

Эта часть работы выложена в ознакомительных целях. Если вы хотите получить работу полностью, то приобретите ее воспользовавшись формой заказа на странице с готовой работой:

<https://studservis.ru/gotovye-raboty/otvety-na-bilety/142242>

Тип работы: Ответы на билеты

Предмет: Биотехнология

-

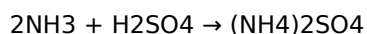
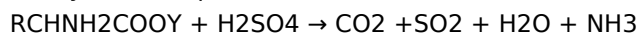
камня. Большинство органических кислот можно определить хромато-графическими методами.

К альтернативным относятся методы, основанные на использовании ферментативных систем.

Характерными особенностями ферментативного анализа являются специфичность, обеспечивающая достоверность результатов, высокие точность и чувствительность.

8. Методы определения массовой доли белка.

Массовую долю белка в пищевых продуктах часто определяют по количеству общего азота методом Кьельдаля. Метод основан на минерализации навески продукта при нагревании с концентрированной серной кислотой в присутствии катализаторов. При этом углерод и водород органических соединений окисляются до углекислого газа и воды, азот освобождается в виде аммиака, соединяется с серной кислотой, образуя сульфат аммония. Схематично происходящие реакции могут быть представлены следующим образом:



На последующей стадии дистилляции раствор сульфата аммония обрабатывают концентрированным раствором гидроксида натрия, при этом аммиак освобождается и улавливается титрованным раствором серной кислоты. Избыток серной кислоты оттитровывают раствором гидроксида натрия.

Методом Кьельдаля определяется количество общего азота. Массовую долю белка вычисляют умножением полученной величины общего азота на переводной коэффициент, индивидуальный для различных продуктов.

С развитием фотометрии и спектрофотометрии были разработаны методы количественного определения белка, основанные на его способности давать окрашенные соединения с некоторыми реагентами. Среди них следует отметить метод Лоури и биуретовый метод. Биуретовый метод основан на биуретовой реакции, т.к. ее дают полипептидные связи. Она получила свое название от производного мочевины – биурета, который образует в щелочном растворе медного купороса окрашенное комплексное соединение.

Интенсивность окрашивания пропорциональна содержанию пептидных связей, а следовательно, и концентрации белка в растворе. Интенсивность окрашивания определяют колориметрически.

Метод Лоури основан на реакции Фолина с фенольными радикалами некоторых аминокислот, входящих в состав белка, в результате которой образуется соединение, придающее синюю окраску раствору белка.

Интенсивность окрашивания зависит от массовой доли белка в исследуемом растворе объекта и определяется по оптической плотности на фотоэлектроколориметре.

Находят применение также физико-химические методы, в основу которых положены специфические свойства белка: образование различной степени помутнения в зависимости от концентрации белка в растворе сульфасалициловой кислоты (нефелометрический метод), способность белка адсорбировать некоторые красители и другие свойства белка.

9. Метод определения общего и небелкового азота по Кьельдалю.

Метод определения азота по Кьельдалю - простой, быстрый и точный метод количественного определения содержания белкового азота для оценки общего (неочищенного) белка, а также небелкового азота (NPN), казеина (NCN), общего азота (TKN) и мочевины. Метод Кьельдаля является официальным эталонным методом, принятым многими международными организациями и описан в различных нормативных документах, таких как AOAC, USEPA, ISO, DIN, Pharmacopeias и др.

Классический ручной манипулятивный метод занимает значительное количество времени и требует высокую концентрацию белка в каждом из исследуемых образцов, накладывая определенные ограничения на случаи, где зачастую доступны лишь объекты с невысоким содержанием белка. Более того, успешный анализ требует надлежащего отбора проб и обработки образцов, что может накладывать некоторые сложности перед исполнением индивидуальных задач. Для разрешения возможных затруднений необходимы особо гибкие решения и производительные приборы.

Инструментальный метод определения белкового азота по Кьельдалю, основанный на решениях и продуктах фирмы BUCHI идеально подходит для широкого круга задач вне зависимости от концентрации белка в исследуемых объектах и материала анализируемых образцов (твёрдое вещество или жидкость). Это открывает пользователям множество новых возможностей и преимуществ, таких как высокая производительность и скорость процесса в сочетании с полнейшей безопасностью процесса анализа, удобством и простотой использования метода.

