурного режима и состава газовой среды.

В созревающих плодах и ягодах постоянно происходит синтез органических кислот, однако их концентрация в тканях плодов не возрастает, так как эти вещества обладают очень высокой метаболической активностью и легко подвергаются превращениям. Больше всего органических кислот содержится в незрелых плодах, а в процессе созревания плодов их концентрация снижается и одновременно наблюдается увеличение количества сахаров, вследствие чего возрастает сахаро-кислотное отношение (сахара/кислоты) и плоды становятся более сладкими.

#### 8. Азотистые вещества.

Азотистые вещества плодов и ягод на 60-70% состоят из белков, основная масса которых представлена легкорастворимыми формами - альбуминами и глобулинами, обладающими высокой биологической ценностью. Фракция небелковых азотистых веществ также обладает значительной питательной ценностью, так как содержит в том или ином количестве незаменимые аминокислоты. В зрелых плодах содержание сырого протеина составляет 1-2% их сырой массы, однако в пересчёте на сухую массу оно в 5-7 раз выше, поэтому азотистые вещества наряду с сахарами и органическими кислотами являются важными питательными компонентами плодово-ягодной продукции. В процессе созревания плодов и ягод концентрация азотистых соединений понижается в 2-3 раза, но в их составе возрастает доля белков.

#### 9. Витамины.

Из витаминов в плодах и ягодах в наибольшем количестве содержатся аскорбиновая кислота, каротин, фолиевая кислота, цитрин.

Во всех плодах и ягодах много синтезируется аскорбиновой кислоты, которая, участвуя в окислительно-восстановительных реакциях, оказывает значительное влияние на интенсивность биохимических превращений, происходящих в тканях плодов при их созревании. По мере созревания плодов снижается концентрация окисленной и происходит накопление восстановленной формы аскорбиновой кислоты. Больше этого витамина локализовано в покровных тканях и меньше в паренхиме плодовой мякоти. У большинства плодово-ягодных растений в зрелых плодах содержится 5-30 мг % аскорбиновой кислоты, в малине и красной смородине – 20-40 %, в землянике и цитрусовых - 40-70 мг %, в смородине - 100-400 мг %, а в шиповнике - до 1-4%.

Во многих плодах и ягодах наряду с аскорбиновой кислотой содержится много цитрина (витамин Р): яблоки –20-40 мг %, вишня и клюква – 100-300 мг %, чёрная смородина - до 1000мг%. В рябине, сливах, облепихе и абрикосах много синтезируется каротина - 2-5мг%, в смородине и крыжовнике - 0.5-1мг%. Количество фолиевой кислоты больше в незрелых плодах, а в процессе их созревания концентрация этого витамина снижается и находится на уровне 0.1-0.2мг %. Особенно много фолиевой кислоты в землянике 1-2 мг %. Другие витамины в плодово-ягодной продукции содержатся в

следующих количествах: РР - 0,2-0,5 мг %, В<sub>1</sub> - 0,02-0,06 мг %, К<sub>1</sub> - 0,1-2 мг %, В<sub>2</sub> - 0,02-0,04 мг %, В<sub>6</sub> - 0,03-0,08 мг %.

### **1.7 Лекция №7 (1 час).**

**Тема:** «Биохимия молока и мяса»

#### **1.7.1 Вопросы лекции:**

1. Кислотность молока.
2. Пороки вкуса и запаса молока, вызванные изменением жира.
3. Процесс сычужного свертывания молока.
4. Соединительнотканые белки мяса - коллаген и эластин. Структура, аминокислотный состав, влияние на физические свойства мяса

#### **1.7.2 Краткое содержание вопросов:**

##### **1. Кислотность молока.**

Кислотность молока выражают в единицах титруемой кислотности (в градусах Тернера) и величиной рН при 20 °С.

Титруемая кислотность. Титруемая кислотность по ГОСТ 13264-88 «Молоко коровье. Требования при заготовках» является критерием оценки качества заготавливаемого молока. Титруемую кислотность молока и молочных продуктов, кроме масла, выражают в условных единицах - градусах Тернера (°Т). Под градусами Тернера понимают количество миллилитров 0,1 Н раствора едкого натра (калии), необходимого для нейтрализации 100 мл (100 г) молока или продукта.

Кислотность свежесвыдоенного молока составляет от 16 до 18 °Т. Она обуславливается кислыми солями - дигидрофосфатами и дигидроцитратами (около 9-13 °Т), белками - казеином и сывороточными белками (от 4 до 6 °Т), углекислотой, кислотами (молочной, лимонной, аскорбиновой, свободными жирными и др.) и другими компонентами молока (в сумме они дают около 1-3 °Т).

При хранении сырого молока титруемая кислотность повышается по мере развития в нем микроорганизмов, сбраживающих молочный сахар с образованием молочной кислоты. Повышение кислотности вызывает нежелательные изменения свойств молока, например, снижение устойчивости белков к нагреванию. Поэтому молоко с кислотностью 21°Т принимают как несортное, а молоко с кислотностью выше 22 °Т не подлежит сдаче на молочные заводы. м

Хотя титруемая кислотность является критерием оценки свежести и натуральности сырого молока, следует помнить, что молоко может иметь повышенную (до 26 °Т) или пониженную (менее 16 °Т) кислотность, но тем не менее его нельзя считать недоброкачественным или фальсифицированным, так как оно термостойко и выдерживает кипячение или дает отрицательную реакцию на наличие соды, аммиака и примеси ингибирующих веществ. Отклонение естественной (нативной) кислотности молока от физиологической нормы в этом случае связано с нарушением рационов кормления. Такое молоко принимается как сортовое на основании показаний стойловой пробы (пробы, взятой при контрольной дойке), подтверждающей его натуральность. Более точно кислотность молока можно контролировать, используя рН-метод.

**рН (активная кислотность).** Водородный показатель свежего молока, отражающий концентрацию ионов водорода колеблется (в зависимости от состава молока) в довольно узких пределах - от 6,55 до 6,75. Так как в действующих ГОСТах и технологических инструкциях кислотность выражается в единицах титруемой кислотности, для сопоставления с ними показаний рН для молока и основных кисломолочных продуктов имеются установленные ВНИМИ и ВНИИМСом усредненные соотношения.

Например, для заготавливаемого молока эти соотношения следующие:

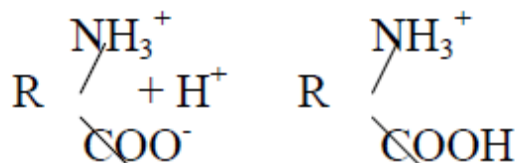
Таблица 1 - Усредненные соотношения pH и титруемой кислотности

Тит- руемая ки- слотность, °T	16	17	17	19	20	21	22	23	24	25
Сред- нее значение pH	6,73	6,69	6,64	6,58	6,52	6,46	6,41	6,36	6,31	6,2

Из приведенных данных видно, что при титруемой кислотности сырого молока выше 18 °T, когда происходит образование молочной кислоты, pH понижается незначительно. Медленное изменение pH объясняется наличием в молоке ряда буферных систем - белковой, фосфатной, цитратной, бикарбонатной и т. д.

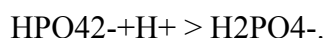
**Буферные системы**, или **буферы** обладают способностью поддерживать постоянный pH среды при добавлении кислот или щелочей. Буферные системы состоят из слабой кислоты и ее соли, образованной сильным основанием, или из смеси двух кислых солей слабой кислоты. Например, бикарбонатный буфер включает  $\text{H}_2\text{CO}_3$  и  $\text{NaHCO}_3$ , фосфатный -  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  и  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  и т.д.

Буферная способность белков молока объясняется наличием аминных и карбоксильных групп. Карбоксильные группы вступают в реакцию с ионами водорода образовавшейся или добавленной молочной кислоты:



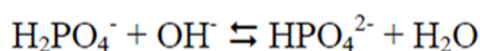
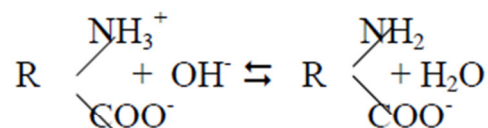
Кислотная диссоциация белков незначительна, поэтому концентрация ионов водорода остается постоянной, в то время как титруемая кислотность повышается, так как при ее определении в реакцию со щелочью вступают как активные, так и связанные ионы водорода.

