

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ИЖЕВСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по учебной работе

профессор _____ П.Б. Акмаров

« _____ » _____ 2009 г.

БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

Учебно-методическое пособие по выполнению лабораторных и самостоятельных работ для студентов, обучающихся по специальностям «Агроэкология» и «Защита растений»

Составители

И.Л. Бухарина, О.В. Любимова

Ижевск
ФГОУ ВПО Ижевская ГСХА
2009

УДК 581.19 (078)
ББК 28.57 я73-9
Б 63

Учебно-методическое пособие составлено в соответствии с Государственным образовательным стандартом высшего профессионального образования.

Рекомендовано к изданию редакционно-издательским советом ФГОУ ВПО Ижевская ГСХА, протокол № _____ от « _____ » _____ 2009 г.

Рецензенты:

А.В. Федоров – д. с.-х. н., профессор кафедры плодоводства и овощеводства

В.И. Макаров – к.с.-х..н., доцент кафедры агрохимии и почвоведения

Составители:

И.Л. Бухарина – д.б.н., доцент кафедры плодоводства и овощеводства

О.В.Любимова – к.п.н., доцент кафедры плодоводства и овощеводства

Биохимия растений :учебно - метод. пос. / Сост. И.Л. Бухарина,
Б 63 О.В. Любимова. – Ижевск : ФГОУ ВПО Ижевская ГСХА, 2009. – 50 с.

В учебно-методическом пособии представлен теоретический материал по разделам курса «Биохимия растений»; включены описания лабораторных работ, требования по их выполнению и оформлению. В пособии представлены список литературы и краткий словарь терминов по биохимии растений в помощь студентам в подготовке к зачетам, экзаменам и выполнению самостоятельной работы.

Учебно-методическое пособие предназначено для студентов агрономического факультета, обучающихся по специальностям «Агроэкология» и «Защита растений».

УДК 581.19 (078)
ББК 28.57 я73-9

© ФГОУ ВПО Ижевская ГСХА, 2009
© Бухарина И.Л., составление, 2009
© Любимова О.В., составление, 2009

Введение

Биохимия, или биологическая химия, изучает химический состав организмов, а также превращения веществ и энергии, лежащие в основе жизнедеятельности организмов. По объектам исследования биохимию разделяют обычно на биохимию растений, животных и микроорганизмов, также выделяют техническую биохимию, которая изучает биохимические процессы, происходящие при переработке сельскохозяйственных продуктов.

Основная цель возделывания сельскохозяйственных растений – получение определенных химических веществ: белков, жиров, крахмала, сахара, клетчатки, витаминов, алкалоидов, каучука, эфирных масел и других соединений, необходимых для питания человека, а также используемых на корм животным или в качестве сырья для промышленности.

При выращивании растений агроном должен стремиться получить наибольший урожай высокого качества. Но, чтобы оказывать влияние на формирование урожая и его качество, необходимо кроме общих агрономических знаний иметь представление о процессах обмена веществ растений в разные периоды их роста и развития, знать основы биохимии сельскохозяйственных растений.

В основном уже раскрыт химизм таких важнейших звеньев обмена веществ, как дыхание и брожение, фотосинтез, обмен азотистых соединений, образование и распад жиров, синтез и взаимные превращения углеводов и органических кислот и многие другие процессы.

В результате совместной работы биохимиков, генетиков и селекционеров созданы и внедряются в производство высоколизиновая кукуруза и ячмень со сбалансированным аминокислотным составом белков, высокосахаристые сорта сахарной свеклы, высококачественные сорта картофеля. Сложной и ответственной задачей, стоящей перед биохимией растений, является глубокое изучение обмена веществ у отдельных органов растений – семян, клубней и т.д., а также влияния на него различных факторов внешней среды. Это имеет большое значение для понимания тех процессов обмена веществ в сохраняемом растительном сырье (зерне, плодах или овощах), от которых зависят стойкость данного сырья во время хранения и величина потерь.

В последнее время исследовано влияние многих факторов внешней среды на процессы обмена веществ, на количественную и качественную изменчивость химического состава растений. К таким факторам относятся температура, влажность, особенности питания, количество и качество света, почвенные условия, агротехника, действие стимуляторов роста и т.д.

Знание биохимических особенностей растений, процессов обмена веществ в них и внешних факторов, которые определенным образом влияют на обмен веществ и химический состав растений, необходимо для получения высоких урожаев наилучшего качества.

Биохимия сельскохозяйственных растений тесно связана с рядом других наук, которые входят в цикл подготовки студента специальности «агроном –

эколог» и «агроном – защитник растений». Например, при изменении снабжения растений теми или иными элементами питания на разных фазах роста меняются активность и направленность действия отдельных ферментативных систем, в результате чего усиливается или ослабляется интенсивность определенных звеньев обмена веществ и происходит большее или меньшее накопление отдельных химических соединений в растениях. Здесь проявляется тесная связь между биохимией и агрохимией.

Биохимия – теоретическая основа молекулярной генетики, а также в ряде разделов – и химической защиты растений. Например, применение пестицидов как химических веществ, уничтожающих сорняки, насекомых-вредителей, патогенные грибы, вызывает сильное загрязнение окружающей среды. Долговременные эффекты пестицидов, особенно в низких дозах, и возможный синергизм их с другими загрязнителями среды и переносчиками болезней, изучены слабо в связи с относительной новизной большинства ядохимикатов. Высокотоксичные и биологически активные, пестициды устойчивы в окружающей среде и живых организмах и обладают способностью накапливаться в пищевых цепях.

Биохимия также оказывает значительное влияние на дальнейшее развитие физиологии растений, микробиологии, растениеводства, плодоводства, овощеводства, селекции и семеноводства и ряда других сельскохозяйственных наук.

Исключительно велика роль биохимии в усовершенствовании технологических процессов пищевой промышленности и создании новых схем и принципов переработки пищевого сырья растительного происхождения (например, в табачной промышленности, ферментация табака). Возрастает значение биохимических исследований и при заготовке кормов для сельскохозяйственных животных, в частности при сушке сена и силосовании.

Данное учебно-методическое пособие поможет студентам в освоении курса «Биохимия растений», будет способствовать познанию сущности основных биохимических процессов, происходящих в растении. На лабораторных занятиях студенты познакомятся с методами биохимических исследований, научатся интерпретировать полученные ими результаты.

Пояснительная записка

В методическом пособии представлены лабораторные работы для проведения занятий у студентов двух специальностей: «Агроэкология» и «Защита растений». Учебный план указанных специальностей предусматривает различное количество часов для выполнения аудиторных занятий (лекции и лабораторные занятия) по курсу биохимии растений. В связи с этим, в зависимости от специальности студенты каждой специальности, пользуясь данным методическим пособием, будут выполнять лабораторные работы выборочно, согласно своему учебному плану и рабочей программе.

І. БЕЛКОВЫЕ ВЕЩЕСТВА

1.1 Белки

Главная составная часть любого организма – белки, или протеины, которые представляют собой высокомолекулярные органические соединения, построенные из аминокислот. Хотя по количеству в организме белки стоят после углеводов и жиров, они являются незаменимой основой всего живого. Белки играют решающую роль в обмене веществ, поскольку выполняют функцию биологических катализаторов. Они выполняют и другие жизненно важные функции: транспортные, запасающие, структурные, энергетические и т.д. Общее число отдельных видов белков очень велико. Как правило, в растениях белков меньше, чем в животных организмах. Несмотря на это, общее число отдельных белков в растениях составляет десятки и даже сотни тысяч. Примерные подсчеты показывают, что в простейшей бактериальной клетке содержится около 3000 различных типов белков, в растениях их десятки и даже сотни, а в теле человека – примерно 5 млн. индивидуальных белков.

Белки – самые сложные из соединений, имеющих в природе, и их изучение связано с большими трудностями. Но участие этих соединений в таких жизненно важных явлениях, как передача наследственности заставляет биологов и, прежде всего биохимиков, заниматься глубоким изучением структуры и функции белков и связанных с ними нуклеиновых кислот.

Большое количество белка содержится в семенах некоторых бобовых культур, например, гороха, фасоли, бобов (3-5 %). Из этих семян сравнительно легко можно получить препараты белков для изучения их химического состава. Но в основном белок получают из зерновых культур, где его содержание может быть до 25 %. Получение препаратов белковых веществ из вегетативных органов растений затруднительно, так как в них белки прочно связаны с углеводами и другими веществами. Молекулярная масса белковых веществ может достигать нескольких миллионов единиц. Многие белки получены в кристаллическом состоянии.

Для белков специфичны некоторые реакции, совокупность которых используется для их распознавания. Например, способность белков свертываться при кипячении растворов и выпадать в виде сгустков. Характерным свойством белков является осаждение их из растворов под влиянием различных белковых осадителей: растворов танина, уксуснокислого свинца, вольфрамата натрия, гидрата окиси меди, трихлоруксусной кислоты. Кроме этих реакций для белков характерны реакции окрашивания, которые обуславливаются наличием в белковой молекуле определенных химических групп. Это, например, ксантопротеиновая, биуретовая, миллонова реакция.

Все белки разделяют на два класса: *протеины*, или простые белки, построенные только из остатков аминокислот, и *протеиды*, или сложные белки, состоящие из простого белка и прочно связанного с ним какого-либо другого соединения небелковой природы.

Протеины

Запасные белки являются простыми белками и относятся к группе протеинов. По своей растворимости они делятся на:

1) **Альбумины** – растворимые в воде, у большинства злаков составляют относительно небольшую долю общего количества белков в зерне. Концентрация альбуминов в пшенице обычно 5-15% общего количества белков в зерне. Альбумины в основном ферментативно-активные белки, особенно много среди них обнаружено гидролитических, протеолитических ферментов и др.

Водорастворимые белки сосредоточены главным образом в зародышах семян. В растениях альбумины встречаются редко, главная масса запасных белков - глобулины.

2) **Глобулины** – растворимые в слабых растворах нейтральных солей белки. Глобулины составляют большую часть белка многих семян, особенно у бобовых растений и масличных культур. В семенах гороха содержится глобулин – леугмин, в семенах фасоли – фазеолин, конопли – эдестин, сои – глицидин и т.д. Концентрация этих белков в зерне пшеницы в среднем составляет 10-20% общего количества белков, в зерне кукурузы – 7-15%, овса – 15-25%, ржи – 15-25%.

3) **Проламины** – белки, растворимые в 70 % этиловом спирте. Название «проламины» предложено вследствие образования при их гидролизе значительного количества аминокислоты пролина и аммиачного азота. Являются специфическими белками, которые синтезируются главным образом в семенах злаков.

В зерне пшеницы и ржи эта группа называется глиадами и их содержание может быть от 20 до 40% общего количества белков; в семенах ячменя – гордеином (25-40%), овса – авенином (20-30%), кукурузы – зеином (до 50%) и т.д. В семенах других культур, не относящихся в семейству мятликовых, эти белки почти не образуются.

4) **Глютелины** – нерастворимые в воде, но растворимы в слабых растворах щелочей. Их содержание в зерне пшеницы, ячменя и овса обычно составляет 25-40% общего количества белков, а в рисе на их долю приходится 60-70%. Глютелины, так же, как и проламины, состоят из ряда белков с различной молекулярной массой и различным аминокислотным составом.

Установлено, что отдельные культуры отличаются по аминокислотному составу. Оказалось, что белки, выделенные из зародышей семян, имеют сбалансированный аминокислотный состав. В них содержится больше всего незаменимых аминокислот, особенно двух наиболее дефицитных – лизина и триптофана. Наиболее сбалансированы по аминокислотному составу альбумины и глобулины семян.

Если принять за 100 единиц ценность белков молока или яйца, то биологическая ценность белков злаков может быть выражена следующими средними величинами:

Пшеница – 62-68
Рожь – 68-75
Овес – 70-78

Кукуруза – 52-58
Рис – 83-86

В отличие от семян других растений зерна пшеницы, ржи, ячменя, некоторых луговых трав характеризуются наличием в них клейковины. Так называют белковый сгусток, который образуется при отмывании водой теста, замешанного на муке. Основная масса клейковины – белки проламины (глиадин) и глютелины (глютенин). Количество сырой клейковины в муке пшеницы колеблется от 15 до 50%, а сухой – от 5 до 18%. Чем больше клейковины в муке, чем выше ее качество, тем, как правило, лучше качество выпекаемого хлеба.

Протеиды

Это сложные белки, представляют собой соединение белка с веществом небелковой природы, которое называют простетической группой. В зависимости от химической природы простетической группы различают: липопротеиды, хромопротеиды, гликопротеиды и нуклеопротеиды.

Кроме белков, в зерне злаков содержатся и другие азотистые вещества: свободные аминокислоты и их амиды, свободные нуклеиновые кислоты, некоторые пептиды и др.

Лабораторная работа № 1 Запасные белки растений

Цель работы. Изучить свойства запасных белков. Провести качественные реакции на белки.

Объект: белок глобулин.

Реактивы и оборудование: гороховая мука, 10 %-ный раствор $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 20 % раствор NaOH , 1 % раствор CuSO_4 , концентрированная HCl , концентрированный раствор MgSO_4 , концентрированная HNO_3 , 40 % раствор NaOH , крепкий раствор $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$, штатив с пробирками (8-9 шт.), пипетка на 1-2 мл, мерный цилиндр на 10 мл, спиртовка, спички, держатель для пробирок, маленькая воронка, цветные карандаши.

Ход работы:

1. Получение вытяжки белка

5 г гороховой муки насыпают в колбочку и заливают 30 мл 10 %-ного раствора сернокислого аммония. Колбочку встряхивают в течение 3-х мин., дают отстояться и верхний слой раствора фильтруют, предварительно смочив фильтр тем же раствором сернокислого аммония. Полученный фильтрат является коллоидным раствором белка глобулина (легумин), с раствором которого делают следующие реакции.

2. Изучение физико-химических свойств белка. С полученной вытяжкой белка провести следующие химические реакции:

Белок нерастворим в воде. В пробирку наливают 1 мл раствора белка и приливают воды до появления мути вследствие выпадения глобулина в осадок. При добавлении в пробирку сернокислого аммония муть исчезает.

Высаливание белка. В крепких растворах нейтральных солей (свыше 50 %) происходит высаливание белка, т. е. белок дает осадок, способный вновь раствориться при разбавлении крепкого раствора солей водой (до 10 % и ниже). Берут

1 мл раствора белка, прибавляют концентрированный раствор нейтральной соли $MgSO_4$. Когда концентрация раствора достигнет примерно 50 %, глобулин начнет выпадать в осадок и раствор помутнеет. При уменьшении концентрации раствора прибавлением воды выпавший в осадок глобулин снова переходит в раствор.