10. Метод формольного титрования. Определение содержания продуктов гидролиза белков и пептидов формальным титрованием.

Метод применяют при условии согласия с поставщиком.

Метод формольного титрования основан на нейтрализации карбоксильных групп моноаминодикарбоновых кислот белков раствором гидроксида натрия, количество которого, затраченное на нейтрализацию, пропорционально массовой доле белка в молоке.

А. Я Данилевский высказал гипотезу о том, что различные α -аминокислоты, образуя белки, соединяются за счет аминогрупп и карбоксильных групп при помощи группировки $-\text{CO}-\text{NH}-$, впоследствии названной пептидной связью. Наличие пептидных связей в белках доказано многими фактами. В первую очередь оно подтверждается присутствием в продуктах гидролиза белков полипептидов — веществ, содержащих пептидные связи. Белки, как и полипептиды, дают так называемую биуретовую реакцию, характерную для соединений с пептидными связями.

Конечными продуктами гидролиза белков являются различные α -аминокислоты, синтетические полиамиды гидролизуются с образованием соответствующих дикарбоновых кислот и диаминов или исходных аминокислот.

L-Лизин и L-орнитин обычно содержатся в продуктах гидролиза белков.

Орнитин, вероятно, представляет собой вторичный продукт расщепления белковых веществ.

Непосредственным продуктом гидролиза белков является аргинин, при гидролизе которого получаются мочевины и орнитин.

Для изучения продуктов гидролиза белков наиболее широко применяется метод разделительной хроматографии на фильтровальной бумаге.

Сераосодержащие аминокислоты цистин, цистеин и метионин. Цистин настолько легко выделяется из продуктов гидролиза белков, что разработка методов его синтеза представляет только теоретический интерес.

Весь сложный процесс переваривания пищевых белков в пищеварительном тракте настроен таким образом, чтобы путем последовательного действия протеолитических ферментов лишить белки пищи видовой и тканевой специфичности и придать продуктам распада способность всасываться в кровь через стенку кишечника. Примерно 95—97% белков пищи всасывается в виде свободных аминокислот. Следовательно, ферментный аппарат пищеварительного тракта осуществляет поэтапное, строго избирательное расщепление пептидных связей белковой молекулы вплоть до конечных продуктов гидролиза белков — свободных аминокислот. Гидролиз заключается в разрыве пептидных связей $-\text{CO}-\text{NH}-$ белковой молекулы.

Определение азота свободных аминногрупп в препаратах аминокислот, пептидов, белков и других с содержанием азота 1,5 – 5,0 мг в 1 мл испытуемого раствора проводят методом формольного титрования (метод Серенсена), основанном на защите формальдегидом свободных аминногрупп (образование оснований Шиффа) и алкалиметрическом титровании эквивалентного количества карбоксильных групп. Метод неприменим в присутствии ионов аммония, завышающих результаты определения.

К точной навеске или точному объему (указывают в фармакопейной статье) испытуемого образца прибавляют воду до объема 20 мл. При необходимости раствор нейтрализуют потенциометрически до pH 7,0, путем прибавления натрия гидроксида раствора 0,1 М или хлористоводородной кислоты раствора 0,1 М. По окончании нейтрализации прибавляют от 2 до 10 мл (указывают в фармакопейной статье) формальдегида раствора 35 %, нейтрализованного в день анализа натрия гидроксида раствором 10 % до pH 7,0, перемешивают и титруют натрия гидроксида раствором 0,1 М до значения pH 9,1, не изменяющегося при перемешивании в течение 2 мин, или до появления слабо-розового окрашивания (индикатор – фенолфталеин раствор 1 %).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл натрия гидроксида раствора 0,1 М соответствует 1,4 мг аминного азота.

11. Показатели биологической ценности белка в пищевых продуктах. Метод определения массовой доли белка биуретовым методом.

Для определения биологической ценности белков используют химические и биологические (в том числе микробиологические) методы.

