

Г. Г. Филипцова, И. И. Смолич

Биохимия растений

*Методические рекомендации к лабораторным занятиям,
задания для самостоятельной работы студентов*

Минск
БГУ
2004

УДК 581.19(072)
ББК 28.57р.я73
Ф53

Рецензенты:

доктор биологических наук *В. В. Титок*;
кандидат биологических наук, доцент *Н. М. Орел*

Рекомендовано Ученым советом
Биологического факультета
28 июня 2004 г., протокол № 10

Филипцова Г. Г.

Ф53 Биохимия растений: метод. рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самост. работы студентов / Г. Г. Филипцова, И. И. Смолич. – Мн.: БГУ, 2004. – 60 с.

Пособие включает ряд лабораторных занятий, охватывающих основные разделы специального курса «Биохимия растений», а также задания для самостоятельной работы и контроля знаний студентов. Цель пособия – закрепить знания, полученные студентами в лекционном курсе, активизировать самостоятельную работу студентов, что позволит сделать процесс обучения более эффективным.

Пособие предназначено для студентов биологического факультета специальности G 31 01 01 «Биология».

УДК 581.19(072)
ББК 28.57р.я73

© Филипцова Г.Г., Смолич И.И., 2004
© БГУ, 2004

Предисловие

В основе организменного уровня жизни лежит структурное и химическое взаимодействие и взаимовлияние, поэтому изучение биохимии позволяет в определенной степени приблизиться к пониманию физиологических процессов, происходящих в целом организме.

Данное пособие включает в себя методические указания к лабораторным занятиям по специальному курсу «Биохимия растений», задания для самостоятельной работы и тесты, позволяющие контролировать степень усвоения материала студентами. Лабораторные занятия и задания для самостоятельной работы определяются программой данного курса и охватывают его основные разделы. Лабораторных работ приводится больше, чем можно выполнить за предусмотренное программой время. Это позволяет преподавателю индивидуализировать обучение студентов.

Цель данного пособия – закрепить знания, полученные студентами в лекционном курсе, активизировать самостоятельную работу студентов, развить творческий подход в исследовательской деятельности, то есть сделать процесс обучения более эффективным.

Авторы выражают глубокую благодарность рецензентам В. В. Титку и Н. М. Орел за доброжелательный конструктивный анализ рукописи и ценные критические замечания.

Авторы с признательностью примут все замечания и пожелания, направленные на улучшение пособия.

Раздел I.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Лабораторная работа № 1

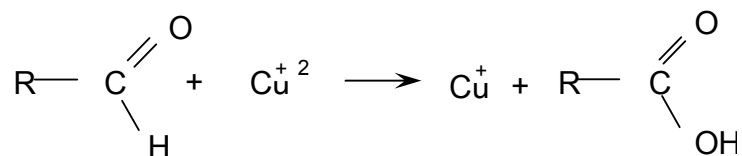
Количественное определение содержания растворимых углеводов в растениях

Растворимые углеводы (сахара) являются неотъемлемым компонентом любой ткани растения. Количественный и качественный состав сахаров у разных растений может варьировать в широких пределах. В корнеплодах сахарной свеклы накапливается 19–21 % сахаров, представленных главным образом сахарозой. Ягоды винограда содержат 20–30 % сахаров, состоящих почти исключительно из глюкозы и фруктозы. Много сахаров содержат персики, абрикосы, яблоки, груши, сливы, цитрусовые и ягодные культуры. У всех растений, особенно у ягодных культур (земляника, смородина, малина, вишня, хурма), относительное содержание моносахаридов и сахарозы подвержено значительным колебаниям. На сахаристость и соотношение различных сахаров в плодах оказывают влияние самые разнообразные факторы – увлажнение почвы, температура, количество вносимых минеральных удобрений, длина светового периода и др. Поэтому при оценке сахаристости различных плодов и сортов одного и того же растения необходимо учитывать эти факторы, чтобы сопоставлять только сравниваемые между собой объекты.

Большая часть сахаров находится в клеточном соке, и одним из приемов оценки образцов является анализ сока растения. Сахара легко растворяются в воде и на этом свойстве основано их выделение из растений и перевод в водную вытяжку.

Количественное определение сахаров проводят с помощью самых разнообразных методов, основанных на их физических и химических

свойствах. Наиболее общий классический химический метод количественного определения сахаров, обладающих свободной альдегидной или кетонной группой, основан на способности этих функциональных групп восстанавливать в щелочной среде окисную медь в закись меди.



Сахара, обладающие таким свойством, называются восстанавливающими, или редуцирующими. К ним относятся все моносахариды и некоторые олигосахариды, имеющие одну свободную карбонильную группу (мальтоза, лактоза). Сахароза и другие олигосахара, у которых связаны обе карбонильные группы, требуют предварительного гидролиза кислотой или ферментом.

В водной вытяжке некоторых объектов кроме сахаров присутствуют также другие редуцирующие вещества (белки, крахмал, инулин), которые могут исказить результаты анализа. В таких случаях требуется использовать осадители, чтобы очистить вытяжку.

В случае анализа окрашенных объектов (виноград, листовые овощи, сахарная свекла) обязательно производят осветление вытяжек осаждением примесей. В качестве осадителей можно использовать:

- 1) смесь 30 % раствора сернокислого свинца и 15 % раствора желтой кровяной соли, взятых в равных объемах;
- 2) 4 % раствор фосфорновольфрамовой кислоты;
- 3) 10 % раствор уксуснокислого свинца.

Некоторые объекты (томаты, яблоки, лимоны) содержат значительные количества кислот, которые могут во время извлечения сахаров при нагревании частично или полностью гидролизовать сахарозу. Поэтому если определяют не только общий сахар, но и отдельно сахарозу, необходимо перед нагреванием к водной вытяжке добавить мел для нейтрализации кислот.

Цель настоящей работы – определить количество сахаров (моно- и олигосахаридов) в различных растительных объектах.

Реактивы и материалы: дистиллированная вода, уксуснокислый свинец, фосфорнокислый натрий, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, NaOH , глицерин, соляная кислота, глюкоза, фарфоровая ступка и пестик, воронка Шотта, колба Бунзена, конические колбы объемом 100 мл, мерный цилиндр, пробирки, водяная баня.

Ход работы

1. Извлечение сахаров водой

Взвесить 5 г исследуемого материала (яблоки, капуста, морковь, лук), размельчить и растереть до гомогенной массы в фарфоровой ступке с небольшим количеством воды, нагретой до 70 °С. Растертую массу количественно перенести в коническую колбу на 100 мл, объем вытяжки довести до 50 мл горячей дистиллированной водой и оставить на 10 мин для экстракции. По истечении указанного времени экстракт охладить, отфильтровать через воронку Шотта и количественно перенести вытяжку в мерную колбу. При необходимости довести объем водой до 50 мл.

Обязательно провести осветление вытяжки в случае окрашенных (мутных) экстрактов. Для этого в теплую, не доведенную до окончательного объема вытяжку добавить по каплям 10 % раствор уксуснокислого свинца до прекращения образования осадка. Обычно на вытяжку, полученную из навески 10 г, необходимо добавить 0,5–2 мл раствора уксуснокислого свинца. Избытка соли свинца следует избегать, так как он проходит через фильтр и мешает ходу анализа. Осветленную вытяжку отфильтровать и довести объем водой до 50 мл.

2. Определение восстанавливающих сахаров

Для определения содержания восстанавливающих сахаров предварительно следует приготовить раствор глицерата меди. Для этого необходимо сделать смесь (2:1) растворов № 1 (0,8 % $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) и № 2 (15 % NaOH с добавлением 1 мл глицерина).

Отобрать 1 мл осветленной отфильтрованной вытяжки в пробирку, добавить 15 мл глицерата меди, перемешать и нагревать на водяной бане при 70 °С 6 мин. Затем пробирку охладить в холодной воде и отобрать прозрачную жидкость в кювету для определения оптической плотности раствора (проба 1).

3. Определение суммы восстанавливающих и невосстанавливающих сахаров (сахарозы)

Для определения содержания невосстанавливающих сахаров отобрать 0,5 мл осветленной отфильтрованной вытяжки, добавить 0,5 мл 1 % HCl , перемешать и поставить на кипящую водяную баню на 15 мин. По истечении указанного времени добавить 15 мл глицерата меди и нагревать на водяной бане ровно 6 мин. Охладить пробирку в

холодной воде, дать вытяжке отстояться и отобрать прозрачную жидкость для оптического анализа (проба 2). В этой пробе определяется сумма восстанавливающих сахаров и сахарозы.

4. Спектрофотометрия

Оптическую плотность исследуемых растворов необходимо регистрировать на спектрофотометре при длине волны $\lambda = 582$ нм.

Содержание сахаров в пробах можно определить по калибровочной кривой, построенной по глюкозе. Для этого необходимо приготовить 50 мл раствора, содержащего 10 мг/мл глюкозы, и затем методом разбавления получить остальные растворы согласно таблице:

№	Содержание глюкозы, мг/мл	Количество исходного раствора глюкозы, мл	Количество воды, мл	Оптическая плотность, D_{582}
1	0,5	0,5	9,5	
2	1,0	1,0	9,0	
3	2,5	2,5	7,5	
4	5,0	5,0	5,0	
5	7,5	7,5	2,5	
6	10,0	10,0	0	

Для определения оптической плотности (D_{582}) этих растворов предварительно провести реакции с глицератом меди, аналогично опытными образцам.

Количество восстанавливающих сахаров в исследуемом объекте (A , %) вычислить по формуле:

$$A = \frac{c \cdot V}{m} \cdot 100 \%,$$

где c – содержание сахаров в пробе 1, найденное по калибровочной кривой;

V – объем вытяжки, полученной из навески;

m – масса навески в граммах.

По этой же формуле рассчитать сумму восстанавливающих сахаров и сахарозы, подставляя вместо c содержание сахаров в пробе 2, найденное по калибровочной кривой. Разность между вторым и первым определениями, умноженная на коэффициент 0,95, дает содержание сахарозы в исследуемом объекте.

Результаты оформить в таблицу.

Объект	D_{582} проба 1	D_{582} проба 2	Количество вос- становливающих сахаров, мг/г	Сумма моно- и олигосахаридов, мг/г	Количество сахарозы, мг/г

Сделать выводы.

Лабораторная работа № 2

Определение содержания белка в семенах и в вегетативной массе различных культур

Содержание белка у различных культур сильно варьирует. Это обусловлено генотипическими особенностями видов, сортов, а также условиями их выращивания. Кроме того, белки неравномерно распределены в тканях растений. Мало белковых веществ в старых стеблях и корнях, тогда как в листьях и семенах может содержаться значительное количество белка. Так, в вегетативной массе клевера, люцерны, вики содержание белка составляет до 20 % на сухое вещество, а в семенах пшеницы, ячменя, кукурузы варьирует в пределах 10–30 %. В семенах бобовых культур, например у сои количество белка может достигать 50 %.

Из семян бобовых и масличных культур достаточно легко получить препараты белков для изучения их химического состава и строения. Выделение белковых веществ из вегетативных органов растений затруднено, так как в них белки прочно связаны с углеводами и другими соединениями.

Экстракция белков из растительной ткани основана на их способности растворяться при разрушении ткани в воде, растворах солей, кислотах и щелочах, буферных растворах. Буферные растворы обеспечивают мягкие условия выделения белков, при которых сохраняется природная структура их молекул. Для выделения большей части белковых веществ (препарат суммарного белка) используют буферные растворы с рН 8.

Существует несколько методов количественного определения белков в растительных тканях. Ниже представлена работа по спектрофотометрическому и колориметрическому методам определения суммарного содержания белка в растительном материале. Цель настоящей

работы – определить количество белка в семенах различных зерновых и зернобобовых культур, а также в вегетативной массе растений.

Реактивы и материалы: дистиллированная вода, фосфатный буфер (рН 8), $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, бисульфид натрия, этиловый спирт, трихлоруксусная кислота (ТХУ), NaOH , Na_2CO_3 , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, К- или Na-виннокислый, реактив Фолина, альбумин или казеин, фарфоровая ступка и пестик, кварцевый песок, колба Бунзена, ротатор, конические колбы объемом 100 мл, мерные цилиндры, пробирки, морозильная камера, центрифуга.

