

Учреждение образования
«Гомельский государственный университет
имени Франциска Скорины»

Л. А. БЕЛЯЕВА, О. В. ПЫРХ

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Практическое пособие

для студентов биологического факультета
специальности 1 – 31 01 01 02

«Биология (научно-педагогическая деятельность)»

Гомель
ГГУ им. Ф. Скорины
2021

УДК 577.1(076)
ББК 28.072.53я73
Б447

Рецензенты:

кандидат сельскохозяйственных наук Л. А. Евтухова,
кандидат биологических наук И. А. Никитина

Рекомендовано к изданию научно-методическим советом
учреждения образования «Гомельский государственный
университет имени Франциска Скорины»

Беляева, Л. А.

Б447 Биологически активные вещества : практическое пособие / Л. А. Беляева, О. В. Пырх ; Гомельский гос. ун-т им. Ф. Скорины. – Гомель : ГГУ им. Ф. Скорины, 2021. – 44 с.

ISBN 978-985-577-808-1

Практическое пособие содержит теоретическую и практическую часть в виде лабораторных работ по темам: «Катехины», «Ферменты», «Принципы ферментативного катализа. Механизм действия ферментов», «Витамины. Витамин Р», «Углеводы», «Танины».

Адресовано студентам биологического факультета специальности 1 – 31 01 01 02 «Биология (научно-педагогическая деятельность)».

УДК 577.1(076)
ББК 28.072.53я73

ISBN 978-985-577-808-1

© Беляева Л. А., Пырх О. В., 2021

© Учреждение образования «Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины», 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие.....	4
Тема «Катехины».....	5
Тема «Ферменты».....	10
Тема «Принципы ферментативного катализа. Механизм действия ферментов»	15
Тема «Витамины. Витамин Р».....	24
Тема «Углеводы»	29
Тема «Танины»	39
Список литературы.....	44

ПРЕДИСЛОВИЕ

Химия биологически активных веществ изучает строение и основные биологически активные функции важнейших компонентов живой материи, в первую очередь биополимеров и низкомолекулярных биорегуляторов, уделяя основное внимание выяснению закономерностей взаимосвязи между структурой и биологическим действием. По существу, она является химическим фундаментом современной биологии.

Курс «Биологически активные вещества», изучающий химический состав растительных и животных организмов и протекающие в них биологические процессы, необходим и имеет большое значение для подготовки специалистов ряда отраслей промышленности.

Практическое пособие по курсу «Биологически активные вещества» является важным составляющим компонентом научно-методического обеспечения учебного процесса в высших учебных заведениях и предназначено для студентов, обучающихся по специальности 1-31 01 01 «Биология (научно-педагогическая деятельность)».

Каждое занятие состоит из теоретической и практической частей. В теоретической части отражены современные представления по теме занятия; в конце приводится список вопросов для самоконтроля, целью которых является более полное усвоение изначального материала и делает процесс обучения более самостоятельным и прочным.

Выбор тем обоснован необходимостью более подробного изучения специфических вопросов биохимии биологически активных веществ. В лабораторных работах большое внимание уделяется методике проведения эксперимента, краткое пояснение по оформлению результатов опыта и математической обработке. Лабораторные работы подобраны таким образом, что опыты подтверждают выкладки, приведённые в теоретической части.

Использование практического пособия по спецкурсу «Биологически активные вещества» будет способствовать развитию у студентов навыков грамотного применения фундаментальных основ курса для решения теоретических, практических и экспериментальных проблем химико-биологического характера.

ТЕМА «КАТЕХИНЫ»

Теоретическая часть

Общая характеристика катехинов

Катехины – органические вещества из группы флавоноидов. Они представляют собой полифенольные соединения и являются сильными антиоксидантами.

Термин «катехины» происходит от слова «катеху». Данным словом принято называть экстракт деревьев акации, используемых в качестве пищевой добавки, вяжущего средства, танина и красителя. Он извлекается из нескольких видов акации, но особенно из дерева Сенегалия катеху (*Acacia catechu*), путем кипячения древесины в воде и выпаривания полученного варева.

Катехины – наиболее восстановленная группа флавоноидных соединений. Встречаются в 4 изомерных формах благодаря наличию двух ассиметричных атомов углерода.

Характерные представители – катехин и эпикатехин, являющиеся стереоизомерами. Они обладают способностью при помощи ферментов гидролаз присоединять у третьего углеродного атома остаток галловой кислоты – галлоил. В результате образуются сложные эфиры (так называемые галлосоединения), которые именуются соответственно катехингаллатами и эпикатехингаллатами.

Несмотря на большой интерес к катехинам, сведения о количественном содержании в растениях и пищевых продуктах растительного происхождения в настоящее время немногочисленны. Катехины содержатся в плодах многих съедобных растений (яблоко, груша, абрикос, айва и др.), ягодах (земляника, малина, виноград, крыжовник, вишня, облепиха и др.), в некоторых зерновых (пшеница, ячмень), овощных (ревень) культурах и других растениях. Особенно характерно наличие катехинов для листьев, почек, стеблей и молодых побегов чайного растения (*Camelia sinensis*), винограда, а также бобов какао, орехов кола. В значительном количестве катехины выявлены в таких пищевых продуктах растительного происхождения, как чай, какао, шоколад, красное вино.

Содержание катехинов в растениях, плодах, ягодах и продуктах их переработки зависит от многих факторов, включая вид и сорт растения, стадию созревания, место произрастания, климатические условия и др. Так, из многих дикорастущих ягод лесов Беларуси наиболее

богаты катехинами брусника (до 434 мг %), клюква (352 мг %), черника и голубика (286 мг %).

В большинстве растений (фруктах, ягодах) катехины присутствуют в виде простых мономеров – катехина и эпикатехина. Галлокатехины встречаются значительно реже; наличие катехинов в виде галлатов характерно почти исключительно для чая, где они присутствуют в довольно больших количествах. К числу основных источников мономерных катехинов в пище человека относят чай (особенно зеленый), какао, шоколад, яблоки, груши, виноград, красное вино. Содержание катехинов в стандартной порции пищевых продуктов может составлять: в 1 порции яблок (200 г) – 21 мг, вишни (50 г) – 3 мг, темного шоколада (20 г) – 16 мг, красного вина (120 мл) – 34 мг, черного чая (200 мл) – 130 мг. Поскольку количество катехинов в растениях и производимых из них продуктах сильно варьирует, поступление их с пищей также может колебаться в широких пределах.

Установлено, что катехины обладают относительно низкой биодоступностью как для животных, так и для человека. При пероральном поступлении они довольно быстро всасываются в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ): концентрация их в плазме крови становится максимальной уже через 1–2,5 ч после приема.

Окислительные превращения катехинов играют важную роль в производстве какао, виноделии и особенно в чайной промышленности. Это связано с тем, что продукты окисления катехинов обладают приятным, слабвяжущим вкусом и окраской.

При полимеризации катехинов образуются дубильные вещества. Дубильные вещества (танины) широко распространены в природе. Они встречаются у высших растений, особенно у двудольных, в коре и древесине деревьев и кустарников, а также в подземных частях зеленых многолетних растений.

Физические свойства катехинов

Катехины – бесцветные кристаллические вещества, часто обладают горьковато-вяжущим вкусом, хорошо растворимы в воде и спирте. Катехин, эпикатехин и эпикатехингаллат были найдены в виде мономеров. Производными катехинов и эпикатехинов являются димеры и тримеры.

Молекулярная масса трёх мономеров: катехина, эпикатехина и эпикатехингаллата составляет 293, 294 и 445 соответственно.

Растворимость. Некоторые фенольные вещества растворимы в воде, некоторые – в жирах. В целом, катехины являются жирорастворимыми, а процианидины (антоцианы) – водорастворимыми соединениями. Их растворимость в воде и жирах оказывает значительное влияние на антиоксидантные свойства.

Точка плавления катехинов, эпикатехинов и эпикатехингаллатов – 174°, 236° и 236° С соответственно.

Светопоглощение максимально при длине волны 264–280 нм.

Оптическая активность в этаноле для катехинов, эпикатехинов и эпикатехингаллатов составляет соответственно 0°, 58,3° и 188°.

Химические свойства катехинов

Донация водорода. Фенольные вещества содержат большое количество гидроксильных групп. Это позволяет им проявлять антиоксидантные свойства и поглощать атомарный кислород. Поэтому их относят к восстанавливающим агентам. Они также обладают свойством к хелатным комплексам металлов; могут поглощать и нейтрализовывать свободные радикалы и останавливать цепные реакции. Их антиоксидантные свойства значительно превосходит антиоксидантный потенциал витаминов С и Е.

Стабильность. Полифенолы из виноградных семян чрезвычайно чувствительны к кислороду, кислотам и щелочам и менее чувствительны к действию высоких температур. Бесцветные фенольные соединения, такие как катехины и эпикатехины, легко подвержены окислению во фруктах и овощах, ввиду присутствия полифенолоксидаз, при участии которых происходит порча фруктов и окисление соков.

Биологическая роль катехинов

Катехины обладают высокой биологической активностью. В чистом виде катехины применяются редко. Функции катехинов следующие:

- регулируют проницаемость капилляров;
- увеличивают упругость их стенок;
- способствуют более эффективному использованию организмом аскорбиновой кислоты;
- обладают Р-витаминной активностью;
- лекарственные препараты и БАД, содержащие катехины и другие биофлавоноиды, широко используют при лечении заболеваний, связанных с нарушениями функций капилляров, отеках сосудистого происхождения и т. п.;

- обладают антимикробными свойствами и применяются при лечении дизентерии (например, катехины чая);
- подавляют перекисидацию липидов, ведущую к затвердению артерии;
- усиливают иммунитет организма;
- улучшают метаболизм углеводов. Этим они помогают развиваться в пищеварительном тракте полезным бактериям, и, возможно, способствуют потерям жира;
- играют важную роль в технологии пищевых производств, таких как ферментация чая, виноделие;
- катехины полезны для укрепления иммунной системы и для лечения опухолей;
- антиоксидантные свойства многих растительных продуктов в значительной мере обусловлены именно содержанием катехинов. Полезные защитные свойства катехинов могут быть проиллюстрированы на примере чая.

Однако для того, чтобы эти самые катехины начали свое «антиокисление», недостаточно их просто проглотить. Катехины, попадающие в организм естественным путем, усваиваются этим самым организмом лишь частично – около 80 % этих полезных веществ из организма выводится. Одновременное употребление чая с некоторыми продуктами питания значительно повышает степень усвоения катехинов. Специалисты провели исследование, целью которого было выявление влияния употребляемых совместно с зеленым чаем продуктов на усвоение организмом четырех основных катехинов: эпикатехина, эпигаллокатехина, эпигаллокатехингаллата и эпикатехингаллата. В качестве «спутников» чая испытывались аскорбиновая кислота, различные виды молока (коровье, соевое и рисовое) и соки цитрусовых (апельсиновый, грейпфрутовый, лимонный и лаймовый). В ходе исследований выяснилось, что все «спутники» улучшают усвоение катехинов. В небольшой степени – молоко, в заметной – аскорбиновая кислота и кардинально (до 98 % для некоторых катехинов) – соки цитрусовых. Упрощая, можно предположить, что по «катехиновой результативности» черный чай с лимоном сравним с зеленым чаем без лимона.