Буферная способность фосфатов заключается во взаимном переходе гидрофосфатов в дигидрофосфаты и обратно. При образовании кислоты часть гидрофосфатов переходит в дигидрофосфаты:

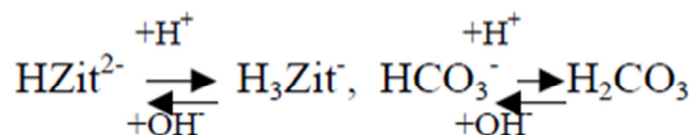


Так как анион  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  слабо диссоциирует на ионы  $\text{H}^+$  и  $\text{HPO}_4^{2-}$ , pH молока почти не изменяется, а титруемая кислотность возрастает.

При добавлении к молоку щелочи белки и фосфаты реагируют следующим образом:



Цитраты и бикарбонаты при добавлении кислоты или щелочи вступают в реакцию с ионами  $\text{H}^+$  и  $\text{OH}^-$  аналогично фосфатам:



Изменение pH молока при добавлении к нему кислоты или щелочи произойдет в том случае, если будет превышена буферная емкость систем молока. Под буферной емкостью молока понимают количество кислоты или щелочи, которое необходимо добавить к 100 мл молока, чтобы изменить величину pH на единицу.

Наличие буферных систем в биологических жидкостях имеет большое значение - это своего рода защита живого организма от возможного резкого изменения pH, которое может неблагоприятно или губительно повлиять на него. Буферная способность составных частей молока играет большую роль в жизнедеятельности молочнокислых бактерий при производстве кисломолочных продуктов и сыров.

## 2. Пороки вкуса и запаса молока, вызванные изменением жира.

**Ферментативный гидролиз жира (липолиз)** в сыром молоке является нежелательным процессом, так как образующиеся масляная и другие низко-молекулярные жирные кислоты могут вызывать различные пороки вкуса молока и молочных продуктов. Липолиз в процессе длительного хранения сырого молока при низких температурах протекает под действием нативных липаз и липолитических ферментов, выделяемых психротрофными бактериями. Степень гидролиза жира зависит от многих факторов: содержания свободного жира, активности нативных липаз, интенсивности механической обработки молока, обсемененности липолитической микрофлорой, продолжительности хранения и т.д.

Следствием гидролиза жира в молочных продуктах является выраженность вкуса и аромата, т. е. этот процесс играет положительную роль, но только при условии накопления оптимальных количеств СЖК. Активация процесса с одновременным повышением концентрации СЖК приводит к ухудшению вкуса и запаха большинства молочных продуктов, особенно масла. При выработке и хранении масла целесообразно создавать условия, позволяющие замедлить гидролиз жира. Однако при выработке многих сыров вследствие накопления СЖК органолептические свойства продукта улучшаются, поэтому необходимо усиливать липолитическое расщепление жира.

Основными источниками липолитических ферментов при выработке молочных продуктов являются микроорганизмы заквасок.

При хранении продуктов усиливается деятельность посторонней липолитической микрофлоры - мезофильных и психротрофных бактерий, микроскопических грибов и дрожжей.

Прогорклый вкус связан с изменением жира, возникает при хранении молока, содержащего фермент липазу. Под воздействием липаз происходит гидролитическое расщепление (липолиз) молочного жира. В молоке накапливаются свободные жирные кислоты -- масляная, капроновая, каприловая, каприновая и лауриновая. Эти продукты распада жира обладают неприятным прогорклым вкусом. При их содержании в количестве более 20 мг% молоко приобретает прогорклый вкус, часто с мыльным и рыбным привкусами и запахами. Гидролиз жира в сыром молоке может вызывать появление различных пороков вкуса и запаха в молочных продуктах (масло и др.).

Липолиз в молоке обуславливают нативные и бактериальные липазы. Процесс усиливается при наличии следов меди. Прогорклый вкус часто появляется в стародойном и маститном молоке. Примесь такого молока может вызвать прогоркание всего сборного молока.

Окисленный (картонный) привкус обусловлен окислительной порчей липидов. В первую очередь окисляются полиненасыщенные жирные кислоты, содержащиеся в фосфолипидах оболочек жировых шариков и свободном жире. Порок обуславливается образованием различных альдегидов и оксикислот. Развитию окисленного привкуса способствуют свет, наличие меди и железа. Окисленный привкус характеризуется едким вяжущим вкусом, часто сопровождающимся салостым, олеистым, металлическим и рыбным привкусами.

### 3. Процесс сычужного свертывания молока.

Наиболее важный процесс при изготовлении сыра - свертывание молока сычужным ферментом. От скорости образования, структурно-механических и синергетических свойств сычужного сгустка зависят консистенция, внешний вид и другие показатели сыра.

Сычужное свертывание молока проходит две стадии: ферментативную и коагуляционную. На первой стадии под действием сычужного фермента происходит разрыв чувствительной к нему пептидной связи фенилаланин-метионин (Фен - Мет) в полипептидной цепи  $\kappa$ -казеина. В результате этого  $\kappa$ -казеин распадается на нерастворимый (чувствительный к ионам кальция) пара- $\kappa$ -казеин и растворимый гликомакропептид. Ферментативную стадию схематично можно представить следующим образом

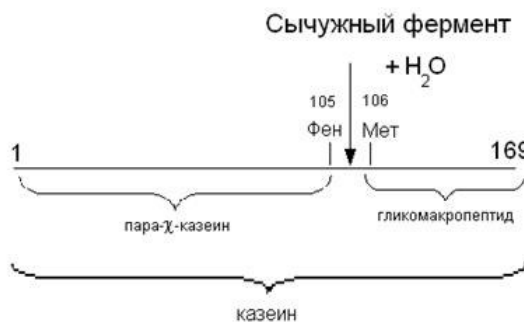


Рисунок 1 - Действие сычужного фермента на казеин

Гликомакропептиды  $\kappa$ -казеина имеют высокий отрицательный заряд и обладают сильными гидрофильными свойствами.

При их отщеплении от  $\kappa$ -казеина снижается электрический заряд на поверхности казеиновых мицелл (с постепенным приближением к изоэлектрическому состоянию), частично теряется гидратная оболочка, в результате чего снижается устойчивость казеиновых мицелл и они коагулируют, т.е. наступает вторая стадия коагуляции.

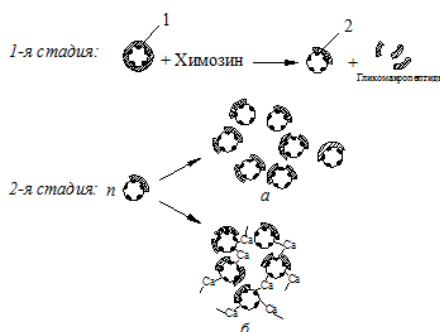


Рисунок 2 - Схема процесса сычужного свертывания молока

а - коагуляция мицелл под действием сил гидрофобного взаимодействия, б - коагуляция мицелл за счет кальциевых мостиков; 1 - нативные казеиновые мицеллы; 2 - параказеиновые мицеллы, потерявшие защитные гликомакропептиды--казеина



Механизм второй стадии сычужного свертывания окончательно не установлен. Известно, что коагуляция белков наступает лишь после расщепления 80-90% -казеина, находящегося на поверхности мицелл. Далее дестабилизированные казеиновые (точнее, параказеиновые) частицы сначала образуют агрегаты и цепочки. При достижении “критических” размеров цепочки соединяются между собой продольными и поперечными связями и образуют сплошную пространственную сетку, в петлях (ячейках) которой заключена дисперсионная среда.

Однако характер связей, возникающих при агрегировании дестабилизированных мицелл, до конца не выяснен. По мнению ученых, это могут быть силы гидрофобного взаимодействия неполярных групп пара--казеина (а также - и -казеина) или кальциевые мостики, образующиеся в результате присоединения ионов кальция к серинфосфатным группам - и -казеина двух или более сблизившихся параказеиновых мицелл.

На процесс сычужного свертывания и качество образующихся сгустков влияют состав и свойства молока, режим пастеризации, активность и состав бактериальной закваски и сычужного фермента, температура свертывания, доза хлорида кальция и т.д.