Ход работы

1. Выделение суммарных белков из семян зерновых и зернобобовых растений

Навеску 1 г сырых проросших семян (пшеница, ячмень, фасоль, горох, люпин, соя) поместить в фарфоровую ступку. Добавить небольшое количество кварцевого песка и тщательно растереть с 40 мл фосфатного буфера (рН 8), содержащего 0,2 % бисульфита натрия и несколько капель этилового спирта. При использовании сухих семян их необходимо предварительно размолоть до состояния муки, и после добавления фосфатного буфера настоять в течение часа.

Для приготовления 0,1 М фосфатного буфера с рН 8,0 необходимо взять 95 мл 0,2 М раствора $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ добавить 5 мл 0,2 М раствора $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ и довести объем водой до 200 мл.

Гомогенат количественно перенести в коническую колбу на 100 мл и довести объем фосфатным буфером до 50 мл. Содержимое колб перемешивать на ротаторе в течение 1 ч. По истечении указанного времени колбы достать из ротатора и дать вытяжке отстояться в течение 15 мин. Затем при помощи пипетки из верхней части гомогената осторожно отобрать 10 мл раствора и перенести в центрифужные пробирки. Провести центрифугирование раствора в течение 15 мин при 3000 об/мин при комнатной температуре. По окончании центрифугирования из пробирок отобрать пипеткой 1 мл надосадочной жидкости и перенести в другую пробирку. Туда же необходимо добавить 9 мл фосфатного буфера с рН 8, тщательно перемешать, после чего раствор суммарных белков готов к спектрофотометрированию.

2. Спектрофотометрический метод определения суммарных белков

Раствор белков налить в кварцевую кювету и определить его оптическую плотность при 280 и 260 нм (в качестве раствора сравнения использовать исходный раствор фосфатного буфера). Ароматические аминокислоты тирозин и триптофан, содержащиеся в белках, поглощают свет в области $\lambda = 280$ нм. Однако поглощение в этой области имеют и нуклеиновые кислоты, хотя максимум поглощения последних составляет $\lambda = 260$ нм. Поэтому для определения концентрации белка в растворах названным методом используют уравнение Варбурга - Христиана:

$$c = 1,55 \times D_{280} - 0,76 \times D_{260},$$

где c – содержание белка в мг/мл;
 D_{280} и D_{260} – оптическая плотность растворов при 280 и 260 нм;
 1,55 и 0,76 – расчетные коэффициенты.

Содержание суммарных белков в навеске семян (мг/г сухой массы) рассчитать по формуле:

$$A = \frac{c \cdot V \cdot 10}{m} \cdot \frac{100}{86 \text{ или } 60},$$

где c – содержание белка в растворе, найденное по формуле Варбурга - Христиана;
 V – объем вытяжки в мл;
 m – масса навески в граммах;
 10 – коэффициент, учитывающий разведение вытяжки;
 86 – сухая масса воздушносухой массы навески семян, %;
 60 – сухая масса проросших семян, %.

Результаты оформить в виде таблицы.

Культура	Масса навески, г	Объем вытяжки, мл	Оптическая плотность		Концентрация белка в пробе, мг/мл	Концентрация белка в растении, мг/г
			D_{280}	D_{260}		

Сделать сравнительный анализ полученных результатов.

3. Выделение белков из вегетативных органов растений

Взвесить навеску 0,5 г свежего растительного материала (листья ячменя, клевера, клубни картофеля), измельчить и растереть в фарфоровой ступке с 4-кратным (по массе) количеством фосфатного буфера с рН 8, содержащим 0,2 % бисульфида натрия и несколько капель этилового спирта. Гомогенат залить 10 мл холодной 5 % ТХУ, тщательно перемешать и поместить в холодильник на 20 мин. Затем гомогенат перенести в центрифужные пробирки и центрифугировать в течение 15 мин при 6000 об/мин для осаждения белков. После центрифугирования надосадочную жидкость слить. Осадок промыть охлажденным 96 % этанолом до полного исчезновения зеленой окраски в надосадочной жидкости. Повторить центрифугирование и к промытому осадку добавить 2 мл 0,5 н NaOH. Поместить пробирки на 5 мин на кипящую водяную баню, после чего прилить еще 5 мл 0,5 н NaOH, перемешать и центрифугировать 10 мин при 6000 об/мин. Надосадочную жидкость перенести в мерный цилиндр и измерить общий объем щелочного гидролизата. Количество белка в пробе определить по методу Лоури.

4. Определение белков по методу Лоури

Для определения содержания белков по методу Лоури необходимо предварительно приготовить растворы:

А – 2 % Na_2CO_3 в 0,1 н NaOH;

В – 0,5 % $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 1 % К-Na-виннокислом;

С – смесь растворов А и В (50:1 по объему);

Е – реактив Фолина.

Отобрать 1 мл щелочного гидролизата, добавить 5 мл раствора С, перемешать и через 10 мин добавить 0,5 мл раствора Е. Смесь выдержать в течение 30 мин при комнатной температуре, после чего измерить оптическую плотность раствора при 750 нм на спектрофотометре. В качестве раствора сравнения использовать смесь: 1 мл 0,5 н NaOH, 5 мл раствора С и 0,5 мл реактива Фолина.

Для определения содержания белка в растворе необходимо построить калибровочный график по альбумину или казеину.

На аналитических весах взвесить 100 мг альбумина и растворить в 100 мл фосфатного буфера. Из этого стандартного раствора приготовить производные растворы с содержанием белка от 0,05 до 1,0 мг/мл согласно таблице:

№	Содержание белка, мг/мл	Стандартный раствор альбумина, мл	Фосфатный буфер, мл	Оптическая плотность, D_{750}
1	0,05	0,5	9,5	
2	0,1	1,0	9,0	
3	0,2	2,0	8,0	
4	0,3	3,0	7,0	
5	0,4	4,0	6,0	
6	0,5	5,0	5,0	
7	1,0	10	0	

Последовательно отобрать 1 мл каждого из растворов альбумина, перенести в чистые предварительно пронумерованные пробирки и добавить, как и в случае опытных растворов, 5 мл раствора С, а через 10 мин 0,5 мл раствора Е. Содержимое каждой из пробирок осторожно перемешать и оставить при комнатной температуре на 30 мин. По истечении указанного времени измерить оптическую плотность растворов при длине волны $\lambda = 750$ нм.

По данным, полученным для стандартных растворов, построить калибровочный график (на оси ординат – величина оптической плотности, на оси абсцисс – концентрация белка).

Пользуясь калибровочной кривой найти концентрацию белка в исследуемом растворе. Общее содержание белка в вегетативной части растения (мг/г сырой массы) рассчитать по формуле:

$$A = \frac{c \cdot V}{m},$$

где c – концентрация белка в исследуемом растворе в мг/мл;

V – объем щелочного гидролизата в мл;

m – масса навески растительного материала в граммах.

Результаты оформить в виде таблицы.

Культура	Масса навески, г	Оптическая плотность, D_{750}	Содержание белка в растворе, мг/мл	Содержание белка в растении, мг/г

Сделать выводы.

Лабораторная работа № 3

Определение содержания свободных органических кислот и кислых солей в плодах методом титрования

Органические кислоты содержатся в любой растительной ткани, хотя максимальное их количество накапливается, главным образом, в плодах и овощах. Кислоты, более чем какие-либо другие соединения, определяют характерный вкус, присущий многим растительным продуктам, в частности плодам.

Количественное содержание органических кислот в растениях подвергается суточным и сезонным изменениям. Отличия имеет и качественный состав различных видов и сортов растений.

В плодах и овощах содержатся самые разные органические кислоты, но обычно преобладает одна из них. Так, в яблоках обнаружены яблочная, янтарная, лимонная, α -кетоглутаровая, щавелевоуксусная, пировиноградная, уксусная, хлорогеновая и другие кислоты. Но около 70 % от их общего количества приходится на яблочную кислоту, до 20 % – на лимонную, около 7 % – янтарную и лишь 3 % – на остальные кислоты.

Для плодов и овощей, за редким исключением (например, виноград), характерно преобладание свободных органических кислот над связанными. В листьях они находятся, главным образом, в виде нейтральных и кислых солей, достигая 15–25 % на сухое вещество. Растворы солей органических кислот в смеси со свободными кислотами являются буферными системами клетки, поддерживая определенное значение pH.

Кислотность плодов и овощей обычно определяют методом титрования определенных объемов экстракта раствором щелочи. При этом титруются исключительно свободные органические кислоты и кислые соли (нейтральные соли не учитываются). Результаты титрования выражают в процентах для одной из главных органических кислот, входящих в состав объекта. Кислотность свежих плодов груши колеблется от 0,1 до 0,6 %, сливы – 0,4–3,5 %, лимона – 3,8–8 %.

Цель настоящей работы – определить кислотность плодов различных культур (яблоки, апельсины, помидоры).

Реактивы и материалы: дистиллированная вода, NaOH или KOH, фенолфталеин, фарфоровая ступка и пестик, кварцевый песок, колба Бунзена, конические колбы объемом 250 мл, мерные цилиндры, водяная баня.

Ход работы

Взвесить 10–20 г свежих размельченных плодов. Перенести навеску в фарфоровую ступку и тщательно растереть с 1–2 г кварцевого песка до однородной массы. Растертую массу количественно перенести в коническую колбу на 250 мл, залить 100 мл горячей дистиллированной воды (80 °С) и нагревать на водяной бане в течение 1 ч при 80 °С. Затем содержимое колбы охладить и отфильтровать через воронку Шотта. Довести объем экстракта до 100 мл. Пипеткой взять 20 мл вытяжки и перенести в чистую коническую колбу, туда же добавить 2–3 капли фенолфталеина до розового окрашивания. Оттитровать вытяжку 0,1 н раствором щелочи.

Кислотность исследуемого объекта (X , %) вычислить по формуле:

$$X = \frac{a \cdot V}{V_1 \cdot m} \cdot 100 \%,$$

где a – количество 0,1 н щелочи, пошедшей на титрование, в мл;

V – общий объем вытяжки;

V_1 – объем вытяжки, взятой для титрования;

m – масса навески в граммах.

Если результат хотят выразить для какой-либо из главных органических кислот, то X умножают на определенный расчетный коэффициент. Согласно А. И. Ермакову и др., 1 мл 0,1 н раствора щелочи пошедшей на титрование, соответствует 7,5 мг винной, 6,7 мг яблочной, 6,4 мг лимонной, 4,5 мг щавелевой кислот.

Результаты оформить в виде таблицы.

Объект	Количество щелочи, пошедшей на титрование, мл	Кислотность, %

Сделать выводы.

Лабораторная работа № 4

Сравнительная оценка физико-химических свойств растительных масел на основании определения кислотного и иодного чисел и числа омыления

Запасные жиры растений представляют собой сложные эфиры многоатомных спиртов (в первую очередь, глицерина) и жирных кислот – триглицериды. Этерификация глицерина может осуществляться как одним типом жирных кислот, так и разными, причем последний вариант наиболее распространен. В том случае, когда все три кислоты насыщенные, образуются твердые жиры, если кислоты ненасыщенные – жидкие. Растительные жиры чаще всего жидкие, поэтому их именуют маслами.

Для жиров (как жидких, так и твердых) характерна высокая степень гидрофобности. Они не растворимы в воде, но хорошо растворимы в углеводородах, галагеналканах, спиртах, эфирах.

В числе компонентов, входящих в состав растительных масел, всегда присутствует небольшое количество свободных жирных кислот. Этот показатель именуется кислотным числом и дает представление о количестве свободных жирных кислот в масле. В частности, кислотное число показывает, сколько мг КОН необходимо для нейтрализации свободных жирных кислот в 1 г масла.

Поскольку при длительном хранении масла происходят процессы окисления, то содержание свободных жирных кислот со временем увеличивается. Следовательно, кислотное число является важным показателем качества жира.

Другим физико-химическим показателем, характеризующим свойства жира, является число омыления, которое показывает количество мг КОН, необходимое для омыления связанных и нейтрализации свободных жирных кислот в 1 г масла.