Антиоксидантный эффект присущ и катехинам из брокколи, шпината, моркови, клубники. Катехины напрямую нейтрализуют радикалы, поступающие из окружающей среды, и способствуют регенерации других антиоксидантов, таких как витамин E.

Рекомендованная доза катехинов – 100–500 мг в день.

Практическая часть

Лабораторная работа

Капельный метод определения катехинов в яблоках и грушах (по Л. И. Вигорову)

Цель работы: определить наличие катехинов в яблоках и грушах.

Принцип метода: катехины, реагируя с солянокислым раствором ванилина, образуют соединения, окрашенные в розовый или красный цвет. Используя указанную реакцию, можно очень быстро определить приблизительное содержание катехинов в яблоках или грушах.

Реактивы, оборудование и исследуемый материал: солянокислый раствор ванилина, сернистокислый натрий 1 %-ный раствор; хроматографическая бумага; пинцет; скальпель, пипетки; терка, ступка; чашка Петри; марля; вентилятор; плоды яблок и груш.

Порядок выполнения работы. Хроматографическую бумагу размером 10 x 10 см пропитывают 1 %-ным раствором сернистокислого натрия и высушивают. Через всю толщу мякоти исследуемых плодов вырезают полулунные ломтики, достигающие до семенных камер. Из ломтиков отжимают сок. Каплю сока пипеткой наносят на хроматографическую бумагу, и место нанесения нумеруют графитовым карандашом (на один кусок бумаги наносят 8–10 образцов сока). Бумагу высушивают на воздухе комнатным вентилятором. Высушенную бумагу опрыскивают солянокислым раствором ванилина. В зависимости от содержания катехинов в плодах, места нанесения капель на бумагу принимают розовое, светло-красное или красное окрашивание.

- Сделать вывод.

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте общую характеристику катехинов.
2. Охарактеризуйте физические и химические свойства катехинов.
3. Какова биологическая роль катехинов?

ТЕМА «ФЕРМЕНТЫ»

Теоретическая часть

Ферменты – это биологические катализаторы белковой природы, которые образуются в живых клетках и обладают способностью активировать различные химические соединения. Ферменты локализованы во всех компартментах клеток. Ядерные ферменты катализируют синтез информационных макромолекул, а также процессы их созревания, функционирования и распада. В митохондриях действуют ферменты энергетического обмена, в аппарате Гольджи – ферменты, катализирующие созревание белков, в лизосомах – гидролитические ферменты. Значительное число ферментов ассоциировано с внешней и внутренними мембранами. Так, ферменты, защищающие клетку от действия чужеродных химических веществ, локализованы в эндоплазматическом ретикулуме. Распределение ферментов в клетках определяют методом дифференциального центрифугирования гомогената тканей. Локализация некоторых ферментов идентифицирована гистохимическими методами. Для этого при помощи микротомы получают срезы ткани и обрабатывают их раствором субстрата. Идентификация продуктов ферментативной реакции облегчена, если последние окрашены.

Определение активности ферментов

Термин *активность* достаточно условен и характеризует способность ферментов изменять скорости соответствующих реакций. Определяется активность по количеству продуктов реакции или модификации субстрата под действием фермента. За единицу активности фермента принимают такое его количество, которое катализирует превращение в 1 мин при 25 °С одного микромоля субстрата. Активность ферментов, связанную с превращением одного моля субстрата в 1 с при 25 °С, выражают также в каталах (кат). Удельной активностью называется скорость реакции, рассчитанная на 1 мг белка фермента.

Для корректного определения ферментативной активности условия опыта должны быть максимально стандартизованы и проводиться в условиях оптимума температуры и рН. Количество субстрата должно быть равным или бóльшим, чем необходимо для поддержания максимальной скорости реакции. Разнообразие методов оценки ферментативной активности связано с большим количеством вариантов ферментативных реакций. Если продукты реакции или модифицированные

субстраты окрашены, то с большим успехом используют спектрофотометрические методы, в случае газообразных продуктов реакции весьма эффективен полярографический метод и т. д. Определение каталитической активности весьма важно для оценки действия фермента. Кроме того, знание удельной активности того или иного фермента дает возможность определить истинное содержание его в клетках.

Оксидоредуктазы

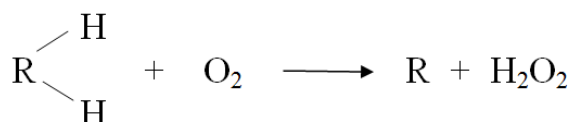
К этому классу относятся ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции. Они представляют самый большой класс ферментов. Название их составляют по форме «донор : акцептор – оксидоредуктаза». Они играют основополагающую роль в процессах биологического окисления. Коферменты НАД и НАДФ являются акцепторами водорода. Ферменты, катализирующие перенос водорода, называются дегидрогеназами; переносящие кислород к субстрату – оксигеназами. Пероксидазами называют ферменты, использующие в качестве акцептора водорода H_2O_2 . Оксидоредуктазы подразделяются на подклассы по критерию окисления тех или иных группировок, в частности от природы доноров водорода. Например:

- подкласс 1.1 – в него входят ферменты, действующие на СН–ОН-группу доноров (малатдегидрогеназа, алкогольдегидрогеназа и др.);
- подкласс 1.2 – в него входят ферменты, окисляющие альдегидные или кетонные группировки;
- подкласс 1.6 – ферменты этого подкласса отличаются тем, что донором водорода для них являются восстановленные НАД и НАДФ.

Всего класс оксидоредуктаз содержит 17 подклассов.

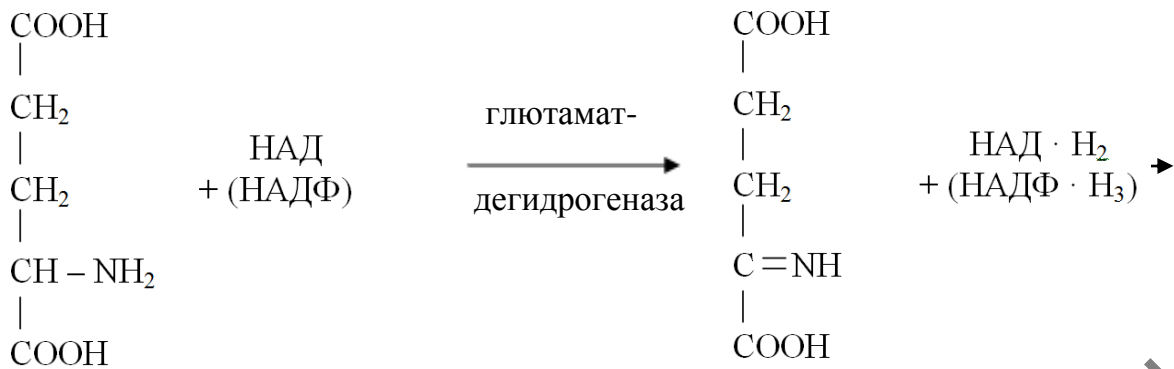
К числу важнейших оксидоредуктаз принадлежат перечисленные ниже.

Аэробные дегидрогеназы – переносчики водорода от окисляемого субстрата на кислород:

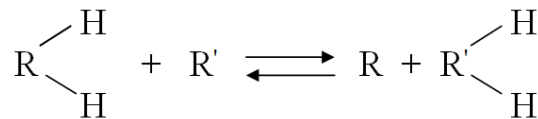


Так как эти ферменты катализируют реакции окисления кислородом воздуха, их называют также оксидазами. К ним относятся альдегидоксидаза, глюкозооксидаза *Penicillium*, оксидаза аминокислот и некоторые другие флавиновые ферменты.

Пример действия оксидазы аминокислот – глютаматдегидрогеназа (единственный фермент оксидаз аминокислот у животных, коферментом которой служит НАД и НАДФ):



Анаэробные дегидрогеназы – переносчики водорода от окисляемого субстрата на другой субстрат, но не на кислород:



К ним относятся лактатдегидрогеназа, алкогольдегидрогеназа, малатдегидрогеназа.

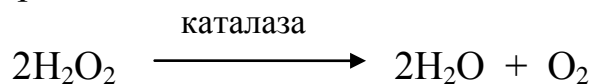
Цитохромы – к классу оксидоредуктаз относятся и ферменты, выполняющие роль переносчиков электронов, например, цитохромоксидаза. Механизм ее действия сводится к переброске электронов, отщепляемых от окисляемого субстрата, на молекулярный кислород:



Это создает предпосылки для взаимодействия иона кислорода с отщепившимися от субстрата (одновременно с электронами) протонами:



Каталаза. В ряде случаев при аэробном дегидрировании различных веществ образуется H_2O_2 , которая является сильным клеточным ядом. Но это вещество никогда не накапливается в тканях аэробно живущих организмов, так как в тканях животных присутствуют ферменты, разрушающие H_2O_2 по мере ее образования. Одним из них является фермент каталаза – разрушает H_2O_2 с образованием воды и молекулярного кислорода:



Каталазу можно обнаружить в большем или меньшем количестве во всех клетках и тканях аэробных организмов. Особенно много каталазы

находится в крови (эритроцитах), печени, сперме. Присутствие каталазы во всех тканях исключает возможность накопления в них перекиси водорода, поэтому ей приписывают роль «защитного» фермента.

Каталаза, как и большинство ферментов, является сложным белком и принадлежит к группе гемопротеидов: простетическая группа ее идентична окисленному гемму. Каталаза действует специфически только на H_2O_2 и является одним из весьма активно действующих ферментов.

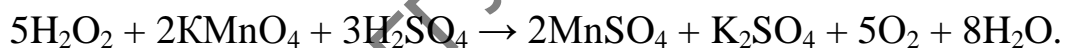
Практическая часть

Лабораторная работа

Определение активности каталазы

Цель работы: определить активность каталазы.

Принцип метода: активность каталазы определяют по количеству перекиси водорода, разложившейся под действием фермента. В реакционную смесь вносят избыток перекиси водорода. В контрольном образце каталазу инактивируют серной кислотой, в опытном образце часть внесенной перекиси водорода разлагается под действием фермента, а количество неразложившейся перекиси водорода определяют титрованием перманганатом калия в кислой среде. При этом происходит следующая реакция:



Количество разложившейся под действием фермента перекиси водорода в соответствии с приведенной реакцией находят по разности между опытным и контрольным титрованием.

Реактивы, оборудование и исследуемый материал: сухой углекислый кальций; кварцевый песок; серная кислота 10 %-ный раствор; перекись водорода 0,1 %-ный; перманганат калия 0,1 н раствор; ступка; пестик; цилиндр на 50 и 100 мл; конические колбы на 200 мл; центрифужная пробирка; центрифуга; растительный материал.

Порядок выполнения работы. 2–3 г свежего растительного материала растирают в ступке с кварцевым песком. Если реакция растительного материала кислая, то в ступку добавляют на кончике шпателя небольшое количество углекислого кальция. В процессе растирания в ступку небольшими порциями добавляют 50 мл воды. Растертую массу количественно переносят в центрифужную пробирку и центрифугируют 10–15 мин при 3–5 тысяч оборотов в минуту.

Для определения активности фермента из центрифужной пробирки берут две пробы по 20 мл ферментной вытяжки и переносят их в конические колбы на 200 мл. В одну из колб, которая служит контролем, приливают 5 мл 10 %-ной серной кислоты для инактивации фермента. Затем в обе колбы добавляют по 20 мл 0,1н раствора перекиси водорода. Реакцию разложения перекиси водорода проводят при 20 °С в течение 30 мин. После прибавления каждого реактива содержимое колб тщательно перемешивают. Через 30 мин фермент в опытной колбе инактивируют прибавлением в колбу 5 мл 10 %-ной серной кислоты.