В образовании сычужного сгустка кроме казеина, по-видимому, участвуют денатурированные сывороточные белки и жировые шарики. Являясь более крупными частицами, они выступают центрами коагуляции казеина, вокруг которых начинает формироваться пространственная сетка. Поэтому добавление к молоку сывороточных белков ускоряет сычужное свертывание белков молока. Однако сывороточные белки замедляют синерезис сгустка, поэтому необходимо применять меры, усиливающие обсушку сырного зерна.

Агрегация казеиновых мицелл и формирование пространственной белковой сетки происходят за счет различных связей, причем большую роль в упрочнении всей системы выполняют ионы кальция, образующие кальциевые мостики. При пониженном содержании кальция молоко свертывается медленно, и получается дряблый, трудно поддающийся Дальнейшей обработке сгусток (или он вовсе не образуется). Оптимальным содержанием кальция в молоке считается 125--130 мг%.

4. Соединительнотканые белки мяса - коллаген и эластин. Структура, аминокислотный состав, влияние на физические свойства мяса

Соединительная ткань имеет мезенхимальное зародышевое происхождение и состоит из клеток и межклеточного материала, образованного главным образом фибриллярными белками и основным веществом.

Основными компонентами соединительной ткани являются **структурные белки**, которые относятся к склеропотеинам - это коллаген, эластин и ретикулин, образующие прочные и эластические волокнистые структуры.

**Фибриллярные белки** представлены коллагеном и эластином. Коллаген (греч. colla - клей, gennaō - порождать) является веществом, которое при нагревании в воде образует клей или желатин. Коллаген составляет около 30% всех белков животного. Коллаген содержится в составе рыхлой и плотной соединительной, костной, хрящевой и покровной тканей, входит в состав сухожилий, связок, фасций.

**Коллаген** образует нити (фибриллы) различной толщины. Расположение нитей определяет их функцию, которая состоит главным образом в придании тканям прочности

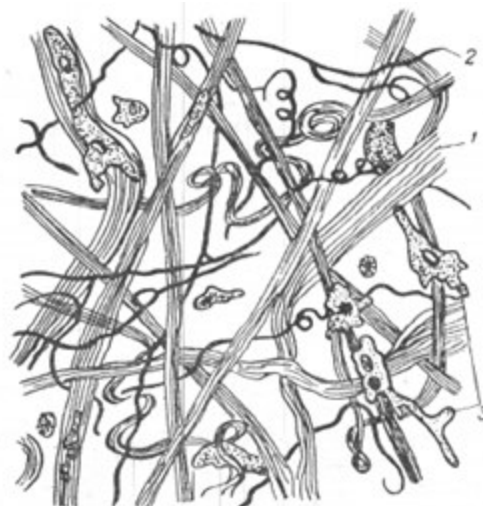


Рисунок 3 – Соединительная ткань:  
1 - коллагеновые волокна;  
2 - эластиновые волокна; 3 - клетка;  
4 - основное вещество.



на разрыв. Коллагеновые нити состоят из субъединиц, называемых тропоколлагеном, которые расположены регулярным образом и взаимно ориентированы как в продольном, так и поперечном направлении. Молекула тропоколлагена состоит из трех цепей двух видов:  $\alpha$  и  $\beta$ , которые образуют третичную структуру коллагена - тройную спираль с молекулярной массой 360 кДа (рис. 4, а). Каждая цепь образована примерно 1000 остатков аминокислот, среди которых присутствуют оксипролин и оксилизин. В результате агрегации тропоколлагена в продольном направлении образуется четвертичная структура коллагена -- фибрилла (рис. 4, б). Исчерченность среза, видимая в электронном микроскопе, соответствует образованию цепей из молекул тропоколлагена длиной 280 нм, которые ориентированы параллельно в продольном направлении с регулярным сдвигом примерно на 1/4 длины (69 нм). Молекулы тропоколлагена не соприкасаются друг с другом, так что между ними остается небольшая щель. Параллельные соседние молекулы слегка перекрывают друг друга. В целом существование щелей и перекрытий приводит к образованию темных и светлых полос. Если длина молекулы коллагена больше ее диаметра в 4,4 раза, то ширина щелей составляет 0,6 длины, а перекрытий - 0,4. Тройная спираль тропоколлагена стабилизируется водородными связями между отдельными цепями. Это объясняет высокую прочность молекулы на разрыв.

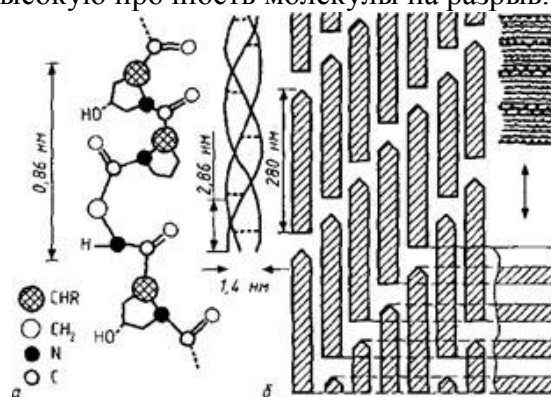
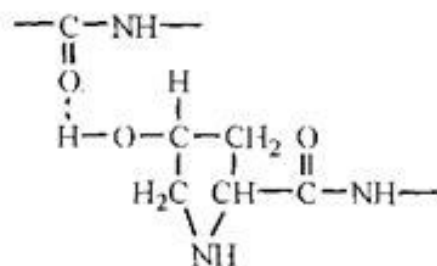


Рисунок 4 - Структурная схема коллагена: а - третичная структура (тропоколлаген); б - четвертичная структура (фибрилла)

Существуют четыре генетически разные типа коллагена, различающиеся своими цепями. Тип I обнаружен в сухожилиях, тип II - в хряще, тип III характерен для коллагена в патологически измененных тканях и тип IV найден в базальных мембранах.

В коллагене, в отличие от других белков, нет некоторых аминокислот: триптофана, цистина и цистеина, очень мало тирозина и метионина, преобладают глицин, пролин и оксипролин, а также оксипролин, не обнаруженный в других белках. Главной отличительной особенностью аминокислотного состава коллагена является то, что почти 1/4 всех аминокислотных остатков составляет глицин и 1/4 - пролин и оксипролин, поэтому коллаген относится к неполноценным белкам.

**Нативный коллаген** нерастворим в воде, органических растворителях, и на него в очень слабой степени воздействуют кислоты, щелочи и протеолитические ферменты (пепсин и трипсин). Нерастворимость и устойчивость коллагена объясняются наличием поперечных связей в его молекуле (рис. 4, а), которые возникают как в трехспиральной молекуле тропоколлагена между отдельными полипептидными цепями (внутримолекулярные связи), так и между отдельными тропоколлагеновыми единицами (межмолекулярные поперечные связи). Внутримолекулярные и межмолекулярные поперечные связи как бы «сшивают» отдельные участки и всю структуру в целом. Такие связи образуются, прежде всего, при участии оксипролина. Между пептидными цепями в молекуле коллагена возникают водородные связи между СО-группами пептидной связи и ОН-группами оксипролина, как представлено ниже:



Кроме того, могут возникать сложноэфирные связи за счет ОН-групп моносахаридов и другие виды связей.

Нерастворимость и устойчивость коллагена зависят от вида и возраста животного, а также от ткани, в которой он содержится. С увеличением возраста животного количество поперечных связей в структуре коллагена за счет пероксидного окисления возрастает и его устойчивость повышается.

Коллаген может сильно набухать в воде, вследствие чего его масса увеличивается в 1,5-2 раза.

Высокая гидратация коллагена связана с содержанием в нем значительных количеств диаминокарбоновых и аминокислот, следовательно, большого количества боковых полярных групп в его молекуле. При смещении pH среды в кислую или щелочную сторону от изоэлектрического состояния набухаемость коллагена резко увеличивается, при этом масса набухшего белка в состоянии полного набухания может достигать от 400 до 1000 % к массе сухого белка. Способность коллагена к набуханию имеет большое значение при выработке мясных продуктов, а также при производстве желатина и кожевенного сырья.

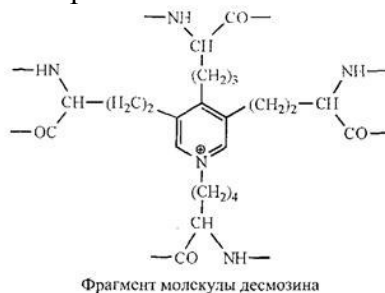
Изоэлектрические точки коллагена животных разного возраста неодинаковы: например, для коллагена шкуры телят ИЭТ находится при pH 6,4, шкуры крупного рогатого скота - при pH 7.