Денатурация белка. Под действием крепких кислот или при кипячении белок свертывается необратимо, т. е. происходит денатурация белка. Для этого берут две пробирки. В одну пробирку наливают 1-2 мл раствора белка и нагревают до кипения. Немного охлаждают, проверяют на растворимость в солевом растворе. В другую пробирку к 1-2 мл белка прибавляют 3 капли концентрированной HCl , белок выпадает в виде белого осадка и также проверяют на растворимость в слабом растворе сернокислого аммония. Делают вывод об обратимости или необратимости денатурации.

Сделать выводы о свойствах белка.

3. Провести качественные реакции на белки.

Биуретовая реакция. В чистую пробирку наливают 1 мл вытяжки белка, добавляют 2 мл 10 % раствора $NaOH$ (или 1 мл 20 % раствора $NaOH$) и взбалтывают. Затем прибавляют по каплям (до 4-5 капель) слабого раствора $CuSO_4$. Образующийся осадок гидрата окиси меди в присутствии белка окрашивает раствор в сиренево-фиолетовый цвет. Эту цветную реакцию дают все соединения, содержащие пептидную группу $CO-NH$.

Ксантопротеиновая реакция. Реакция проводится на аминокислоты фенилаланин, тирозин, триптофан, входящие в состав белка. В пробирку наливают 2 мл вытяжки белка и 0,5 мл (5-8) капель концентрированной HNO_3 , нагревают до кипения. При этом белок свертывается и окрашивается в желтый цвет.

Реакция на серу. Присутствие в белке аминокислот, содержащих серу (цистин), определяется прибавлением к раствору белка равного объема 40 % раствора едкой щелочи и нескольких капель (3-4 капли) раствора крепкого уксуснокислого свинца. Почернение раствора при осторожном его нагревании до кипения указывает на присутствие серы. Щелочь, разрушая белок, вытесняет серу в виде сероводорода, который реагирует со свинцом и дает черный осадок сернистого свинца.

Зарисовать качественные реакции на белки. Сделать выводы о свойствах белка.

Контрольные вопросы: 1. Что такое денатурация белка? Какие факторы могут вызвать ее? 2. Какие группы белков выделяют? К какой из них относятся запасные белки? 3. Какие качественные реакции на белки выделяют?

Лабораторная работа № 2 Получение альбумина картофеля

Теоретическое обоснование. Белок альбумин является простым белком. Такие белки хорошо растворяются в воде. Альбумины встречаются в зерновках пшеницы (лейкозин), семенах клещевины (рицин), в клубнях картофеля. Питательная ценность картофеля определяется не только наличием в клубнях крахмала и сахаров, но и азотистых веществ. Среднее содержание сырого протеина в них обычно составляет около 2%. В зависимости от сорта и условий выращивания в клубнях может накапливаться 20-30% альбуминов, основная же масса белков – глобулины. В клубнях картофеля много небелковых азотистых соединений. На их долю приходится от 1/3 до 1/2 общего содержания азота в клубнях. В составе данной фракции преобладают в свободном состоянии аминокислоты и амиды. Азотистые вещества распределены в тканях клубней неравномерно. В кожуре, в слое коры, примыкающем к ней, а также в сердцевине клубня находится наибольшее количество азота, а в камбиальных тканях его меньше.

Цель работы. Получить белок альбумин и изучить его химические свойства.

Объект: белок альбумин

Оборудование и реактивы: клубни картофеля, пластмассовая терка, мерные цилиндры на 20, 100, 200 мл, воронки диаметром 3 см и 5 см, плитка, штатив с пробирками, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – сухая соль, 5% NaCl – 100 мл. Химический стакан на 100-150 мл, стеклянные палочки, часовые стекла, фильтровальная бумага.

Ход работы:

1. Получение вытяжки белка

Очистить клубень картофеля, натереть на терке и хорошо размешать в химическом стакане со 100 мл воды. Подождать, пока основная масса оседет на дно стакана, и профильтровать через складчатый фильтр в цилиндр на 200 мл. Затем к фильтрату прямо в цилиндр прибавить кристаллический сульфат аммония до половины насыщения (при 20 °С это составляет 38 г на 100 мл раствора). Растворимость белка снижается (альбумины хорошо растворимы в воде), и он выпадает в осадок, происходит высаливание белка. Выпавший в осадок альбумин отделяют фильтрованием на бумажном фильтре. Сначала фильтрование ведут на небольшой воронке 3-4 см в диаметре, а через некоторое время ее заменяют воронкой большого размера 5-7 см с новым фильтром, где фильтрование ведут до конца. С осадком в маленькой воронке проделывают ряд опытов по изучению свойств альбумина.

2. Изучить физико-химические свойства белка.

2.1 Маленькую воронку вместе с фильтром и осадком переносят в чистую сухую пробирку и осадок смывают 10-15 мл дистиллированной воды. Альбумин хорошо растворим в воде, поэтому в пробирку попадает чистый раствор альбумина.

2.2 Полученный раствор делят на две порции. К одной порции осторожно, на кончике шпателя, добавляют сульфат аммония, прозрачный раствор белка мутнеет, т.к. понижается его растворимость. Если к помутневшему раствору при-

лить воду, то раствор снова становится прозрачным, т.к. белок растворяется. Добавление сульфата аммония приводит к высаливанию растворимого в воде белка. Выпадение белка в осадок происходит в результате понижения его растворимости. Это процесс обратимый, свойства белка при этом сохраняются: белок снова растворяется при добавлении воды.

Другую порцию сильно нагревают на плитке или спиртовке до получения осадка белка. При добавлении воды осадок не растворяется. При нагревании выше 50° белок выпадает в осадок, но, в отличие от первого, этот процесс необратим, белки при этой реакции теряют свои свойства, в частности, теряют способность снова растворяться. Происходит денатурация белка.

3. Сделать выводы о свойствах белка.

Контрольные вопросы: 1. Перечислите свойства, по которым белок альбумин отличается от белка глобулина? (см. предыдущую работу) 2. Какие вы заметили общие свойства, характерные для белков альбумина и глобулина?

1.2 Ферменты

В растительном организме непрерывно происходят самые разнообразные химические реакции. Многие из них лишь с трудом можно воспроизвести вне организма. Между тем в растительных клетках эти реакции протекают очень легко и с большой скоростью при обычных условиях.

Большое различие в скоростях реакций внутри и вне организмов и сама возможность многих реакций внутри организмов объясняются тем, что в любой живой клетке есть многочисленные биологические катализаторы, называемые ферментами или энзимами, способные в тысячи и даже в миллионы раз ускорять химические процессы.

Изучение ферментов имеет большое практическое значение, так как многие отрасли промышленности – сыроварение, производство чая, табака, аминокислот, органических кислот, витаминов, антибиотиков – основаны на различных ферментативных процессах.

Действие физиологически активных соединений – лекарственных веществ, стимуляторов роста растений, пестицидов – в конечном счете сводится к стимулированию или подавлению того или иного ферментативного процесса и соответственно влиянию на определенные звенья обмена веществ. Очевидно, что установление закономерностей действия ферментов и влияния на них различных стимуляторов и ингибиторов имеет важное значение для сельского хозяйства. С помощью ферментов можно расшифровать строение сложных биополимеров.

Сейчас составлено описание примерно 2000 различных ферментов. Главный специфический признак, на основании которого отличают один фермент от другого, – это химическая реакция, катализируемая им. В соответствии с систематической классификацией все ферменты подразделяют на шесть главных классов.

1. **Оксидоредуктазы** катализируют окислительно-восстановительные реакции. К ним относятся: дегидрогеназы (аэробные и анаэробные), сопровождаю-

щиеся отщеплением водорода от окисляемого субстрата; флавиновые ферменты и цитохромная система, являющиеся промежуточными звеньями при передаче водорода.

2. **Трансферазы** катализируют реакции переноса групп, частей молекул, отдельных радикалов. Такой перенос атомных группировок значительно ускоряет и облегчает течение биохимических реакций, особенно синтетических.

3. **Гидролазы** катализируют гидролиз, а иногда и синтез сложных соединений с участием воды. Гидролазы делят на несколько подклассов. Например, подкласс эстеразы представлен липазами, расщепляющими жиры, (широко распространены в растении), подкласс протеазы катализируют гидролитическое расщепление пептидных связей в белках.

4. **Лиазы** катализируют отщепление от субстратов тех или иных групп без какого-либо участия воды или фосфорной кислоты. В результате действия этих ферментов образуются двойные связи.

5. **Изомеразы** – ферменты, катализирующие реакции изомеризации. Изомеризация происходит в результате внутримолекулярного перемещения атомов, атомных группировок, остатков фосфорной кислоты, различных радикалов. Часто подвергаются изомеризации углеводы и их производные, органические кислоты, аминокислоты, поэтому ферменты этой группы играют большую роль во многих процессах обмена веществ.

6. **Лигазы (синтетазы)** – ферменты, катализирующие реакции синтеза с участием АТФ или аналогичных трифосфатов.

Лабораторная работа № 3 Ферментативный гидролиз сахарозы

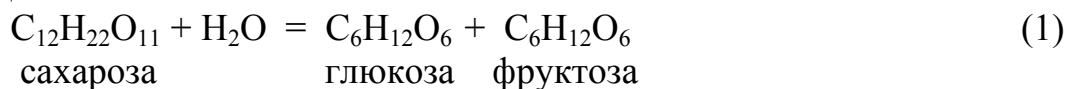
Теоретическое обоснование. Углеводы – широко распространенные органические вещества в растениях. Они используются в растениях для очень важного процесса – дыхания, являются строительным материалом, субстратами для синтеза витаминов. Для многих растений углеводы являются запасным веществом.

Все углеводы делятся на две группы: 1. простые углеводы, или моносахара, которые неспособны гидролизироваться; 2. сложные углеводы, или ди-, три-, или полисахариды, которые способны гидролизироваться с образованием нескольких молекул моносахаров.

Все моносахара являются редуцирующими, т.е. обладают восстанавливающими свойствами. Характерная реакция на редуцирующие сахара – реакция восстановления фелинговой жидкости.

Для обнаружения редуцирующих сахаров к исследуемому раствору приливают равный объем фелинговой жидкости и доводят до кипения. При этом окись меди восстанавливается в закись меди и выпадает в виде кирпично-красного осадка. Моносахара в растениях – участники окислительно-восстановительных реакций, они являются субстратом дыхания.

Сахароза представляет собой дисахарид $C_{12}H_{22}O_{11}$. Это нередуцирующее вещество, поэтому не дает характерную реакцию с фелинговой жидкостью. Сахароза может быть подвергнута гидролизу. Гидролиз – процесс ферментативный. Сахароза гидролизуется под действием фермента сахаразы (инвертазы). Реакция идет с присоединением воды и образованием молекул глюкозы и фруктозы, которые являются редуцирующими сахарами и могут быть обнаружены реакцией с фелинговой жидкостью.



Фермент сахараза имеется у большинства растений. Наиболее активную сахаразу содержат клетки дрожжей, из которых ее легко получить. Активность сахаразы можно контролировать по количеству продуктов гидролиза, образующихся за определенное время, которые обнаруживают с помощью фелинговой жидкости. Определение ведут по количеству гидролизованного раствора, которое нужно прилить к фелинговой жидкости, чтобы выпал осадок закиси меди.

Скорость гидролиза сахарозы, как ферментативной реакции, зависит от внешних условий.

Цель работы. Провести реакцию гидролиза сахарозы. Определить, каким образом влияют на скорость ферментативного гидролиза сахарозы температура, катализатор, реакция среды.

Реактивы и оборудование: 20 % раствор сахарозы, фермент сахараза (инвертаза), фелингова жидкость, 10% раствор HCl, 0,1 н раствор NaOH, концентрированная HCl, дистиллированная вода, штатив, пробирки (6 шт.), карандаш по стеклу, мерная пипетка на 1-2 мл, пипетка (3 шт.), мерный цилиндр на 10 мл, водяные бани (45 и 100 ° C), холодная вода, термометр, часы.

Ход работы:

1. Подготовить таблицу 1 для записи схемы опыта и результатов опыта. Для выполнения этой работы необходимо разделиться на рабочие группы по 2-3 человека, группа выполняет один из вариантов опыта (таблица 1). В конце работы группы обмениваются результатами.

2. Приготовить и подписать три пробирки.

3. Налить в эти пробирки по 10 мл 20 % раствора сахарозы.

4. Каждой группе изучить предложенный им вариант опыта.

5. В пробирки с сахарозой налить (по схеме варианта) необходимое количество воды, кислоты (0,1 н р-р HCl) или щелочи (0,1 н р-р NaOH).

6. Внести в опытные пробирки нужное количество фермента или неорганического катализатора (соляной кислоты), тщательно перемешать и поставить пробирки в указанные в варианте температурные условия на 40-50 мин.

7. Приготовить три пробирки с раствором фелинговой жидкости (ФЖ): в каждую из трех пробирок влить по 2 мл ФЖ и дистиллированной воды.

8. По истечении времени определить активность сахаразы или неорганического катализатора следующим образом: в три пробирки с нагретым до кипения раствором фелинговой жидкости (поочередно) прилить по каплям жидкость из

опытных растворов до полного покраснения раствора фелинговой жидкости. Количество капель опытного раствора занести в таблицу 1.

9. Сравнить результаты по отдельным вариантам опыта и сделать выводы о влиянии изучаемых условий на скорость гидролиза сахарозы и активность сахаразы.

Таблица 1 – Влияние различных условий на скорость ферментативной реакции

№ варианта	Вариант	№ пробирки *	К 10 мл сахарозы вносят (мл):			Катализатор	Условия опыта (t°C, pH)	Кол-во капель испытуемого раствора, пошедшее на реакцию с ФЖ
			во-ду	0,1н HCl	0,1н NaOH			
1.	Влияние температуры	1	4			фермент, 1 мл	18-20 °C	
		2	4			фермент, 1 мл	40-45 °C	
		3	4			фермент, 1 мл	100 °C	
2.	Влияние температуры на неорганический катализатор	1	5			к. HCl, ** 2 капли	18-20 °C	
		2	5			к. HCl, ** 2 капли	40-45 °C	
		3	5			к. HCl, ** 2 капли	100 °C	
3.	Влияние pH среды	1		4		фермент, 1 мл	40-45 °C (pH 4,5)	
		2	4			фермент, 1 мл	40-45 °C (pH 6,5)	
		3			4	фермент, 1 мл	40-45 °C (pH 7,5)	
4.	Влияние количества фермента	1	4			фермент, 1 мл	40-45 °C	
		2	3			фермент, 2 мл	40-45 °C	
		3	1			фермент, 4 мл	40-45 °C	

Примечания: *Студенты помечают свои пробирки цифрами 1^I, 1^{II}, 1^{III} (в 1 варианте) и в аналогично в других вариантах

** к. HCl - концентрированная соляная кислота.

Контрольные вопросы: 1. Какие группы углеводов (сахаров) выделяют? 2. Как можно обнаружить присутствие редуцирующих сахаров? 3. Что такое фермент? Какова его химическая природа? 4. Что такое гидролиз? Какие углеводы подвергаются гидролизу? 5. Какие условия внешней среды будут оказывать влияние на скорость гидролиза? 6. Значение гидролиза в жизни растений.