Затем избыток перекиси водорода в каждой колбе оттитровывают 0,1н раствором перманганата калия до образования устойчивого розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Активность каталазы выражают в микромолях перекиси водорода, разложившейся под действием фермента за 1 мин в расчете на 1 г свежего растительного материала. Вычисление ведут по формуле:

$$X = \frac{(aT - вT)50 \cdot 50}{n20 \cdot 30}$$

где X – активность каталазы;

a – количество 0,1н KMnO_4 , израсходованного на титрование контрольного образца, мл;

$в$ – количество 0,1н KMnO_4 , израсходованного на титрование опытного образца, мл;

T – поправка к титру 0,1н KMnO_4 ;

50 – коэффициент пересчета на микромоли H_2O_2 ;

50 – общий объем экстракта, мл;

20 – объем ферментного раствора, взятого для анализа, мл;

30 – время ферментативной реакции, мин;

n – навеска материала, взятого для анализа, г.

- Определение провести в трехкратной повторности.
- Провести математическую обработку.
- Сделать вывод.

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте общую характеристику ферментов.
2. Определите активность ферментов.
3. Охарактеризуйте класс оксидоредуктаз.

ТЕМА «ПРИНЦИПЫ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА. МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ»

Теоретическая часть

По строению ферменты делятся на простые – ферменты-протеины, и сложные – ферменты-протеиды.

Ферменты-протеины состоят только из аминокислот. Сюда относятся ферменты желудочно-кишечного тракта пепсин и трипсин, которые ответственны за расщепление белков.

Ферменты-протеиды состоят из двух частей: аминокислот (белкового составляющего) и активного вещества небелковой природы. Белковая часть получила название апофермент, а небелковая – кофермент. Часто роль кофермента выполняют витамины. Например, витамин В₆ является коферментом более 30 различных ферментов; В₅ входит в состав NAD, NADF; В₃ – в состав ацетилкоэнзима А.

В молекуле фермента различают три центра:

- активный центр, где непосредственно осуществляется акт катализа; он расположен в углублениях на поверхности молекул кофермента. Формирование активного центра связано с третичной структурой белковой молекулы фермента;

- субстратный, или «якорная площадка» – участок молекулы, куда присоединяется субстрат – то вещество, которое участвует в реакции. Также находится на коферменте. Субстрат прикрепляется к ферменту за счёт различных взаимодействий между определёнными боковыми радикалами аминокислотных остатков и соответствующими группами молекулы субстрата. Субстрат с ферментом связывается посредством ионных взаимодействий, водородных связей;

- аллостерический центр – это часть белковой молекулы фермента, к которой присоединяются какие-нибудь низкомолекулярные вещества (гормоны) и так видоизменяют пространственную структуру активного центра фермента, что последний повышает или снижает каталитическую активность.

Механизм действия простого и сложного ферментов одинаков, так как активные центры в их молекулах выполняют сходные функции.

В основе действия ферментов лежит их способность ускорять реакции за счёт уменьшения энергии активации субстрата. Ферменты деформируют электронные оболочки субстратов, облегчая таким образом

взаимодействие между ними. Энергия, необходимая для того, чтобы привести молекулы в активное состояние, называется энергией активации. Роль обычного катализатора (и еще в большей мере биологического) состоит в том, что он снижает энергию активации субстрата.

Основы механизма действия ферментов были изучены в начале XX в. В 1902 г. английский химик А. Браун высказал предположение о том, что фермент, воздействуя на субстрат, должен образовать с ним промежуточный фермент – субстратный комплекс. Одновременно и независимо от А. Брауна это же предположение высказал французский ученый В. Анри. В 1913 г. Л. Михэлис и М. Ментэн подтвердили и развили представления о механизме действия ферментов, который можно представить в виде схемы:



где E – фермент,
S – субстрат,
P – продукт.

На первой стадии ферментативного катализа происходит образование фермент-субстратного комплекса, где фермент и субстрат могут быть связаны ионной, ковалентной или иной связью. Образование комплекса E-S происходит практически мгновенно.

На второй стадии субстрат под воздействием связанного с ним фермента видоизменяется и становится более доступным для соответствующей химической реакции. Эта стадия определяет скорость всего процесса. На этих стадиях ферментативного катализа происходят неоднократные изменения третичной структуры белка фермента, приводящие к последовательному сближению с субстратом и ориентации в пространстве тех активных групп, которые взаимодействуют друг с другом на различных этапах преобразования субстратов.

На третьей стадии происходит химическая реакция, в результате которой образуется комплекс продукта реакции с ферментом.

Заключительным процессом является высвобождение фермента и продукта реакции из комплекса.

В организме превращение веществ до конечных продуктов происходит в несколько этапов, каждый из которых катализируется отдельным ферментом. Сумма энергии активации промежуточных реакций ниже энергии активации, необходимой для одновременного расщепления субстрата.

Типы ферментативного катализа

В результате образования комплекса происходит обмен электронами и протонами между ферментом и субстратом. Если фермент отдает электронную пару субстрату, т. е. если фермент является донором электронов, осуществляющим нуклеофильную атаку, которая определяет скорость ферментативной реакции, то имеет место нуклеофильный катализ. Скорость каталитической реакции определяется электронодонорной способностью нуклеофила, т. е. тех аминокислотных остатков активного центра, которые взаимодействуют с субстратом. Относительные скорости нуклеофильной атаки зависят от энергии, необходимой для доставки электронной пары к атому субстрата. В электрофильном катализе, напротив, фермент акцептирует пару электронов от субстрата. Электрофильный катализ характерен для многих ферментов, имеющих в своем составе атомы металлов. Металлы с переменной валентностью являются электрофильными катализаторами, принимающими электронную пару.

В процессе *общего кислотно-основного катализа* происходит перенос протона либо в пределах молекулы субстрата, либо от одного субстрата к другому. Следует отметить, что многие электро- или нуклеофильные реакции протекают более эффективно, если они сопровождаются одновременным переносом протона на субстрат. Для общего кислотно-основного катализа характерна зависимость скоростей реакций от любых кислот или оснований, находящихся в реакционной среде, в отличие от *специфического кислотно-основного катализа*, который зависит только от протондонорных или протонакцепторных свойств катализатора.

Обобщая представления о ферментативном катализе, можно выделить следующие основные моменты:

- комплементарное присоединение субстрата к активному центру фермента является основным фактором эффективного каталитического процесса;

- комплементарность достигается за счет изменения конформации активного центра фермента под действием субстрата, а также перевода субстрата в переходное состояние, индуцируемого функциональными группировками активного центра фермента;

- эффективный активный центр фермента формируется в несколько этапов. В простейшем варианте это связано с образованием третичной структуры белка-фермента, а также достижением индуцированного соответствия определенному субстрату. В случае

образования ферментов в неактивном состоянии их активация (например, за счет ограниченного протеолиза) приводит к изменению конформации, что обеспечивает взаимодействие функциональных группировок активного центра. Формирование активных центров сложных ферментов обусловлено также присоединением небелкового компонента;

– образование фермент-субстратного комплекса достигается за счет множественных контактов между ферментом и субстратом, причем чем больше этих контактов, тем эффективнее протекает каталитический процесс;

– ферментативный катализ в основном связан с обменом электронов и протонов между ферментом и субстратом или же в пределах молекулы субстрата.

Кинетика ферментативных реакций

Кинетика ферментативных реакций – наука о скоростях ферментативных реакций, их зависимости от различных факторов. Скорость ферментативной реакции определяется химическим количеством прореагировавшего субстрата или образовавшегося продукта реакции в единицу времени в единице объема при определенных условиях:

$$V = \Delta c / t,$$

где V – скорость ферментативной реакции;

Δc – изменение концентрации субстрата или продукта реакции;

t – время.

Скорость ферментативной реакции зависит от многих факторов: от концентрации субстрата и фермента, температуры, pH среды, наличия различных регуляторных веществ, способных увеличивать или снижать активность ферментов.

Влияние концентрации субстрата и фермента на скорость ферментативной реакции

Рассмотрим влияние концентрации субстрата на скорость ферментативной реакции (рисунок 1). При низких концентрациях субстрата скорость прямо пропорциональна его концентрации, далее с ростом концентрации скорость реакции увеличивается медленнее, а при очень высоких концентрациях субстрата скорость практически не зависит от его концентрации и достигает своего максимального значения (V_{\max}). При таких концентрациях субстрата все молекулы

фермента находятся в составе фермент-субстратного комплекса, и достигается полное насыщение активных центров фермента, именно поэтому скорость реакции в этом случае практически не зависит от концентрации субстрата.

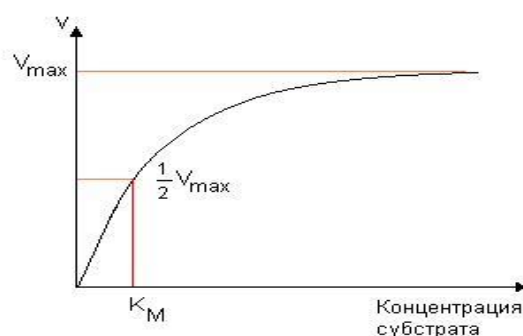


Рисунок 1 – Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата

График зависимости активности фермента от концентрации субстрата описывается уравнением Михаэлиса – Ментен, которое получило свое название в честь выдающихся ученых Л. Михаэлиса и М. Ментен, внесших большой вклад в исследование кинетики ферментативных реакций,

$$v = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]},$$

где v – скорость ферментативной реакции;

$[S]$ – концентрация субстрата;

K_M – константа Михаэлиса.

Рассмотрим физический смысл константы Михаэлиса. При условии, что $v = \frac{1}{2} V_{max}$, получаем $K_M = [S]$. Таким образом, константа Михаэлиса равна концентрации субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной.

Скорость ферментативной реакции зависит и от концентрации фермента (рисунок 2). Эта зависимость носит прямолинейный характер.



Рисунок 2 – Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации фермента

Влияние температуры на скорость ферментативной реакции

Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры представлена на рисунке 3.

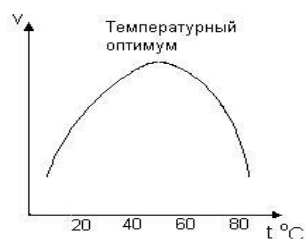


Рисунок 3 – Зависимость скорости ферментативной реакции от температуры

При низких температурах (приблизительно до 40–50 °С) повышение температуры на каждые 10 °С в соответствии с правилом Вант-Гоффа сопровождается увеличением скорости химической реакции в 2–4 раза. При высоких температурах более 55–60 °С активность фермента резко снижается из-за его тепловой денатурации, и, как следствие этого, происходит резкое снижение скорости ферментативной реакции. Максимальная активность ферментов наблюдается обычно в пределах 40–60 °С. Температура, при которой активность фермента максимальна, называется температурным оптимумом. Температурный оптимум ферментов термофильных микроорганизмов находится в области более высоких температур.

Влияние pH на скорость ферментативной реакции

График зависимости ферментативной активности от pH представлен на рисунке 4.