О содержании ненасыщенных жирных кислот в жире судят по иодному числу – количеству граммов иода, присоединившемуся к 100 граммам жира. Определение физико-химических показателей растительного масла имеет важное значение, так как позволяет контролировать качество получаемого масличного сырья и его изменение при переработке и хранении.

Цель настоящей работы – определить и сравнить физико-химические свойства различных растительных масел.

Реактивы и материалы: подсолнечное, рапсовое, оливковое масло, этиловый спирт, КОН, H₂SO₄, фенолфталеин, хлороформ, 2,5 % спиртовой раствор иода, гипосульфит натрия, крахмал, дистиллированная вода, конические колбы, весы, микробюретка для титрования, водяная баня, обратный холодильник.

Ход работы

1. Определение кислотного числа

Взвесить пустую колбу, затем осторожно туда добавить небольшое количество растительного масла (оливковое, подсолнечное, рапсовое). Массу навески определить по разности массы колбы с маслом и пустой колбы.

Приготовить 100 мл 0,2 н спиртового раствора КОН. Для этого взвесить 1,12 г щелочи и растворить в минимальном количестве воды (1–1,5 мл). После того как навеска щелочи растворена, довести объем 96 % этанолом до 100 мл.

В колбу с маслом прилить 15 мл этанола, добавить 2–3 капли фенолфталеина и тщательно перемешать. Затем оттитровать полученный раствор 0,2 н спиртовым раствором щелочи до появления окрашивания. Титрование более слабыми растворами КОН не дает видимых изменений окраски и затрудняет определение конца титрования. В качестве контроля оттитровать 15 мл этанола с 2–3 каплями фенолфталеина тем же раствором щелочи.

Кислотное число (КЧ) вычислить по формуле:

$$КЧ = \frac{T \cdot (V - V_1)}{m},$$

где T – титр щелочи (количество КОН в 1 мл раствора), мг;

V – объем раствора щелочи, пошедшей на титрование контрольной пробы, мл;

V_1 – объем раствора щелочи, пошедшей на титрование опытной пробы, мл;

m – масса навески в граммах.

2. Определение числа омыления

В конической колбе взвесить навеску масла 0,2–0,5 г (как указано выше), прилить 15 мл 0,2 н спиртового раствора щелочи и нагревать на водяной бане 30 мин с обратным холодильником. Одновременно прокипятить контрольную пробу с таким же количеством щелочи, но не содержащую масла. По истечении указанного времени охладить

колбы с раствором. При полном омылении на опытной колбе не должно быть блестящих капелек масла, в противном случае омыление надо продолжить. После омыления и охлаждения в колбы добавить 2–3 капли фенолфталеина и избыток щелочи оттитровать 0,5 н раствором H_2SO_4 , пользуясь микробюреткой.

Вычислить число омыления (ЧО) по формуле:

$$ЧО = \frac{T \cdot (V - V_1)}{m},$$

где T – титр щелочи, мг;

V – объем кислоты, пошедшей на титрование контрольной пробы, мл;

V_1 – объем кислоты, пошедшей на титрование опытной пробы, мл;

m – масса навески в граммах.

3. Определение иодного числа

В коническую колбу взвесить 0,1 грамм жира и внести 5 мл хлороформа. Для контроля взять колбу, содержащую только 5 мл хлороформа. В обе колбы прилить по 10 мл 2,5 % спиртового раствора иода, закрыть пробкой, тщательно перемешать и оставить в темной месте на 1 ч при комнатной температуре. По истечении указанного времени избыток иода оттитровать 0,1 н раствором гипосульфита натрия до желтой окраски. Затем добавить 1 мл 1 % раствора крахмала и продолжить титрование до обесцвечивания раствора. Иодное число (ИЧ) вычислить по формуле:

$$ИЧ = \frac{T \cdot (V - V_1) \cdot 0,0127 \cdot 100}{m},$$

где T – титр 0,1 н раствора гипосульфита натрия, мг;

V – объем раствора гипосульфита, пошедшего на титрование контрольной пробы, мл;

V_1 – объем раствора гипосульфита натрия, пошедшей на титрование опытной пробы, мл;

m – масса навески в граммах;

0,0127 – количество иода (г), эквивалентное 1 мл 0,1 н раствора гипосульфита натрия.

Результаты оформить в виде таблицы.

Вид растительного масла	Кислотное число	Число омыления	Иодное число

Сделать сравнительный анализ полученных результатов.

Лабораторная работа № 5

Колориметрическое определение аскорбиновой кислоты в растительных продуктах

Основным источником аскорбиновой кислоты (витамин С) для человека являются растительные продукты.

Количественный анализ аскорбиновой кислоты представляет собой определенную трудность, и даже сегодня нет универсального метода, который бы не имел недостатков. Любой метод анализа должен давать возможность одновременно определять как саму аскорбиновую кислоту, так и продукты ее окисления и находить четкие различия между этими соединениями.

Наиболее распространенными методами, основанными на использовании восстановительных свойств аскорбиновой кислоты, являются титриметрические и колориметрические методы анализа.

В основе наиболее популярного титриметрического метода анализа аскорбиновой кислоты лежит реакция ее взаимодействия с 2,6-дихлорфенолиндофенолом. Это соединение при нейтральных значениях рН дает синюю окраску, при кислых – розовую, а при взаимодействии с аскорбиновой кислотой образует бесцветный продукт. К сожалению, данный метод чувствителен к присутствию других восстановителей – ионы металлов, редуцирующие сахара, танины и др. Кроме того, при титровании растительных вытяжек имеются некоторые трудности с определением его завершения.

Ниже представлена методика, основанная на фотометрическом определении избытка 2,6-дихлорфенолиндофенола после восстановления определенной его части аскорбиновой кислотой. Оптическая плотность окрашенного раствора определяется строго через 35 секунд после добавления в растительную вытяжку красителя, что дает возможность полностью исключить ошибки, возможные при титриметрическом анализе аскорбата. Цель настоящей работы – определить

количество аскорбиновой кислоты в различных растительных продуктах (овощи, фрукты, ягоды).

Реактивы и материалы: дистиллированная вода, 2 % метафосфорная или 1 % щавелевая кислота, аскорбиновая кислота, 2,6-дихлорфенолиндофенол, NaOH или KOH, фарфоровая ступка и пестик, воронка, бумажные фильтры, мерная колба объемом 100 мл, мерный цилиндр, пробирки, секундомер, спектрофотометр.

Ход работы

Для количественного определения восстановленной аскорбиновой кислоты взять навеску свежего растительного материала массой 5 г, измельчить и перенести в фарфоровую ступку. Залить сырье 10 мл 2 % метафосфорной или 1 % щавелевой кислоты и быстро растереть. Гомогенат количественно перенести в мерную колбу на 100 мл, объем довести до метки той же кислотой. Содержимое колбы тщательно перемешать, после чего профильтровать или отцентрифугировать 10 мин при 1000 об/мин.

Из фильтрата взять три пробы по 10 мл и перенести в чистые пробирки. К каждой пробе добавить 1 мл свежеприготовленного 0,025 % раствора 2,6-дихлорфенолиндофенола. Для приготовления этого раствора необходимо взять 0,0625 г 2,6-дихлорфенолиндофенола и растворить в 250 мл теплой (45 °С) дистиллированной воды, добавить 6 капель 0,01 н щелочи.

Если при добавлении 1 мл 2,6-дихлорфенолиндофенола растительная вытяжка полностью обесцвечивается (это наблюдается при значительном количестве аскорбиновой кислоты в исследуемом объекте), то ее нужно разбавить в 2 раза метафосфорной кислотой.

После добавления 2,6-дихлорфенолиндофенола к растительному экстракту включить секундомер, содержимое пробирки тщательно перемешать и быстро залить раствор в кювету толщиной 10 мм.

Через 35 секунд определить оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны $\lambda = 530$ нм. В качестве раствора сравнения использовать смесь метафосфорной кислоты и 2,6-дихлорфенолиндофенола (10:1).

Изменение в интенсивности окрашивания опытного образца пропорционально количеству аскорбиновой кислоты, находящейся в растительной вытяжке. Количественный расчет произвести по калибровочной кривой.

Для построения калибровочной кривой необходимо:

- приготовить стандартный раствор аскорбиновой кислоты концентрацией 1 мг/мл, для этого взвесить 100 мг аскорбиновой кислоты и растворить в 100 мл 2 % метафосфорной кислоты;
- из стандартного раствора приготовить разведения, содержащие от 1 до 100 мкг/мл аскорбиновой кислоты, согласно таблице;
- отобрать 10 мл каждого из растворов аскорбиновой кислоты, перенести в чистые предварительно пронумерованные пробирки, добавить 1 мл 2,6-дихлорфенолиндофенола и определить оптическую плотность этих растворов.

№	Содержание аскорбиновой кислоты, мкг/мл	Количество стандартного раствора, мл	Количество воды, мл	Оптическая плотность раствора, D ₅₃₀
1	1	1	999	
2	5	1	199	
3	10	1	99	
4	20	2	98	
5	50	5	95	
6	100	10	90	

Пользуясь калибровочной кривой, найти концентрацию аскорбиновой кислоты в вытяжке. Количество аскорбиновой кислоты в исследуемом материале (мгк/г сырой массы) вычислить по формуле:

$$X = \frac{c \cdot V}{m},$$

где c – содержание аскорбиновой кислоты в 1 мл вытяжки, найденное по калибровочной кривой;

V – объем экстракта в мл;

m – масса исследуемого материала в граммах.

Результаты представить в виде таблицы.

Объект исследования	Масса навески, г	Оптическая плотность раствора, D ₅₃₀	Количество аскорбиновой кислоты в вытяжке, мкг/мл	Количество аскорбиновой кислоты в объекте, мкг/г

Сделать анализ полученных результатов.

Лабораторная работа № 6

Определение витаминов В₁ и В₂ в растениях

В растениях содержание витаминов невелико. Вместе с тем отдельные органы и ткани растений способны в большей степени накапливать их в своем составе. Так, овощные и плодовые культуры характеризуются высоким содержанием каротиноидов, витамина Р, аскорбиновой и фолиевой кислотой. В семенах злаковых и зернобобовых культур много рибофлавина, тиамин, ниацин. В зеленых листьях растений накапливаются филохиноны.

Тиамин, или витамин В₁, в виде тиаминпирофосфата входит в состав окислительных декарбоксилаз кетокислот. Методы определения тиамин основаны на его спектральных свойствах. Максимум поглощения тиамин составляет $\lambda = 250$ нм. Продукт окисления тиамин красной кровяной солью в щелочной среде – тиохром флюоресцирует при ультрафиолетовом освещении.

Рибофлавин, или витамин В₂, идентифицирован в природных объектах в виде четырех форм, одна из которых свободный рибофлавин, остальные связаны с нуклеотидами (флавинмононуклеотид, флавинадениндинуклеотид) и с белком. Рибофлавин входит в состав простетической группы флавиновых ферментов, осуществляющих реакции дегидрирования. Окисленная форма рибофлавина так же, как и тиамин, способна флюоресцировать в ультрафиолетовом свете. Максимум поглощения рибофлавина лежит в области $\lambda = 225$ нм.

Цель работы – качественное и количественное определение витаминов В₁ и В₂ в вытяжках из вегетативных частей растений, корнеплодов и плодов.

Реактивы и материалы: 0,1 н раствор H₂SO₄, 10 % трихлоруксусная кислота (ТХУ), 15 % раствор NaOH, 1 % раствор красной кровяной соли K₃[Fe(CN)₆], 0,1 % раствор NaOH, бромид тиамин (хлорид тиамин), рибофлавин, Na₂S₂O₄ · H₂O либо NaBH₄, металлический цинк, пепсин либо трипсин, изоамиловый спирт, изобутиловый спирт, этиловый спирт, диэтиловый эфир, дистиллированная вода, фарфоровые ступки с пестиками, конические колбы объемом 100 мл, водяная баня, мерные цилиндры, пробирки, делительные воронки объемом 50 мл, бумажные фильтры, термостат, центрифуга, флюоресцентный спектрофотометр.