При длительном нагревании с водой коллаген расщепляется. Вследствие теплового воздействия происходит денатурация - нарушение связей, удерживающих коллаген в нативном состоянии, а также частичный гидролитический распад по месту пептидных связей. При этом образуются как высокомолекулярные, так и низкомолекулярные продукты распада. В зависимости от преобладания в системе высоко- или низкомолекулярных продуктов распада получается либо желатин, либо клей.

Эластин, как и коллаген, относится к склеропотеинам. Он значительно устойчивее коллагена; не растворяется в холодной и горячей воде, растворах солей, разведенных кислотах и щелочах, даже крепкая серная кислота оказывает на него слабое воздействие.

В отличие от коллагена эластин образует структуру с характерной эластичностью. Это объясняется особой трехмерной упаковкой мономеров эластина (проэластина), которые взаимно соединены поперечными ковалентными связями. Они возникают в результате конденсации боковых цепей лизина двух-четырех звеньев проэластина с образованием полифункциональных аминокислот десмозина и изодесмозина. Эти связи настолько прочны, что не разрушаются при кислотном гидролизе.

Считается, что на пространственную организацию субъединиц проэластина в волокне влияют структурные гликопротеины.



Волокна эластина могут растягиваться в два и более раза и сохраняют высокую прочность на разрыв даже в полностью растянутом состоянии. Эластические свойства нерастворимого полимерного эластина объясняются структурным расположением мономеров. При растяжении разрушаются гидрофобные взаимодействия и изменяется расположение молекул воды. После снятия нагрузки самопроизвольно восстанавливается исходное состояние.

В эластине, как и в коллагене, присутствует оксипролин, хотя его в 10 раз меньше, чем в коллагене; много глицина и пролина, но отсутствуют триптофан и метионин. По аминокислотному составу эластин относится к неполноценным белкам. В состав его входят мукополисахариды.

Волокна эластина имеют внутреннюю и наружную оболочки. Внутренняя оболочка образована из линейного проэластина. Наружная оболочка, защищающая внутреннюю, образована мукопротеидом эластомуцином, построенным из проэластина и полисахаридов. Эти структурные элементы придают большую прочность волокну. Эластин - плохо усвояемый белок, он почти не переваривается трипсином, медленно - пепсином, но гидролизуется ферментом поджелудочной железы эласгазой. В отличие от коллагена, эластин слабо набухает, что связано с небольшим числом полярных боковых групп в молекуле эластина. При нагревании он не образует желатина.

## **2. МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ**

### **2.1 Лабораторная работа № 1 (2 часа).**

**Тема: «Определение белков колориметрическими методами»**

**2.1.1 Цель работы:** определить белки колориметрическим методом

**2.1.2 Задачи работы:**

1. Определение белка с биуретовым реактивом.
2. Микроопределение белка с реактивом Бенедикта.
3. Определение белка по методу Лоури.
4. Определение белка по методу Лоури в модификации Сяткина.
5. Определение белка по методу Бредфорд.
6. Определение белка по методу Седмака.
7. Определение белка по методу Флореса.

**2.1.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

набор химической посуды и специальные приспособления, входящие в комплект биохимической лаборатории: система очистки воды, газовые или электронагреватели, технические и аналитические весы, фотоэлектроколориметр, спектрофотометр, вакуумный аппарат с электрическим или механическим приводом, водяные бани с регулируемой температурой, гомогенизаторы, термостат, сушильный шкаф, холодильная камера, рН-метр, поляриметр, приспособления для титрования, низкоскоростная (до 15000g) и среднескоростная (до 30000g) центрифуги, ростовая камера, наборы термометров и денсиметров, дозирующие устройства, хроматографическое оборудование для разделения моносахаридов, липидов и белков.

**2.1.4 Описание (ход) работы:**

При определении белка в лекарственных препаратах при помощи колориметрических методов предварительно строят калибровочный график с

использованием стандартного образца белка, указанного в частных статьях (бычьего сывороточного альбумина, сывороточного альбумина человека или аминокислоты тирозина).

При определении белка в испытуемых пробах соблюдают те же условия проведения реакций и измерения поглощения растворов, что и при построении калибровочного графика.

### **1. Определение белка с биуретовым реактивом**

Метод основан на образовании в щелочной среде окрашенного в фиолетовый цвет комплекса ионов двухвалентной меди с пептидными связями молекулы белка.

Биуретовую реакцию нельзя проводить в присутствии солей аммония из-за образования медно - аммиачных комплексов.

1 мл раствора препарата, содержащего 1-10 мг испытуемого белка, помещают в пробирку, прибавляют 4 мл биуретового реактива, перемешивают и оставляют на 30 мин при комнатной температуре. Оптическую плотность раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны в диапазоне от 540 до 650 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют смесь этих же реактивов без препарата.

Калибровочный график строят в пределах концентраций от 1 до 10 мг стандартного образца белка, измеряя оптическую плотность растворов при выбранной длине волны.

### **2. Микроопределение белка с реактивом Бенедикта**

Принцип метода тот же, что и при определении белка с биуретовым реактивом.

2 мл раствора препарата, содержащего 0,1-2 мг испытуемого белка, помещают в пробирку, прибавляют 2 мл 6% раствора натра едкого, 0,2 мл реактива Бенедикта, перемешивают и оставляют на 15 мин при комнатной температуре. Оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при длине волны 330 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют смесь этих же реактивов без препарата.

Калибровочный график строят в пределах концентраций от 0,1 до 2 мг стандартного образца белка, измеряя оптическую плотность раствора при 330 нм.

### **3. Определение белка по методу Лоури**

Метод основан на образовании окрашенных продуктов ароматических аминокислот и цистеина с реактивом Фолина в сочетании с биуретовой реакцией на пептидные связи.

1 мл раствора препарата, содержащего 0,025-0,250 мг испытуемого белка, помещают в пробирку, прибавляют 2 мл реактива I и оставляют при комнатной температуре на 10 мин. Затем прибавляют 0,5 мл реактива Фолина, перемешивают и через 30-40 мин измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 750 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют смесь этих же реактивов без препарата.

Калибровочный график строят в пределах концентраций от 0,025 до 0,250 мг стандартного образца белка, измеряя оптическую плотность растворов при 750 нм.

### **4. Определение белка по методу Лоури в модификации Сяткина**

Метод Лоури в модификации Сяткина используют для определения содержания белка в препаратах с повышенным содержанием липо- и гликопротеидов.

0,1 мл раствора препарата, содержащего 0,5-2,5 мг испытуемого белка, помещают в пробирку, прибавляют 0,8 мл раствора натра едкого (1 моль/л) и 0,1 мл 1% раствора натрия дезоксихолата, затем прибавляют 4 мл реактива II, смесь перемешивают. После просветления раствора прибавляют 0,5 мл реактива Фолина, немедленно перемешивают и оставляют на 30 мин в темном месте при комнатной температуре. Оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при длине волны 750 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют смесь этих же реактивов без препарата.

Калибровочный график строят в пределах концентраций от 0,5 до 2,5 мг стандартного образца белка, измеряя оптическую плотность растворов при 750 нм.

## **5. Определение белка по методу Бредфорд**

Метод основан на образовании окрашенного в синий цвет комплекса красителя кумасси ярко - голубого G-250 с белком.

0,1 мл раствора препарата, содержащего 0,01-0,10 мг испытуемого белка, помещают в пробирку, прибавляют 5 мл реактива Бредфорд, перемешивают и оставляют при комнатной температуре в течение одинакового времени в интервале от 2 до 60 мин. Оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при длине волны 595 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют смесь этих же реактивов без препарата.

Калибровочный график строят в пределах концентраций от 0,01 до 0,10 мг стандартного образца белка, измеряя оптическую плотность растворов при 595 нм.

## **6. Определение белка по методу Седмака**

Принцип метода тот же, что и в методе Бредфорд. Метод применим для определения суммарного количества белков и полипептидов с молекулярной массой более 3000 дальтон.

1,5 мл раствора препарата, содержащего 0,010-0,150 мг испытуемого белка, помещают в пробирку, прибавляют 1,5 мл раствора кумасси ярко - голубого G-250, перемешивают и выдерживают при комнатной температуре в течение одинакового времени в интервале от 5 мин до 3 ч. Оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при двух длинах волн: 620 и 465 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют смесь этих же реактивов без препарата и кумасси ярко - голубого G-250.