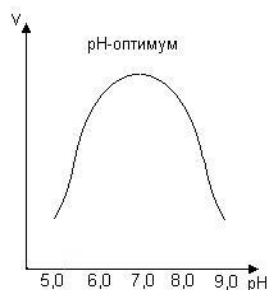


Рисунок 4 – Влияние pH на скорость ферментативной реакции

График зависимости от pH имеет колоколообразную форму. Значение pH, при котором активность фермента максимальна, называется *pH-оптимумом* фермента. Значения pH-оптимума для различных ферментов колеблются в широких пределах (таблица 1).

Таблица 1

Фермент	pH-оптимум
Пепсин	1,5
Фосфатаза	5,8
Уреаза	6,7
Трипсин	7,7
Каталаза	7,6
Аргиназа	9,7

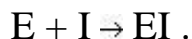
Характер зависимости ферментативной реакции от pH определяется тем, что этот показатель оказывает влияние:

- а) на ионизацию аминокислотных остатков, участвующих в катализе,
- б) ионизацию субстрата,
- в) конформацию фермента и его активного центра.

Ингибирование ферментов

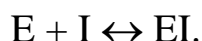
Скорость ферментативной реакции может быть снижена действием ряда химических веществ, называемых *ингибиторами*. Некоторые ингибиторы являются для человека ядами, например, цианиды, другие используются в качестве лекарственных препаратов.

Ингибиторы можно разделить на два основных типа: *необратимые* (I) и *обратимые*. Необратимые ингибиторы связываются с ферментом с образованием комплекса, диссоциация которого с восстановлением активности фермента невозможна:



Примером необратимого ингибитора является диизопропилфторфосфат (ДФФ). ДФФ ингибирует фермент ацетилхолинэстеразу, играющего важную роль в передаче нервного импульса. Этот ингибитор взаимодействует с активным центром фермента, блокируя тем самым активность последнего. Вследствие этого нарушается способность отростков нервных клеток нейронов проводить нервный импульс. ДФФ является одним из первых веществ нервно-паралитического действия. На его основе создан ряд относительно нетоксичных для человека и животных *инсектицидов* – веществ, ядовитых для насекомых.

Обратимые ингибиторы, в отличие от необратимых, при определенных условиях могут быть легко отделены от фермента. Активность последнего при этом восстанавливается:



Среди обратимых ингибиторов выделяют конкурентные и неконкурентные ингибиторы.

Конкурентный ингибитор, являясь структурным аналогом субстрата, взаимодействует с активным центром фермента и таким образом перекрывает доступ субстрата к ферменту. При этом ингибитор не подвергается химическим превращениям и связывается с ферментом обратимо. После диссоциации комплекса EI фермент может связаться либо с субстратом и преобразовать его, либо с ингибитором. Поскольку и субстрат и ингибитор конкурируют за место в активном центре, такое ингибирование называется конкурентным.

Конкурентные ингибиторы используются в медицине. Для борьбы с инфекционными болезнями ранее широко применялись сульфаниламидные препараты. Они близки по своей структуре к парааминобензойной кислоте (ПАБК), необходимому фактору роста многих патогенных бактерий. ПАБК является предшественником фолиевой кислоты, которая служит кофактором ряда ферментов. Сульфаниламидные препараты выступают в качестве конкурентного ингибитора ферментов синтеза фолиевой кислоты из ПАБК и тем самым подавляют рост и размножение патогенных бактерий.

Неконкурентные ингибиторы по структуре не сходны с субстратом и при образовании EI взаимодействуют не с активным центром, а с другим участком фермента. Взаимодействие ингибитора с ферментом приводит к изменению структуры последнего. Образование EI-комплекса является обратимым, поэтому после его распада фермент вновь способен атаковать субстрат.

В качестве неконкурентного ингибитора может выступать цианид CN. Он связывается с ионами металлов, входящими в состав протетических групп и подавляет активность этих ферментов. Отравления цианидами крайне опасны. Они могут привести к летальному исходу.

Активаторы ферментов – это вещества, увеличивающие скорость ферментативной реакции. Чаще всего в качестве активаторов выступают ионы металлов, такие, как железо, медь, кобальт, магний и др. Следует различать металлы, находящиеся в составе металлоферментов, так называемые кофакторы, и выступающие в качестве активаторов ферментов. Кофакторы могут прочно связываться с белковой частью фермента, что же касается активаторов, то они легко отделяются от апофермента. Кофакторы являются обязательными участниками каталитического акта; в их отсутствие фермент неактивен. Активаторы усиливают каталитическое действие, но их отсутствие не препятствует протеканию ферментативной реакции.

Практическая часть

Лабораторная работа

Определение активности О-дифенолоксидазы (полифенолоксидазы) и пероксидазы в растительном материале (по Д. М. Михлину и З. С. Брновицкой)

Цель работы: определить активность о-дифенол-оксидазы и пероксидазы в растительном материале.

Принцип метода: в основу метода определения активности о-дифенилоксидазы и пероксидазы в растительном материале положено свойство хинонов окислять аскорбиновую кислоту, т. е. играть роль акцепторов водорода. Активность ферментов определяют только в первые две минуты их действия на субстрат.

Реактивы, оборудование и исследуемый материал: аскорбиновая кислота 1 %-ный раствор; пирокатехин 0,02М раствор; ортофосфорная кислота 10 %-ный раствор; йод 0,1н раствор; крахмал 1 %-ный раствор; ацетатный буфер рН = 4,7; перекись водорода 0,4 %-ный раствор; бумажные фильтры; колба коническая 50 мл; микробюретка; цилиндр мерный 25 мл; стакан химический 100 мл; стакан химический 50 мл; воронка химическая; пипетка градуированная 5 мл; электроплитка; карандаш по стеклу; ступка и пестик; груша резиновая; свежий растительный материал.

Порядок выполнения работы: 1 г свежего растительного материала растирают с 20 мл ацетатного буфера (рН = 4,7) до полной гомогенизации. После чего настаивают в течение 30 мин, фильтруют через бумажный фильтр.

Определение о-дифенолоксидазы: в коническую колбу на 25 мл вносят по 1 мл фильтрата, приливают по 3 мл дистиллированной воды, по 2 мл раствора аскорбиновой кислоты и по 1 мл раствора пирокатехина. *Температура всех растворов должна быть 18–20 °С.* Колбы встряхивают точно 2 мин, после чего действие фермента прекращают прибавлением 1 мл 10 %-ного раствора ортофосфорной кислоты и титруют 0,1н раствором йода (из микробюретки) в присутствии крахмала. Параллельно проводят контрольный опыт с прокипячённой вытяжкой.

Разность между количествами миллилитров 0,1н раствора йода, израсходованных на титрование контрольной и опытной проб, характеризует активность фермента в 1 мл вытяжки. Затем её пересчитывают на 1 г растительного материала, умножая на 20 (разведение).

Определение пероксидазы в присутствии о-дифенилоксидазы:
в коническую колбу ёмкостью 25 мл вносят по 1 мл фильтрата, прибавляют по 1 мл 0,4 %-ного раствора перекиси водорода, 2 мл раствора аскорбиновой кислоты и 1 мл раствора пирокатехина. В дальнейшем поступают точно так же, как при определении о-дифенолоксидазы.

Вычисляют разность между количествами миллилитров раствора йода, израсходованных на титрование контрольной и опытной проб, и умножают её на 20, получая величину, характеризующую суммарную активность пероксидазы и о-дифенолоксидазы в 1 г растительного материала. Из полученного результата вычисляют число, характеризующее активность о-дифенолоксидазы. Разность показывает активность пероксидазы.

- Определение провести в трёхкратной повторности.
- Провести математическую обработку.
- Сделать вывод.

Вопросы для самоконтроля

1. Опишите строение ферментов.
2. Дайте общую характеристику ферментативного катализа.
3. Опишите механизм и типы ферментативного катализа.
4. Опишите основы ферментативной кинетики:
 - а) влияние концентрации фермента;
 - б) влияние концентрации субстрата;
 - в) влияние температуры и рН;
 - г) активаторы и ингибиторы ферментов.

ТЕМА «ВИТАМИНЫ. ВИТАМИН Р»

Теоретическая часть

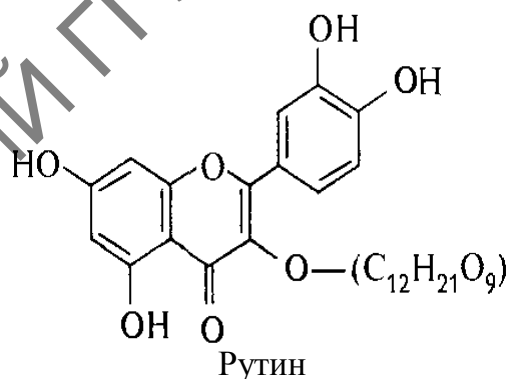
Витамин Р (рутин) относится к водорастворимым витаминам. Водорастворимые витамины хорошо растворяются в воде и легко выводятся из организма с мочой, почти не накапливаясь в организме. Но если принять их в большом количестве, некоторые из них при передозировке могут вызывать неприятные последствия. Это относится к никотиновой кислоте (может вредить печени) и витамину В₆

(возможны нарушения деятельности нервной системы). Что касается витаминов С, В₁ и других, то они безвредны в дозах, многократно превышающих физиологическую потребность. *Водорастворимые* витамины, как правило, в тканях не накапливаются, и поэтому должны поступать в организм ежедневно. В организме большинство из них активируется путем фосфорилирования. Их активные формы в качестве коферментов участвуют в реакциях метаболизма. Водорастворимые витамины не так стабильны, как жирорастворимые. Поэтому при приготовлении пищи важно не переваривать овощи, фрукты, чтобы сохранить в них как можно больше витаминов. Лучше готовить их на пару, или с небольшим количеством воды в микроволновке.

Химическое строение и свойства

В 1936 г. А. Сент-Дьёрдьи из кожуры лимона выделил действующее начало, уменьшающее ломкость, проницаемость капилляров у больных с геморрагическим диатезом и у цинготных морских свинок. Оно получило название *витамин Р* (от *permeability* – проницаемость). Относится к группе биофлавоноидов.

Биофлавоноиды – разнообразная группа полифенольных соединений, в основе структуры которых лежит дифенилпропановый углеродный скелет.



Биофлавоноиды содержатся только в растительных клетках. Содержание их в тех или иных растениях различно.

Метаболизм. Биофлавоноиды быстро всасываются из желудочно-кишечного тракта. В тканях организма они превращаются в фенольные кислоты, которые выделяются с мочой. Частично флавоноиды могут выделяться в неизмененном виде или в конъюгатах с глюкуроновой и серной кислотами.

Биохимические функции. Биофлавоноиды могут использоваться для построения биологически важных соединений в клетке, в частности убихинона.

Рутин и квертецин – полифенолы, обладающие Р-витаминной активностью, являются эффективными *антиоксидантами*. Флавоноиды (катехины) зеленого чая способны оказывать выраженное цитопротекторное действие, в основе которого лежит их свойство перехватывать свободные радикалы кислорода. В отличие от витамина Е, биофлавоноиды кроме прямого антирадикального действия могут также связывать ионы металлов с переменной валентностью, ингибируя тем самым процесс ПОЛ (перекисного окисления липидов) биомембран. Наиболее эффективными ловушками супероксидного радикала кислорода (с которого начинается процесс ПОЛ) являются железокомплексы флавоноидов: например, комплекс рутина с Fe^{2+} почти в 5 раз активнее самого рутина.