Лабораторная работа № 4 Обнаружение амилазы при прорастании семян

Теоретическое обоснование. Фермент амилаза относится к классу гидролаз. Под действием этого фермента, содержащегося в особенно большом количестве в проросших семенах, происходит ферментативное осахаривание крахмала – он расщепляется с образованием, в конечном счете, мальтозы (солодовый сахар), который является типичным представителем дисахаридов.

В качестве промежуточного продукта при гидролизе крахмала в большем или меньшем количестве образуются полисахариды разной молекулярной массы – декстрины. А сам крахмал представляет собой полисахарид (точнее, смесь двух близких растительных полисахаридов – амилозы и амилопектина) с эмпирической формулой $(C_6H_{10}O_5)_x \cdot H_2O$.

Амилаза широко распространена в растениях. Весьма активная амилаза содержится в прорастающих семенах гороха, фасоли, пшеницы, ячменя и др. Важная роль данного фермента в жизни растений заключается в том, что с его участием такое запасное органическое вещество, как крахмал из нетранспортабельной формы превращается, с участием еще ряда ферментов, в транспортные сахара, которые направляются в точки роста.

Обычно препараты амилазы получают из высушенного проросшего зерна (солода). Амилазы гидролизуют как неизменные крахмальные зерна, так и крахмальный клейстер. Гидролитическое расщепление амилазой неизменных крахмальных зерен сопровождается образованием мальтозы и постепенным изменением крахмальных зерен – они как бы разъедаются ферментом и теряют свои первоначальные очертания. Более активно действует фермент на оклейстерный крахмал, поэтому в целом ряде отраслей, например, пищевой промышленности, в спиртовой, осахаривание крахмала солодом производится лишь после заваривания муки или измельченного картофеля.

Со времени открытия амилазы Кирхгофом в течение длительного времени считалось, что она представляет собой один фермент. В настоящее время установлено наличие трех амилаз: α -амилазы, β -амилазы и глюкоамилазы. Различаются они по свойствам, распространению в природе и способу действия на крахмал. Например, при действии на крахмал β -амилазы образуется главным образом мальтоза и незначительное количество высокомолекулярных декстринов (β -амилаза содержится в непроросших зернах пшеницы, ржи, ячменя, в соевых бобах).

При действии на крахмал α -амилазы образуются главным образом декстрины меньшей молекулярной массы и незначительное количество мальтозы (α -амилаза содержится в слюне, пищеварительном соке, в плесневелых грибах, в проросшем зерне пшеницы, ржи, ячменя). Если мука получена из проросшего зерна, а затем использована при замесе теста, то в тесте накапливается значительное количество декстринов, придающих мякишу хлеба плохую эластичность, заминаемость, неприятный вкус.

Цель работы. Проследить в эксперименте действие фермента амилазы на крахмал. Обнаружить конечные продукты, образуемые при действии амилазы на крахмал. Познакомиться с физиологической ролью данного фермента в жизнедеятельности растений.

Оборудование и реактивы: семена свежие, проросшие и непроросшие (горох, фасоль, пшеница, ячмень и др.), чашки Петри с крахмальным агаром (содержание крахмала 5-10%), скальпели, пинцеты, стаканчики с водой, слабый раствор йода в йодистом калии (0,2-0,5%).

Ход работы:

1. Разрезать несколько непроросших семян пополам, слегка смочить срезы водой и разложить пинцетом на крахмальную агаровую пластинку поверхностью среза вниз, не вдавливая семена в агаровую пластинку.

2. В другую чашку Петри на агаровую пластинку поместить несколько проросших семян того же растения, также разрезанных пополам и смоченных по срезу водой. Вода необходима для перехода амилазы из срезов семян на агаровую пластинку, содержащую крахмал.

3. Закрывать чашки Петри крышками, чтобы не было подсыхания.

4. Через 45 – 60 мин. осторожно снять семена и облить всю агаровую пластинку слабым раствором йода. В тех местах агаровой пластинки, где крахмал не подвергся воздействию амилазы, выделившейся из семян, после обработки раствором йода наблюдается посинение крахмала. А в местах, где срезы семян через воду соприкасались с агаровой пластинкой, образуются светлые пятна, что свидетельствует о превращении крахмала агаровой пластинки в мальтозу.

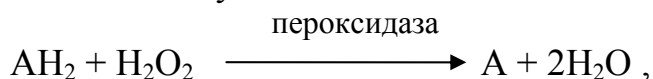
5. Сделать выводы. Почему проросшие и непроросшие семена оказывают на крахмал агаровой пластинки неодинаковое действие?

Контрольные вопросы: 1. В каких реакциях участвует фермент амилаза? 2. Какова роль амилазы в жизнедеятельности растений? 3. Какие виды амилаз встречаются в растениях? 4. Каково промышленное использование амилаз? 5. К какому классу ферментов относятся амилазы?

Лабораторная работа № 5

Определение активности пероксидазы

Теоретическое обоснование. Пероксидаза является ферментом и играет большую роль в окислительно-восстановительных процессах в растении. Она катализирует окисление различных полифенолов, находящихся в растениях в свободном или связанном состоянии, а также ароматических аминов. Реакция окисления идет по следующей схеме:



где AH_2 – донор водорода, A – окисленный донор.

Активность ферментов в растениях непостоянна и зависит от вида и органа растений, времени суток, температуры и влажности, при которой выращиваются растения, условий питания и от ряда других факторов. В зависимости от изменения активности ферментов изменяется интенсивность и направленность биохимических процессов, что в конечном счете приводит к изменению величины урожая и химического состава растений.

Метод определения активности пероксидазы, предложенный А.Н. Бояркиным, основан на определении скорости окисления бензидина под действием фермента, содержащегося в растениях, до образования продукта окисления синего цвета определенной концентрации, заранее устанавливаемой на фотоэлектрокалориметре (ФЭК).

Цель работы. Определение активности пероксидазы.

Объект: листья растений или корнеплоды.

Реактивы и оборудование: ФЭК, центрифуга, секундомер, колбы мерные емкостью 50 мл, пипетки, воронки, фильтры, ступки, перекись водорода 3%-ная, ацетатный буфер рН 4,7, раствор бензидина в ацетатном буфере.

Ход работы:

1. Навеску листьев растений или корнеплоды (200-500 мг) растирают в ступке с ацетатным буфером и с помощью буфера переносят в мерную колбу на 50 мл. 10 минут настаивают с периодическим помешиванием, в результате чего пероксидаза переходит в раствор.

2. Вытяжку центрифугируют при 3000 об/мин. 10 мин. Надосадочную жидкость используют для определения активности фермента.

3. В две кюветы (левая и правая) фотоэлектрокалориметра толщиной слоя в кювете 2 см наливают по 2 мл ферментного раствора, 2 мл раствора бензидина в ацетатном буфере и 2 мл воды. Измерения проводят на ФЭК при красном светофильтре. Вначале устанавливают стрелку гальванометра на нуле, а затем поворотом правого барабана для отсчета переводят стрелку гальванометра в крайнее правое положение (экстинкция $E = 0,125$ или $0,250$), кювету наливают 2 мл воды, а в правую (опытную) 2 мл 3%-ной перекиси водорода. Сразу же после начала вливания перекиси водорода включают секундомер. При этом под действием пероксидазы происходит реакция окисления бензидина с образованием соединения синего цвета и стрелка гальванометра начинает отклоняться от края шкалы к ну-

левому делению. Секундомер останавливают, когда стрелка гальванометра достигнет нулевого деления.

4. Вычисление результатов производят по формуле:

$$A = \frac{E(a \cdot b)}{n \cdot c \cdot t}, \quad (2)$$

где А – активность фермента на 1 г навески;

Е – экстинкция (0,125 или 0,250);

а – объем вытяжки, 50 мл;

б – степень разведения вытяжки в реакционной смеси (в кювете);

н – навеска растительного материала, г;

с – толщина слоя жидкости в кювете (2 см);

t – время, с.

Для приготовления **ацетатного буфера** к 2,3 мл уксусной кислоты в мерной колбе на 200 мл приливают немного воды и добавляют 5,45 г уксуснокислого натрия. Смесь перемешивают и доводят водой до метки.

Раствор бензидина на ацетатном буфере. В мерную колбу емкостью 200 мл наливают примерно 100 мл воды, прибавляют 2,3 мл уксусной кислоты и 184 мг бензидина. После этого колбу нагревают на водяной бане при 60 °С, постоянно взбалтывая. После растворения бензидина в колбу добавляют 5,45 уксуснокислого натрия, охлаждают и доводят водой до метки.

5. Сделать выводы по работе.

Контрольные вопросы: Почему так важно поддерживать активность ферментов в растении? Какими путями этого можно достичь?

II. УГЛЕВОДЫ

Углеводы – один из важнейших классов природных органических соединений, наиболее распространенных в растениях. На их долю приходится до 90% сухого вещества растений. Углеводы – главные продукты фотосинтеза и основной субстрат дыхания. У многих растений они в большом количестве накапливаются в корнях, клубнях и семенах и используются затем в качестве запасных веществ; стенки клеток растений и растительные волокна состоят главным образом из углеводов; в плодах и ягодах также преобладают углеводы. В процессе распада углеводов организмы получают основную часть энергии, необходимую для поддержания жизни и биосинтеза других сложных соединений. Углеводы обычно делят на три основные класса: моносахариды, олигосахариды и полисахариды.

Моносахариды состоят из 3-7 углеродных атомов, олигосахариды – от 2 до 10 мономерных звеньев моносахаров, а полисахариды – высокополимерные соединения, построенные из нескольких десятков и даже сотен тысяч остатков моносахаридов. Наиболее часто встречаются в растениях следующие моносахариды:

□ D-глюкоза, или виноградный сахар. Во многих плодах и ягодах содержится в большом количестве в свободном состоянии и обуславливает сладкий

вкус этих плодов. D-глюкоза входит в состав многих ди- и трисахаридов, крахмала, клетчатки, гликогена и др.

□ D-фруктоза, или плодовой сахар. Содержится во многих сладких плодах, входит в состав сахарозы. Смесь почти равных количеств фруктозы и глюкозы составляет главную часть меда.

□ L-арабиноза. Широко распространена в растениях в качестве составной части слизей, гумми, пектиновых веществ и гемицеллюлоз.

□ D-рибоза. Входит в состав многих соединений, играющих роль в процессах обмена веществ, - РНК, витаминов, некоторых коферментов (НАД и ФАД). В свободном состоянии ее мало.

□ D-ксилоза, или древесный сахар. Входит в состав пентозанов – ксиланов, которых много в древесине, соломе, отрубях, оболочках семян подсолнечника. Организмом человека и животных D-ксилоза не усваивается и не сбраживается под действием дрожжей.

Олигосахариды построены из нескольких молекул моносахаридов. Основные представители дисахаридов:

- сахароза, или тростниковый сахар. Сахароза очень распространена в растительном мире; в небольших количествах содержится во всех тканях растений, много ее в плодах, ягодах, корнеплодах. Больше всего этого сахара в корнеплодах сахарной свеклы (14-20%) и соке стеблей сахарного тростника (11-15%). Сахароза состоит из α -D-глюкозы и β -D-фруктозы.

- мальтоза, или солодовый сахар, образуется при расщеплении крахмала под действием амилаз. Этих ферментов больше всего в проросшем зерне, а высушенное проросшее зерно называется солодом. Мальтоза состоит из двух молекул α -D-глюкозы.

Трисахариды представлены в основном рафинозой, построенной из остатков α -D-галактозы, α -D-глюкозы и β -D-фруктозы. Встречается в корнях свеклы.

Полисахариды в зависимости от их строения можно разделить на две группы: гомополисахариды, состоящие из остатков какого-либо одного моносахарида (крахмал, гликоген, лихенин, целлюлоза состоят из глюкозы; из маннозы, галактозы, арабинозы, фруктозы и др. моносахаров состоят инулин, полифруктозиды, маннаны, галактаны и др.) и гетерополисахариды, состоящие из остатков различных моносахаридов (гемицеллюлоза, камеди, слизи). Полисахариды в клетках растений находятся в водонерастворимой форме, благодаря чему могут накапливаться в больших количествах, не оказывая влияния на осмотическое давление.

Лабораторная работа № 6

Динамика крахмала в годичном цикле веток древесных растений

Теоретическое обоснование. Крахмал – главный полисахарид растений, играющий роль запасного вещества. У подавляющего большинства высших растений он очень быстро синтезируется в хлоропластах из углеводов, образующихся в процессе фотосинтеза. Такой крахмал называют ассимиляционным, он быст-

ро используется растениями для дыхания и биосинтеза других веществ. В отличие от других растений злаки фотосинтезируют вместо крахмала полифруктозиды. Крахмал всегда содержится в листьях зеленого растения, но основными органами растений, в которых накапливается большое количество крахмала, являются семена, клубни, луковицы, корневища и другие органы растений. Особенно много крахмала в семенах риса 50-70 %, кукурузы 65-75 %, пшеницы 50-70 % и клубнях картофеля 12-20 %. В зерне злаков он есть лишь в мучнистом ядре эндосперма, а в пленках и оболочках его почти нет. Обычно чем выше содержание белков в зерне, тем меньше в них крахмала, и, наоборот, при низких концентрациях белков количество крахмала увеличивается.

Крахмал в растениях находится в виде зерен диаметром 0,002 – 0,15 мм; различные растения имеют крахмальные зерна разной формы и размера, обычно они имеют слоистое строение вследствие неравномерного поступления крахмала в них в течение дня.

Характерным свойством крахмала является его способность окрашиваться в синий цвет при добавлении раствора йода в водном растворе иодистого калия (раствор Люголя). Пользуясь этим реактивом, можно обнаружить очень маленькие количества крахмала. Крахмал на 96,1 – 97,6% состоит из полисахаридов, образующих при гидролизе глюкозу. Содержание минеральных веществ в крахмале от 0,2 до 0,7%, они представлены в основном фосфорной кислотой. В крахмале найдены также некоторые высокомолекулярные жирные кислоты – пальмитиновая, стеариновая и др., углеводная часть крахмала состоит из полисахаридов двух типов – амилозы (15-25 %) и амилопектина (75-85 %). Крахмал восковидных сортов кукурузы, риса, ячменя почти полностью состоит из амилопектина, а яблок – из амилозы. Количество амилозы и амилопектина в крахмале может меняться в зависимости от условий выращивания растений, в течение вегетационного периода, а также зависеть от органа растения (например, в клубнях картофеля амилозы 22 %, а в молодых побегах – 46 %).