Калибровочный график строят в пределах концентраций от 0,005 до 0,150 мг стандартного образца белка, измеряя оптическую плотность растворов при 620 и 465 нм и откладывая по оси ординат отношение оптических плотностей ( $D_{620}/D_{465}$ ), по оси абсцисс - соответствующие значения концентрации растворов стандартного образца белка.

## **7. Определение белка по методу Флореса**

Метод основан на образовании окрашенного в синий цвет комплекса белка с красителем бромфеноловым синим.

Комплекс устойчив в течение 8 ч.

0,1 мл раствора препарата, содержащего 0,01-0,08 мг испытуемого белка, помещают в пробирку, прибавляют 0,9 мл раствора бромфенолового синего, выдерживают при комнатной температуре в течение одинакового времени в интервале от 10 мин до 8 ч. Оптическую плотность измеряют на спектрофотометре при длине волны 610 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют смесь этих же реактивов без препарата.

Калибровочный график строят в пределах концентраций от 0,01 до 0,08 мг стандартного образца белка (почти прямолинейная зависимость), измеряя оптическую плотность растворов при 610 нм.

## **2.2 Лабораторная работа № 2 (1 час).**

**Тема: «Активность амилолитических ферментов в зерне и солоде»**

**2.2.1 Цель работы:** определить декстриногенную и осахаривающую активность свежепросоженного солода.

**2.2.2 Задачи работы:** вычислить ДАК свежепросоженного солода.

**2.2.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. ячменный, овсяный, ржаной солод;

2. пробирки, колбы;
3. термостат;
4. дистиллированная вода;
5. раствор йода;
6. соляная кислота.

#### 2.2.4 Описание (ход) работы:

Ферментные препараты, обладающие амилазной активностью, обычно содержат несколько разновидностей амилазных ферментов.

Гидролиз крахмала катализируют  $\alpha$ -амилаза (декстриногенамилаза,  $\alpha$ -1,4-глюкан-4-глюканагидролаза),  $\beta$ -амилаза (сахарогенамилаза,  $\alpha$ -1,4-глюкан-мальтогидролаза), глюкоамилаза ( $\alpha$ -1,4-глюкан-гидролаза) и конечная декстриназа (олиго-1,6-глюкозидаза). Различают суммарную амилазную активность, отражающую действие всех амилаз, которые содержатся в препарате, и активность вполне определенного фермента. В комплексном ФП получают не абсолютное значение этой величины, а косвенное, так как имеет место усиливающий эффект от совместного присутствия двух и более ферментов в одном препарате. Этот эффект тем меньше, чем меньше содержится в ФП сопутствующего амилазного фермента или фермента близкого спектра действия.

Декстриногенная активность отражает в основном действие на крахмал  $\alpha$ -амилазы.

За единицу декстриногенной активности (ДАК) принимают такое количество фермента, которое катализирует гидролиз 1 г крахмала до декстринов за 60 минут при температуре 30°C и pH среды 4,8–4,9 (для солодовых препаратов), 4,7 (для мицелиальных препаратов) и 6,0 (для бактериальных препаратов). Количество прогидролизованного крахмала устанавливают по йодной пробе.

Этот метод дает воспроизводимые результаты, по точности превосходит визуальный, позволяет определять декстриногенную активность ферментных препаратов различной степени очистки, полученных с применением таких продуцентов, как микромицеты и бактерии, а также солод различных зерновых культур. Он широко используется для анализа сусла и бражки на спиртовых заводах, для анализа полупродуктов ферментных заводов. Относительная ошибка метода 3–5%. При анализе солода она может возрасти до 7–8,5%, поэтому необходимо анализировать продукт в 3 – 5 повторностях и брать среднее значение.

Солод готовят к анализу, переводя в раствор амилазные ферменты. Для этого готовят основной (I) и рабочий (II) растворы. Для приготовления основного раствора навеску измельченного свежепросоженного солода (просяного – 10 г, ячменного, овсяного или ржаного – по 5 г) переносят в коническую колбу на 200 – 250 см<sup>3</sup>, заливают 10 см<sup>3</sup> фосфатного буфера и 90 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Смесь выдерживают 1 час при температуре 30°C при периодическом перемешивании стеклянной палочкой, затем фильтруют через складчатый фильтр. Фильтрат представляет собой основной раствор I. Рабочий раствор ферментов солода II готовят из основного раствора, разбавляя его водой так, чтобы в рабочем растворе, введенном в реакцию, содержалось количество ферментов, обеспечивающих гидролиз крахмала в принятых условиях, на 20 – 70% (таблица 1).

Таблица 1 – Приготовление рабочего раствора солода

Ожидаемая активность солода, ДАК, ед/г	Масса солода в 5 см <sup>3</sup> рабочего раствора, мг	Расход основного раствора, см <sup>3</sup>	Общий объем разбавленного раствора II, см <sup>3</sup>
Просяной солод			
5-10			
10-15			

15-20			
15-20			
Ячменный, овсяный, ржаной солод			
15-20			
20-30			
30-50	7,5		

В две пробирки диаметром 2 см и высотой 18 см наливают 10 см<sup>3</sup> субстрата и помещают их в ультратермостат или водяную баню с температурой 30±0,2<sup>0</sup>С на 10 минут. Затем, не вынимая пробирок из термостата, в первую добавляют 5 см<sup>3</sup> дистиллированной воды (контрольная проба), а во вторую – 5 см<sup>3</sup> рабочего раствора фермента II (испытуемая проба). Смеси быстро перемешивают и выдерживают при температуре 30<sup>0</sup>С в течение 10 минут, отмечая время по секундомеру. Спустя 10 минут пробирки вынимают из термостата и из каждой отбирают по 0,5 см<sup>3</sup> прогидролизованного раствора отдельно в две колбы, в которые предварительно наливают по 50 см<sup>3</sup> рабочего раствора йода, приготовленного на разбавленной соляной кислоте. Содержимое колб перемешивают. Соляная кислота сразу прерывает действие ферментов. Полученные растворы приобретают различную окраску: контрольный имеет синий цвет, а опытный – фиолетовый цвет различной степени интенсивности в зависимости от количества прогидролизованного крахмала по отношению к дистиллированной воде. Для работы используют кюветы с длиной рабочей грани 10 мм и красный светофильтр (λ = 656 нм). Значение D<sub>1</sub> должно быть не менее 0,690.

Количество прогидролизованного крахмала С (в г) вычисляют из соотношения:

$$0,1 : C = D_1 : (D_1 - D_2), \text{ откуда } C = 0,1 \times (D_1 - D_2) : D_1,$$

где **0,1** – количество исходного крахмала, введенного в ферментативную реакцию, г;

**D<sub>1</sub>** – оптическая плотность контрольного раствора (раствор крахмала и воды);

**D<sub>2</sub>** – оптическая плотность опытного раствора с ферментом.

Если количество прогидролизованного крахмала С окажется меньше 0,02 или больше 0,07 г, опыт повторяют с большим или меньшим количеством основного раствора фермента I. Если же 0,02 < С < 0,07, то ДАК свежепросоженного солода (в ед/г) вычисляют по формуле:

$$\text{ДАК} = (6,889 \times C - 0,029388) \times 1000 : H,$$

где **6,889** и **0,029388** – коэффициенты рабочего уравнения, математически описывающего прямолинейную зависимость количества прогидролизованного крахмала от количества ферментов солода, взятого для эксперимента. В коэффициенты введен множитель для пересчета на 1 ч действия фермента;

**1000** – коэффициент пересчета в г;

**h** – количество исходного солода, участвующего в сфере ферментативной реакции, мг.

Для расчета ДАК в международных стандартных единицах принимают условно, что молекулярная масса крахмала соответствует молекулярной массе остатка глюкозы (180 – 12 = 162). В этом случае за единицу активности принимают такое количество фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль крахмала за 1 мин в условиях

опыта. Пересчет одной условной единицы активности с размерностью г/ч/г на стандартные международные единицы с размерностью мкмоль/мин/г осуществлен следующим образом:  $1 \text{ ед/г} = 10^6 : 162 \times 60 = 103 \text{ мкмоль/мин/г}$ , где  $10^6$  – перевод граммов в миллиграммы; 162 – условное значение молекулярной массы крахмала; 60 – перевод времени действия фермента в минуты. Из этих расчетов видно, что условная единица равна 103 стандартным международным.