Ход работы

1. Извлечение витаминов

К навеске измельченного растительного материала массой 10–20 г прилить небольшое количество (2–5 мл) 0,1 н раствора H_2SO_4 , после чего все тщательно растереть в ступке. Растертую массу поместить в коническую колбу на 100 мл, сюда же прибавить 30 мл 0,1 н раствора H_2SO_4 . Содержимое колбы следует выдержать в течение 20 мин на кипящей водяной бане для экстрагирования витаминов. После завершения процедуры экстрагирования смесь охладить и добавить в колбу 30 мг пепсина либо трипсина для перевода витамина в свободное состояние. Объем гомогената довести до 50 мл раствором серной кислоты. Провести ферментацию в течение 20 ч в термостате при 38 °С.

По истечении указанного времени вытяжку центрифугировать при 5000 об/мин и отфильтровать под вакуумом. К получившейся надосадочной жидкости прилить равный объем 10 % ТХУ и выпарить до 10 мл. Продолжить выпаривание вытяжки, удаляя избыток ТХУ 2–3-кратным промыванием смесью этилового спирта и диэтилового эфира (1:1), до объема 5 мл. Далее полученную вытяжку разделить на две части: одна идет на определение тиамин, а вторая – рибофлавина.

2. Получение тиохрома

В делительные воронки объемом 50 мл налить 2,5 мл полученной вытяжки. В одну из воронок (контрольную) прилить 1,5 мл 15 % раствора NaOH , перемешать и добавить 6 мл изобутилового спирта. В опытные воронки прибавить по 1,5 мл 0,04 % раствора красной кровяной соли в 15 % растворе NaOH , все содержимое перемешать и прилить 6 мл изобутилового спирта. Делительные воронки закрыть пробками и сильно встряхивать в течение 1 мин. Дать смеси отстояться, затем нижний слой следует слить. Для просветления спиртового слоя прилить 1 мл этилового спирта, встряхнуть, дать отстояться и полученный прозрачный раствор слить в пробирку для последующего спектрофотометрического анализа.

3. Флюоресцентная спектроскопия растворов тиохрома и рибофлавина

Полученные опытные растворы тиохрома перелить в кюветы и провести измерение интенсивности флюоресценции (длина волны возбуждения $\lambda = 250$ нм). Максимум флюоресценции для тиохрома составляет $\lambda = 495\text{--}500$ нм.

Аналогично провести процедуру измерения интенсивности флюоресценции для растворов рибофлавина (длина волны возбуждения равна $\lambda = 225$ нм). Регистрировать максимум флюоресценции рибофлавина в области $\lambda = 525\text{--}530$ нм.

Учитывая, что спектральные свойства окисленных и восстановленных форм тиамин и рибофлавина изменяются, провести их сравнительный флюоресцентный анализ. Рибофлавин окисляется 4 % раствором перманганата калия, который добавляется к вытяжке по каплям до исчезновения красноватой окраски, либо концентрированной HCl в присутствии металлического цинка. Восстановление окисленных форм тиамин и рибофлавина осуществить либо гидросульфитом натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) либо боргидридом натрия (NaBH_4), добавляя эти восстановители в количестве 0,1–0,2 г на 1–2 мл раствора витаминов.

Результаты оформить в виде таблицы:

Витамин	Возбуждение флюоресценции, нм		Интенсивность флюоресценции, отн. ед.	
	окисленная форма	восстановленная форма	окисленная форма	восстановленная форма
V ₁				
V ₂				

4. Количественное определение витаминов V₁ и V₂

Для количественной оценки содержания витаминов в растительных образцах следует получить калибровочные графики зависимости интенсивности флюоресценции от концентрации. С этой целью необходимо:

- приготовить стандартные растворы витаминов тиамин и рибофлавин (10 мг тиамин бромид (тиамин хлорид) растворить в 100 мл 0,01 н раствора HCl, 10 мг рибофлавин растворить в 100 мл 0,01 н раствора NaOH);
- провести окисление стандартного раствора тиамин. Для этого в делительную воронку налить 1 мл рабочего раствора и прибавить 4 мл воды. *(Примечание. Рабочий раствор приготовить непосредственно перед окислением. Для этого взять 1 мл стандартного раствора и довести его до 100 мл дистиллированной водой – 1 мл этого рабочего раствора будет содержать 1 мкг тиамин бромид).* Затем в воронку прилить щелочной раствор красной кровяной соли и провести процедуру разделения и просветления рас-

творов, как это описано выше. Окисленный и просветленный раствор перелить в пробирки для флюориметрии;

- приготовить рабочий раствор рибофлавина. Для этого следует взять 1 мл стандартного раствора рибофлавина и довести его до 100 мл дистиллированной водой (1 мл этого раствора будет содержать 1 мкг рибофлавина);
- построить калибровочные кривые для растворов тиохрома и рибофлавина, взяв следующие концентрации для тиамин – 0,05; 0,1; 0,15; 0,2 мкг, а для рибофлавина – 0,005; 0,010; 0,020; 0,05 мкг.

По калибровочным кривым рассчитать содержание тиамин и рибофлавин (мкг/мл) в растительных образцах. Количество витаминов в исследуемом материале (мгк/г сырой массы) вычислить по формуле:

$$X = \frac{c \cdot V}{m},$$

где c – содержание витамина в 1 мл вытяжки, найденное по калибровочной кривой;

V – объем экстракта в мл;

m – масса исследуемого материала в граммах.

Сделать выводы.

Методическая литература

1. *Викторов Д. П.* Малый практикум по физиологии растений. М.: Высш. школа, 1983. 135 с.
2. *Гавриленко В. Ф., Ладыгина М. Е., Хандобина Л. М.* Большой практикум по физиологии растений. Фотосинтез. Дыхание: учебн. пособие. М.: Высш. школа, 1975. 392 с.
3. *Дука М., Хомченко Т., Савка Е.* Физиология растений: практикум для студентов биолого-почвенного факультета. Кишинэу, 2003. 133 с.
4. Малый практикум по физиологии растений / Под ред. *А. Т. Мокроносова*. М.: МГУ, 1994. 184 с.
5. Методы биохимического исследования растений / Под ред. *А. И. Ермакова*. Л.: Агропромиздат, 1987. 430 с.
6. Практикум по физиологии растений / Под ред. *Н. Н. Третьякова* М.: Агропромиздат, 1990. 271 с.

7. Практикум по биохимии / Под ред. *А. А. Чиркина*. Мн.: 2002. 512 с.
8. Практикум по физиологии растений. М.: Академия, 2001. 140 с.
9. *Пустовалова Л. М.* Практикум по биохимии. Ростов н/Д: , 1999. 544 с.
10. Руководство к практическим занятиям по биохимии / Под ред. *Е. С. Северина*. М.: Медицина, 2000. 126 с.

Раздел II.

ПРОГРАММА СПЕЦИАЛЬНОГО КУРСА «БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ»

Введение. Предмет и задачи биохимии растений. Значение биохимии растений для практики. Мир растений как источник промышленного сырья. Краткая история развития биохимии растений.

Белки растений. Протеиногенные и непротеиногенные аминокислоты. Биосинтез и функции непротеиногенных аминокислот. Белки семян и листьев растений. Особенности белкового состава зерновых и зернобобовых культур. Проблемы, связанные с изучением растительных белков. Промышленное использование растительных ферментов. Иммунизация ферментов.

Углеводы растений. Основные моносахариды растений, их свойства и функции. Основные дисахариды растений – сахароза, мальтоза, целлобиоза. Функции сахарозы в растениях. Рафиноза – основной трисахарид растений. Полисахариды растений. Запасные и строительные полисахариды: крахмал, инулин, целлюлоза, гемицеллюлоза, пектиновые вещества, галактаны, ксиланы, слизи и гумми; строение, свойства и функции в растениях. Использование растительных углеводов в пищевой промышленности.

Липиды растений. Особенности обмена липидов растений. Глиоксилатный цикл. Содержание жиров в семенах и плодах культурных растений. Свойства основных растительных масел. Стероиды растений: их строение, свойства и функции в растениях.

Органические кислоты и их обмен. Содержание в растениях органических кислот алифатического ряда. Функции органических кислот в растении. Характерные особенности основных органических кислот растений. Обмен органических кислот у высших растений.

Витамины. Содержание жиро- и водорастворимых витаминов в растительных продуктах. Их строение, свойства и функции в растениях.

Растительные вещества вторичного происхождения

Растительные фенолы. Биоразнообразие фенольных соединений растений. Фенолы, фенольные кислоты, фенилуксусные кислоты, производные фенилпропана (оксикоричные кислоты и спирты, кумарины), флавоноиды и изофлавоноиды, лигнаны, производные антрацена, полимерные фенольные соединения (лигнин, танины, меланины). Биосинтез фенольных соединений. Образование шикимовой кислоты –предшественника фенольных соединений. Шикиматный и ацетатно-малонатный пути биосинтеза растительных фенолов. Функции фенольных соединений в растениях.

Гликозиды. Природа и распространение гликозидов в растениях. Соланины. Синигрин. Амигдалин. Роль растительных гликозидов в жизни растений. Использование гликозидов в практике человека.

Алкалоиды растений. Истинные, прото- и псевдоалкалоиды растений. Биосинтетические предшественники N-гетероцикла алкалоидов. Классификация, основанная на строении азотсодержащих гетероциклов. Локализация алкалоидов в растении. Биологические функции алкалоидов в растениях.

Терпены и терпеноиды. Природа и распространение. Классификация терпенов (геми-, моно-, сескви-, ди-, сестер-, три-, тетра-, политерпены). Биосинтез терпеноидов. «Активный изопрен». Полиизопрены – каучук, гутта и чикл, их строение и промышленное значение.

Эфирные масла и смолы: локализация и функции в растениях.

Основная литература

1. *Кретович В.Л.* Биохимия растений. М.: Высш. шк. 1986.
2. *Гудвин Т., Мерсер Э.* Введение в биохимию растений: В 2 т. / Пер. с англ. М.: Мир, 1986.
3. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. М.: Колос, 1998.
4. *Филлипович Ю. Б.* Основы биохимии. М.: Агар, 1999.

5. *Кнорре Д. Г., Мызина С. Д.* Биологическая химия. М.: Высш. шк. 2000.

Дополнительная литература

1. Витамины и минеральные вещества. Полная энциклопедия. СПб., ЗАО «Весь», 2000.
2. Экспериментальная витаминология / Под ред. Ю. М. Островского. Мн: Наука и техника, 1979.
3. *Ленинджер А.* Основы биохимии. М.: Мир, Т. 3. 1985.

Раздел III.

КОНТРОЛЬ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ

Глава 1

ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ

Темы рефератов и эссе

1. Принципы классификации природных химических соединений.
2. Простейшие бифункциональные соединения – мостик к массиву природных соединений.
3. История развития биологической химии растений.
4. Мир растений – как источник сырья и ресурсов.
5. Связь биохимии растений и биотехнологии.
6. Перспективы развития биохимии растений.

Вопросы

1. На основе каких критериев классифицируют природные соединения?
2. Назовите основные группы бифункциональных соединений, содержащихся в растительных организмах.
3. Перечислите основные функции природных оксикислот.
4. Приведите примеры природных оксокислот, их функции в растении.
5. Какова биологическая активность аминоспиртов в растениях?
6. Перечислите основные задачи биохимии растений.

7. Каким образом биохимия растений связана с селекцией новых сортов?
8. Какова биологическая активность пиретринов?
9. Приведите примеры вторичных метаболитов растений, используемых в пищевой промышленности?
10. Перечислите основные группы лекарственных препаратов растительного происхождения.