У многолетних древесных растений крахмал накапливается в побегах, стволах и корнях, причем содержание его в течение года закономерно изменяется. Осенью, перед уходом в покой, в клетках происходит образование и отложение в запас питательных веществ в форме высокополимерных соединений крахмала и др. веществ. В зимнее время происходит постепенный гидролиз крахмала с образованием растворимых сахаров. Весной, перед вегетацией, вновь сахара превращаются в крахмал, который с началом вегетации расходуется на дыхание, процессы роста и развития.

Цель работы. Проследить годовую динамику крахмала в тканях древесного растения.

Объект: ветки годичного прироста древесных растений (яблони, тополя, клена, липы, березы, кизильника и др.).

Реактивы и оборудование: раствор Люголя, дистиллированная вода, фильтровальная бумага, лезвие бритвы, микроскоп, предметные стекла (6-12 шт.), покровные стекла (6-12 шт.), пинцет, пипетка глазная.

Ход работы:

1. Сделать 1-2 тонких поперечных среза с вегетативного годичного прироста древесного растения, взятого в разные месяцы года. Группа студентов 2-3 человека работает со своим видом древесного растения.

2. Срезы разложить на предметные стекла по месяцам. На каждый срез нанести по 2-3 капли раствора Люголя. Через 5-10 мин. раствор убрать фильтровальной бумагой и нанести каплю воды.

Крахмал в клетке обнаруживается по йодной реакции в растворе Люголя.

3. Рассмотреть срезы под микроскопом при малом увеличении и оценить содержания крахмала в отдельных тканях (рис. 1) по пятибалльной системе:

1 балл – крахмал в единичных клетках;

2 балла – крахмала мало;

3 балла – среднее содержание крахмала;

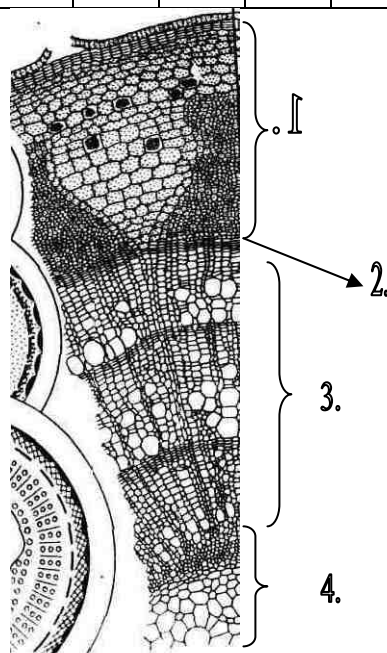
4 балла – крахмала много (в клетках есть просветы);

5 баллов – крахмала очень много (нет просветов в клетках).

4. Полученные результаты записать в таблицу 2.

Таблица 2 – Динамика крахмала в тканях древесных растений

Ткани побега	Количество крахмала в баллах (по месяцам года)											
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
кора												
камбий												
древесина												
сердцевина												



1 – кора; 2 – камбий; 3 – древесина; 4 – сердцевина

Рис. 1 □ Поперечный срез ветки липы

5. Сделать выводы о закономерностях изменения содержания крахмала в годовом жизненном цикле древесных растений.

Контрольные вопросы: 1. В каких органах накапливается крахмал у травянистых и у древесных растений? 2. Изменяется ли содержание крахмала в различных тканях веток древесных растений в течение года? Каким образом? Почему? 3. К какой группе органических соединений относится крахмал? 4. Каким образом можно обнаружить крахмал?

Лабораторная работа № 7 Морозоустойчивость растений

Теоретическое обоснование. Способность к защите от действия неблагоприятных факторов среды (стрессоров) – важное и обязательное свойство любого растительного организма. Защита обеспечивается на разных уровнях: клеточном и органном, организменном, популяционном. Каждый новый уровень дополняет механизмы, сформированные на прежних уровнях.

При сильном кратковременном действии стрессоров проявляются неспецифические механизмы устойчивости (стресс), при длительном действии – специфические механизмы.

Наиболее устойчивы к стрессовому воздействию растения в состоянии покоя (в виде семян, луковиц и других покоящихся органов), наиболее чувствительны – всходы, молодые растения и растения в период формирования гамет.

В невысоких дозах повторяющиеся стрессы способствуют закаливанию растительного организма, причем закаливание по отношению к одному фактору повышает устойчивость растения к некоторым другим факторам.

На подавляющей территории нашей страны наиболее губительными для растений являются низкие температуры воздуха и почвы: низкие отрицательные температуры повреждают зимующие растения, низкие положительные температуры оказывают сильное неблагоприятное воздействие на ход физиологических процессов и формирование урожая теплолюбивых культур. Оценка устойчивости растений к такому экстремальному фактору, как мороз важна для агрономической практики.

Живая нормально функционирующая клетка обладает избирательной проницаемостью, чтобы поддерживать постоянство внутриклеточной среды. При воздействии отрицательных температур на растительные ткани в межклетниках образуются острые кристаллы льда, которые, во-первых, оттягивая воду из клеток, обезвоживают протоплазму. При определенной степени обезвоживания, индивидуальной для каждого растительного организма, необратимо нарушается структура белков, инактивируются ферменты. Во-вторых, кристаллы льда, образующиеся непосредственно в клетках, оказывают механическое воздействие, в результате чего нарушается структура протоплазмы, резко повышается ее проницаемость, а при длительной экспозиции на морозе наступает отмирание. Скорость отмирания протоплазмы клеток зависит как от температуры и времени экспозиции, так и от водоудерживающей способности самой клетки.

Устойчивость растений определяется разнообразными физиологическими и биохимическими свойствами его клеток. Повышение доли связанной воды – один из механизмов, предохраняющих растения от повреждения морозом. Увеличение количества растворимых сахаров в зимующих органах растений повышает водоудерживающую способность тканей. Кроме того, образуя гидрофильные связи с радикалами белков цитоплазмы, сахароза стабилизирует их структуру в условиях повреждающего воздействия отрицательных температур.

Изучение влияния сахарозы на протоплазму при отрицательных температурах

При повреждении клетки цитоплазма и ее мембраны теряют свойство полупроницаемости, и вещества, находящиеся в клеточном соке, свободно выходят наружу. Степень повреждения клетки соотносится с количеством выделяющихся веществ. Это легко поддается оценке, если клеточный сок окрашен антоцианом. В этом случае интенсивность окрашивания внешнего раствора служит показателем степени повреждения.

Цель работы. Изучить защитное действие сахарозы на мембраны протоплазмы растительной клетки.

Объект: свежие корнеплоды сахарной свеклы.

Реактивы и оборудование: 0,5 и 1 молярный растворы сахарозы, дистиллированная вода, поваренная соль NaCl, снег, термометр, поднос, совок, таз, нож, тарелка, штатив для пробирок, химический стакан объемом 250 мл с водой комнатной температуры, колба с водой, пробочное сверло, пробирки (7 шт.), карандаш по стеклу, фильтр, кристаллизатор, мерный цилиндр, стакан, кусок марли.

Ход работы:

1. При помощи пробочного сверла диаметром 9-10 мм и скальпеля (или ножа) вырезать из корнеплода свеклы 9 высечек толщиной 2-3 мм.

2. Поместить высечки в кристаллизатор и тщательно промыть их проточной водой до полного удаления сока, вытекшего из поврежденных клеток.

3. Перенести одинаковое количество высечек (по 3 шт.) в три пронумерованные пробирки.

4. В первую пробирку налить 5 мл дистиллированной воды, во вторую - 5 мл 0,5 М раствора сахарозы, в третью - 5 мл 1 М раствора сахарозы. Объем жидкости во всех трех пробирках должен быть одинаковым.

5. Приготовить в тазу охлаждающую смесь: к трем частям снега, тщательно перемешивая совком, добавить одну часть поваренной соли. Утрамбовать. Температура смеси должна быть около -21°C .

6. Погрузить все три пробирки на 15-20 мин. в охлаждающую смесь. Затем вынуть их и разморозить, поставив в стакан с водой комнатной температуры.

7. После полного оттаивания содержимого пробирок сравнить интенсивность окраски всех трех растворов (сильная, средняя, слабая) и окраску клеток высечек. Оформить результаты опыта (табл. 3, строка 1).

Объяснить наблюдаемые различия между вариантами, сделать вывод.

Изучение действия сахарозы на белки протоплазмы при замораживании

При действии экстремальных отрицательных температур белки коагулируют. Выпадение хлопьевидного осадка белков из сока, отжатого из растительной ткани, – показатель повреждения.

Цель работы. Изучить защитное действие сахарозы на белки при отрицательных температурах.

Объект: клубни картофеля, листья капусты.

Ход работы:

1. Очищенный клубень картофеля натереть на терке, перенести растительную массу на двойной слой марли и отжать сок в стакан. Дать отстояться крахмалу.

2. Надосадочную жидкость профильтровать в четыре пронумерованные пробирки приблизительно по 3 мл в каждую.

3. В первую и четвертую пробирки добавить по 2 мл дистиллированной воды, во вторую – 2 мл 0,5 М раствора сахарозы, в третью – 2 мл 1 М раствора сахарозы. Перемешать содержимое пробирок. Объем жидкостей во всех пробирках должен быть одинаковым.

4. Первые три пробирки поставить в охлаждающую смесь на 15-20 мин., а четвертую (контрольную) оставить при комнатной температуре. Затем оттаять в стакане с водой комнатной температуры.

5. После полного оттаивания содержимого пробирок, не встряхивая, рассмотреть в проходящем свете прозрачность жидкостей в пробирках. Определить, в каком случае наблюдается образование хлопьев коагулировавшего белка, а где белки остались в состоянии золя.

6. Результаты опыта оформить в таблице 3 (строка 2). Сделать вывод.

Таблица 3 – Результаты опыта

Объект, признак повреждения	Варианты опыта (пробирки):			
	температура – 21°С		вода	комнатная температура
	сахароза, моль·л ⁻¹			
0,5	1			
свекла (интенсивность окраски раствора)				
картофель (образование хлопьев)				

Контрольные вопросы. 1. В чем заключается губительное действие мороза на растение? 2. Изменение каких свойств протоплазмы можно использовать в качестве показателей повреждения? 3. Каковы ответные реакции клеток на повреждающее действие мороза? 4. Что лежит в основе защитного действия сахаров? 5. Что такое закаливание растений и каково его приспособительное значение?

III. ВИТАМИНЫ

В живых клетках наряду с ферментами существует группа веществ, близкая по функциям к биологическим катализаторам. Эту группу биологически активных веществ называют витаминами. Они входят в состав активных групп (коферментов) двухкомпонентных ферментов. В настоящее время изучено более 200 ферментов, имеющих в своем составе витамины. Витамины имеют относительно низкую молекулярную массу, содержатся в растениях в сравнительно малых количествах, но это не снижает их значения для растений. Кроме того, витамины растений – источник многих жизненно важных витаминов для животных и человека. При отсутствии или недостаточном их количестве в пище у человека и животных ослабляются биохимические процессы, нарушается обмен веществ, что приводит к тяжелым заболеваниям или гибели.

Для нормального течения биохимических процессов растительные организмы в основном нуждаются в тех же витаминах, что и животные, но, в отличие от животных, они сами могут синтезировать все необходимые им витамины.

Витамины выполняют разнообразные функции и резко различаются по химическому строению. Классифицируют витамины обычно на основании их растворимости в воде или жирах, или используют химическую классификацию. В основу названий витаминов положена их химическая структура, однако для некоторых сохраняют и буквенные обозначения.

Витамины, растворимые в жирах:

Ретинол (группа А)

Кальциферол (группа D)

Токоферол (группа E)

Филлохинон (группа K)

Комплекс ненасыщенных жирных кислот (группа F)

Витамины, растворимые в воде:

Тиамин (B₁)

Рибофлавин (B₂)

Пиридоксин (B₆)

Цианокобаламин (B₁₂)

Пангамовая кислота (B₁₅)

Никотиновая кислота (PP)

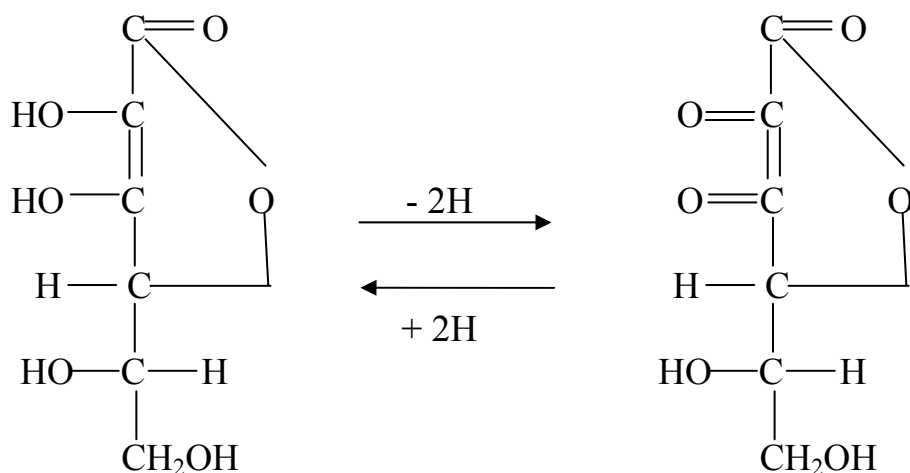
Аскорбиновая кислота (C) и др.

Все витамины обладают значительной термостабильностью, за исключением аскорбиновой кислоты, которая при нагревании в присутствии кислорода разрушается.

Лабораторная работа № 8
Количественное определение аскорбиновой кислоты
(витамина С) (по С.М. Прокошеву)

Теоретическое обоснование. Аскорбиновая кислота широко распространена в растениях. Ею богаты плоды шиповника, черная смородина, капуста, хвоя, хрен, петрушка. При недостатке витамина С в продуктах питания у людей развивается цинга. Важная роль аскорбиновой кислоты связана с ее участием в окислительно-восстановительных процессах и в первую очередь в дыхании. Аскорбиновая кислота физиологически активна, хорошо растворима в воде, легко разрушается в растворах щелочей, особенно в присутствии воздуха, света, следов железа и меди. При подкислении среды она хорошо сохраняется.