Достаточно изученным является *капилляроукрепляющее* действие витамина Р, обусловленное его способностью регулировать образование коллагена (синергизм с витамином С) и препятствовать деполимеризации основного вещества соединительной ткани гиалуронидазой.

Гиповитаминоз. Симптоматика недостаточности биофлавоноидов сводится к явлениям повышенной проницаемости и ломкости капилляров, петехиям (точечным кровоизлияниям), кровоточивости десен.

Гипервитаминоз не описан.

Оценка обеспеченности организма витамином Р. С этой целью определяют прочность капиллярной стенки на основании ее способности противостоять приложенному к ней отрицательному (вакуумная присоска) или положительному (наложение манжета) давлению. Некоторые представители биофлавоноидов – рутин, квертецин и др. – определяют химическими методами.

Суточная потребность. Пищевые источники. Р-витаминные вещества содержатся в тех же растительных продуктах, что и витамин С. Наиболее богаты ими черноплодная рябина, черная смородина, яблоки, виноград, лимоны, чайный лист и плоды шиповника. Биофлавоноид цитрон придает кожуре лимона желтый цвет. Потребление флавоноидов в составе натуральных продуктов (фруктов, соков

и виноградных вин), где они могут находиться в виде комплексов с металлами, может быть более эффективным, чем использование очищенных витаминных препаратов.

Суточная потребность – 25–50 мг.

Биосинтез. Шикимовая кислота является исходным продуктом синтеза биофлавоноидов в растительных клетках.

Практическое применение. Индивидуальные биофлавоноиды, такие, как рутин, кверцетин, гесперидин, а также комплексные препараты, например сумма флавоноидов из рябины черноплодной, применяют в медицинской практике при гиповитаминозе Р, геморрагических диатезах, кровоизлияниях в сетчатку глаз, ревматизме, некоторых инфекционных заболеваниях.

Практическая часть

Лабораторная работа

Количественное определение витамина Р в чае, кофе

Цель работы: определить процентное содержание витамина Р в чае и кофе.

Принцип метода: рутин способен окисляться перманганатом калия; в качестве индикатора применяется индигокармин, который вступает в реакцию с перманганатом калия после того, как окислится весь рутин. Экспериментально установлено, что 1 мл 0,1н раствора перманганата калия окисляет 6,4 мкг рутина.

Реактивы, оборудование и исследуемый материал: перманганат калия 0,05 н раствор, индикатор индигокармин, микробюретка; стакан химический объемом 100 мл, пипетка градуированная вместимостью 10 мл; шпатель; колба коническая объемом 100 мл; палочка стеклянная; колба для титрования объемом 50 мл; стакан химический объемом 50 мл; цилиндр объемом 100 мл; колба коническая объемом 500 мл; электроплитка; груша резиновая; чай, кофе.

Порядок выполнения работы. К 100 мг чая приливают 50 мл горячей дистиллированной воды и проводят экстракцию в течение 5 мин. 10 мл экстракта чая отмеряют в стаканчик или колбочку, добавляют 10 мл дистиллированной воды и 5 капель индигокармина (появляется сине-зеленое окрашивание). Титруют из микробюретки

0,05 н раствором KMnO_4 до появления устойчивой бурой окраски. Определяют процентное содержание витамина Р в чае и кофе по формуле:

$$X = \frac{3,2 \times A \times V_1 \times 100}{V_2 \times P \times 1000},$$

где X – содержание витамина Р в препарате, %;

3,2 – стандартный пересчетный коэффициент;

A – результат титрования 0,05 н раствором перманганата калия, мл;

V_1 – объем, в котором растворена взятая для анализа навеска, мл;

100 – общее количество вещества для расчета процентного содержания;

V_2 – объем раствора, взятого для титрования, мл;

P – навеска, мл;

1000 – перевод микрограммов в миллиграммы.

- Определение провести в трехкратной повторности.
- Провести математическую обработку.
- Сделать вывод.

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте общую характеристику витамина Р.
2. Что такое метаболизм витамина Р?
3. Опишите биохимические функции витамина Р.

ТЕМА «УГЛЕВОДЫ»

Теоретическая часть

Общая формула $C_n(H_2O)_m$. Углеводами называют большое число соединений, которые обладают различной химической структурой и биологическими функциями.

Углеводы – полигидроксикарбонильные соединения и их производные, которые обладают различной химической структурой и биологическими функциями. Содержание углеводов в растениях достигает 80–90 % на сухое вещество, а в организме человека и животных – до 2 %.

Биологические функции углеводов

Выделяют следующие биологические функции:

– энергетическая функция – главная функция углеводов в организме человека. Являются основным энергетическим источником для всех видов работ, происходящих в клетках. При расщеплении углеводов высвобождаемая энергия рассеивается в виде тепла или накапливается в молекулах АТФ. Углеводы обеспечивают около 50–60 % суточного энергопотребления организма и все энергетические расходы мозга (мозг поглощает около 70 % глюкозы, выделяемой печенью). При окислении 1 г углеводов выделяется 17,6 кДж энергии. В качестве основного энергетического источника в организме животных и человека используется свободная глюкоза или запасенные углеводы в виде гликогена;

– запасной питательный материал, который откладывается у растений в виде крахмала (в корнях и клубнях некоторых растений, например, георгинов, запасается инулин (полимер фруктозы); углеводы запасаются (накапливаются) в скелетных мышцах (до 2 %), печени и других тканях в виде гликогена. При полноценном питании в печени может накапливаться до 10 % гликогена, а при неблагоприятных условиях его содержание может снижаться до 0,2 % массы печени;

– пластическая функция – углеводы (рибоза, дезоксирибоза) используются для построения АДФ, АТФ и других нуклеотидов, а также нуклеиновых кислот. Они входят в состав некоторых ферментов. Отдельные углеводы являются структурными компонентами клеточных мембран. Продукты превращения глюкозы (глюкуроновая кислота, глюкозамин и др.) входят в состав полисахаридов и сложных белков хрящевой и других тканей;

– структурная (строительная) функция углеводов заключается в том, что они используются в качестве строительного материала. Оболочки клеток растений в среднем на 20–40 % состоят из целлюлозы, которая обладает высокой прочностью. Поэтому оболочки растительных клеток надежно защищают внутриклеточное содержимое и поддерживают форму клеток. Хитин является компонентом внешнего скелета членистоногих и клеточных оболочек некоторых грибов и протистов. Некоторые олигосахариды входят в состав цитоплазматической мембраны клеток животных и образуют надмембранный комплекс – гликокаликс. Углеводные компоненты цитоплазматической мембраны выполняют рецепторную функцию: они воспринимают сигналы из окружающей среды и передают их в клетку;

– метаболическая функция состоит в том, что моносахариды являются основой для синтеза многих органических веществ в клетках организмов – полисахаридов, нуклеотидов, спиртов, аминокислот и др;

– участвуют в регуляции некоторых процессов в организме. Например, клетчатка, вызывая механическое раздражение кишечника, способствует его перистальтике, т. е. сокращению;

– выполняют многие специфичные функции – входят в состав слизистых веществ, являются субстанцией группоспецифических веществ крови, исполняют роль антикоагулянтов (гепарин препятствует свертываемости крови).

Классификация углеводов

Классификация углеводов основана на их способности гидролизоваться (рисунок 5).

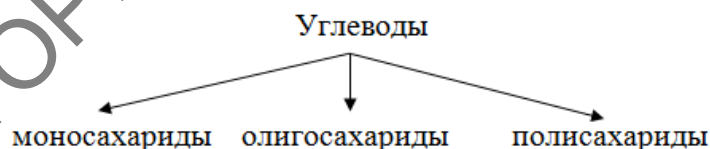


Рисунок 5

Моносахариды – простые углеводы, которые не расщепляются гидролитическим путем.

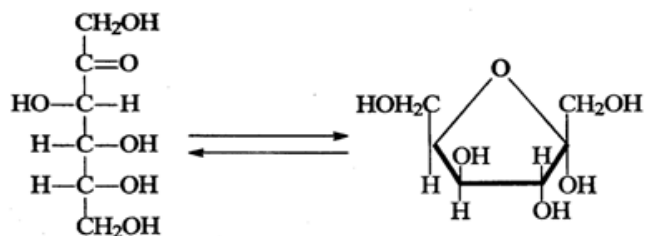
По числу углеродных атомов в молекуле моносахариды подразделяются на:

- тетрозы (эритроза);
- пентозы (рибоза и дезоксирибоза);
- гексозы (фруктоза, глюкоза, галактоза, манноза);
- гептозы (седогептулоза).

По характеру функциональных групп моносахариды разделяются на альдозы (альдегидоспирты) и кетозы (кетоспирты).

Гексозам принадлежит главная роль в обмене веществ. Общая формула гексоз $C_6H_{12}O_6$.

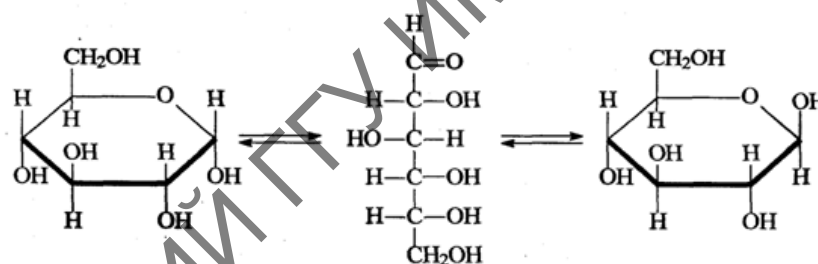
D-фруктоза (плодовый сахар) – это кетоза (кетоспирт). В свободном состоянии находится в плодах, меде, нектаре. В связанном виде входит в состав дисахарида сахарозы.



D-фруктоза

Циклическая форма фруктозы

D-глюкоза (виноградный сахар) – относится к альдозам (альдегидоспирт). В свободном виде находится в зеленых частях растений, фруктах, ягодах, крови человека (0,08–0,12 %). В связанной форме является основой таких важнейших природных соединений, как тростниковый или свекловичный сахар, крахмал, клетчатка, гликоген и др.



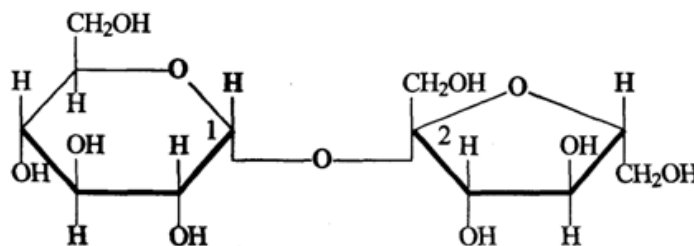
α -D-глюкоза

D-глюкоза

β -D-глюкоза

Олигосахариды – при гидролизе образуют от 2 до 10 моносахаридов. Наиболее распространенными в природе олигосахаридами являются дисахариды. Общая их формула $C_{12}H_{22}O_{11}$.

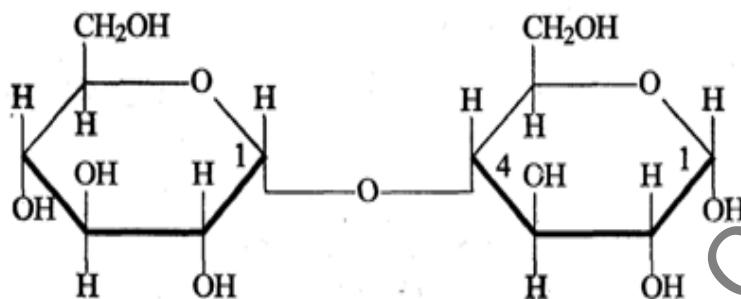
Сахароза – образована из двух моносахаридов: α -D-глюкозы и β -D-фруктозы. Не обладает восстановительными свойствами. Встречается в листьях, стеблях, корнях, ягодах и фруктах.