Рекомендуемая литература

1. Биотехнология сельскохозяйственных растений. М.: Агропромиздат, 1987. 301 с.
2. *Бохински Р.* Современные воззрения в биохимии. М.: Мир, 1987. 543 с.
3. *Бутенко Р. Г.* Биотехнология клеток высших растений *in vitro* и биотехнология на их основе. М.: Наука, 1999.
4. *Егорова Т. А., Клунова С. М., Живухина Е. А.* Основы биотехнологии: Учебн. пособие для высших пед. учеб. заведений. М.: Академия, 2003. 208 с.
5. *Ленинджер А.* Основы биохимии. М.: Мир, 1985. Т. 1–3.
6. *Ловкова М. Я., Рабинович А. М., Пономарева С. М.* Почему растения лечат? М.: Наука, 1989. 254 с.
7. *Пасешниченко В. А.* Растения – продуценты биологически активных веществ // Соросовский образовательный журнал, 2001. № 8. С. 13–19.
8. *Племенков В. В.* Введение в химию природных соединений. Казань, 2001. 376 с.
9. *Телитченко М. М., Остроумов С. А.* Введение в проблемы биохимической экологии. Биотехнология, сельское хозяйство, охрана среды. М.: Наука, 1990. 288 с.
10. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. М.: Колос, 1999. 487 с.
11. *Шамин А. Н.* История биологической химии. Формирование биохимии. М.: Наука, 1991.
12. Экспериментальная витаминология / Под ред. Ю. М. Островского. Мн.: Наука и техника, 1979.

Глава 2

УГЛЕВОДЫ И ИХ ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЯ

Темы рефератов и эссе

1. Связь химической структуры и свойств моносахаридов.
2. Производные моносахаридов и их роль в жизни растений.
3. Взаимопревращение моносахаридов и их производных в растительном организме.
4. Запасные полисахариды растений – особенности строения и биосинтеза.
5. Многообразие структурных полисахаридов растений, взаимосвязь структуры и функции.
6. Методы количественного определения моно-, олиго- и полисахаридов в растительном материале.

Вопросы

1. Приведите примеры природных гептоз, каковы их функции в растении?
2. Распространение пентоз в растительном царстве.
3. Что собой представляют восстанавливающие сахара?
4. Приведите примеры невосстанавливающих сахаров.
5. Какие реакции используются для количественного определения сахаров в растении?
6. Какие производные моносахаридов вам известны, их биологические функции?
7. Назовите основные окислительно-восстановительные реакции производных моносахаридов.
8. Напишите реакцию образования нуклеозиддифосфатмоносахаров.
9. Напишите реакцию образования глюконовой кислоты из глюкозы.
10. Что собой представляют лактоны и для каких соединений характерно образование лактонов?
11. Какие соединения образуются при восстановлении альдоз и кетоз?
12. Назовите основные дисахариды растений и их функции.
13. Какие ферменты участвуют в синтезе сахарозы в растениях?
14. В каких компартментах может происходить синтез сахарозы в растениях?
15. Приведите примеры три-, тетра- и пентасахаров.
16. Каковы функции полисахаридов в растениях?
17. Перечислите химические свойства запасных полисахаридов.
18. Какие компоненты входят в состав крахмала?
19. Что собой представляет фитогликоген, его распространение в растениях?

20. Назовите основные группы фруктозанов. Какие функции они выполняют в растении?
21. Перечислите пути и место синтеза запасных полисахаридов ?
22. Назовите место синтеза структурных полисахаридов клетки?
23. Какие соединения являются донорами и акцепторами гликозильных остатков при биосинтезе полисахаридов?
24. Какие ферменты осуществляют синтез крахмала в растениях?

Тестовые задания

1. Какое соединение образуется при восстановлении глюкозы?

А Сорбит	В Ксилит
Б Маннит	Г Рибит

2. В каких из перечисленных реакций происходят внутренние перестройки молекул производных моносахаридов?

1. Фруктозо-1-фосфат → Фруктозо-6-фосфат
2. Фосфоглицериновый альдегид → Дигидроацетонфосфат
3. Рибозо-6-фосфат → Рибулозо-6-фосфат
4. Фруктозо-6-фосфат → Ксилулозо-5-фосфат
5. Ксилулозо-5-фосфат → Рибулозо-5-фосфат

А Во всех реакциях	В 1, 2, 3, 5
Б 1, 2, 4	Г 2, 3, 5

3. Какую реакцию катализирует фермент гексокиназа?

А Гликоза → Гликоза-1-фосфат
Б Гликоза-6-фосфат → Гликоза
В Гликоза → УДФ-гликоза
Г Гликоза → Гликановая кислота

4. Какое соединение образуется при окислении гексозы по шестому углеродному атому?

А Альдоновая кислота	В Альдурановая кислота
Б Гликоновая кислота	Г Полигидроксиспирт

5. Какое соединение образуется в результате действия разбавленной азотной кислоты на глюкозу?

- А** Глюконовая кислота **В** Глюкуроновая кислота
Б Глюконовая кислота **Г** Глюцитол

6. Какой из перечисленных олигосахаридов является триозой?

- А** Вербаскоза **В** Стахиоза
Б Рафиноза **Г** Манноза

7. В каком виде в растениях находятся пентозы?

1. В свободном виде
2. В связанном состоянии
3. В составе пектиновых веществ
4. В составе РНК
5. Во всех перечисленных состояниях

- А** 1, 2, 4 **В** 2, 3, 4
Б 1, 2, 3 **Г** 5

8. В состав каких из перечисленных соединений входит фруктоза?

1. Сахароза
2. Вербаскоза
3. Трегалоза
4. Лактоза
5. Инулин
6. Леван

- А** 1, 2, 3, 5 **В** 1, 2, 5, 6
Б 1, 3, 5, 6 **Г** 2, 3, 4, 6

9. Какие из перечисленных сахаров являются восстанавливающими?

1. Фруктоза
2. Галактоза
3. Сахароза
4. Рафиноза

- А** 1, 2 **В** 1, 3, 4
Б 1, 2, 3 **Г** Все соединения

10. Какие из перечисленных полисахаридов не являются запасными?

1. Крахмал
2. Леван
3. Ксилан
4. Инулин
5. Агар-агар
6. Галактан

- | | | | |
|----------|---------|----------|---------|
| А | 1, 3, 4 | В | 3, 4, 6 |
| Б | 2, 3, 5 | Г | 3, 5, 6 |

11. Остатки каких моносахаридов входят в состав амилопектина?

- | | | | |
|----------|--------------------|----------|---------------------|
| А | Глюкоза | В | Галактоза |
| Б | Глюкоза и фруктоза | Г | Глюкоза и галактоза |

12. Какие из перечисленных соединений являются гемицеллюлозами?

- | | |
|---------------|--------------|
| 1. Арабан | 4. Ксилан |
| 2. Галактан | 5. Маннан |
| 3. Каррагинан | 6. Агар-агар |

- | | | | |
|----------|------------|----------|----------------|
| А | 1, 3, 4, 5 | В | 1, 2, 4, 5 |
| Б | 2, 4, 6 | Г | Все соединения |

13. Какие компоненты образуются при расщеплении крахмала?

- | | |
|--------------|---------------------|
| 1. Декстрины | 4. Глюкоза |
| 2. Мальтоза | 5. Галактоза |
| 3. Амилоза | 6. Глюкозо-6-фосфат |

- | | | | |
|----------|------------|----------|------------|
| А | 1, 2, 4, 5 | В | 1, 2, 4, 6 |
| Б | 1, 2, 3, 6 | Г | 2, 3, 4, 6 |

14. Место синтеза сахарозы в растениях?

- | | |
|----------------|--------------------|
| 1. Хлоропласты | 3. Цитоплазма |
| 2. Митохондрии | 4. Аппарат Гольджи |

- | | | | |
|----------|---------|----------|------|
| А | 1 | В | 1, 4 |
| Б | 1, 2, 3 | Г | 1, 3 |

15. Какие соединения образуются при гидролизе вербаскозы?

- | | |
|--------------|-------------|
| 1. Глюкоза | 3. Фруктоза |
| 2. Галактоза | 4. Манноза |

- | | | | |
|----------|---------|----------|-------------------|
| А | 1, 2 | В | 1, 3, 4 |
| Б | 1, 2, 3 | Г | Все перечисленные |

16. Место синтеза структурных полисахаридов клетки?

1. В цитоплазме
2. В хлоропластах
3. На наружной поверхности плазмалеммы
4. В цистернах аппарата Гольджи

А 1, 2, 3

Б 2, 4

В 3, 4

Г 3

Рекомендуемая литература

1. Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений: В 2 т. / Пер. с англ. М.: Мир, 1986. 393 с.
2. Игнатов В. В. Углевоузнающие белки-лектины // Соросовский образовательный журнал, 1997. № 2. С. 14–20.
3. Кнорре Д. Г., Мызина С. Д. Биологическая химия. М.: Высшая школа, 2000. 479 с.
4. Кретович В. Л. Биохимия растений. М.: Высш. шк., 1986. 445 с.
5. Ленинджер А. Основы биохимии. М.: Мир, 1985. Т. 1–3.
6. Степаненко Б. Н. Химия и биохимия углеводов (полисахариды). М.: Высш. шк., 1978. 256 с.
7. Степаненко Б. Н. Современные проблемы в биохимии углеводов. М.: Наука, 1979. 54 с.
8. Филлипович Ю. Б. Основы биохимии. М.: Агар, 1999. 512 с.
9. Щербухин В. Д., Анулов О. В. Галактоманнаны семян бобовых // Прикладная биохимия и микробиология. 1999. Т. 36. № 3. С. 257–275.

Глава 3

БЕЛКОВЫЕ ВЕЩЕСТВА РАСТЕНИЙ

Темы рефератов и эссе

1. Непротеиногенные аминокислоты, их распространение в природе и функции.
2. Сравнительный анализ белкового состава животных и растительных организмов.
3. Зернобобовые растения – важный источник растительных белков.
4. Молекулярная организация углевоузнающих белков клетки – лектинов.
5. Белки – ингибиторы протеолитических ферментов у растений.

6. Молекулярные механизмы действия белков шаперонов.
7. Ядовитые вещества белкового происхождения; распространение в природе, особенности структуры и функции.

Вопросы

1. Назовите примеры непротеиногенных аминокислот.
2. Перечислите функции непротеиногенных аминокислот в растении.
3. Какие аминокислоты являются незаменимыми для человека, почему?
4. Назовите основные пути биосинтеза протеиногенных аминокислот в растении.
5. Какие аминокислоты образуются из шикимовой кислоты?
6. На какие группы делятся белки в зависимости от их растворимости?
7. Почему при электрофорезе альбумины движутся быстрее, чем глобулины ?
8. Какие белковые фракции входят в состав белка бобовых культур?
9. Какие белковые фракции входят в состав клейковины?
10. Назовите основные типы белков в зависимости от их функции в растении?
11. В каких растительных тканях содержание белка самое высокое?
12. В чем заключаются особенности белкового состава семян растений?
13. Каковы особенности белкового состава листьев растений?
14. Какие существуют методы качественного и количественного анализа белка?
15. Что собой представляют лектины, их биологическая активность?

Тестовые задания

1. Какая аминокислота является лимитирующей в зеине кукурузы и глиадине пшеницы?

А Лейцин
Б Лизин

В Метионин
Г Фенилаланин

2. Сколько непротеиногенных аминокислот обнаружено в растениях?

А 20
Б 200

В 500
Г 2000

3. Какие функции выполняют непротеиногенные аминокислоты в растениях?

1. Входят в состав белка
2. Транспортная форма азота
3. Запасная форма азота
4. Определяют питательную ценность белка
5. Регулируют количество NH_4^+ в клетке

А 1, 2, 5

В 2, 3, 5

Б 2, 3, 4

Г 1, 3, 4

4. Из какого соединения образуется серин в растениях?

А Оксалоацетат

В Шикимат

Б 2-оксоглутарат

Г 3-фосфоглицериновая кислота

5. Какое соединение является предшественником в биосинтезе лейцина?

А Пировиноградная кислота

В Рибулозо-1,5-бисфосфат

Б 2-оксоглутарат

Г Шикимовая кислота

6. Какие аминокислоты образуются из оксалоацетата?

1. Серин

4. Пролин

2. Треонин

5. Метионин

3. Валин

6. Аспарагин

А 1, 2, 5

В 2, 5, 6

Б 2, 3, 4

Г 4, 5, 6

7. К каким белкам относятся ферменты?

А Альбумины

В Глютелины

Б Глобулины

Г Проламины

8. Назовите основной компонент белка зерновых культур.