Биологические методы учитывают степень усвоения белков организмом экспериментальных животных. Рассчитывают такие показатели как коэффициент эффективности белка, показатель чистой утилизации белка и др.

Важным показателем биологической ценности белков является их перевариваемость — атакуемость пищеварительными ферментами — способность подвергаться гидролизу в желудочно-кишечном тракте. Перевариваемость белков животного происхождения выше, чем растительных. Различна и усвояемость организмом продуктов гидролиза протеинов.

Усвояемость белков животного происхождения составляет 97%, растительных — лишь 83—85%. Это обусловлено значительным содержанием балластных веществ в продуктах растительного происхождения. Усиливая перистальтику кишечника, эти вещества способствуют более быстрому выведению невсосавшихся аминокислот из кишечника. Кроме того, клетчатка, входящая в состав клеточных оболочек, ухудшает проникновение пищеварительных ферментов внутрь клеток, препятствует их действию, особенно в бобовых, грибах, крупах из цельного зерна. Клетчатка снижает усвояемость и других компонентов пищи: жиров, витаминов и минеральных веществ. Белки хлеба из муки I и II сортов усваиваются на 85%, овощей — на 80%, картофеля, хлеба из обойной муки, бобовых — на 70%. В бобовых содержатся такие вещества как антипротеазы, тормозящие действие пищеварительных ферментов.

Наиболее быстро перевариваются белки молочных продуктов и рыбы, затем мяса (белки говядины быстрее, чем белки свинины и баранины), хлеба и круп (быстрее — белки пшеничного хлеба и манной крупы).

Длительное разваривание, измельчение, протирание улучшают суммарную сбалансированность аминокислот. Оптимальный состав аминокислот имеют молоко с крупами, макаронами, хлебом, мучные изделия с творогом, мясом, рыбой. Меньшей биологической ценностью обладают такие изделия как пирожки с рисом, саго, картофелем.

Биуретовый метод основан на образовании синефиолетовой окраски при воздействии на белки сульфата меди в присутствии щелочи. Природа белка почти не влияет на формирование окрашенного биуретового комплекса, который возникает за счет присоединения ионов меди к пептидным связям белка. Оптическую плотность окрашенных растворов измеряют при длине волны 540 нм. Преимущества метода -- возможность применения стандартного белка для построения калибровочного графика, воспроизводимость и точность. Щелочной экстракт белков объемом 2 мл смешивают с 15 мл биуретового реактива. После 30 мин инкубирования смеси при 37 °C, проводят спектрофотометрирование при $\lambda=550\text{ нм}$.

Контрольный опыт готовят аналогично, используя вместо образца 1 мл дистиллированной воды.

Построение калибровочного графика. Для построения графика готовят ряд последовательных разведений стандартного раствора белка, в качестве которого используют кристаллический сывороточный альбумин: 0,01г белка растворяют в 100 мл дистиллированной воды, отбирают 1 мл и доводят объем до 10мл и т.д. С пробами из каждого разведения белка проводят биуретовую реакцию в условиях, соответствующих описанию метода, и измеряют оптическую плотность окрашенных растворов. Затем строят график $D=f(c)$.

12. Основные процессы, происходящие в белках при технологической обработке. Определение небелкового азота с отделением трихлоруксусной кислотой.

Гидратацией называется процесс связывания воды сухими веществами или структурой продукта. Это сложный коллоидный процесс, в котором используют термин степень гидратации. Под степенью гидратации подразумевают способность сухих веществ, в том числе и белковых, переводить воду из структурно свободной в состояние структурно связанной, а так же то, насколько эта способность реализована.

Гидратация белков – важнейший фактор устойчивости их растворов. Молекулы гидратной воды можно представить в виде одного слоя вокруг полярных и ионизированных групп белка. Неполярные участки белка (в случае их наличия в белке) свободны от воды. Такая вода прочно удерживается белком и называется адсорбционной.

-

Эта часть работы выложена в ознакомительных целях. Если вы хотите получить работу полностью, то приобретите ее воспользовавшись формой заказа на странице с готовой работой:

<https://studservis.ru/gotovye-raboty/otvety-na-bilety/142242>