Сахароза

Мальтоза – образована двумя остатками α -D-глюкозы. Содержится в большом количестве в солоде. Легко усваивается организмом. Является промежуточным продуктом распада крахмала и гликогена.

В мальтозе есть свободный полуацетальный гидроксил, вследствие чего она обладает, в отличие от сахарозы, восстановительными, редуцирующими свойствами – дает реакцию Феллинга и реакцию «серебряного зеркала».

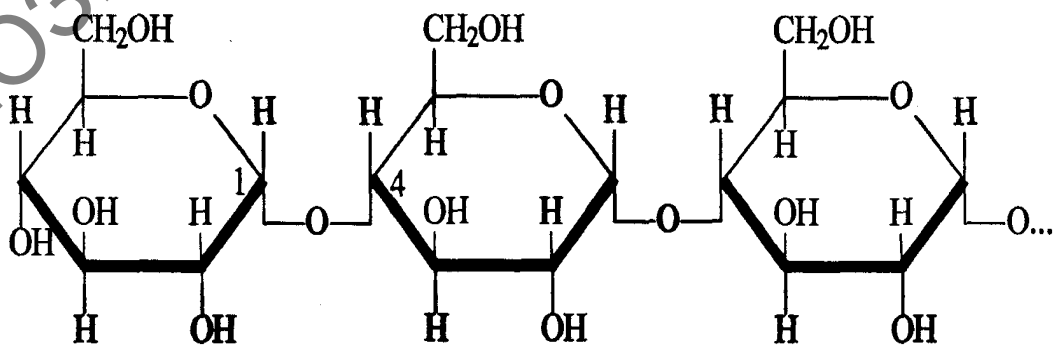


Мальтоза

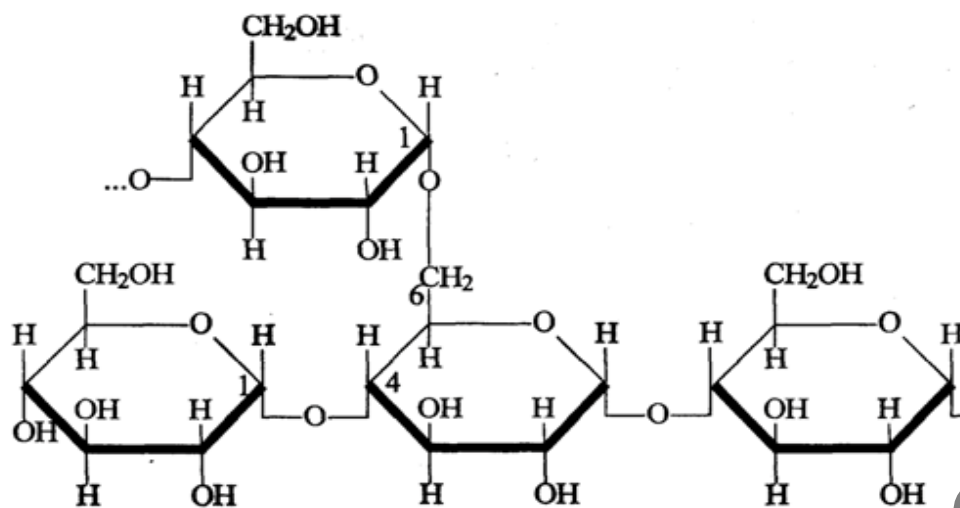
Полисахариды – это высокомолекулярные полимеры моносахаридов и их производных. Число моносахаридных единиц в них колеблется от десяти до нескольких тысяч. К гомополисахаридам относятся крахмал, гликоген, клетчатка. Общая их формула $(C_6H_{10}O_5)_n$. Биологическая роль гомополисахаридов:

- а) резервная – крахмал, гликоген;
- б) опорная – клетчатка.

Крахмал – один из самых распространенных запасных полисахаридов растений. Он накапливается в результате фотосинтеза. Крахмал представляет собой смесь двух гомогенных однородных полисахаридов: амилозы – линейного, и амилопектина – разветвленного. Оба эти гомополисахарида построены из остатков α -D-глюкозы. Амилоза составляет 10–30 % крахмала, хорошо растворима в воде. Амилопектин составляет 70–90 % и образует коллоидные растворы.



Амилоза



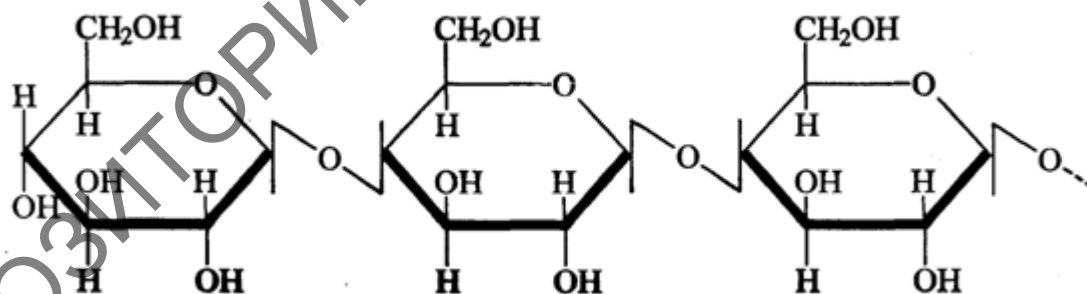
Амилопектин

Обе фракции крахмала дают окрашивание с I_2 синего цвета. Молекулярная масса их колеблется от 100 тысяч до 20 миллионов единиц.

При гидролизе крахмала образуются в первую очередь промежуточные продукты – декстрины, а затем дисахарид мальтоза и даже глюкоза.

Гликоген – животный крахмал, имеет более разветвленное строение, чем амилопектин крахмала. Молекулярная масса в среднем составляет от 10 млн. до 1 млрд. единиц. В наибольшем количестве находится в печени (до 10–20 %) и мышцах (до 4 %).

Целлюлоза (клетчатка) – наиболее распространена в растительном мире. Имеет линейное строение, близкое к амилозе крахмала, но в качестве мономеров здесь выступают остатки β -D-глюкозы. Молекулярная масса точно не установлена.

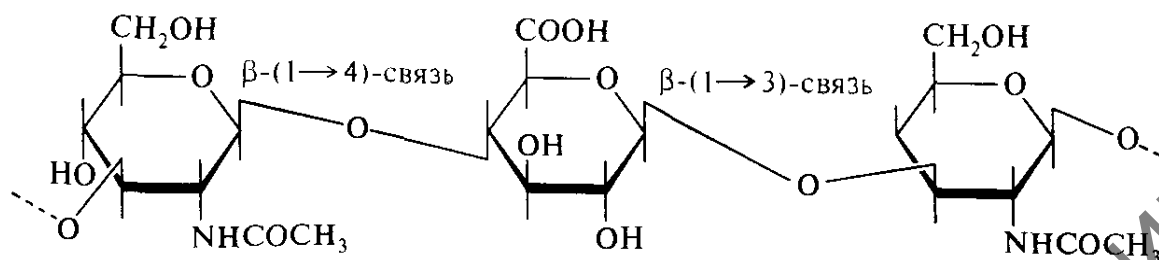


Целлюлоза

Клетчатка не переваривается в желудочно-кишечном тракте человека.

К структурным гетерополисахаридам относятся гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты, кератосульфаты. Поскольку водные растворы этих соединений гелеобразны, их называют мукополисахаридами (от лат. *mucos* – слизь).

Гиалуроновая кислота состоит из эквимольных количеств D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина, которые чередуются друг с другом в молекуле полисахарида.

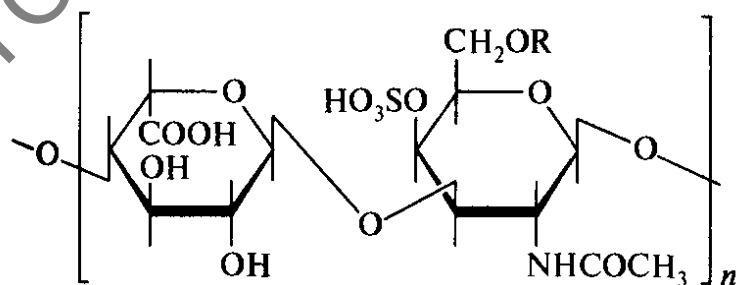


Гиалуроновая кислота

Этот полисахарид присутствует в соединительных тканях животных, а также в стекловидном теле глаза и в синовиальной жидкости. Обычно гиалуроновая кислота бывает связана с белками, комплексы гиалуроновая кислота – белок выделены из природных источников. Предполагают, что функция гиалуроновой кислоты заключается в том, чтобы связывать воду в интерстициальных пространствах и удерживать клетки вместе в желеподобном матриксе. Кроме того, она придает синовиальной жидкости смазочные свойства и способность смягчать удары.

Молекулярная масса гиалуроновых кислот, выделенных из разных источников, сильно колеблется – от нескольких сотен до нескольких тысяч kDa.

К **хондроитинсульфатам** относится, в частности, **хондроитин** – полисахарид, сходный с гиалуровой кислотой, в котором D-глюкозамин замещен O-галактозамином, является исходным соединением для трех D-полисахаридов, широко распространенных в качестве компонентов соединительной ткани, а именно для хондроитинсульфатов А, В и С.



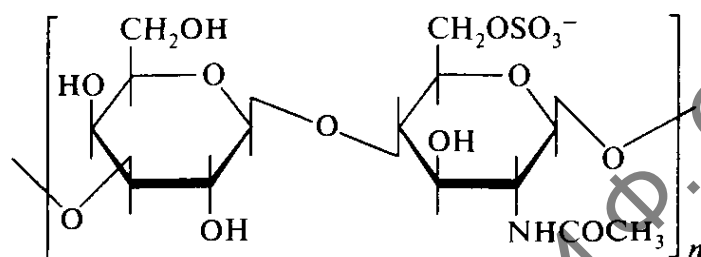
Хондроитинсульфат В

Хондроитинсульфаты А и С состоят из эквимольных количеств D-глюкуроновой кислоты, N-ацетил-D-галактозамина и сульфата.

Хондроитинсульфаты – неперенная составная часть хряща, костной ткани, сухожилий, сердечных клапанов и др. подобных тканей.

Соединяясь в организме с гиалуронидазой, хондроитинсульфаты препятствуют расщеплению гиалуроновой кислоты и этим способствуют защите организма от инфекции.