А	Альбумины	В	Глютелины
Б	Глобулины	Г	Проламины

9. Чем определяется биологическая ценность белка?

- | | |
|----------|--|
| А | Количеством белка в растении |
| Б | Соотношением аминокислот в белке |
| В | Видовой принадлежностью растения |
| Г | Содержанием лимитирующих аминокислот в белке |

10. Какова химическая природа лектинов?

- | | | | |
|----------|--------------|----------|---------------|
| А | Липопротеин | В | Хромопротеин |
| Б | Гликопротеин | Г | Нуклеопротеин |

Рекомендуемая литература

1. *Валуева Т. А., Мосолов В. В.* Белки – ингибиторы протеолитических ферментов у растений // Прикл. биохимия и микробиология. 1995. Т. 31. Вып. 6. С. 579–589.
2. *Гудвин Т., Мерсер Э.* Введение в биохимию растений: В 2 т. / Пер. с англ. М.: Мир, 1986. 393 с.
3. *Иванюшина В. А., Морнин А. Б., Киселев О. И.* Молекулярные шапероны: новые белки – новые функции // Молекулярная биология. 1991. Т. 25. Вып. 4. С. 869-880.
4. *Игнатов В. В.* Углеводоузнающие белки-лектины // Соросовский образовательный журнал. 1997. № 2. С. 14–20.
5. *Кнорре Д. Г., Мызина С. Д.* Биологическая химия. М.: Высш. шк., 2000. 479 с.
6. *Кретович В. Л.* Биохимия растений. М.: Высшая школа, 1986. 445 с.
7. *Ленинджер А.* Основы биохимии. М.: Мир, 1985. Т. 1–3.
8. *Мосолов В. В., Валуева Т. А.* Растительные белковые ингибиторы протеолитических ферментов. М.: Ин-т биохимии им. Баха РАН, 1993. 207 с.
9. Растительный белок / Пер. с фр. В. Г. Долгополова. М.: Агропромиздат, 1991. 684 с.
10. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. М.: Колос, 1999. 487 с.
11. *Филлипович Ю. Б.* Основы биохимии. М.: Агар, 1999. 512 с.

12. Чиркова В. Т., Войцеконская С. А. Синтез белка в растениях в условиях гипоксии и аноксии // Успехи современной биологии. 1999. Т. 119. № 2. С. 178–190.

Глава 4

БИОХИМИЯ ФЕРМЕНТОВ

Темы рефератов и эссе

1. Молекулярные механизмы регуляции активности мембранных ферментов.
2. Металло-коэнзимы в жизни растений.
3. Использование растительных ферментов в медицине и промышленности.
4. Имобилизованные растительные ферменты – возможности и перспективы использования.
5. Ферментные электроды – новые возможности в создании регистрирующих устройств.

Вопросы

1. Какова химическая природа ферментов?
2. Что собой представляют метаболонны?
3. В чем заключается биологическая функция рибозимов?
4. В чем состоит принцип ферментативного катализа?
5. Каковы отличия действия фермента от неорганического катализатора?
6. Дайте определение термина «изофермент».
7. Каковы возможные механизмы регуляции активности ферментов?
8. Что собой представляет аллостерическая регуляция активности фермента?
9. Перечислите основные особенности ферментативного состава растений.
10. Назовите основные классы ферментов.
11. Какой класс ферментов катализирует внутримолекулярный перенос групп?
12. Назовите наиболее распространенные растительные ферменты класса оксидоредуктаз.

Тестовые задания

1. Сколько классов ферментов вам известно?

- | | | | |
|----------|---|----------|----|
| А | 5 | В | 8 |
| Б | 6 | Г | 10 |

2. Какова химическая природа рибозимов?

- | | | | |
|----------|---------|----------|-----|
| А | Белок | В | ДНК |
| Б | Углевод | Г | РНК |

3. К основным особенностям растительных ферментов относятся:

1. Большое число изоформ.
2. Не имеют изоформ.
3. Активны в широком диапазоне температур.
4. Активность всех ферментов регулируется светом.
5. Нет особенностей.

- | | | | |
|----------|---------|----------|------|
| А | 1, 4 | В | 1, 3 |
| Б | 2, 3, 4 | Г | 5 |

4. К какому классу ферментов относится пектиназа?

- | | | | |
|----------|-----------------|----------|-------------|
| А | Оксидоредуктазы | В | Трансферазы |
| Б | Гидролазы | Г | Лиазы |

5. Наиболее значимые в биохимии металло-коэнзимы.

- | | | | |
|----------|----------------------|----------|-----------------------|
| А | Железо, цинк, медь | В | Калий, железо, магний |
| Б | Железо, магний, медь | Г | Медь, цинк, марганец |

6. Какие свойства характерны для изоферментов?

1. Имеют разнообразную молекулярную форму.
2. Молекулярная структура идентична.
3. Обладают одинаковыми физическими и химическими свойствами.
4. Различаются по физическим и химическим свойствам.
5. Катализируют одну и ту же реакцию.
6. Катализируют разные реакции одного цикла.

- | | | | |
|----------|---------|----------|---------|
| А | 1, 3, 5 | В | 2, 4, 6 |
| Б | 1, 4, 5 | Г | 2, 3, 5 |

7. Какие из перечисленных соединений могут выступать в качестве коферментов?

- | | |
|--------------------------|----------------|
| 1. Липоевая кислота | 4. Ацетилхолин |
| 2. Флавиновые нуклеотиды | 5. Ионы никеля |
| 3. Ретиналь | 6. Гем |

- | | | | |
|----------|----------------|----------|------------|
| А | Все соединения | В | 1, 2, 5, 6 |
| Б | 2, 3, 6 | Г | 2, 4, 5 |

8. Какие из перечисленных ферментов содержат в качестве кофактора ион меди?

1. Аминоксидаза
2. Галактозоксидаза
3. Цитохром *c* оксидаза
4. Супероксиддисмутаза

- | | | | |
|----------|---------|----------|--------------|
| А | 1, 2, 4 | В | 1, 3 |
| Б | 2, 3, 4 | Г | Все ферменты |

9. Какие из перечисленных ферментов являются гем-содержащими?

- | | |
|----------------|--------------------------|
| 1. Фосфатаза | 4. Аконитаза |
| 2. Кatalаза | 5. Алкогольдегидрогеназа |
| 3. Peroксидаза | |

- | | | | |
|----------|---------|----------|--------------|
| А | 1, 2, 3 | В | 2, 3 |
| Б | 1, 3, 5 | Г | Все ферменты |

10. Назовите самый распространенный фермент на планете.

- | | | | |
|----------|------------------------|----------|--------------------------------|
| А | Katalаза | В | Гексокиназа |
| Б | Алкоголь-дегидрогеназа | Г | Рибулозобисфосфат-карбоксилаза |

11. В состав какого соединения входит пантотеновая кислота?

А	Липоевая кислота	В	Глутатион
Б	Коэнзим А	Г	Тетрагидрофолиевая кислота

12. Как называется участок молекулы фермента, ответственный одновременно и за присоединение вещества, подвергающегося ферментативному действию, и за осуществление ферментативного катализа?

А	Каталитический центр	В	Субстратный центр
Б	Активный центр	Г	Аллостерический центр

Рекомендуемая литература

1. Бекман Э. М., Григорьев М. Ю. Рибозимы: РНК – РНК-взаимодействия и эндонуклеотическое расщепление // Успехи биологической химии. 1988. Т. 29. С. 113–121.
2. Березов Т. Т. Применение ферментов в медицине // Соросовский образовательный журнал. 1996. № 3. С. 23–27.
3. Болдырев А. А. Регуляция активности мембранных ферментов // Соросовский образовательный журнал. 1997. № 6. С. 21–27.
4. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. М.: Мир, 1982. Т. 1–3.
5. Егорова Т. А., Клунова С. М., Живухина Е. А. Основы биотехнологии: Учебн. пособие для высших пед. учеб. заведений. М.: Академия, 2003. 208 с.
6. Иммуобилизованные клетки и ферменты. Методы / Под ред. Дж. Вудворда. М.: Мир, 1988. 215 с.
7. Кнорре Д. Г., Мызина С. Д. Биологическая химия. М.: Высш. шк., 2000. 479 с.
8. Корниш-Боуден Э. Основы ферментативной кинетики / Пер. с англ. Б. И. Курганова. М.: Мир, 1979. 280 с.
9. Сорочинский В. В., Курганов Б. И. Ферментные электроды // Биотехнология. 1988. Т.13. 207 с.
10. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений. Под ред. Н. Н. Третьякова. М.: Колос, 1999. 487 с.
11. Чек Т. Кто бы мог подумать, что РНК способна работать ферментом? // Химия и жизнь. 1988. № 12. С. 31–33.
12. Чернов Н. Н. Ферменты в клетке и в пробирке // Соросовский образовательный журнал. 1996. № 5. С. 28–34.

Глава 5

ЛИПИДЫ РАСТЕНИЙ И ИХ ОБМЕН

Темы рефератов и эссе

1. Особенности липидного состава растительных организмов.
2. Анализ структуры и функции липидов тилакоидных мембран.
3. Метаболическая активность производных жирных кислот – ацетогенинов, оксипинонов, жирных спиртов.
4. Роль липидов в процессе передачи информации в клетке.
5. Типы биохимических модификаций, которые позволяют биологическим мембранам выполнять специализированные клеточные функции: транспорт ионов, макромолекулярный перенос, передача энергии и трансдукция сигнала.
6. Эволюционное разнообразие фосфолипидных структур клетки.

Вопросы

1. Что собой представляют липиды?
2. Назовите основные группы липидов.
3. Перечислите функции липидов в растениях.
4. Каковы особенности структуры оксипинонов?
5. Назовите главные жирные кислоты растительных организмов.
6. Какие факторы определяют температуру плавления жира?
7. Приведите примеры твердых растительных жиров.
8. Назовите необычные жирные кислоты растительных организмов.
9. Дайте определение понятия «простой триглицерид».
10. Чем обусловлено прогоркание жиров?
11. Какой биологический смысл показателя «кислотное число»?
12. Перечислите основные группы фосфолипидов.
13. Назовите основные гликолипиды растений.
14. Какие ферменты участвуют в биосинтезе жирных кислот?
15. В каких органеллах происходит синтез жирных кислот в растительном организме?
16. Назовите основные этапы синтеза триацилглицеринов.
17. Какова биологическая роль процессов биodeградации липидов в растениях?
18. Перечислите основные пути превращения жирных кислот.
19. Физиологический смысл α -окисления.

20. Роль гидрокси-, эпокси-, продуктов жирных кислот в растительном организме.
21. Назовите конечный продукт глиоксилатного цикла.
22. Под действием каких ферментов происходит катаболизм полярных липидов?
23. Назовите три гидрофобных соединения, защищающих поверхностные покровы растения. В каких клетках они синтезируются и как отличаются по химическому строению?
24. Назовите предшественника жасмоновой кислоты? К каким гормонам животных близка по строению жасмоновая кислота?

Тестовые задания

1. Какие из перечисленных соединений являются нейтральными липидами?

- | | |
|----------------|-----------------|
| 1. Воски | 4. Триглицериды |
| 2. Цереброзиды | 5. Эйкозаноиды |
| 3. Церамиды | 6. Сфинголипиды |

- | | |
|--------------|--------------|
| А 1, 4, 5 | В 2, 3, 4, 6 |
| Б 1, 3, 5, 6 | Г 1, 3, 4 |

2. Количество жирных кислот, найденных в растительных организмах.

- | | |
|-------|--------|
| А 20 | В 1000 |
| Б 200 | Г 5000 |

3. Сколько атомов углерода содержит олеиновая кислота?

- | | |
|------|------|
| А 16 | В 20 |
| Б 18 | Г 22 |

4. Какие из перечисленных жирных кислот являются полиеновыми?

- | | |
|----------------|----------------|
| 1. Арахидовая | 4. Линолевая |
| 2. Олеиновая | 5. Линоленовая |
| 3. Стеариновая | 6. Бегеновая |

- | | |
|-----------|--------|
| А 1, 3, 6 | В 4, 5 |
| Б 2, 4, 5 | Г 6 |

5. Что происходит при гидрогенизации растительного масла?