Аскорбиновая кислота и ее дегидроформа образует окислительно-восстановительную систему, которая может как отдавать, так и принимать водородные атомы. Содержание витамина С является показателем восстановительной и общей физиологической активности растительных тканей.



Аксорбиновая кислота
(енольная форма)

Дегидроаскорбиновая кислота

Как видно из формулы, аскорбиновая кислота не содержит свободной карбоксильной группы, однако имеет кислый вкус. Кислый характер этого соединения обусловлен наличием двух енольных гидроксильных групп, способных к диссоциации с отщеплением водородных ионов.

Аскорбиновая кислота в растениях образуется из углеводов. Прорастание семян сопровождается интенсивным ее накоплением и в темноте, и на свету. Так, при прорастании семян ячменя в темноте содержание ее через день составляло 0,6 мг/100 г, через 3 дня – 1,7, через 8 дней – 8,8 мг/100 г. Количество витамина С в листьях растений достигает максимума в фазе цветения, а затем резко снижается.

Больше всего витамина С в зеленых растениях, свежих овощах и фруктах. При хранении плодов и овощей содержание аскорбиновой кислоты понижается, значительная часть ее разрушается после варки.

Таблица 4 – Содержание витамина С в плодах и овощах, мг на 100 г

Растение	Витамин С	Растение	Витамин С
Картофель	10-20	Яблоки	5-30
Капуста белокочанная	10-40	Вишня	5-15
Капуста цветная	50-150	Виноград	0-5
Морковь	5-10	Смородина черная	100-400
Томаты	20-40	Лимон	40-60
Лук репчатый	5-20	Шиповник	1000-4000
Лук зеленый	40-60	Актинидия коломикта	600-800
		Зерно злаков	0
		*Молоко	1-2

* для сравнения

Современные методы консервирования плодов и овощей предусматривают максимальное сохранение аскорбиновой кислоты.

На окислительно-восстановительных свойствах аскорбиновой кислоты основан и метод определения. Используется при этом индикатор Тильманса (2,6-дихлорфенолиндофенол), который восстанавливается в бесцветное соединение экстрактами растений, содержащими аскорбиновую кислоту. Вытяжку из растений титруют раствором индикатора до появления яркого розового окрашивания.

Цель работы. Определить количество аскорбиновой кислоты в различных плодах и овощах в процессе их хранения.

Объект: плоды лимона, яблоки, листья свежей капусты, капуста квашеная, клубни картофеля, луковица лука (данная методика позволяет определять содержание аскорбиновой кислоты С в частях растений, имеющих неокрашенный клеточный сок).

Реактивы и оборудование: аскорбиновая кислота кристаллическая, 1 % раствор HCl, 1 % раствор щавелевой кислоты, 2 % раствор H₂SO₄, 1 % раствор крахмала, раствор KI, 0,001 н раствор KIO₃, раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола, весы, терка пластмассовая, фарфоровая ступка с пестиком, мерный цилиндр на 10 мл, кварцевый песок, воронка, фильтр, стеклянная палочка, фильтровальная бумага, мерные колбы на 50, 100 мл, коническая колба на 50 мл (2 шт.), пробка, бюретка, бюксы (2 шт.).

Ход работы:

1. Исследуемый материал грубо измельчить ножом из нержавеющей стали. Процесс измельчения выполнить быстро. Взять навеску 10 г, перенести в фарфоровую ступку.

2. Залить навеску 10 мл 1 % HCl и тщательно растереть, добавляя кварцевый песок, до однородной массы. Во время растирания прилить еще 10 мл 1 % раствора HCl. Полученную смесь перенести из ступки в мерную колбу на 100 мл (через воронку по стеклянной палочке). Ополаскивают ступку и пестик несколько

раз 1 % щавелевой кислотой, которую тоже сливают в мерную колбу и той же кислотой доводят объем жидкости в колбе до метки. Соляная кислота применяется для извлечения из растительной ткани как свободной, так и связанной аскорбиновой кислоты, щавелевая кислота осаждает белки и повышает стойкость аскорбиновой кислоты.

3. Колбу закрыть пробкой, тщательно перемешать и отставить на 5 мин. По истечении этого времени содержимое колбы отфильтровать через сухой фильтр.

4. Отобрать мерным цилиндром в два бюкса по 10 мл полученного фильтрата и оттитровать каждую из двух проб из бюретки раствором краски 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 0,5 - 1 мин.

5. Установить титр краски 2,6-дихлорфенолиндофенола: растворить несколько кристаллов аскорбиновой кислоты в 50 мл 2 % серной кислоты. 5 мл этого раствора оттитровать краской из микробюретки. Такой же объем раствора аскорбиновой кислоты оттитровать из другой бюретки 0,001 н раствором $KJ O_3$. Во втором случае перед титрованием к раствору аскорбиновой кислоты прибавить 2-3 кристаллика KJ и 5 капель 1 % крахмального клейстера. Прибавление большего количества йодистого калия задерживает окисление аскорбиновой кислоты. Титрование вести до появления бледно-голубой окраски.

Титр краски вычислить по формуле:

$$T = \frac{0,088 \cdot a}{v}, \quad (3)$$

где a – количество 0,001 н раствора $KJ O_3$, пошедшего на титрование аскорбиновой кислоты, мл;

v – количество раствора краски, пошедшего на титрование аскорбиновой кислоты, мл;

0,088 – количество мг аскорбиновой кислоты, соответствующее 1 мл 0,001 н раствора $KJ O_3$.

Так как не исключена возможность присутствия в растительных вытяжках посторонних редуцирующих веществ, реагирующих с красителем и, следовательно, повышающих результаты анализа, то при необходимости производить особенно точные анализы следует принимать в расчет и эти вещества. Для этого к двум другим порциям по 10 мл исследуемой вытяжки прибавляют 0,1 мл 10 %-го раствора $CuSO_4$ и нагревают в течение 10 мин при 110 °С (на глицериновой бане или в термостате). В присутствии меди в этих условиях аскорбиновая кислота разрушается полностью. Охлаждают и титруют краской. Полученную поправку вычитают из данных титрования опытных растворов.

6. Содержание аскорбиновой кислоты (X) в мг на 100 г исследуемого материала (мг %) вычислить по формуле:

$$X = \frac{100 \cdot a \cdot T \cdot V}{B \cdot C}, \quad (4)$$

где a – количество краски, пошедшей на титрование фильтрата, мл;

T – миллиграмм-титр краски по аскорбиновой кислоте, мг;

V – объем полученной вытяжки из данной навески, мл;

В – количество фильтрата, взятого для титрования, 100 мл;

С – навеска исследуемого растительного материала, г.

7. Сравнить различные объекты по содержанию витамина С. Сделать вывод.

Определение аскорбиновой кислоты в окрашенных вытяжках

Навеска 10 г экстрагируется, как описано в предыдущей методике. К 5 мл экстракта добавляют 5 мл хлороформа и титруют полученную смесь в высоких и широких пробирках краской Тильманса до появления бледно-розового окрашивания в прозрачном слое хлороформа. Каждый раз, приливая небольшие порции краски, необходимо осторожно перемешивать содержимое пробирки. Затем определяют редуцирующую способность кислот, приготовив для этого смесь из 5 мл 1 %-го раствора щавелевой кислоты и 1 мл 1 %-го раствора HCl. Из этой смеси берут 5 мл и титруют.

Вычисление результатов и титра проводят по формулам, приведенным выше.

Контрольные вопросы: 1. В каких растениях содержится много аскорбиновой кислоты? 2. Каково значение аскорбиновой кислоты для растений? 3. От чего зависит содержание витамина С в растениях?

IV. РАСТИТЕЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА ВТОРИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

В растениях наряду с белками, нуклеиновыми кислотами, углеводами, липидами и витаминами содержатся различные вещества, называемые обычно веществами вторичного происхождения. К таким веществам относятся: фенольные соединения, гликозиды, эфирные масла, каучук, гидроароматические соединения, алкалоиды, регуляторы роста, антибиотики и др.

Многие из этих веществ, например, органические кислоты, образуясь в растении, тотчас же используются растительной клеткой для различных синтетических процессов. Эти вещества не накапливаются в растении в больших количествах и являются промежуточными продуктами обмена веществ. Однако некоторые вещества накапливаются в больших объемах, например, фенольные соединения, каучук, эфирные масла. Вещества вторичного происхождения играют важную роль в обмене веществ у растений. Для выделения этих веществ из растений иногда необходимо прервать или как-то изменить цепь закономерных превращений веществ в клетке, т.е. предотвратить дальнейшее потребление этих веществ.

Некоторые из этих веществ в значительной степени определяют пищевое и вкусовое достоинство различных продуктов – их вкус и аромат; многие из них широко используются в технике и медицине.

4.1 Органические кислоты

Органические кислоты – промежуточные продукты обмена веществ. Они содержатся во всех растениях и образуются в результате многочисленных биохимических реакций, среди которых основными следует считать реакции цикла Кребса и глиоксилатного цикла. Многие органические кислоты являются исходными соединениями для биосинтеза аминокислот, сахаров, жиров, витаминов и некоторых других биологически активных соединений. Органические кислоты могут использоваться в качестве энергетического материала при дыхании растений.

Лабораторная работа № 9 Определение общей кислотности органических кислот

Теоретическое обоснование. Органические кислоты содержатся в растениях в свободном состоянии (плодах, ягодах) или в виде кислых и нейтральных солей (листьях, особенно бобовых культур). В некоторых растениях (щавель, ревен, бегония, кактусы и другие суккуленты) много свободных кислот и в листьях, поэтому кислотность клеточного сока этих растений высока.

Разные растения различаются по составу накапливаемых в них кислот. Например, в яблоках, рябине, барбарисе преобладает яблочная кислота; в лимонах и других citrusовых – лимонная, в винограде – винная.

Количество кислот в растении непостоянно и зависит от сортовых особенностей плодов и овощей, степени зрелости, а также условий выращивания растений. Большое влияние на кислотность растений оказывают формы минеральных удобрений. Например, при внесении нитратных форм азотных удобрений содержание кислот в растениях будет более высоким, чем при внесении аммиачных форм.

Для экстракции кислот используют воду или органические растворители (чаще эфир). Однако этиловый эфир не растворяет соли органических кислот. Поэтому для экстракции солей материал предварительно подкисляют минеральной кислотой. При этом соли органических кислот переходят в свободное состояние. При экстракции водой из растительного материала, кроме кислот, извлекается много сопутствующих веществ – сахаров, пектиновых веществ, аминокислот, белков, которые перед количественным определением необходимо тщательно удалить из раствора.

Величину общей кислотности можно определить алкалиметрическим или ацидометрическим титрованием с использованием соответствующих индикаторов или потенциометрически. Принцип метода заключается в извлечении из измельченного растительного материала кислот в результате нагревания с водой при температуре 80-90 °С в течение 30 мин. Извлеченные кислоты оттитровывают раствором щелочи. Общее количество кислот обычно пересчитывают на яблочную кислоту, так как она преобладает во многих плодах и овощах.

В таблице 5 приведены примеры процентного содержания органических кислот в плодах различных растений.

Таблица 5 – Содержание органических кислот в растениях

Растение	Преобладающая органическая кислота в плодах	Содержание органических кислот в % на сухое вещество
Яблоня	яблочная	0,3-0,4
Рябина	яблочная	1,5-3
Барбарис	яблочная	6
Лимон	лимонная	6-7
Мандарин	лимонная	1
Виноград	винная	0,02-0,04
Малина	щавелевая	0,05
Смородина	щавелевая	0,03
Груша	щавелевая	0,02
Клюква	бензойная	0,02-0,06
Брусника	бензойная	0,08-0,2

Цель работы. Вычислить содержание органических кислот.

Объект: Свежие плоды яблок, цитрусовых, овощи или листья щавеля.

Реактивы и оборудование: водяные бани, мерные колбы на 200 мл, конические колбы на 100-200 мл, воронки, пипетки, микробюретки, фильтры, 0,1 н NaOH, фенолфталеин или тимолфталеин, лакмусовая бумага, весы лабораторные.

Ход работы:

1. Свежие плоды, овощи или листья тщательно измельчают на терке, а затем в ступке.

2. Берут навеску 20 г и переносят без потерь в колбу объемом 200 мл, в колбу приливают около 150 мл дистиллированной воды и выдерживают в течение 30 мин. в водяной бане при температуре 80-90 °С.

3. Затем колбу охлаждают водопроводной водой, доводят до метки водой и фильтруют в сухой стакан или колбу. Полученный фильтрат служит для определения общей кислотности.

4. 50 мл фильтрата переносят в коническую колбу на 100 мл, добавляют несколько капель спиртового раствора фенолфталеина и титруют из микробюретки 0,1 н раствором NaOH до розового окрашивания (при использовании тимолфталеина титруют до появления синего окрашивания).

5. Вычислить общую кислотность по формуле:

$$X = \frac{a \cdot T \cdot 6,7 \cdot V \cdot 100}{m \cdot V_1}, \quad (5)$$

где a – количество 0,1 н NaOH, пошедшее на титрование, мл;

T – поправка к титру щелочи;

V – общий объем вытяжки, мл;

V_1 – объем вытяжки, взятый для титрования, мл;

m – навеска материала, г;

6,7 – коэффициент для пересчета кислот в яблочную

100 – коэффициент пересчета на 100 г растительного материала

Для выражения в массовых долях (%) результаты (мл/100 г) необходимо разделить на 1000.

Примечание. 1 м.-экв. яблочной кислоты равен 67 мг, лимонной – 64 мг, винной – 65 мг, щавелевой – 45 мг.

Контрольные вопросы. Какова роль органических кислот в обмене веществ растения? От чего может зависеть преобладание какой-либо кислоты в растении?

4.2 Дубильные вещества

Лабораторная работа № 10

Количественное определение дубильных веществ

Теоретическое обоснование. Дубильные вещества (таннины) относятся к группе фенольных соединений. Названы так по своей способности дубить невыделанную шкуру, превращая ее в кожу. Эта способность дубильных веществ основана на их взаимодействии с коллагеном (белком кожных покровов), приводящем к образованию устойчивой поперечносвязанной структуры. Природные дубильные вещества обычно имеют молекулярную массу 1000 – 5000 и представляют собой сложную смесь близких по составу соединений. Термин «дубильные вещества» используется также в пищевой промышленности и в технической биохимии для обозначения более низкомолекулярных соединений, обладающих вяжущим вкусом, но не способных к истинному дублению. Дубильные вещества широко распространены в различных органах растений. В качестве промышленных источников таннинов используются листья, плоды, кора, корневища, яровая древесина. Дубильные вещества делят на два класса в зависимости от характера их фенольных ядер и способа соединения: гидролизуемые и конденсированные таннины.