### 2.3 Лабораторная работа № 3 (1 час).

**Тема: «Активность нитратредуктазы и содержание нитратов в растительной продукции»**

**2.3.1 Цель работы:** Определить активность нитратредуктазы и содержание нитратов в растительной продукции.

#### 2.3.2 Задачи работы:

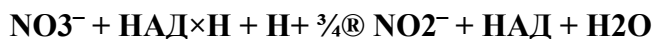
1. Вычислить активность нитратредуктазы.
2. Рассчитать содержание нитратов в растительной продукции.

#### 2.3.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. фарфоровые ступки с пестиками;
2. лабораторные весы;
3. марля для фильтрования;
4. стеклянные пробирки со штативами;
5. мерные колбы на 50, 100, 500, 1000 мл;
6. термостат;
7. стеклянные воронки;
8. бумажные фильтры диаметром 6 см.
9. дигидрофосфат натрия;
10. гидрофосфат натрия;
11. нитрат калия;
12. концентрированная уксусная кислота;
13. сульфат аммония;
14. сульфаниловая кислота;
15. дистиллированная вода (свободная от диоксида углерода).

#### 2.3.4 Описание (ход) работы:

**Принцип метода.** Метод основан на колориметрическом определении нитритов, которые образуются из нитратов под действием фермента нитратредуктазы в соответствии с реакцией:



**Приготовление растворов.** 0,05 М фосфатный буфер (pH=8,0): в 1 л дистиллированной воды растворяют 17,911 г  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ; в 100 мл дистиллированной воды растворяют 0,780 г  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . Затем 53 мл раствора  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  смешивают с 947 мл раствора  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ .

0,1 М раствор нитрата калия: 5,055 г нитрата калия растворяют дистиллированной водой в мерной колбе на 500 мл.

0,028 М раствор НАД·Н: 1,86 г НАД·Н растворяют 0,05 М фосфатным буферным раствором в мерной колбе на 100 мл.

10% раствор уксусной кислоты: 97,1 мл концентрированной уксусной кислоты растворяют дистиллированной водой в мерной колбе на 1 л.



Насыщенный раствор сульфата аммония: в 500 мл горячей воды (70°C) растворяют сульфат аммония до полного насыщения раствора, затем полученный раствор охлаждают, фильтруют и переливают в склянку для хранения.

Реактив Грисса: 4,8 г сульфаниловой кислоты и 2,4 г  $\alpha$ -нафтиламина растворяют в 10%-ной уксусной кислоте и доводят объём раствора до 1 л.

Стандартный раствор нитрита натрия: 100 мг нитрита натрия растворяют дистиллированной водой в мерной колбе на 1 л.

**Ход работы.** В фарфоровую ступку помещают 2 г растительного материала (проростки семян, вегетативная масса растений, клубни картофеля, корнеплоды, овощи, плоды, ягоды) и растирают пестиком с небольшим количеством кварцевого песка до получения однородной массы. Затем в ступку приливают 20 мл фосфатного буферного раствора (рН=8,0) и смесь интенсивно перемешивают пестиком в течение 15 минут. После этого полученную суспензию отжимают в фарфоровую чашку через 4 слоя марли и таким образом получают ферментный экстракт.

В ходе дальнейшего анализа отбирают дозирующей пипеткой 2 аликвоты ферментного экстракта по 2 мл и переносят в стеклянные пробирки на 20 мл. В одну из пробирок приливают 1 мл 10% раствора уксусной кислоты для инактивации фермента и содержимое пробирки перемешивают. Затем в эту же пробирку приливают 3 мл насыщенного раствора сульфата аммония для осаждения белков и содержимое пробирки снова перемешивают. После этого в обе пробирки (с активным и инактивированным ферментом) приливают по 1 мл 0,1 М раствора нитрата калия и 0,028 М раствора НАД·Н, содержимое пробирок перемешивают и ставят на 30 минут в термостат при температуре 27°C. При этом фиксируют точное время начала ферментативной реакции.

По истечении указанного времени в пробирку с активным ферментом для его инактивации приливают 1 мл 10% раствора уксусной кислоты, а после перемешивания 3 мл насыщенного раствора сульфата аммония. Полученную смесь повторно перемешивают и отстаивают в течение 10 минут. В дальнейшем содержимое пробирок фильтруют в конические колбы на 50 мл. Из каждого фильтрата отбирают дозирующей пипеткой аликвоты по 5 мл и переносят в стеклянные пробирки. К фильтрату в каждой пробирке приливают по 1 мл реактива Грисса и содержимое пробирок перемешивают. Через 30 минут окрашенные растворы колориметрируют на фотоэлектроколориметре при длине волны 540 нм и толщине фотометрируемого слоя 1 см.

Для построения градуировочного графика берут 10 мерных колб вместимостью 50 мл и приливают 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0 мл исходного стандартного раствора нитрита натрия в каждую. Объёмы растворов в колбах доводят дистиллированной водой до метки и их содержимое перемешивают. Из каждой колбы пипеткой переносят в стеклянные пробирки по 5 мл раствора нитрита натрия и приливают по 1 мл реактива Грисса, содержимое пробирок перемешивают и через 30 минут колориметрируют окрашенные растворы на фотоэлектроколориметре. По полученным данным строят градуировочный график: на горизонтальной оси откладывают количество мкг нитрита натрия в 5 мл внесённого для окрашивания раствора (соответственно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 мкг), а на вертикальной оси – оптическую плотность окрашенных растворов.

Активность нитратредуктазы вычисляют по формуле:

$$\begin{aligned} & \mathbf{M \cdot 20 \cdot 8} \\ \mathbf{A} &= \sqrt[3]{\frac{3}{4} \cdot \frac{3}{4} \cdot \frac{3}{4} \cdot \frac{3}{4}}, \\ & \mathbf{H \cdot 2 \cdot 5 \cdot t} \end{aligned}$$

где **A** – активность нитратредуктазы в мкг нитрита натрия, который образуется под действием фермента за 1 час, в расчёте на 1 г растительной массы;

**M** – масса нитрита натрия, определённая по градуировочному графику на основе оптической плотности окрашенного раствора, мкг;

- 20** – объем ферментного экстракта, полученный из навески растительного материала, мл;  
**8** – объем реакционной смеси при проведении ферментной реакции, мл;  
**Н** – навеска растительного материала, г;  
**2** – объем ферментного экстракта, взятый для проведения ферментативной реакции, мл;  
**5** – объем фильтрата реакционной смеси, взятый для окрашивания с реактивом Грисса, мл;  
**t** – время ферментной реакции в часах.

Полученный результат сравнивают с другими данными, характеризующими активность нитратредуктазы в разных растительных продуктах, выращенных при разном уровне азотного питания растений, при разной обеспеченности растений световой энергией и элементами питания. По уровню нитратредуктазной активности оценивают возможное содержание нитратов в растительной продукции.

Определение нитратов в растительной продукции, позволяющие контролировать качество сельскохозяйственной продукции и обезопасить население от поступления в продажу опасных для здоровья продуктов питания. Используются следующие методы определения нитратов:

1. Определение по внешнему виду. Например, чем темнее окраска листьев, тем больше нитратов в них содержится. Много нитратов под коркой и в незрелых плодах.

2. Определение нитратов с помощью качественных реакций. Взаимодействие с дифениламином: визуальная оценка окрашенных (синих) соединений. Нижний предел обнаружения 100 мг/кг. Взаимодействие с цинковой пылью и щелочью. Нитраты восстанавливаются до аммиака, который обнаруживается по покраснению смоченной фенолфталеиновой бумаги и внесенной в пары исследуемого раствора.

3. Спектрофотометрические методы основаны на нитровании ароматических органических соединений, окислении органических соединений, восстановлении нитрат-ионов до нитрит-ионов, поглощении нитратов в УФ-области спектра. Интенсивность светопоглощения пропорциональна содержанию нитратов в анализируемой пробе.

4. Метод газожидкостной хроматографии заключается в нитровании органических соединений ряда бензола в присутствии серной кислоты, разделении их, испарении и количественном определении нитропроизводных пламенно-ионизационным детектором. Обладает высокой чувствительностью и достаточной точностью.

5. Ионометрический метод состоит в извлечении нитратов из анализируемого материала раствором алюмокалиевых квасцов и последующем измерении концентрации нитратов в полученной вытяжке с помощью ионоселективного электрода.