- А** Прогоркание жира
- Б** Переход в твердое состояние
- В** Увеличение количества свободных жирных кислот
- Г** Увеличение количества ненасыщенных жирных кислот

6. Какие соединения являются основными компонентами растительных масел?

- А** Свободные жирные кислоты
- Б** Триацилглицерины
- В** Фосфолипиды
- Г** Гликолипиды

7. Какие изменения происходят при прогоркании жира?

1. Омыление жира
2. Образование перекисей
3. Увеличение количества свободных жирных кислот
4. Появление кетонов
5. Появление альдегидов
6. Окисление жирных кислот

- | | | | |
|----------|------------|----------|-------------------|
| А | 1, 3, 6 | В | 2, 3, 5, 6 |
| Б | 1, 2, 4, 5 | Г | Все перечисленные |

8. Какие компоненты входят в состав воска?

1. Сложные эфиры воска.
2. Высокомолекулярные спирты.
3. Высокомолекулярные углеводы.
4. Фенольные соединения.
5. Свободные жирные кислоты.
6. Оксикислоты.

- | | | | |
|----------|-------------------|----------|------------|
| А | Все перечисленные | В | 1, 3, 4, 5 |
| Б | 1, 2, 3, 5, 6 | Г | 1, 2, 5, 6 |

9. Преобладающий фосфолипид фотосинтетической мембраны высших растений.

- | | | | |
|----------|----------------------|----------|--------------------|
| А | Фосфатидилхолин | В | Фосфатидилинозитол |
| Б | Фосфатидилэтаноламин | Г | Фосфатидилглицерол |

10. Какое соединение является исходным при синтезе жирных кислот?

- | | | | |
|----------|-------------|----------|--------------------------|
| А | Ацетил-СоА | В | Фосфоенолпируват |
| Б | Малонил-СоА | Г | Щавелевоуксусная кислота |

11. В каких компартментах происходит синтез жирных кислот в растении?

- | | |
|--------------------|----------------|
| 1. Пластиды | 4. Цитозоль |
| 2. Митохондрии | 5. Сферосомы |
| 3. Аппарат Гольджи | 6. Глиоксисомы |

- | | | | |
|----------|------------|----------|---------|
| А | 1, 2, 5 | В | 2, 4, 6 |
| Б | 1, 3, 4, 5 | Г | 1, 4, 5 |

12. В каких компартментах происходит β -окисление жирных кислот?

- | | |
|--------------------|----------------|
| 1. Хлоропласты | 4. Цитозоль |
| 2. Митохондрии | 5. Сферосомы |
| 3. Аппарат Гольджи | 6. Глиоксисомы |

- | | | | |
|----------|---------|----------|---------|
| А | 1, 2 | В | 2, 6 |
| Б | 2, 3, 5 | Г | 2, 4, 6 |

13. Какие соединения образуются в результате глиоксилатного цикла?

- | | | | |
|----------|----------|----------|----------------|
| А | Углеводы | В | Аминокислоты |
| Б | Белки | Г | Жирные кислоты |

14. В каких клетках растения происходит глиоксилатный цикл?

1. Клетки созревающего семени
2. Клетки прорастающего семени
3. Фотосинтезирующие клетки
4. Клетки корней

А 1, 2
Б 3

В 2
Г 4

Рекомендуемая литература

1. *Бурлакова Е. Б.* Роль липидов в передаче информации клетке // Биохимия липидов и их роль в обмене веществ. М., 1981. С. 23–34.
2. *Васьковский В. Е.* Липиды // Соросовский образовательный журнал. 1997. № 3. С. 32–37.
3. *Гудвин Т., Мерсер Э.* Введение в биохимию растений: В 2 т. / Пер. с англ. М.: Мир, 1986. 393 с.
4. *Кнорре Д. Г., Мызина С. Д.* Биологическая химия. М.: Высш. шк., 2000. 479 с.
5. *Кретович В. Л.* Биохимия растений. М.: Высш. шк., 1986. 445 с.
6. *Ленинджер А.* Основы биохимии. М.: Мир, 1985. Т. 1–3.
7. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. М.: Колос, 1999. 487 с.
8. *Филлипович Ю. Б.* Основы биохимии. М.: Агар, 1999. 512 с.

Глава 6

ОРГАНИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ И ИХ ОБМЕН

Темы рефератов и эссе

1. Многообразие состава и функций органических кислот в растительных организмах.
2. Изменение содержания органических кислот при созревании и хранении плодов и овощей.
3. Особенности обмена органических кислот у САМ-растений.
4. Методы разделения и количественного определения свободных и связанных органических кислот в растении.

Вопросы

1. В каком виде присутствуют органические кислоты в растениях?
2. Какие органические кислоты обнаружены в яблоках?
3. Перечислите функции органических кислот в растениях.
4. Какие органические кислоты преобладают в овощах?
5. В чем заключаются буферные свойства органических кислот?

6. Каким образом органические кислоты участвуют в поступлении воды в плоды?
7. Как изменяется содержание органических кислот в онтогенезе растений?
8. Какие качественные и количественные изменения в составе органических кислот происходят при хранении плодов?
9. Какие кислоты обеспечивают устойчивость растений к физиологическим заболеваниям?
10. Чем обусловлено изменение вкуса плодов при созревании?
11. Чем обусловлены видовые различия растений по содержанию органических кислот?
12. В чем состоит физиологический смысл цикла трикарбоновых кислот?
13. В каких отраслях народного хозяйства используются органические кислоты?
14. Перечислите основные органические кислоты растений.
15. Приведите примеры превращения органических кислот в сахара в растениях.

Тестовые задания

1. Какие соединения являются источником образования органических кислот в высших растениях?

А Аминокислоты	В Жиры
Б Белки	Г Сахара

2. В каком виде преимущественно находятся органические кислоты в плодах и овощах?

А В свободном виде
Б В виде солей
В В виде эфиров

3. В какой растительной ткани содержание органических кислот наибольшее?

А Кора	В Ксилема
Б Эндодерма	Г Флоэма

4. Накопление каких соединений вызывает физиологическое заболевание плода?

1. Яблочная кислота
2. Ацетальдегид
3. α -кетоглутаровая кислота
4. Щавелевоуксусная кислота
5. Пировиноградная кислота
6. Янтарная кислота

А 1, 2, 4, 5

В 2, 3, 4, 5

Б 1, 2, 6

Г 2, 3, 6

5. Какая органическая кислота преобладает в абрикосах?

А Яблочная

В Янтарная

Б Лимонная

Г Винная

6. В каком компартменте накапливаются органические кислоты ночью у толстянковых растений?

А Хлоропласт

В Вакуоль

Б Цитоплазма

Г Клеточная стенка

Рекомендуемая литература

1. Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений: В 2 т. / Пер. с англ. М.: Мир, 1986. 393 с.
2. Кнорре Д. Г., Мызина С. Д. Биологическая химия. М.: Высш. шк., 2000. 479 с.
3. Кретович В. Л. Биохимия растений. М.: Высшая школа, 1986. 445 с.
4. Ленинджер А. Основы биохимии. М.: Мир, 1985. Т. 1–3.
5. Магомедов И. М. Фотосинтез и органические кислоты. Л.: Наука, 1988. 202 с.
6. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Под ред. Н. Н. Третьякова. М.: Колос, 1999. 487 с.
7. Филлипович Ю. Б. Основы биохимии. М.: Агар, 1999. 512 с.

Глава 7

ВИТАМИНЫ

Темы рефератов и эссе

1. История развития витаминологии.
2. Открытие витамина С и установление его структуры.
3. Окислительно-восстановительные реакции витамина С.
4. Качественное и количественное определение содержания витаминов группы В в растительных объектах.
5. Природа, свойства и применение витамина U.
6. Функции и синтез биотина в живом организме.

Вопросы

1. Дайте определение понятия «витамин».
2. Что собой представляют витаминеры?
3. В чем состоит отличие витаминов от провитаминов?
4. Какие классификации витаминов вам известны?
5. Какая химическая структура лежит в основе витамина А?
6. Приведите примеры провитаминов А, какой из них обладает большей витаминной активностью?
7. Назовите основные источники витамина А для человека.
8. Функции витамина А в живых организмах.
9. Перечислите функции витамина С в живых организмах.
10. Чем обусловлено антиоксидантное действие витамина С в организме?
11. Основные растительные источники витамина С.
12. Источники витаминов группы В для человека.
13. Какова химическая природа витамина В₁?
14. Физиологическая роль витамина В₁ в организме.
15. Функции витамина В₂ в живых организмах.
16. Функции витамина В₃ в живых организмах.
17. Физиологическая роль витамина В₆ в организме.
18. Какие соединения являются провитаминами D?
19. Какова биологическая функция витаминов группы E?
20. Основные растительные источники витамина E для человека.
21. Какова химическая природа фолиевой кислоты?
22. Функции фолиевой кислоты в живых организмах.
23. Физиологическая роль биотина.

24. Функция витамина U в живых организмах.

Тестовые задания

1. Какие из перечисленных соединений являются провитаминами А?

- | | |
|----------------------|-----------------|
| 1. α -каротин | 3. Ликопин |
| 2. β -каротин | 4. Виолоксантин |

- | | |
|----------------------------|---------------|
| А Все перечисленные | В 1, 2 |
| Б 2 | Г 1, 3 |

2. Какие из перечисленных свойств верны для витамина В₂?

1. Производное пиримидина и пиразина.
2. Производное пиримидина и тиазола.
3. Является частью кофермента А.
4. Входит в состав ферментов.
5. Осуществляет окисление жирных кислот.
6. Осуществляет перенос электронов и протонов.

- | | |
|---------------------|---------------------|
| А 1, 3, 4, 6 | В 2, 3, 4, 5 |
| Б 1, 4, 5, 6 | Г 2, 4, 6 |

3. Какие из перечисленных свойств верны для витамина В₃?

1. Оксикислота.
2. Производное пиридина.
3. Химически устойчивое соединение.
4. Является составной частью коэнзима А.
5. Входит в состав флавиновых ферментов.
6. Осуществляет перенос ацильного фрагмента.

- | | |
|---------------------|---------------------|
| А 1, 3, 4, 5 | В 2, 4, 5, 6 |
| Б 1, 3, 5 | Г 1, 4, 6 |

4. Какова химическая природа витамина В₁₂?

- | | |
|-------------------|----------------------------|
| А Коррин | В Пергидрофенантрен |
| Б Порфирин | Г Тропан |

5. Функция витамина В₁₂ в живых организмах.

- А** Препятствует окислению липидов
- Б** Катализирует перенос ацильного фрагмента
- В** Осуществляет перенос электронов и протонов
- Г** Является донором метильных групп

6. Какие из перечисленных организмов не способны синтезировать витамин С самостоятельно?

- | | |
|-------------|-------------------|
| 1. Человек | 4. Крокодил |
| 2. Обезьяна | 5. Морская свинка |
| 3. лягушка | 6. Дрозд |

- | | |
|---------------------|-------------------------|
| А 1, 2, 5, 6 | В Все неспособны |
| Б 1, 4, 6 | Г Все способны |

7. Какие из характеристик верны по отношению к витамину Е?

1. Водорастворимое соединение.
2. Жирорастворимое соединение.
3. Является производным изопреноидной системы.
4. Содержит гидрохиноновый фрагмент.
5. Является биооксидантом.
6. Входит в состав ферментов.

- | | |
|---------------------|---------------------|
| А 1, 3, 5, 6 | В 2, 4, 5, 6 |
| Б 2, 3, 4, 5 | Г 2, 3, 4, 6 |

8. Какова химическая природа D-витамеров?

- | | |
|--------------------|----------------------|
| А Стероиды | В Нафтохиноны |
| Б Дитерпены | Г Хинолины |

9. Химическая природа витаминов группы К.

1. Производное нафтохинона
2. Производное гидроксикарбоновой кислоты
3. Производное изопреноидов
4. Производное птерина
5. Производное порфирина
6. Производное пирролизидина

- | | |
|---------------|---------------|
| А 1, 3 | В 2, 6 |
| Б 2, 4 | Г 3, 5 |

10. В состав каких структур входит витамин РР?