В наибольших количествах конденсированные дубильные вещества накапливаются в коре древесных пород, меньше – в листьях и плодах. Дубильные вещества часто обладают бактерицидными свойствами, участвуют в регулировании роста и создании иммунитета у растений.

Таблица 6 – Содержание дубильных веществ в растениях

Растение	Часть растения, используемая в промышленности	Содержание дубильных веществ в % на сухое вещество
дуб	кора	8-12
	древесина	5-6
ель	кора	7-12
ива	кора	7-15
бадан	листья	15-30
	корневища	20-30

Цель работы. Определить содержание дубильных веществ в растительном сырье.

Объект: трава зверобоя, кора дуба, кора калины, кора березы.

Реактивы и оборудование: весы лабораторные, мерный цилиндр на 10 мл, воронка, фильтр, фильтровальная бумага, вата, мерные колбы на 50, 100 мл, 250 мл, водяная баня, бюретка, раствор индигокармина, 0,05 н KMnO_4 , дистиллированная вода.

Ход работы:

1. Приготовление вытяжки

1.1 Сырье измельчить на кусочки по 0,3-0,5 см. Взвесить 0,5-2 г (точная навеска) измельченного сырья и поместить в коническую колбу вместимостью 100 мл. Затем залить 50 мл кипящей дистиллированной воды и нагревать на водяной бане в течение 30 мин.

1.2 Затем экстракт осторожно процедить через марлю (или вату) в мерную колбу вместимостью 250 мл, так, чтобы частицы сырья не попали на вату. Сырье в колбе повторно залить кипящей дистиллированной водой (50 мл), подержать в водяной бане 10-15 мин. и также процедить жидкость в ту же мерную колбу на 250 мл.

2. Титрование вытяжки

2.1 Жидкость в мерной колбе охладить и довести объем экстракта водой до метки. Затем 10 мл полученной жидкости поместить в коническую колбу вместимостью 100 мл, добавить 75 мл воды и 3 мл раствора индигокармина. После этого начинают титрование 0,05 н KMnO_4 до золотисто-желтого окрашивания (**постоянно помешивать раствор в ходе титрования !**). 1 мл 0,05 н KMnO_4 соответствует 0,0020785 г дубильных веществ в пересчете на таннин.

2.2 Параллельно преподаватель проводит контрольный опыт, титруя 3 мл индигокармина в 85 мл воды, и записывает результат титрования на классной доске. Поправку на титрование определяет также преподаватель.

3. Заполнить таблицу 7.

4. Вычисление результатов.

Процентное содержание дубильных веществ (x) вычисляют по следующей формуле:

$$x = ((V_2 - V_1) \cdot K \cdot D \cdot V \cdot 100 \cdot 100) / m \cdot V_3 \cdot (100 - W) \quad (6)$$

Таблица 7 – Результаты опыта

№ п/п	Показатель	Обозначение	Результат
1	Название растения		
2	Масса навески, г	m	
3	Объем 0,05 н КМnO ₄ , пошедший на титрование, мл	V ₂	
4	Объем 0,05 н КМnO ₄ , пошедший на контрольное титрование, мл	V ₁	
5	Поправка на титрование	K	
6	Общий объем вытяжки, мл	V	250
7	Объем экстракта, взятого для титрования, мл	V ₃	10
8	Оводненность сырья, %	W	5
9	Содержание таннинов: - гидролизуемых - конденсированных		

Примечание. D - коэффициент пересчета на таннин: для гидролизуемых дубильных веществ - 0,0020785; для конденсированных дубильных веществ - 0,00291.

Контрольные вопросы: Какова химическая природа дубильных веществ? Где используются дубильные вещества? Какие растения и какие их части используют для получения дубильных веществ?

V. ОБМЕН ВЕЩЕСТВ

Взаимосвязь процессов обмена веществ в организме

Отдельные процессы обмена веществ в организме, отдельные стороны обмена веществ – обмен белков, углеводов, жиров, витаминов, минеральных соединений и т.д. – теснейшим образом связаны друг с другом. Процессы обмена веществ включают в себя многочисленные реакции. Ведущая роль в обмене веществ принадлежит белковым соединениям и нуклеиновым кислотам. Белковые соединения составляют основу всех протоплазмных структур в организме, являются катализаторами. Нуклеиновые кислоты играют решающую роль в наследственности и изменчивости, в синтезе белков.

Например, в ходе азотистого обмена происходят реакции декарбоксилирования аминокислот под действием ферментов. В результате чего из аминокислоты образуется углекислый газ и тот или иной амин или соответствующая аминокислота. Аминокислоты могут также подвергаться в организме окислительному дезаминированию с образованием аммиака и кетокислот. Аммиак, вступая во взаимодействие с кетокислотами, образует новые аминокислоты, используемые, в свою очередь, на синтез белка.

Аминокислоты, образующиеся синтетическим путем или возникающие в результате гидролиза белка, являются исходным материалом для биосинтеза це-

лого ряда соединений. Так, например, у животных и грибов триптофан дает начало никотиновой кислоте (структурный компонент ферментов группы дегидрогеназ), ауксином (фитогормон). Аминокислоты являются исходными соединениями в синтезе алкалоидов, каучука, каротиноидов и жиров (например, аланин).

Современная биохимия располагает огромным материалом, который может иллюстрировать идею о неразрывной связи организма и внешней среды, о влиянии, оказываемом средой на химический состав организма и на происходящие в нем процессы обмена веществ. Например, содержание белка в пшеничном зерне зависит от влажности почвы и осмотического давления почвенного раствора. Не каждый сорт пшеницы одинаково реагирует на изменение количества осадков и осмотического давления почвенного раствора. Важную роль играет способ орошения и азотное питание. При внесении в соответствующие сроки достаточного количества азотных удобрений можно получить высокобелковое, стекловидное зерно.

Лабораторная работа № 11

Изучение влияния факторов внешней среды на накопление нитратов в растениях

Теоретическое обоснование. Наиболее полно вопрос об использовании растениями нитратного и аммиачного азота разработан академиком Д.Н. Прянишниковым (1955) и его сотрудниками. Ими была установлена равноценность этих источников азота и изучены условия эффективного использования его высшими растениями.

Одним из важнейших факторов, определяющих поглощение растениями неорганических форм азота, является реакция питательной среды. В слабокислой среде, при pH 5, лучше поглощаются нитраты (NO_3^-), а в нейтральной среде pH 7 – аммоний (NH_4^+).

Физиологическая особенность процессов усвоения заключается в том, что аммоний сразу после поглощения метаболизируется в корнях, превращаясь в азот аминокислот и амидов. Концентрация аммония в тканях и пасоке обычно очень низкая. Поэтому аммонийная форма азота эффективна только при условии высокой фотосинтетической активности или достаточного количества запасных углеводов.

Соли азотной кислоты (NO_3^- – нитраты), поглощаемые корнями из почвы, в растении восстанавливаются до аммиака, который связывается кетокислотами (пировиноградной, щавелевоуксусной, α - кетоглутаровой), образуя в процессе аминирования первичные аминокислоты – аланин, аспарагиновую и глутаминовую. Другие аминокислоты образуются путем переаминирования. Значительная часть аммиака связывается также в процессе амидирования.

При достаточно высоком содержании растворимых углеводов и высокой активности соответствующих ферментов перечисленные биохимические процессы

происходят в корнях. Однако часть нитратов (нередко весьма значительная) может пройти через паренхиму корня в неизменном виде. В этом случае нитраты поднимаются с восходящим током к листьям, где и происходит их восстановление.

В настоящее время выделяют следующие группы растений:

- растения, практически полностью восстанавливающие нитраты в корнях и транспортирующие азот к листьям в органической форме (горох, люпин, черника, многолетние древесные растения);
- растения, восстанавливающие нитраты в листьях (сахарная свекла, хлопчатник);
- растения, восстанавливающие нитраты и в корнях, и в листьях (хлебные злаки, кукуруза, овощные культуры, фасоль).

Восстановление нитратов активнее протекает в листьях, однако доля участия разных органов сильно варьирует в зависимости от обеспеченности нитратами, концентрации в среде и интенсивности поглощения ионов аммония и калия, уровня освещенности, температуры и др. факторов. Например, на процессы восстановления нитратов в растениях влияет влажность почвы. При повышении влажности эти процессы ускоряются, и содержание нитратов в сельскохозяйственной продукции падает.

Цель работы. Выявить влияние факторов внешней среды на накопление нитратов и определить наличие нитратов в частях растений.

Объект: молодые растения кукурузы или пшеницы с корнями.

Реактивы и оборудование: наклюнувшие семена, живые растения, 1 %-ный раствор дифениламина в концентрированной серной кислоте (0,1 г в 10 мл кислоты) в капельнице, белая фарфоровая тарелка, ножницы, стеклянная палочка, стакан с водой, фильтровальная бумага, азотные минеральные удобрения.

Ход работы:

1. Взять 40-45 наклюнувших семян пшеницы и кукурузы и посадить их по 10-15 шт. в песок в 4 горшка. Поставить в теплое место для прорастания.
2. Как только растения немного подрастут (через 1-2 дня), разместить горшки в разные условия на 5 дней:
 - А) на хорошо освещаемый в течение дня подоконник
 - Б) в сильно затененное место
 - В) на столе, подкормив их азотными минеральными удобрениями
 - Д) рядом с отопительными приборами.
3. По истечении положенного времени достать все растения из горшка, промыть корни водой.
4. Выбрать 5-6 наиболее хорошо развитых растения и с ними провести реакции по обнаружению нитратов.

Для обнаружения нитратов можно использовать дифениламин, который в присутствии иона NO_3^- образует синюю анилиновую краску. По интенсивности посинения можно приблизительно судить о количестве нитратов в исследуемом объекте.

5. Поместить на белую фарфоровую чашку:

- А) кусочки черешка,
- Б) кусочки листовой пластинки,
- В) корня растения (соответственно взять 3 чашки).

Размять эти кусочки стеклянной палочкой (палочку каждый раз споласкивать чистой водой и вытирать) и облить раствором дифениламина в концентрированной серной кислоте. Исследовать растения разного вида.

6. Результаты записать в табл. 8, оценивая посинение по пятибалльной системе.

7. Сделать выводы. Указать, в каких органах исследованных растений происходило восстановление нитратов; как влияют внешние условия на содержание нитратов в листьях.

Таблица 8 – Содержание нитратов в опытных растениях

Название растения	Условия выращивания	Количество нитратов (по 5 балльной шкале):		
		в черешке	в листовой пластинке	в корнях

Контрольные вопросы: 1. В какой части растений происходит восстановление нитратов? 2. Какие факторы внешней среды влияют на интенсивность восстановления нитратов в растениях?

VI. БИОХИМИЯ ФОРМИРОВАНИЯ УРОЖАЯ сельскохозяйственных культур

В зависимости от целевого предназначения растительной продукции к ней предъявляется ряд стандартных требований, связанных в первую очередь с оценкой химического состава урожая, определением соотношения и технологических свойств различных химических веществ, синтезирующихся и накапливающихся в растениях в процессе их роста и развития. Например, цель возделывания зерновых и зернобобовых культур – это прежде всего получение белков, углеводов, липидов и некоторых витаминов (В₁, В₂, В₆, РР, Е и др.), которые в основном и определяют питательные, технологические и семенные свойства зерна, а поэтому являются главными химическими компонентами, определяющими его качество.

Способность тех или иных растительных форм к синтезу и накоплению химических веществ определяется специфическим типом обмена веществ, который сформировался в процессе эволюции живых организмов и закреплен генетически. Однако определенные сдвиги в обмене веществ организмов, вызываемые факторами генетической изменчивости, постоянно происходят и могут быть использованы человеком для создания новых генотипов более высокопродуктивных растений.

Вместе с тем очевидно, что для реализации потенциальных возможностей растительного организма, заложенных в генотипе, необходимо создание определенных условий выращивания растений, т.е. подбор оптимальных сочетаний и последовательности действия факторов внешней среды, обеспечивающих рост и развитие организма.

К таким факторам относятся интенсивность и качество света, температура, обеспеченность влагой и минеральными веществами. Большое значение имеет технология выращивания растений.

Самостоятельная работа
Практическая работа № 12
Биохимия сельскохозяйственной культуры
и формирование качественного урожая

Выполнение работы заключается в подготовке и защите реферата по выбранной сельскохозяйственной культуре:

- зерновые культуры (пшеница, рожь, овес, ячмень, рис, кукуруза)
- зернобобовые культуры (горох, фасоль, вика, чечевица)
- масличные культуры (подсолнечник, хлопчатник, соя, лен, клевер)
- корнеплоды (сахарная свекла, морковь, репа, редька)
- кормовые травы (тимофеевка, кострец, ежа, райграс, клевер, люцерна, чина, вика и др.)
- плодово-ягодные культуры (яблоня, груша, вишня, виноград, земляника, смородина, апельсин и др.)
- картофель
- овощные культуры (капуста, морковь, петрушка, репа, редька, томат, баклажан, перец, лук, чеснок, салат, укроп)

Реферат рекомендуется выполнять по следующему плану:

1. Титульный лист.
2. Оглавление.
3. Введение.
4. Биохимический состав культуры с указанием преобладающих веществ.
5. Влияние внешних условий на накопление основных питательных веществ культуры.
6. Оптимизация питания (зависимость качества урожая от обеспеченности растения основными элементами питания).
7. Заключение.
8. Список используемой литературы.

Оформляется реферат согласно предъявляемым к нему требованиям. Реферат предусматривает включение таблиц, схем, использование рисунков.

Рекомендуемая литература:

1. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Н.Н.Третьяков, Е.И.Кошкин, Н.М. Макрушин [и др.] – М.: Колос, 1998. – С.567 -621.

2. Кретович, В.Л. Биохимия растений / В.Л.Кретович. – М.: Высшая школа, 1980. – С.396-409.
3. Плешков, В.П. Биохимия с/х растений / В.П.Плешков. – М.: Агропромиздат, 1987. – С.361-485.