## **2.4 Лабораторная работа № 4 (2 часа).**

**Тема: «Липиды и продукты первичного распада белков в мясе»**

**2.4.1 Цель работы:** Определить липиды и продукты первичного распада белков в мясе.

### **2.4.2 Задачи работы:**

1. Определить продукты первичного распада белка в мясе.

### **2.4.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:**

1. колбы, пробирки;
2. раствор сернистой меди;

### **2.4.4 Описание (ход) работы:**

Метод основан на осаждении белков нагреванием, образовании в фильтрате комплексов сернокислрой меди с продуктами первичного распада белков, выпадающих в осадок.

Мясо считают свежим, если при добавлении раствора сернокислрой меди бульон остаётся прозрачным.

Мясо считают сомнительной свежести, если при добавлении раствора сернокислрой меди отмечается помутнение бульона, а в бульоне из замороженного мяса – интенсивное помутнение с образованием хлопьев.

Мясо считают несвежим, если при добавлении раствора сернокислрой меди наблюдается образование желеобразного осадка, а в бульоне из замороженного мяса – наличие крупных хлопьев.

#### ***Определение аммиака (качественная реакция).***

Метод основан на взаимодействии аммиака, образующегося при порче рыбы, с соляной кислотой и появлении при этом облачка хлористого аммония.

В пробирку наливают 2-3 мл. смеси Эбера, закрывают её пробкой и встряхивают 2-3 раза. Вынимают пробку из пробирки и сразу же закрывают её другой пробкой, через которую продета палочка с загнутым концом. На конец палочки прикрепляется кусочек исследуемого мяса рыбы. Исследуемый объект должен иметь температуру, наиболее близкую к температуре воздуха лаборатории в момент проведения анализа. Мясо вводят в пробирку так, чтобы не запачкать стенок пробирки и чтобы оно находилось на расстоянии 1-2 см. от уровня жидкости.

Обработка результатов: через несколько секунд в результате реакции аммиака с соляной кислотой образуется облачко хлористого аммония. Интенсивность реакции обозначается следующим образом:

1. - реакция отрицательная,
2. + реакция слабopоложительная (быстро исчезающее расплывчатое облачко),
3. ++ реакция положительная (устойчивое облачко, появляющееся через несколько секунд после внесения мяса в пробирку с реактивом).
4. +++ реакция резко положительная (облачко появляется сразу после внесения мяса в пробирку с реактивом).

### **3. МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ ПО ПРОВЕДЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ**

#### **3.1 Практическое занятие № 1 (2 часа).**

**Тема: «Определение редуцирующих сахаров и суммы сахаров в растительной продукции»**

##### **3.1.1 Задание для работы:**

1. Определить редуцирующие сахара в растительной продукции.
2. Определить суммы сахаров в растительной продукции.

##### **3.1.2 Краткое описание проводимого занятия:**

В ряде пищевых продуктов содержится значительное количество углеводов. В естественных пищевых продуктах углеводы представлены в виде моно-, ди- и полисахаридов.

К моносахаридам относятся глюкоза, фруктоза и галактоза. К дисахаридам – сахароза, лактоза, мальтоза, целлобиоза. Полисахариды представлены крахмалом, гликогеном, клетчаткой, пектиновыми веществами.

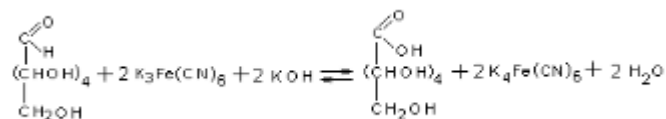
Дисахариды и полисахариды распадаются под действием соответствующих ферментов в кишечнике до моносахаридов, всасываются в кровь и по воротной вене поступают в печень, где из глюкозы синтезируется гликоген.

Содержание сахара в крови находится в пределах 0,8–1,2 г/л. Этот уровень поддерживается регулирующим влиянием центральной нервной системы и железами внутренней секреции. Источником сахара крови является гликоген печени. В ней он превращается в фосфорное соединение, из которого в результате метаболизма в кровь выделяется глюкоза, разносится по всем органам и тканям, где используется для энергетических нужд. При очень больших затратах энергии использование сахара в крови происходит быстрее, чем превращение гликогена в глюкозу в печени. В результате уровень сахара в крови понижается, наступает гипогликемия.

Длительный недостаток сахара в крови приводит к сахарному голоданию мозговой ткани, в результате чего может наступить невротический синдром. Противоположное явление наблюдается после приема пищи, богатой сахаром, – алиментарная гипергликемия. Источником глюкозы являются плоды, фрукты, ягоды, мед. Источником дисахаридов является сахарная свекла и морковь. При гидролизе сахара органическими кислотами образуется инвертный сахар, обладающий гигроскопичностью благодаря присутствию фруктозы. При высокой температуре сахароза полимеризуется и образуется карамель или «жженный» сахар. Наибольшее пищевое значение имеют крахмал и сахароза, т.к. они хорошо усваиваются организмом. Крахмал усваивается медленнее, чем сахар и не создает гипергликемии. Сахар и моносахариды усваиваются чрезвычайно быстро.

Метод основан на том, что редуцирующие сахара (глюкоза, фруктоза) восстанавливают в щелочном растворе железосинеродистый калий в железистосинеродистый. Реакция может быть представлена в виде:

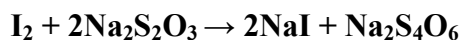
Так как эта реакция обратима, железистосинеродистый калий осаждают серноокислым цинком:



Избыток железосинеродистого калия определяют йодометрическим методом в кислой среде:



Выделившийся йод оттитровывают тиосульфатом (индикатор – раствор крахмала):



В качестве объекта для исследования берут свежие растительное сырье и продукт, полученный из этого сырья в результате тепловой обработки.

Объект для исследования (яблоки свежие и яблочное пюре; картофель свежий и вареный) измельчить, взять навеску 10 г и количественно перенести ее в мерную колбу на 500 мл. Добавить 400 мл дистиллированной воды. Экстракцию сахаров провести на водяной бане при температуре 70–75 °С в течение 1 ч. По истечении 1 ч экстракт охладить до 20 °С, довести до метки дистиллированной водой и отфильтровать через бумажный фильтр. Фильтрат используют для анализа.

Взять 10 мл фильтрата пипеткой и поместить в коническую колбу на 100 мл. Добавить 15 мл дистиллированной воды, 10 мл 1 % раствора гидроксида калия и 10 мл раствора железосинеродистого калия и в течение 20 минут нагревать этот раствор на кипящей водяной бане. Затем раствор охладить и добавить 10 мл смеси (1:1) растворов

сернокислого цинка и йодистого калия, 10 мл раствора уксусной кислоты и 2–3 капли раствора крахмала. Провести титрование образовавшегося йода тиосульфатом до обесцвечивания раствора.

Одновременно ставят контрольный опыт, в котором вместо исследуемого фильтрата берут 20 мл дистиллированной воды.

По таблице 3.1 находят количество редуцирующих сахаров.

Массовую долю редуцирующих веществ в растительном сырье ( $P_v$ , %) находят по формуле:

$$P_v = \frac{A \cdot v \cdot 100}{g \cdot V_1},$$

где  $A$  – количество редуцирующих веществ, найденные по таблице 5, мг;

$v$  – объем, в котором растворена навеска сырья (500 мл);

$g$  – навеска, мг;

$V_1$  – объем экстракта, взятый для определения, мл

Таблица – 3.1

Объем $K_3Fe(CN)_6$ мл	Количество редуцирующих сахаров, мг									
	Десятые доли мл раствора $K_3Fe(CN)_6$									
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
0	–	–	–	–	–	0,73	0,87	1,02	1,18	1,3
1	1,51	1,67	1,83	2,00	2,16	2,31	2,47	2,62	2,78	2,9
2	3,10	3,26	3,42	3,58	3,74	3,90	4,06	4,22	4,38	4,6
3	4,72	4,88	5,04	5,20	5,36	5,53	5,70	5,86	6,03	6,20
4	6,37	6,54	6,71	6,88	7,05	7,22	7,39	7,55	7,72	7,89
5	8,06	8,22	8,39	8,56	8,72	8,89	9,06	9,22	9,39	9,55
6	9,72	9,82	10,06	10,23	10,41	10,58	10,76	10,92	11,10	11,28
7	11,46	11,64	11,82	12,00	12,18	12,36	12,54	12,73	12,91	13,10
8	13,28	13,36	13,63	13,80	13,97	14,14	14,31	14,49	14,66	14,83
9	14,99	–	–	–	–	–	–	–	–	–

Полученные результаты записывают в таблицу 3.2.