- | | |
|--------|---------|
| 1. ФАД | 4. НАДФ |
| 2. ФМН | 5. АТФ |
| 3. НАД | 6. ДНК |

- | | |
|------------------|---------------|
| А 1, 2 | В 3, 4 |
| Б 1, 2, 5 | Г 6 |

Рекомендуемая литература

1. Витамины и минеральные вещества. Полная энциклопедия. СПб., 2000.
2. Витамин U (S-метилметионин). Природа свойства применение. Сб. под ред. В. Н. Букина и Е. В. Анисимова. М.: Наука, 1973. 152 с.
3. Девис М., Остин Дж., Патридж Д. Витамин С. Химия и биохимия. М. Мир, 1999. 176 с.
4. Душейко А. А. Витамин А. Обмен и функции. Киев: Наук. думка, 1989. 288 с.
5. Карбанов И. А. Витамины и фитогормоны в жизни растений. Мн.: Ураджай, 1977. 112 с.
6. Карнаухов В. Н. Биологические функции каротиноидов. М.: Наука, 1988. 239 с.
7. Ленинджер А. Основы биохимии. М.: Мир, 1985. Т. 1–3.
8. Экспериментальная витаминология / Под ред. Ю. М. Островского. Мн.: Наука и техника, 1979.

Глава 8

РАСТИТЕЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА ВТОРИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Темы рефератов и эссе

1. Флавоноиды растений: природа, распространение и функции.
2. Алкалоиды растений и их практическое использование.
3. Полимерные растительные изопреноиды, их биосинтез, накопление в растительных тканях и способы извлечения.
4. Растительные яды, возможности их использования в медицине и научной деятельности.

5. Наркотические вещества растительного происхождения, методы их обнаружения в биологических образцах.
6. Природа и биологическая активность эфирных масел растений.
7. Функции вторичных метаболитов в растительном царстве.

Вопросы

1. Что подразумевают под термином «вторичный метаболизм» и какие пути биосинтеза включены в эту категорию?
2. Назовите главные функции вторичных метаболитов в растениях, и свяжите эти функции с тканями, в которых они накапливаются в растении.
3. Какие простейшие фенольные соединения встречаются в растительных организмах?
4. Приведите примеры наиболее распространенных оксикоричных кислот растений.
5. Каковы функции оксикоричных кислот в растительном организме?
6. Перечислите основные классы флавоноидов.
7. В чем заключаются особенности химического состава антоцианов?
8. Назовите основные пути биосинтеза фенольных соединений у растений.
9. Перечислите функции фенольных соединений в растениях.
10. Какую роль играют фенольные соединения в первичном метаболизме и развитии растения?
11. Назовите структурные отличия алкалоидов от других вторичных соединений?
12. Назовите особенности молекулярной структуры истинных алкалоидов.
13. Из каких соединений синтезируются протоалкалоиды в растениях?
14. Приведите примеры пуриновых алкалоидов растений. Какова их биологическая активность?
15. Назовите алкалоиды, обладающие наркотическим действием.
16. Приведите примеры протоалкалоидов.
17. Каковы особенности биосинтеза псевдоалкалоидов?
18. Какова химическая природа терпенов и терпеноидов?
19. Распространение терпенов и терпеноидов в растительном мире.
20. Приведите примеры моно- и тритерпенов, отпугивающих насекомых.
21. Принципы классификации терпенов.
22. Что такое «активный изопрен»?

23. Что такое «изопреновое правило»?
24. Приведите примеры полиизопреноидов растений.
25. Биологическая активность сесквитерпенов и возможности их использования в медицине.
26. Какие компоненты терпеноидной природы входят в состав смол хвойных растений?
27. Распространение и биологическая функция растительных тритерпенов.
28. Структурные и химические особенности стероидов.
29. Какова химическая природа стероидных гликозидов?
30. Какова биологическая активность стероидных гликозидов?
31. Внутриклеточная локализация стеролов в растениях.
32. Физиологическая активность brassinosteroidов.

Тестовые задания

1. Какие из перечисленных флавоноидов не имеют окраски?

1. Катехины	4. Халконы
2. Флавоны	5. Дигидрохалконы
3. Флаваноны	6. Ауроны

А 1, 2, 4, 5	В 1, 4, 5, 6
Б 1, 3, 5	Г Все имеют

2. Какие из перечисленных соединений относятся к полимерным фенольным соединениям?

1. Суберин	4. Таннин
2. Лигнин	5. Кутин
3. Меланин	6. Воск

А Все перечисленные	В 2, 3, 4
Б 1, 2, 4	Г 2, 4, 5

3. Какие вещества являются исходными при синтезе фенольных соединений?

1. Фосфоенолпируват	4. Малонил-коэнзим А
2. Ацетил-коэнзим А	5. Эритрозо-4-фосфат
3. Аминокислоты	6. Изопрен

А 1, 2, 4, 5	В 2, 4
Б 2, 3, 4, 6	Г 1, 6

4. Какое свойство лежит в основе разделения истинных алкалоидов на подгруппы?

- А** Растение, из которого выделили алкалоид
- Б** Путь биосинтеза
- В** Аминокислотный предшественник в биосинтезе
- Г** Природа азотистого гетероцикла

5. Какие из перечисленных утверждений верны по отношению к алкалоидам?

1. Это вещества природного происхождения.
2. Эти вещества встречаются только у растений.
3. Эти вещества обладают щелочными свойствами.
4. По химической структуре это азотистые основания.

- | | |
|--------------------|------------------|
| А Все верны | В 1, 3, 4 |
| Б 1, 2, 3 | Г 2, 3 |

6. Биосинтетический предшественник терпенов.

- | | |
|------------------------------|----------------------------|
| А Ацетил-коэнзим А | В Шикимовая кислота |
| Б Мевалоновая кислота | Г Коричная кислота |

7. Какова химическая природа фитола?

- А** Ациклический монотерпен
- Б** Ациклический дитерпен
- В** Моноциклический дитерпен
- Г** Бициклический монотерпен

8. Наиболее обширная в количественном отношении группа терпенов.

- | | |
|----------------------|------------------------|
| А Монотерпены | В Сесквитерпены |
| Б Дитерпены | Г Политерпены |

9. Биологическая активность дитерпенов.

1. Обладают цитотоксической активностью.
2. Являются регуляторами роста растений.

3. Проявляют антифунгицидную активность.
4. Проявляют антифидантную активность.

А 1, 2, 3, 4 **В** 2, 3
Б 1, 2, 3, **Г** 4

10. Какое соединение является общим предшественником при биосинтезе тритерпеноидов?

А Сквален **В** Гумилен
Б Таксол **Г** Фарнезол

11. В каком виде тритерпены присутствуют в растениях?

А В виде эфиров
Б В виде гликозидов
В В свободной форме

12. Какова химическая природа стероидов?

А Гемитерпены **В** Дитерпены
Б Монотерпены **Г** Тритерпены

13. Какую структурную группу образуют тетратерпены?

А Каротиноиды **В** Стероиды
Б Сапогенины **Г** Гопаноиды

Рекомендуемая литература

1. Биотехнология сельскохозяйственных растений. М.: Агропромиздат, 1987. 301 с.
2. *Бриттон Г.* Биохимия природных пигментов. М.: Мир, 1986. 422 с.
3. *Гудвин Т., Мерсер Э.* Введение в биохимию растений: В 2 т. / Пер. с англ. М.: Мир, 1986. 393 с.
4. *Запрометов М. Н.* Биохимия катехинов. М.: Наука, 1964. 296 с.
5. *Запрометов М. Н.* Фенольные соединения: Распространение, метаболизм и функции. М.: Наука, 1993. 272 с.
6. *Кретович В. Л.* Биохимия растений. М.: Высш. шк., 1986. 445 с.

7. *Кузнецова Г. А.* Природные кумарины и фукокумарины. Л.: Наука, 1967. 268 с.
8. *Ленинджер А.* Основы биохимии. М.: Мир, 1985. Т. 1–3.
9. *Ловкова М. Я.* Биосинтез и метаболизм алкалоидов в растениях. М.: Наука, 1981. 168 с.
10. *Ловкова М. Я., Рабинович А. М., Пономарева С. М.* Почему растения лечат? М.: Наука, 1989. 254 с.
11. *Лукнер М.* Вторичный метаболизм у микроорганизмов, растений и животных. М.: Мир, 1979. 548 с.
12. *Пасешниченко В. А.* Новый альтернативный путь биосинтеза изопреноидов у бактерий и растений // Биохимия. 1998. Т. 63. № 2. С. 171–182.
13. *Пасешниченко В. А.* Растения – продуценты биологически активных веществ // Соросовский образовательный журнал. 2001. № 8. С. 13–19.
14. *Васильева И. С., Пасешниченко В. А.* Биологически активные изопреноиды растений. Их биосинтез и значение для биотехнологии // Прикладная биохимия и микробиология. 1999. Т. 36. № 5. С. 521–536.
15. *Васюкова Н. И., Герасимова Н. Г., Озерецковская О. Л.* Роль салициловой кислоты в болезнеустойчивости растений // Прикладная биохимия и микробиология. 1999. Т. 36. № 5. С. 557–564.

Содержание

Предисловие	3
Раздел I. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ	4
<i>Лабораторная работа № 1. Количественное определение содержания растворимых углеводов в растениях</i>	<i>4</i>
<i>Лабораторная работа № 2. Определение содержания белка в семенах и в вегетативной массе различных культур</i>	<i>8</i>
<i>Лабораторная работа № 3. Определение содержания свободных органических кислот и кислых солей в плодах методом титрования</i>	<i>13</i>
<i>Лабораторная работа № 4. Сравнительная оценка физико-химических свойств растительных масел на основании определения кислотного, иодного чисел и числа омыления</i>	<i>15</i>
<i>Лабораторная работа № 5. Колориметрическое определение аскорбиновой кислоты в растительных продуктах</i>	<i>18</i>
<i>Лабораторная работа № 6. Определение витаминов В₁ и В₂ в растениях</i>	<i>21</i>
Методическая литература	24
Раздел II. ПРОГРАММА СПЕЦИАЛЬНОГО КУРСА «БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ»	26
Раздел III. КОНТРОЛЬ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ СТУДЕНТОВ	29
ГЛАВА 1. ПРЕДМЕТ И ЗАДАЧИ БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ	29
Литература к главе 1	30
ГЛАВА 2. УГЛЕВОДЫ И ИХ ВЗАИМОПРЕВРАЩЕНИЯ	30
Литература к главе 2	35
ГЛАВА 3. БЕЛКОВЫЕ ВЕЩЕСТВА РАСТЕНИЙ	35
Литература к главе 3	38
ГЛАВА 4. БИОХИМИЯ ФЕРМЕНТОВ	39
Литература к главе 4	42
ГЛАВА 5. ЛИПИДЫ РАСТЕНИЙ И ИХ ОБМЕН	43
Литература к главе 5	47
ГЛАВА 6. ОРГАНИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ И ИХ ОБМЕН	47
Литература к главе 6	49
ГЛАВА 7. ВИТАМИНЫ	50
Литература к главе 7	53
ГЛАВА 8. РАСТИТЕЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА ВТОРИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ	53
Литература к главе 8	58

Учебное издание

Филипцова Галина Григорьевна
Смолич Игорь Иванович

БИОХИМИЯ

РАСТЕНИЙ

**Методические рекомендации
к лабораторным занятиям,
задания для самостоятельной
работы студентов**

В авторской редакции

Технический редактор *Г.М. Романчук*
Корректор Л.Н. Масловская

Ответственный за выпуск А. Г. Купцова

Подписано в печать 08.12.2004. Формат 60×84/16. Бумага офсетная.
Гарнитура Таймс. Усл. печ. л. 3,49. Уч.-изд. л. 3,25. Тираж 50 экз. Зак.

Белорусский государственный университет.
Лицензия на осуществление издательской деятельности
№ 02330/0056804 от 02.03.2004.
220050, Минск, проспект Франциска Скорины, 4

Отпечатано на копировально-множительной технике
биологического факультета
Белорусского государственного университета.
220064, Минск, ул. Курчатова, 10.