Список использованной литературы

1. Алейникова, Т.Л. / Т.Л.Алейникова, Г.В. Рубцова. Руководство к практическим занятиям по биологической химии – М.: Высшая школа, 1988. – 238с.
2. Биохимия: задачи и упражнения (для самостоятельной работы студентов)/ А.С.Конищев [и др.] – М.: КолосС, 2007. – 140 с.
3. Ботанико-фармакогностический словарь: справ. пособие/ К.Ф. Блинова, Г.Б. Гортинский [и др.] – М.: Высшая школа, 1990. – 272 с.
4. Кретович, В.Л. Биохимия растений / В.Л.Кретович. – М.: Высшая школа, 1980. – 445 с.
5. Основы биохимии: учебник для студентов биол. спец./ А.А.Анисимов, А.Н.Леонтьева, И.Ф.Александрова [и др.] – М.: Высшая школа, 1986. – 551 с.
6. Плешков, В.П. Биохимия с/х растений / В.П.Плешков. – М.: Агропромиздат, 1987. – 495 с.
7. Плешков, В.П. Практикум по биохимии растений. – М.: Колос, 1976.
8. Полевой, В.В. Физиология растений / В.В.Полевой. - М.: Высшая школа, 1989. – 464 с.
9. Практикум по агрохимии / В.В.Кидин, И.П.Дербгин, В.И.Кобзаренко [и др.]; Под ред. В.В.Кидина. – М.: КолосС, 2008. – 599 с.
10. Справочник биохимика / Р.Досон, Д.Эллиот, У.Эллиот, К.Джонс. пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 544с.
11. Физиология и биохимия сельскохозяйственных растений / Н.Н.Третьяков, Е.И.Кошкин, Н.М. Макрушин [и др.] – М.: Колос, 2000. – 640 с.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Краткий словарь терминов

АЛЕЙРОНОВЫЕ ЗЕРНА (греч. aleuron - мука) – зерна запасного белка в виде аморфных или кристаллических образований разнообразной формы и строения. Некоторые А.з. содержат кристаллы оксалата кальция. Встречаются в семенах бобовых, гречишных, злаков и др. растений. При прорастании семян А.з. набухают и подвергаются ферментативному расщеплению.

АЛКАЛОИДЫ (араб.alcali - щелочь и греч. eidos - вид) – большая группа природных азотсодержащих соединений основного характера. Часто обладают сильным фармакологическим действием. В наст. вр. из растений выделено св. 5000 А., для 3000 установлено строение. Особенно ими богаты сем. маковых, пасленовых, бобовых, лютиковых. В растениях А. находятся в виде солей орг. и неорг. к-т в активно растущих тканях, эпидермальных и гиподермальных клетках, в оболочках сосудистых пучков и латексных ходах. Обычно конц. А. в растении невелика и составляет сотые и десятые доли %. При содержании 1-3 % растение считается высокоалкалоидоносным. Растение, как правило, включает не один, а несколько А. (катарантус розовый – более 60). А. считают своеобразными стимуляторами и регуляторами биохим. процессов, выполняют защитную роль. В наст. вр. в мед. практике нашло применение более 80 А. Они используются в чистом виде, в составе галеновых и новогаленовых препаратов, входят в состав мн. комплексных препаратов. С использованием А. связано произ-во тонизирующих напитков (чай, кофе, какао), а также табачная промышленность. Ряд А. применяют в с.х-ве как инсектициды. На основе известных А. синтезируют новые в-ва с необходимыми фармакологическими св-вами. А. имеют ряд отрицательных св-в. При применении некоторых развивается пристрастие, лек. зависимость, многие А. – сильные яды, способные вызвать отравления с летальным исходом.

АЛКАЛОИДЫ ИНДОЛЬНЫЕ – самая большая по численности группа. В наст. вр. их выделено ок. 900. Найдены в растениях из 39 семейств. А.и. относят к истинным алкалоидам. Пути их биосинтеза довольно хорошо изучены. Предшественником этой группы является аминокислота триптофан. А.и. очень токсичные.

АЛКАЛОИДЫ ПИРРОЛИДИНОВЫЕ – небольшая группа истинных алкалоидов, предшественником к-рых в процессе биосинтеза является аминокислота орнитин. К этой группе относятся простые пирролидины; их представитель – никотин, содержащийся в табаке и махорке.

АНТИБИОТИКИ (греч. anti – против и bios – жизнь) – специфические хим. в-ва, образуемые микроорганизмами и способные в малых кол-вах оказывать избирательное токсическое действие на др. микроорганизмы и клетки. К А. в широком смысле слова относят также антимикробные вещества высших растений – фитонциды. По хим.природе А. представляют собой разл. группы соединений: углеводородсодержащие, макроциклические лактоны, полиены, хиноны, пептолиды,

пептиды и др. Подавляющее большинство А. получают микробиологическим путем и лишь небольшое число – путем хим. синтеза.

АНТИВИТАМИНЫ – в-ва, препятствующие действию витаминов, инактивирующие их или вступающие с ними в конкурентные отношения. А., проникая в клетки и замещая витамины, нарушают процессы биосинтеза коферментов и ферментов, вследствие чего развивается витаминная недостаточность. Некоторые А. (сульфамидные препараты) обладают антимикробной активностью и применяются как химиотерапевтические ср-ва.

АНТОЦИАНЫ (греч. anthos – цветок и kyanos – синий) – пигменты растений, окрашивающие цветки, плоды, листья, стебли в самые разнообразные оттенки от розового до черно-фиолетового. В основе их строения - катион флавилия. Окраска А. объясняется особенностями их строения (кол-вом и расположением гидроксильных и метоксильных групп), а также способностью образовывать комплексы с ионами металлов (Mg и Ca-соли А. придают цветкам синюю окраску, а К-соли - пурпурную). А. обычно сосредоточены в вакуолях и существуют в виде солей с орг. кислотами. Биол. функции А. пока полностью не выяснены.

БАЛЬЗАМ – продукт растит. происхождения, накапливающийся в секреторных вместилищах коры и древесины мн. деревьев, особенно тропических, и состоящий из смолы, растворенной в эфирном масле. Б. – густые ароматные жидкости, часто содержат бензойную и коричную к-ты и их эфиры. Раньше их применяли наружно как антибактериальные и противогнилостные ср-ва.

БИОТЕХНОЛОГИЯ – совокупность методов и приемов получения полезных человеку продуктов с помощью живых агентов. Выделяют несколько направлений. Прежде всего, это наиболее «старая» область микробиологии, развитие которой привело к созданию производства антибиотиков, аминокислот и др. вещ-в. Второе направление – инженерная энзимология, основанная на получении в-в с помощью хим. реакций, управляемых ферментами. Самая молодая отрасль Б. – генетическая инженерия – раздел молекулярной биологии, связанный с целенаправленным созданием *in vitro* новых комбинаций генетического материала, способного воспроизводиться в клетке-хозяине и синтезировать конечные продукты обмена.

ВИТАМИНЫ (лат. vita – жизнь) – орг. соединения разл. хим. природы, выполняющие важные биохим. и биол. функции в живых организмах. Синтезируются В. главным образом растениями, частично микроорганизмами. По физ.-хим. св-вам В. делятся на водорастворимые и жирорастворимые. К витаминоподобным соединениям принадлежат некоторые флавоноиды, липоевая, оротовая, пангамовая к-ты, холин, инозит.

ВОСКИ ПРИРОДНЫЕ (ЖИРОПОДОБНЫЕ ВЕЩЕСТВА) – сложные смеси, состоящие из сложных эфиров высших жирных кислот и одно- или двухатомных высших спиртов; содержат и свободные высшие спирты (цетиловый, карнаубовый и др.), углеводороды и жирные кислоты.

ГЛИКОЗИДЫ – широко распространенные природные соединения, распадающиеся под влиянием разл. агентов (к-та, щелочь или ферменты) на углеводную часть и агликон. Углеводными компонентами могут быть моносахариды (глюко-

за, галактоза, рамноза, ксилоза), дисахариды (рутиноза, неогесперидоза, софороза) и олигосахариды. В зависимости от хим. природы агликона Г. классифицируют на ряд групп.

Г., как правило, кристаллические вещества, часто горького вкуса, бесцветные или окрашенные (флавоноиды, антрогликозиды и др.). Г. б.ч. находятся в растворенном виде в клеточном соке. Обладают оптической активностью.

ДУБИЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА (ТАННИДЫ) – растит. высокомолекулярные фенольные соединения, способные осаждать белки, алкалоиды и обладающие вяжущим вкусом.

Согласно классификации К.Фрейденберга, Д.в. подразделяют на а) гидролизуемые, распадающиеся в условиях кислотного или энзиматического гидролиза на простейшие составные ч.; включают галлотаннины, эллаготаннины и несхарные эфиры карбоновых к-т; б) конденсированные, не распадающиеся под действием кислот, а образующие продукты конденсации – флобафены; подразделяют на производные флаван-3-олов, флаван-3,4-диолов, оксистильбенов.

Д.в. широко распространены у представителей покрыто- и голосеменных, водорослей, грибов, лишайников, в плаунах и папоротниках. Д.в. находятся в вакуолях, при старении клеток адсорбируются на клеточных стенках. В большом кол-ве накапливаются в подземных органах, коре, но м.б. и в листьях, плодах. Их содержание зависит от генетических факторов и климатических условий.

ЖИРЫ – в-ва растит. и животного происхождения, представляющие собой смесь сложных эфиров глицерина и высших жирных к-т. Эфиры эти называются триацилглицеринами, или триглицеридами. В образовании их могут участвовать три остатка одной и той же к-ты или разных к-т. Наиболее часто компонентами Ж. выступают насыщенные к-ты (пальмитиновая, стеариновая, арахидоновая) и ненасыщенные кислоты (олеиновая, петроселиновая, линолевая, линоленовая, эруковая и др).

ЖИРЫ РАСТИТЕЛЬНЫЕ (ЖИРНЫЕ МАСЛА) – смеси глицеридов высокомолекулярных жирных к-т. Ж.р. получают из семян и мякоти плодов растений в основном прессованием. Ж.р. содержат 95-97% смесей триацилглицеринов насыщенных и ненасыщенных жирных к-т, преимущественно с C_{16} и C_{18} , и небольшое кол-во свободных жирных к-т, фосфатидов, восков, токоферолов, витаминов и ферментов.

КАМЕДИ (Gummi) – продукты, выделяющиеся в виде вязких растворов из надрезов и трещин растений. В хим. отношении неоднородны. Относятся к гетерополисахаридам – гексозанам, пентазанам и полиуронидам. В отличие от смол камеди нерастворимы в спирте, эфире, хлороформе и других орг. растворителях. По растворимости в воде делятся на три группы: 1. полностью растворимые в воде (аравийская камедь). 2. малорастворимые, но сильно набухающие (камеди сливы, вишни). 3. не растворимые в холодной воде, но частично растворимые при кипячении и набухающие.

КАТЕХИНЫ – наиболее восстановленные флавоноидные соединения, в основе структуры которых лежит система 2-фенилхромана. В растениях существуют в виде мономеров или более сложных конденсированных соединений, относящихся

к дубильным в-вам. К. – бесцветные кристаллические в-ва, легко окисляющиеся при нагревании и солнечном свете, в результате приобретающие темную окраску. К. широко распространены в растит. мире, особенно много их накапливается в листьях чая, плодах винограда, какао и колы. Обладают высокой биол. активностью, весьма ярко проявляется их Р-витаминное действие в организме человека и животных.

КАУЧУК НАТУРАЛЬНЫЙ – эластичный материал, получаемый коагуляцией млечного сока (латекса) нек-рых растений. Основной компонент – углеводород полиизопрен (91-96%). Идет на изготовление ряда мед. изделий и приборов.

КУТИН – жировое воскоподобное в-во, смесь высших карбоновых оксикислот и их эфиров. Выделяется клетками эпидермиса растений и откладывается в виде водо- и газонепроницаемой пленки – кутикулы на поверхности надз. органов многолетних растений.

ЛИПИДЫ (греч. *lipos* - жир) – жиры и жироподобные в-ва. Л. – в основном производные высших жирных к-т, спиртов и альдегидов. Подразделяются на простые и сложные. К простым Л. относят только эфиры высших жирных в-т и спиртов или альдегидов. Сложные Л. – комплексы Л. с белками (липопротеиды), производными орто-фосфорной к-ты (фосфатиды) и др.

МЕТОДЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ. *Метод перегонки эфирных масел с водой* – наиболее древний способ. Применяется редко. *Метод перегонки с водяным паром.* Осуществляется с помощью перегонного агрегата. *Метод выжимания.* Из сырья, содержащего большое кол-во эфирного масла, заключенного во вместилищах значительной величины (плоды цитрусовых), его можно получить механическим выжиманием. *Метод настаивания или мацерации.* Основан на св-вах эфирных масел растворяться в жирах и жирных маслах. *Метод экстрагирования.* Состоит в том, что растит. материал экстрагируют к.-л. легкокипящим р-телем, извлекающим эфирное масло. Затем растворитель отгоняют. *Метод поглощения, или анфлераж.* Основан на св-вах жиров и жирных масел поглощать эфирные масла.

НЕКТАР – выделяемый нектарниками водный р-р сахаров (фруктозы, глюкозы, сахарозы, мальтозы и др.), содержащий также аминокислоты, чаще аспарагиновую и глутаминовую к-ту, серин, глицин и аланин, аскорбиновую к-ту, белки (ферменты), у некоторых покрытосеменных – также алкалоиды и гликозиды. Н. цветков – важнейший источник пищи для насекомых, птиц и др. и соответственно приспособление для обеспечения перекрестного опыления.

НИКОТИНОВАЯ КИСЛОТА – витамин РР, антипеллагрический фактор, ниацин – группа соединений, включающих пиридин-3-карбоновую кислоту и ее производные. Синтезируется в организме в процессе расщепления триптофана. Содержится в горохе, бобах, печени, мясе, дрожжах. Н. входит в состав оксил. – восстановит. ферментов (в виде коферментов NAD, NADP).

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ – полинуклеотиды, фосфорсодержащие биополимеры, имеющие универсальное распространение в живой природе. Биол. роль Н.к. заключается в хранении, реализации и передаче генетической информации; они играют большую роль в регуляции биосинтетических процессов.

НУКЛЕОЗИДЫ – природные и синтетические соединения, состоящие из остатков пуриновых или пиримидиновых оснований, связанных с остатком сахара, рибозы – рибонуклеозиды или дезоксирибозы - дезоксирибонуклеозиды.

НУКЛЕОТИДЫ – фосфорные эфиры нуклеозидов. Имеют важное значение для обмена в-в живой клетки, являются мономерами, из которых построены молекулы нуклеиновых кислот, входят в состав важнейших ферментов, а некоторые из них аккумулируют энергию.

ОПИЙ (Opium) (греч. opion – маковый сок) – высушенный млечный сок, полученный при надрезах незрелых коробочек мака снотворного; содержит более 20 алкалоидов (морфин, кодеин, наркотин, тебаин, папаверин и др.) и является сильным наркотическим с-вом.