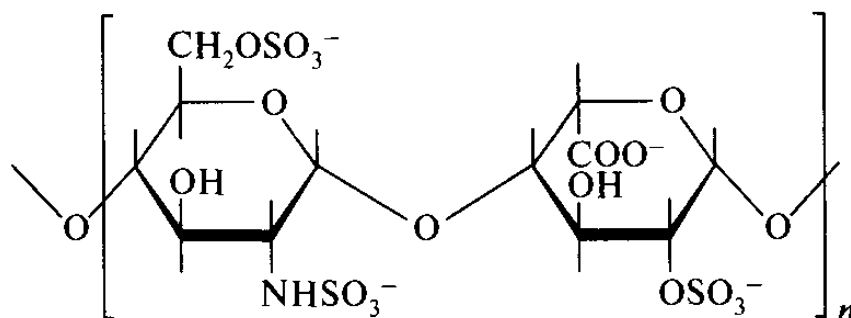
Кератосульфаты сходны с хондроитинсульфатами как в структурном отношении, так и по своему распространению. Кератосульфат является одним из главных полисахаридов соединительной ткани; кроме того, он встречается и в некоторых других тканях. Кератосульфат состоит из чередующихся остатков D-галактозы и N-ацетил-D-глюкозамин-сульфата, соединенных между собой чередующимися связями β -(1 \rightarrow 4)- и β -(1 \rightarrow 3)-типа.



Кератосульфат

Гепарин, открытый в 50-х гг. XX в., занимает среди гетерополисахаридов особое место. Он обладает важными биологическими свойствами, в частности является антикоагулянтом. Принимает участие в обмене липидов, влияет на холестериновый обмен, является регулятором по отношению к ряду ферментов. Используется в качестве стабилизатора крови при ее переливании, для лечения тромбозов, ожоговой болезни, сердечно-сосудистых заболеваний. Гепарин встречается главным образом в крови и лимфе млекопитающих, а также в органах, в которых содержатся тучные клетки, являющиеся местом синтеза и хранения гепарина. Обычно гепарин прочно связан с белком.

Основной повторяющейся единицей в молекулах гепарина служит, вероятно, изображенный ниже дисахарид (хотя помимо показанных присутствуют и другие связи).



сульфатированный
глюкозамин

сульфатированная
идурановая кислота

Полисахариды входят в состав группоспецифических веществ крови, являются веществами, определяющими антигенную специфичность бактериальных клеток, и обладают важным специфическим свойством — образовывать гликоконъюгаты — ковалент-носивязанные молекулы углеводов с белками, липидами и другими веществами. К гликоконъюгатам относятся гликопротеины, протеогликаны, гликолипиды, липогликаны, гликолипопротеины, тейхоевые кислоты.

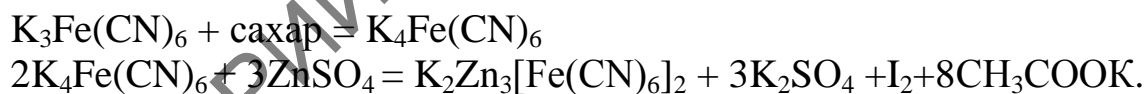
Практическая часть

Лабораторная работа

Определение растворимых сахаров методом Хагердона – Иенсена

Цель работы: определить растворимые сахара в растительном материале.

Принцип метода: принцип метода Хагердон-Иенсена заключается в том, что красная кровяная соль $K_3Fe(CN)_6$ в щелочном растворе может быть восстановлена в желтую кровяную соль $K_4Fe(CN)_6$. Так как реакция обратима, то желтая кровяная соль выводится из раствора вносимым в смесь серноокислым цинком; неиспользованное же количество красной кровяной соли определяется йодометрически. Последняя реакция должна протекать в уксуснокислой среде. Процесс идет следующим образом:



Реактивы, оборудование и исследуемый материал: смешанный раствор гексацианоферрата калия в карбонате натрия; тиосульфат натрия 0,05н раствор; крахмал 1 %-ный раствор; смешанный раствор йодида калия, сульфата цинка, хлорида натрия; сульфат цинка 4,5 %-ный раствор; гидроксид натрия 3 %-ный раствор; уксусная кислота 3 %-ный раствор; ступка и пестик; электроплитка; баня; бумажный фильтр, колба мерная объемом 50 мл; пипетка градуированная объемом 5 мл; колба коническая объемом 50 мл; микробюретка, стеклянная палочка; колба коническая с пробкой объемом 250 мл, стакан химический объемом 100 мл, стакан химический объемом 50 мл; цилиндр мерный объемом 100 мл; цилиндр мерный объемом 10 мл, груша резиновая, термометр, ножницы, колба коническая объемом 500 мл; сухой растительный материал.

Порядок выполнения работы. Берут небольшую навеску сухих листьев (примерно около 0,02 г). Навеску измельчают и растирают с небольшим количеством воды в ступке до совершенно однородной массы. Эту массу количественно переносят в небольшую колбочку. Для целей полного извлечения растворимых углеводов раствор нагревают при 70 °С на водяной бане около получаса. Для осаждения белков прибавляют к вытяжке 5 мл 4,5 % $ZnSO_4$ и 3 мл 2 %-ного $NaOH$ и нагревают 3 мин на кипящей водяной бане. Полученная смесь фильтруется горячей в мерную колбочку на 50 мл. Осадок на фильтре тщательно промывается горячей водой. После охлаждения фильтрат доводят до метки. Из колбочки берут пипеткой две пробы по 5 мл в каждой (в зависимости от содержания в пробе сахара величина ее может быть и больше и меньше 5 мл). Пробы сливают в две колбы объемом 50 мл и прибавляют в каждую из них по 2 мл раствора $K_3Fe(CN)_6$ в Na_2CO_3 , доливают 8 мл воды. Одновременно заряжают еще по две холостые пробы, каждая из которых будет состоять из 13 мл воды и 2 мл раствора $K_3Fe(CN)_6$ в Na_2CO_3 . Приготовленные таким образом смеси нагревают на кипящей водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения прибавляют в каждую колбу по 3 мл смешанного раствора $KI + ZnSO_4 + NaCl$ и по 2 мл 3%-ного раствора CH_3COOH и по 2 капли крахмального индикатора. Затем титруют 0,05 н раствором тиосульфата натрия из микробюретки до обесцвечивания раствора. Титрование холостых, т. е. содержащих воду и раствор $K_3Fe(CN)_6$ в Na_2CO_3 проб, необходимо, так как последний при кипячении может отчасти восстанавливаться сам по себе, т. е. при отсутствии сахара.

Для вычисления содержания сахара по данным титрования пользуются специальной таблицей, составленной Хагедорном на основании цифрового материала, полученного им в эксперименте с растворами сахара известной концентрации. В таблице в первой вертикальной колонке указано количество миллилитров гипосульфита, пошедшее на титрование, выраженное в целых и десятых долях миллилитра; в верхней горизонтальной колонке указаны сотые доли миллилитра – гипосульфита. На пересечении горизонтальной и вертикальной линий находят число, соответствующее количеству сахара в пробе, выраженное в миллиграммах. Из количества сахара, найденного в опытной пробе (среднее из двух определений), вычитают то количество «сахара» (редуцирующих веществ), которое обнаружено в контрольной пробе (среднее из двух определений).

Содержание сахара при определении по Хагердону-Иенсену

Гипосульфит, мл	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0,0	0,385	0,382	0,379	0,376	0,373	0,370	0,367	0,364	0,361	0,358
0,1	0,355	0,352	0,350	0,348	0,345	0,343	0,341	0,338	0,336	0,333
0,2	0,331	0,329	0,327	0,325	0,232	0,321	0,318	0,316	0,314	0,312
0,3	0,310	0,308	0,306	0,304	0,302	0,300	0,298	0,296	0,294	0,292
0,4	0,290	0,288	0,286	0,284	0,282	0,280	0,278	0,276	0,274	0,272
0,5	0,270	0,268	0,266	0,264	0,262	0,260	0,259	0,257	0,255	0,253
0,6	0,251	0,249	0,247	0,245	0,243	0,241	0,240	0,238	0,236	0,234
0,7	0,232	0,230	0,228	0,226	0,224	0,222	0,221	0,219	0,217	0,215
0,8	0,213	0,211	0,209	0,208	0,206	0,204	0,202	0,200	0,199	0,197
0,9	0,195	0,193	0,191	0,190	0,188	0,186	0,184	0,182	0,181	0,179
1,0	0,177	0,175	0,173	0,172	0,170	0,168	0,166	0,164	0,163	0,161
1,1	0,159	0,157	0,155	0,154	0,152	0,150	0,148	0,146	0,145	0,143
1,2	0,141	0,139	0,138	0,136	0,134	0,132	0,131	0,129	0,127	0,125
1,3	0,124	0,122	0,120	0,119	0,117	0,115	0,113	0,111	0,110	0,108
1,4	0,106	0,104	0,102	0,101	0,099	0,097	0,095	0,093	0,092	0,090
1,5	0,088	0,086	0,084	0,083	0,081	0,079	0,077	0,075	0,074	0,072
1,6	0,070	0,068	0,066	0,065	0,063	0,061	0,059	0,057	0,056	0,054
1,7	0,052	0,050	0,048	0,047	0,045	0,043	0,041	0,039	0,038	0,036
1,8	0,034	0,032	0,031	0,029	0,027	0,025	0,024	0,022	0,020	0,019
1,9	0,017	0,015	0,014	0,012	0,010	0,008	0,007	0,005	0,003	0,002

- Определение провести в трехкратной повторности.
- Провести математическую обработку.
- Сделать вывод.

Вопросы для самоконтроля

1. Приведите общую характеристику углеводов.
2. Какова биологическая роль углеводов?
3. Приведите классификацию углеводов:
 - моносахариды;
 - олигосахариды;
 - полисахариды.

ТЕМА «ТАНИНЫ»

Теоретическая часть

Танины (галлодубильные кислоты, дубильные кислоты) – фенольные соединения, включающие большое число групп –ОН.

Широко распространены в растительном царстве. Танины обладают дубящими свойствами и характерным вяжущим вкусом. Дубящее действие танинов основано на их способности образовывать прочные связи с белками, полисахаридами и другими биополимерами.

Танины делятся на 2 класса:

– *гидролизуемые танины* – образованные многоатомным спиртом, например, глюкозой, у которого гидроксильные группы частично или полностью этерифицированы галловой кислотой или родственными соединениями;

– *конденсированные танины* – образованные конденсацией фенольных соединений, например катехинов.

Гидролизуемые дубильные вещества объединяют галлотанины и эллаготанины.

К галлотанинам относятся сложные эфиры сахара и галловой кислоты. Одним из наиболее известных представителей является китайский танин (галлотанин или дубильная кислота). Его главный источник листья и галлы на листьях растения сумаха (*Rhus semialata*). Китайский танин применяется в медицине в виде вяжущего средства при ожогах и при желудочных заболеваниях, а также используется в кожевенной промышленности. Известен также турецкий танин из галлов на листьях дуба (*Quercus infectoria*). Его применение в медицине аналогично китайскому танину.

Эллаготанины (эллаговые дубильные вещества) распространены более широко, чем галлотанины. Они встречаются в 75 семействах двудольных растений. В качестве промышленных источников эллаговых дубильных веществ применяют желуди дуба, плоды терминалии, плоды цезальпии, а также кору дуба и испанского каштана.

Танины обнаруживаются в древесной коре, древесине, листьях, плодах (иногда в семенах, корнях и клубнях) множества растений. Большое их количество содержится в следующих растениях: дуб, каштан, акация, ель, лиственница, эвкалипт, камелия китайская (чай), какао, гранатник, хурма. Терпкий вкус, которым обладают плоды и листья многих растений, создается именно танинами. Дубильная кислота защищает растения от широкого спектра болезнетворных микробов,

а также защищает от употребления их в пищу насекомыми и животными.