Таблица 3.2.

Образец	Навеска $g$ , мг	$V$ , мл	$V_1$ , мл	$A$ , мг	$P_v$ , %

### 3.1.3 Результаты и выводы:

В ходе лабораторной работы мы рассчитали массовую долю редуцирующих веществ в растительном сырье и занесли данные в таблицы.

### 3.3 Практическое занятие № 2 (2 часа).

**Тема: «Кислотность молока и молочных продуктов. Изучение кислотной денатурации белков молока»**

#### 3.2.1 Задание для работы:

1. Рассмотреть методы определения кислотности молока и молочных продуктов.
2. Изучить кислотную денатурацию белков молока.

#### 3.2.2 Краткое описание проводимого занятия:

По кислотности молока судят о его свежести. Кислотность необходимо знать для установления сорта молока, а также для определения возможности пастеризации и переработки молока на молочные продукты. Кислотность можно определять с помощью прибора рН-метра (активную кислотность). Активная кислотность молока находится в пределах 6,5 – 6,7. Обычно же определяют титруемую кислотность в условных градусах или градусах Тернера (°Т).

*Под градусом Тернера* подразумевается количество миллилитров 0,1 н. раствора щелочи, пошедшей на нейтрализацию (титрование) 100 мл молока, разбавленного вдвое дистиллированной водой, при индикаторе фенолфталеине.

Титруемая кислотность свежего молока находится в пределах 16 – 18 °Т и обуславливается: 1) кислотным характером белков (5-6°Т); 2) фосфорнокислыми, лимоннокислыми солями и лимонной кислотой (10-11 °Т); 3) растворенной углекислотой (1-2 °Т).

1) Метод титрования. Метод основан на нейтрализации кислот, содержащихся в продукте, раствором щелочи (NaOH, KOH) в присутствии индикатора фенолфталеина.

Техника определения. В колбу мерной пипеткой отмеряют 10 мл молока, добавляют 20 мл дистиллированной воды и 2 - 3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина. Воду при определении прибавляют для того, чтобы отчетливее уловить розовый оттенок при титровании. Затем при медленном взбалтывании содержимого колбы приливают из бюретки децинормальный (0,1н.) раствор щелочи (едкий натр) до слабо-розового окрашивания, соответствующего контрольному эталону окраски, не исчезающего в течение 1 минуты. Количество пошедшей на титрование щелочи (отмеряют по уровню нижнего мениска), умноженное на 10 (то есть пересчитанное на 100 мл молока), будет выражать кислотность молока в градусах Тернера. Расхождение между параллельными определениями должно быть не более 1 °Т. Если нет дистиллированной воды, кислотность молока можно определить и без нее. В этом случае результаты отсчета надо уменьшить на 2 °Т.

2) Предельная кислотность молока. Метод определения предельной кислотности позволяет провести сортировку при массовой приемке молока на кондиционное (до 19 – 20 °Т) и не кондиционное (свыше 20 °Т). Метод основан на нейтрализации кислот, содержащихся в продукте, избыточным количеством щелочи (NaOH, KOH) в присутствии индикатора фенолфталеина. При этом избыток щелочи и интенсивность окраски в полученной смеси обратно пропорциональны кислотности молока.

В ряд пробирок наливают по 10 мл едкого натра (калия), приготовленного для определения соответствующего градуса кислотности. В каждую пробирку с раствором приливают по 5 мл испытуемого молока и содержимое пробирки перемешивают путем переворачивания. Если содержимое пробирки обесцветится, кислотность выше показателя, соответствующего данному раствору.

Вместо приведенного выше раствора NaOH можно использовать и другой раствор. Для этого в пробирки отмеривают по 10 мл дистиллированной воды, вносят по 2 – 3 капли фенолфталеина и 0,1 н. раствор NaOH, соответствующий определенной кислотности молока, в следующем количестве:

1,1 мл NaOH соответствует кислотности 22 °Т

1,0 мл NaOH соответствует кислотности 20 °Т  
0,95 мл NaOH соответствует кислотности 19 °Т  
0,90 мл NaOH соответствует кислотности 18 °Т  
0,85 мл NaOH соответствует кислотности 17 °Т  
0,80 мл NaOH соответствует кислотности 16 °Т

На крупных заводах метод установления предельной кислотности молока используется для его сортировки в потоке автоматически на свежее и кислое.

3) Кипятильная проба. Эту пробу используют, чтобы отличить действительно свежее молоко от смешанного, в которое прибавлено молоко с повышенной кислотностью. Свежесть молока определяют кипячением небольшой порции в пробирке. Обычно молоко при кипячении свертывается, если кислотность его выше 25°Т. Но смесь из молока кислотностью 27°Т и 18°Т при кипячении также свернется, хотя титруемая кислотность такой смеси может не превышать 22°Т. Ввиду простоты этого способа он желателен при оценке качества молока, доставляемого на молочные заводы.

4) Кисотно-кипятильная проба. По ней судят одновременно о кислотности и о состоянии белков молока.

К 10 мл нормального свежего молока можно добавить до 0,8 - 1 мл 0,1 н. раствора серной кислоты, подержать смесь 3 минуты в кипящей воде, и оно не свернется. Если молоко свертывается при добавлении меньшего количества кислоты, значит, белок в нем изменился главным образом под воздействием микрофлоры.

5) Определение свежести молока. Свежесть молока выражают в градусах, под которыми понимают сумму градусов кислотности и числа свертывания молока. *Число свертывания*- количество миллилитров 0,1 н. раствора серной кислоты, необходимое для свертывания 100 мл молока.

*Градус свежести* нормального молока не должен быть ниже 60. Если в молоке произошли изменения, главным образом под воздействием гнилостных бактерий, то для свертывания молока потребуется меньше кислоты. В таком молоке градус свежести будет меньше, чем в нормальном.

Пример. При определении кислотности израсходовано 1,8 мл 0,1 н. раствора NaOH, то есть кислотность равна 18 °Т. На осаждение казеина (10 мл молока + 20 мл воды) израсходовано 3,0 мл 0,1 н. раствора серной кислоты, следовательно, число свертывания равно 30.

Градусы свежести  $18 + 30 = 48$ , значит, молоко недоброкачественное, так как при невысокой титруемой кислотности потребовалось сравнительно немного кислоты для осаждения казеина.

Вещества, нарушающие структурную организацию белковой молекулы (т.е. четвертичную, третичную и даже вторичную структуры), приводят к изменению физико-химических и биологических свойств белка. Это явление называется **денатурацией**.

1. Денатурация белка концентрированными минеральными кислотами.

Метод основан на способности минеральных кислот вызывать нейтрализацию зарядов и разрушение пространственной структуры белка, что приводит к его денатурации и осаждению.

**Ход работы.** В пробирку наливают 10 капель концентрированной азотной кислоты и осторожно, держа пробирку под углом 45°, наклоняют на кислоту 5 капель раствора яичного белка. Отметить изменения на границе двух слоев жидкостей (кольцо денатурированного белка).

2. Денатурация белка органическими кислотами.

Метод основан на способности органических кислот нейтрализовать заряд молекулы белка и разрушать ее пространственную структуру, что приводит к денатурации и осаждению белка.

В две пробирки наливают по 10 капель раствора яичного белка. Добавляют в одну из них 2 капли трихлоруксусной кислоты, а в другую – 2 капли хлорной кислоты, отмечают произошедшие изменения.

3. Денатурация белка органическими растворителями.

Метод основан на способности органических растворителей (спирт, хлороформ) нарушать гидрофобные взаимодействия внутри белковой молекулы и вызывать ее денатурацию, что приводит к снижению растворимости и выпадению денатурированного белка.

В три пробирки наливают по 10 капель раствора белка и добавляют равные объемы органических растворителей: в первую – этиловый спирт, во вторую – ацетон, в третью – хлороформ. Наблюдают за выпадением белка.

**3.1.3 Результаты и выводы:**

В ходе лабораторной работы мы рассчитали кислотность молока и молочных продуктов и занесли данные в таблицы.