ПЕКТИНОВЫЕ ВЕЩЕСТВА, ГЛИКАНОГАЛАКТУРОНАНЫ – высокомолекулярные гетеполисахариды растит. происхождения, главным структурным компонентом к-рых явл. α -D-галактуронозная к-та (83-90%). Кроме того, в них присутствуют полисахариды – арабинаны, галактаны, арабогалактаны, связанные ковалентными связями с кислыми фрагментами пектинов.

В растениях присутствуют преимущественно в виде протопектина, составляющего б.ч. межклеточное вещ-во, и первичной стенки молодых растит. клеток. П.в. вместе с гемицеллюлозами выполняют функцию цементирующего материала, играя роль опорных элементов тканей. Растворимые пектины присутствуют в соках растений. П.в. в растениях находятся в динамическом равновесии, могут превращаться друг в друга: напр., при созревании, хранении плодов протопектин переходит в растворимые формы П.в. под влиянием пектолитических ферментов, при этом улучшаются вкусовые качества.

П.в. предохраняют растения от высыхания, повышая засухоустойчивость и морозоустойчивость, влияют на прорастание семян и рост клеток.

Получают пектин из корзинок подсолнечника, свекловичного жома, яблочной выжимки, кормового арбуза.

ПИГМЕНТЫ РАСТИТЕЛЬНЫЕ – окрашенные в-ва растит. происхождения, для к-рых характерны хромофорные группы, обуславливающие избирательное поглощение света. В природе наиболее распространены порфирины, каротиноиды, флавоноиды. П.р. участвуют в процессах фотосинтеза, роста, развития и движения растений, определяют окраску нек-х растений, способствуют их приспособлению к условиям внешней среды, предохраняют от излишней инсоляции.

ПРОТЕИДЫ – сложные белки, содержащие небелковый компонент - простетическую группу. В зависимости от хим. природы последней П. подразделяются на нуклеопроteidы, липопротеиды, фосфопроteidы и др. К П. относятся многие ферменты.

ПРОТЕИНЫ – простые белки, состоящие только из остатков аминокислот. К ним относятся многие запасные белки.

САПОНИНЫ (лат. назв. растения *Saponaia* – мыльнянка) – стероидные и три-терпеновые гликозиды, обладающие гемолитической и поверхностной активностью, а также токсичностью для холоднокровных животных.

Присутствие С. достоверно установлено в растениях 40 сем. Тритерпеновые С. распространены шире, чем стероидные. С. Находятся в клетках растений в растворенном виде. Встречаются в разл. органах растений, но чаще в подземной части.

СМОЛЫ ПРИРОДНЫЕ (Resina) – в-ва, выделяемые растениями при нормальном физиологическом обмене, а также при их ранении. В растениях находятся в спец.местилищах – смоляных ходах. С.п. бывают жидкие, мягкие и твердые. Жидкие называют бальзамами. Различают собственно смолы (канифоль, даммара); масло-смолы (терпентин, канадский бальзам); камеди-смолы (гуммигут); масло-камеди-смолы (ладан, мирра), смолы и бальзамы с ароматическими к-тами (ладан, тензойная смола, перувианский бальзам).

УГЛЕВОДЫ – алифатические полиоксикарбональные соединения и их многочисленные производные. Делятся на моносахариды, олигосахариды и полисахариды.

ФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ – в-ва ароматической природы, к-рые содержат одну или неск. гидроксильных групп, связанных с атомами углерода ароматического ядра. Среди продуктов вторичного происхождения Ф.с. наиболее распространены и свойственны каждому растению и даже каждой растительной клетке.

В растениях Ф.с. играют важную роль в нек-рых промежуточных этапах процесса дыхания, участвуют в оксил. – восстан. реакциях. Они используются растениями как энергетический материал для разнообразных процессов жизнедеятельности, являются регуляторами роста, развития и репродукции, оказывая при этом как стимулирующее, так и ингибирующее воздействие. Известна антиоксидантная активность многих фенолов, они все более широко применяются в пищевой промышленности для стабилизации жиров.

ФЛАВОНОИДЫ (лат. flavus - желтый) – фенольные соединения, в основе которых лежит скелет, состоящий из $C_6 - C_3 - C_6$ углеродных единиц. Большинство Ф. можно рассматривать как производные 2-фенилхромана (флавана) и 2-фенилхромона (флавона). К производным флавана принадлежат катехины, лейкоантоцианидины и антоцианидины, к производным флавона – флавоны, флаванолы. Локализуются гл. образом Ф. в листьях, цветках и плодах. В растениях большинство Ф. присутствует в виде гликозидов, к-рые лучше растворяются в клеточном соке. Считается, что флавоноидные пигменты играют роль фильтров, защищая от УФ-лучей. Совместно с аскорбиновой кислотой участвуют в ферментативных процессах окисления и восстановления.

ЭФИРНЫЕ МАСЛА – летучие жидкие смеси орг. в-в, вырабатываемые растениями и обуславливающие их запах. Из Э.м выделено более 1000 компонентов, представленных различными типами углеводородов, спиртами, кетонами, к-тами, сложными эфирами, лактонами и др.

Эфиросомами являются растения семейств губоцветные, зонтичные, кипарисовые, крестоцветные, миртовые, розоцветные, рутовые, сложноцветные, сосновые и др.

В растениях эфирные масла могут накапливаться в цветках, плодах, листьях, коре, подземных органах и древесине в спец.местилищах.

Вопросы для семинарских занятий

Раздел I. Белковые вещества

1. Почему аминокислоты обладают амфотерными свойствами?
2. Каковы доказательства полипептидной теории строения белковой молекулы?
3. Что понимают под первичной структурой белка?
4. Какие ферменты используют для расшифровки первичной структуры белка?
5. В чем проявляется принцип тождества и аналогии в первичной структуре различных белков?
6. Какие типы конфигураций полипептидной цепи наиболее часто встречаются среди белков?
7. Что понимают под вторичной структурой белка?
8. Какие виды взаимодействий поддерживают третичную структуру белковой молекулы?
9. Что понимают под четвертичной структурой белка?
10. Какие важнейшие классы ферментов вы знаете? Какие принципы положены в основу современной научной номенклатуры ферментов?
11. Что может выступать в роли коферментов?
12. Приведите название фермента, где в качестве кофермента выступают ионы железа.
13. К какому классу ферментов следует отнести фермент, ускоряющий превращение: аспартат + пируват = аланин + оксалоацетат ?
14. Какие ферменты используют при расшифровке первичной структуры белка?
15. Почему белки - нуклеопротеиды играют первостепенную роль в жизнедеятельности организма?

Раздел II. Нуклеиновые кислоты. Биосинтез белка

1. Какие вещества образуются при полном гидролизе нуклеиновых кислот?
2. При помощи каких связей нуклеотидные остатки соединены в полинуклеотидные цепи?
3. Каковы различия в химическом составе молекул ДНК и РНК?
4. Каковы функции ДНК и РНК в клетке?
5. Какие виды ДНК (исходя из локализации ее в клетке) известны в настоящее время?
6. В чем состоит принцип комплементарности в строении нуклеиновых кислот?
7. В чем суть правил Чаргаффа?

8. Какова классификация РНК в клетке и как она связана с локализацией РНК в клетке?
9. Какую РНК называют матричной?
10. Каковы характерные черты структуры тРНК?
11. Какие специфичные нуклеопротеиновые комплексы известны в настоящее время?
12. В мРНК содержание аденина, цитозина, гуанина и урацила составляет 22, 27, 23 и 28% соответственно. Рассчитайте нуклеотидный состав участка двуцепочечной ДНК, на котором был осуществлен синтез данной мРНК.
13. В чем состоят характерные особенности кода белкового синтеза?
14. Используя данные о коде белкового синтеза, укажите возможные варианты последовательности нуклеотидов во фрагменте мРНК, ответственном за биосинтез пептида следующей первичной структуры: ала-фен-лиз-арг-тир.
15. Рассчитайте число нуклеотидных остатков в РНК одного из вирусов и ее относительную молекулярную массу (масса одного нуклеотида 300 ед.), если в белковой субъединице, кодируемой этой РНК, содержится 400 аминокислот.

Раздел III. Углеводы и липиды. Обмен углеводов и липидов

1. В состав каких полисахаридов входит глюкоза?
2. Каким общим свойством обладают все полисахариды?
3. В какой форме запасается крахмал в клетках растений?
4. Назовите полисахарид, составляющий главную массу клеточных стенок растений.
5. Посредством каких реакций осуществляется распад поли- и дисахаридов в клетке?
6. Какие виды амилаз существуют в природе? Каковы характерные черты их действия? (субстрат, тип расщепляемой связи, продукт реакции)?
7. В чем состоит различие между гликолизом и гликогенолизом?
8. Чем отличается гликолиз от спиртового брожения?
9. Какие конечные продукты образуются при гликолизе, гликогенолизе, спиртовом брожении и окислительном декарбоксилировании ПВК?
10. Каков энергетический эффект цикла три и дикарбоновых кислот?
11. Какие группы сложных липидов вы можете назвать?
12. Чем отличаются растительные жиры от животных?
13. Каковы особенности состава и функции восков?
14. Каковы основные (канонические) функции липидов?
15. В чем особенность строения фосфолипидов и какова их роль?

Раздел IV. Вещества вторичного происхождения

1. Каковы принципы номенклатуры и классификации витаминов?
2. Назовите вещество, являющееся предшественником витамина А. Какова его роль в жизни растения?
3. Перечислите все возможные пути сохранения витаминов в растительном сырье при его хранении, приготовлении и др.
4. Какие факторы внешней среды разрушают витамины?
5. Перечислите овощи, которые являются так называемыми, «кладезями витаминов».
6. Какие плоды и ягоды являются поливитаминами концентратами?
7. Есть ли смысл «подкармливать растения витаминами»?
8. Какие организмы, кроме растений, способны к активной выработке витаминов?
9. Назовите растения, накапливающие алкалоиды, которые используются в качестве тонизирующего и наркотического средств.
10. Каково строение гликозидов?
11. Какой гликозид в своем составе содержит синильную кислоту, вызывающую тяжелые отравления?
12. Какова роль дубильных веществ в жизнедеятельности растения?
13. Перечислите стимуляторы роста растения.
14. Назовите ингибиторы роста растения.
15. Назовите растения, вырабатывающие фитонциды. Какие еще организмы, кроме растений, способны к накоплению фитонцидов?

Средний химический состав овощных и бахчевых культур, %

Культура	Вода	Белки	Жиры	Моно- и диса- хариды	Крах- мал	Клет- чатка	Органи- ческие кислоты	Зола
Горошек зеле- ный	80	5,0	0,2	6,0	6,8	1,0	0,1	0,8
Кабачок	93	0,6	0,3	4,9	–	0,3	0,1	0,4
Капуста бело- кочанная	90	1,8	0,1	4,6	0,1	1,0	0,3	0,7
Картофель	76	2,0	0,4	1,3	15,0	1,0	0,2	1,1
Лук зеленый (перо)	93	1,3	–	3,5	Сл.	0,9	0,2	1,0
Лук репчатый	86	1,4	–	9,0	0,1	0,7	0,2	1,0
Морковь	88	1,3	0,1	7,0	0,2	1,2	0,3	1,0
Огурец грунто- вый	95	0,8	0,1	2,5	0,1	0,7	0,1	0,5
Огурец парни- ковый	96	0,7	0,1	1,8	0,1	0,5	0,1	0,5
Перец зеленый сладкий	92	1,3	Сл.	5,2	0,1	1,4	0,1	0,6
Петрушка зе- лень	85	3,7	0,4	6,8	1,2	1,5	0,1	1,1
Ревень (черешки)	91	0,7	0,1	2,5	Сл.	1,8	1,0	1,0
Редька	88	1,9	0,2	6,2	0,3	1,5	0,1	1,0
Репа	89	1,5	Сл.	5,0	0,3	1,4	0,1	0,7
Салат	94	1,5	0,2	1,7	0,6	0,8	0,1	1,0
Свекла столо- вая	86	1,5	0,1	9,0	0,1	0,9	0,1	1,0
Томат грунто- вой	92	1,1	0,2	3,5	0,3	0,8	0,8	0,7
Укроп	86	2,5	0,5	4,1	Сл.	3,5	0,1	2,3
Фасоль (стручок)	90	3,0	0,3	2,0	1,0	1,0	0,1	0,7
Щавель	92	1,5	Сл.	3,0	Сл.	1,0	1,8	1,4
Арбуз	89	0,7	0,2	8,7	0,1	0,5	0,1	0,6
Дыня	88	0,6	–	9,0	0,1	0,6	0,2	0,6
Тыква	90	1,0	0,1	4,0	0,2	1,2	0,1	0,6
Хрен	77	2,5	0,4	4,6	3,0	2,8	0,2	1,4
Чеснок	80	6,5	–	3,2	2,0	0,8	0,1	1,5

Содержание

Введение	3
I. Белковые вещества	5
Лабораторная работа № 1. Запасные белки растений	7
Лабораторная работа № 2. Получение альбумина картофеля	9
Лабораторная работа № 3. Ферментативный гидролиз сахарозы	11
Лабораторная работа № 4. Обнаружение амилазы при прорастании семян	14
Лабораторная работа № 5. Определение активности пероксидазы	16
II. Углеводы	17
Лабораторная работа № 6 Динамика крахмала в годичном цикле веток древесных растений	18
Лабораторная работа № 7. Морозоустойчивость растений	21
III. Витамины	24
Лабораторная работа № 8. Количественное определение аскорбиновой кислоты	25
IV. Растительные вещества вторичного происхождения	28
Лабораторная работа № 9. Определение общей кислотности органических кислот	29
Лабораторная работа № 10. Количественное определение дубильных веществ	31
V. Обмен веществ	33
Лабораторная работа № 11. Изучение влияния факторов внешней среды на накопление нитратов в растениях	34
VI. Биохимия формирования урожая сельскохозяйственных культур	36
Лабораторная работа № 12. Биохимия сельскохозяйственной культуры и формирование качественного урожая	37
Список литературы	38
Приложение А Краткий словарь терминов	39
Приложение Б Вопросы для семинарских занятий	45
Приложение В Средний химический состав сельскохозяйственных культур ...	48

Учебное издание

Биохимия растений

Учебно-методическое пособие по выполнению лабораторных и самостоятельных работ для студентов, обучающихся по специальностям «Агроэкология» и «Защита растений»

Составители:

Бухарина Ирина Леонидовна
Любимова Ольга Вячеславовна

Редактор И.М. Мерзлякова
Технический редактор М.Ю. Соловьева

Подписано в печать _____ 2009 г.
Формат 60x84/16 Усл. п.л. 2,9 Уч.- изд.л. 2,5

Тираж 100 экз. Заказ № _____

ФГОУ ВПО Ижевская ГСХА
426069, г.Ижевск, ул. Студенческая, 11