Получают танины в основном из чернильных орешков дуба, акации, ели, каштана и др. В конечном виде полученный продукт представляет собой порошок светло-жёлтого цвета, обладающий слабым выраженным специфическим запахом и вяжущим вкусом. Порошок растворяется в воде, алкоголе и глицерине.

Водный раствор танинов имеет кислую реакцию и обладает выраженными дубильными свойствами. При взаимодействии с алкалоидами, растворами протеинов и солей тяжёлых металлов образуют осадки.

До середины XX в. использовались исключительно природные дубильные кислоты, которые добывали, главным образом, из чернильных орешков дубовой коры. Однако в 1950 г., благодаря развитию химии, был найден дешёвый способ получения искусственного танина. Синтетический танин, проявляя все свойства натуральных дубильных кислот, в то же время превосходит их по ряду критериев: синтетический танин можно получить в чистом виде, тогда как натуральный невозможно избавить от примесей; благодаря удобной консистенции стало возможным более точно отмерять дозировку; растения, из которых получают натуральные дубильные кислоты, не подвергаются контролю, в то время как производство искусственного танина контролируется на всех этапах. Ещё одним преимуществом синтетического танина является более продолжительный срок хранения. Кроме того, он не является красителем, в отличие от большинства природных соединений. Сегодня известен лишь один искусственный танин. На его основе производится ряд препаратов.

Танины находят широкое применение в промышленности: изготовление дублёной кожи и меха; изготовление чернил; протрава текстильных волокон; создание терпкого и вяжущего привкуса у тех или иных напитков; в качестве пищевого красителя.

Дубильные кислоты имеют широкое применение в медицине. Как правило, в клинической практике используется синтетический танин. Его используют: при воспалении ротовой полости, гортани или дёсен, при насморке, простуде, ларингите и др.; ожогах, язвах, некрозе мягких тканей; интоксикации алкалоидами (кроме морфия, кокаина, атропина, никотина, эзерина салицилата, которые с танином образуют связи, разрушаемые под воздействием желудочного сока); как вяжущие препараты; как противоядия (при интоксикации солями свинца, ртути и других тяжёлых металлов); как средства от диареи; в целях

улучшения свёртываемости крови; в целях лечения геморроя; различные дерматологические вирусные инфекции (экземы, экзантемы, герпетические инфекции и т. д.); вирусные патологии (ветрянка, папулёзный акродерматит и т. п.); лечение хирургических ран в урологии, проктологии и гинекологии; заживление ожогов первой степени и трещин заднего прохода; детские кожные заболевания (эритема ягодиц, импетиго, интертриго, потливость стоп и др.). Дубильные кислоты тормозят выведение организма аскорбиновой кислоты, а также улучшает её усвоение организмом. Кремы на основе синтетического танина предназначены для снятия отека, раздражения и зуда, способствуют снижению болевого синдрома и локальных воспалений. На здоровой коже действует как антиперспирант, снижая выделение пота и кожного жира. Также выпускаются порошки на основе танина для приготовления ванн и холодных компрессов.

Дубильными веществами принято называть соединения, способные модифицировать шкуру животных, превращая ее в кожу. В результате установления водородных связей между молекулами коллагена и фенольными оксигруппами фенольных соединений образуется устойчивая поперечносвязанная структура кожи, которая и придает ей свойства гидрофобности, эластичности и устойчивости к внешним воздействиям. Название танин (дубильное вещество) было предложено Сегеном в 1796 г. для обозначения группы соединений, которые используются для дубления шкуры животных при изготовлении кожи. В настоящее время широко используются синтетические дубильные вещества, однако при изготовлении высококачественной кожи применяются природные соединения. Для промышленного изготовления дубильных веществ используется древесина схинопсиса, каштана, эвкалипта, акации, листья сумаха, желуди некоторых видов дуба, корневища тарана дубильного и ревеня. Кроме использования в кожевенной промышленности природные дубильные вещества нашли свое применение в качестве коллоидных стабилизаторов растворов, в качестве пластификаторов в производстве пластмасс и связующих материалов, а также в фармацевтической промышленности. Средняя молекулярная масса природных дубильных веществ составляет 500–4 000, хотя может достигать и 20 000. Оптимальными дубильными свойствами обладают соединения с молекулярной массой от 500 до 3 000, содержащие большое количество гидроксильных групп, необходимых для образования эффективных перекрестных связей с белками кожи.

Практическая часть

Лабораторная работа

Определение содержания танинов в растительном материале (перманганатный метод)

Цель работы: освоить перманганатный метод определения содержания танинов в растительном материале.

Принцип метода: в основу метода положена реакция окисления танинов марганцово-кислым калием в присутствии индигокармина.

Реактивы, оборудование и исследуемый материал: кислота серная H_2SO_4 разбавленный 1:4 раствор; индигокармин, раствор в H_2SO_4 ; перманганат калия $KMnO_4$ 0,05н; уголь активированный.

Подготовка пробы к анализу. Для извлечения органических кислот из плодов, ягод и грибов отбирают среднюю пробу свежего продукта и растирают пестиком в фарфоровой ступке. Из полученной кашицеобразной массы в стаканчики на 100 мл отбирают в 3-х кратной повторности навески по 10 г с точностью до 0,01 г. В стаканчики с пробами приливают по 60 мл горячей (70–80 °С) дистиллированной воды и перемешивают содержимое. Стаканчики ставят на 30 мин в водяную баню при температуре 80–90 °С, время от времени перемешивая. Горячую вытяжку фильтруют через сухой фильтр «белая лента» в мерные колбы емкостью 100 мл, многократно обмывая стаканчики водой, и охлаждают до комнатной температуры. Фильтрат должен быть прозрачным. Объем фильтрата доводят до метки водой.

Порядок выполнения работы. В коническую колбу емкостью 250 мл пипеткой Мора отбирают 20 мл фильтрата, добавляют 100 мл воды, 3 мл раствора индигокармина и 2,5 мл раствора серной кислоты. Смесь титруют 0,05 н раствором перманганата калия с помощью магнитной мешалки. Следует использовать бюретку на 5 мл.

Титрование ведут со скоростью одной капли в секунду до появления слабо-розового оттенка, хорошо заметного по краям. При этом цвет раствора постепенно изменяется от синего через темно-зеленый, зеленовато-желтый в золотисто-желтый. Повторность определения трехкратная. Титрование необходимо проводить при строго одинаковых условиях (температура раствора, скорость титрования) при хорошем освещении.

Для внесения поправки на остальные окисляющиеся составные части исследуемой вытяжки проводят контрольный анализ по каждой пробе, в которой танины удаляют путем адсорбции их активированным

углем. В контроле в стаканчик 100–150 мл берут также 20 мл исследуемого фильтрата и прибавляют к нему 1,5 г активируемого угля, в порошок, нагревают 40 мин на водяной бане при помешивании и фильтруют в коническую колбу, обмывая стаканчик в несколько приемов.

Уголь на фильтре промывают водой. В колбу приливают такой объем воды, чтобы (общий объем раствора составлял 120 мл), добавляют 3 мл индигокармина и 2,5 мл раствора H_2SO_4 и титруют 0,05 н раствором перманганата. При этом в вытяжке титруются все окисляющиеся вещества, кроме танинов и пигментов.

Содержание танинов вычисляют в процентах (x) по формуле:

$$X = \frac{(a-b) \cdot 0,004157 \cdot V \cdot 100}{c \cdot 2V_1},$$

где $(a-b)$ – разность результатов титрования, полученных в первом и во втором (контрольном) опыте, мл 0,05н раствора $KMnO_4$;

c – навеска исследуемого растительного материала, г;

0,004157 – коэффициент пересчета результата титрования в танины (дубильные вещества), т. е. 1 мл 0,1 н перманганата соответствует 0,004157 г танинов;

V – общий объем вытяжки;

V_1 – объем фильтрата, взятого для анализа.

- Определение провести в трехкратной повторности.
- Провести математическую обработку.
- Сделать вывод.

Вопросы для самоконтроля

1. Дайте общую характеристику танинов.
2. Приведите классификацию танинов.
3. Охарактеризуйте практическое применение танинов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Кретович, В. Л. Биохимия растений / В. Л. Кретович. – М. : Высшая школа, 1986. – 350 с.
2. Леонтьев, В. Н. Химия биологически активных веществ : электронный курс лекций для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология» / В. Н. Леонтьев, О. С. Игнатовец. – Минск : БГТУ, 2013. – 151 с.
3. Филипцова, Г. Г. Основы биохимии растений : курс лекций / Г. Г. Филипцова, И. И. Смолич. – Минск : БГУ, 2004. – 136 с.
4. Филипцова, Г. Г. Биохимия растений : методические рекомендации к лабораторным занятиям, задания для самостоятельной работы студентов / Г. Г. Филипцова, И. И. Смолич. – Минск : БГУ, 2004. – 60 с.
5. Филиппович, Ю. Б. Основы биохимии / Ю. Б. Филиппович. – М. : Агар, 1999. – 276 с.
6. Муравьёва, Д. А. Фармакогнозия с основами биохимии лекарственных веществ / Д. А. Муравьёва. – М. : Медицина, 1981. – 305 с.
7. Биологически активные вещества растительного происхождения / Б. Н. Головкин [и др.]. – М. : Наука, 2001. – 380 с.
8. Племенков, В. В. Введение в химию природных соединений / В. В. Племенков. – Казань : [б. и.], 2001. – 376 с.

Дополнительная

9. Гребинский, С. А. Биохимия растений / С. А. Гребинский. – Львов : Химия, 2003. – 194 с.
10. Рубин, Б. А. Биохимия и физиология иммунитета растений / Б. А. Рубин, Е. В. Арцитовская, В. А. Аксёнова. – М. : Высшая школа, 2001. – 195 с.
11. Дэвис, Д. Биохимия растений / Д. Дэвис, Дж. Джованелли. – М. : Мир, 2000. – 135 с.
12. Природные биологически активные вещества. Прикладная органическая химия / А. Т. Солдатенков [и др.]; под ред. А. Т. Солдатенкова. – Ханой : издательство Знания, 2016. – 376 с.
13. Гомазков, О. А. Физиологически активные пептиды / О. А. Гомазков. – М. : ИПГМ, 1995. – 73 с.
14. Запрометов, М. Н. Фенольные соединения: распространения, метаболизм и функции в растениях / М. Н. Запрометов. – М. : Высшая школа, 1993. – 89 с.
15. Варфоломеев, С. Д. Простагландины – молекулярные биорегуляторы / С. Д. Варфоломеев. – М. : Изд-во Московского ун-та, 1985. – 60 с.

Производственно-практическое издание

**Беляева Людмила Александровна,
Пырьх Ольга Викторовна**

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ ВЕЩЕСТВА

Практическое пособие

Редактор В. И. Шкредова
Корректор В. В. Калугина

Подписано в печать 11.11.2021. Формат 60x84 1/16.
Бумага офсетная. Ризография.
Усл. печ. л. 2,8. Уч.-изд. л. 3,1.
Тираж 25 экз. Заказ 602.

Издатель и полиграфическое исполнение:
учреждение образования

«Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины».

Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 3/1452 от 17.04.2017 .

Специальное разрешение (лицензия) № 02330 / 450 от 18.12.2013.

Ул. Советская, 104, 246028, Гомель

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

РЕПОЗИТОРИЙ ГГУ ИМЕНИ Ф. СКОРИНЫ

**Л. А. БЕЛЯЕВА
О. В. ПЫРХ**

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ
ВЕЩЕСТВА**

Гомель
2021