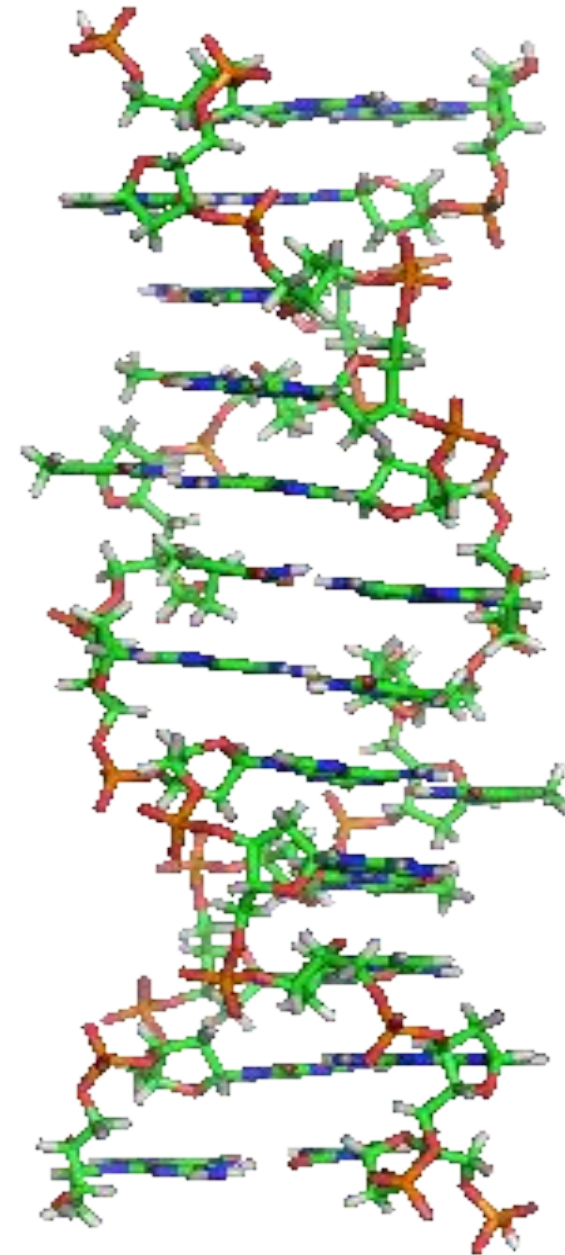


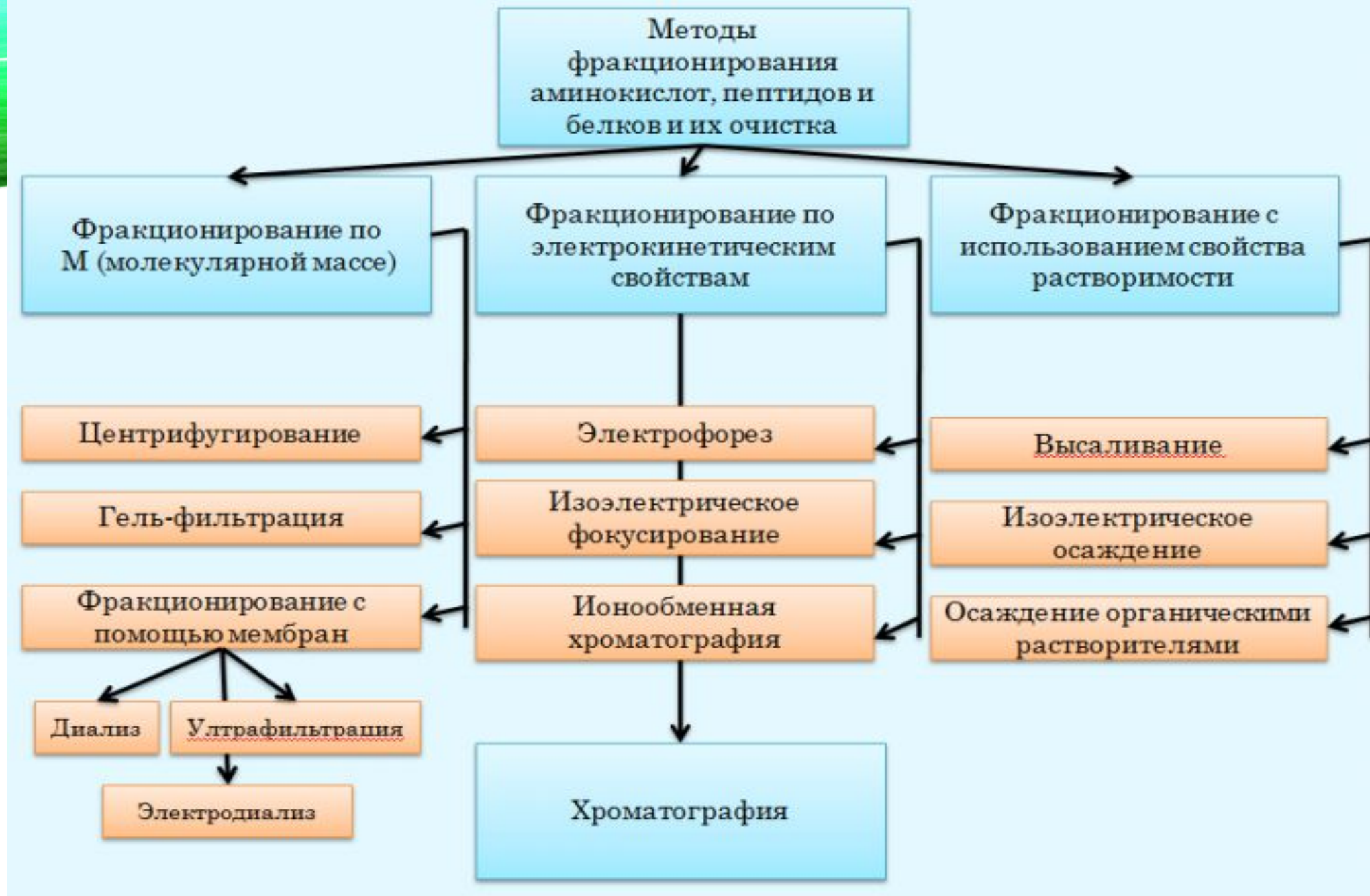
ИССЛЕДОВАНИЕ БЕЛКОВ И АМИНОКИСЛОТ В ПИЩЕВОМ СЫРЬЕ И ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ

БУРМАГИНА Т.Ю., 123 ГРУППА
ВОЛОГОДСКАЯ ГМХА
17.11.2018



- Белками или белковыми веществами называются сложные высокомолекулярные полимеры, молекулы которых построены из остатков аминокислот.
- Существует огромное количество методов и модификаций методов определения содержания белков, пептидов и аминокислот:
 - метод Кьельдаля;
 - УФ-спектрофотометрия;
 - биуретовый метод;
 - метод Лоури;
 - хроматография;
 - различные виды титрования и др.

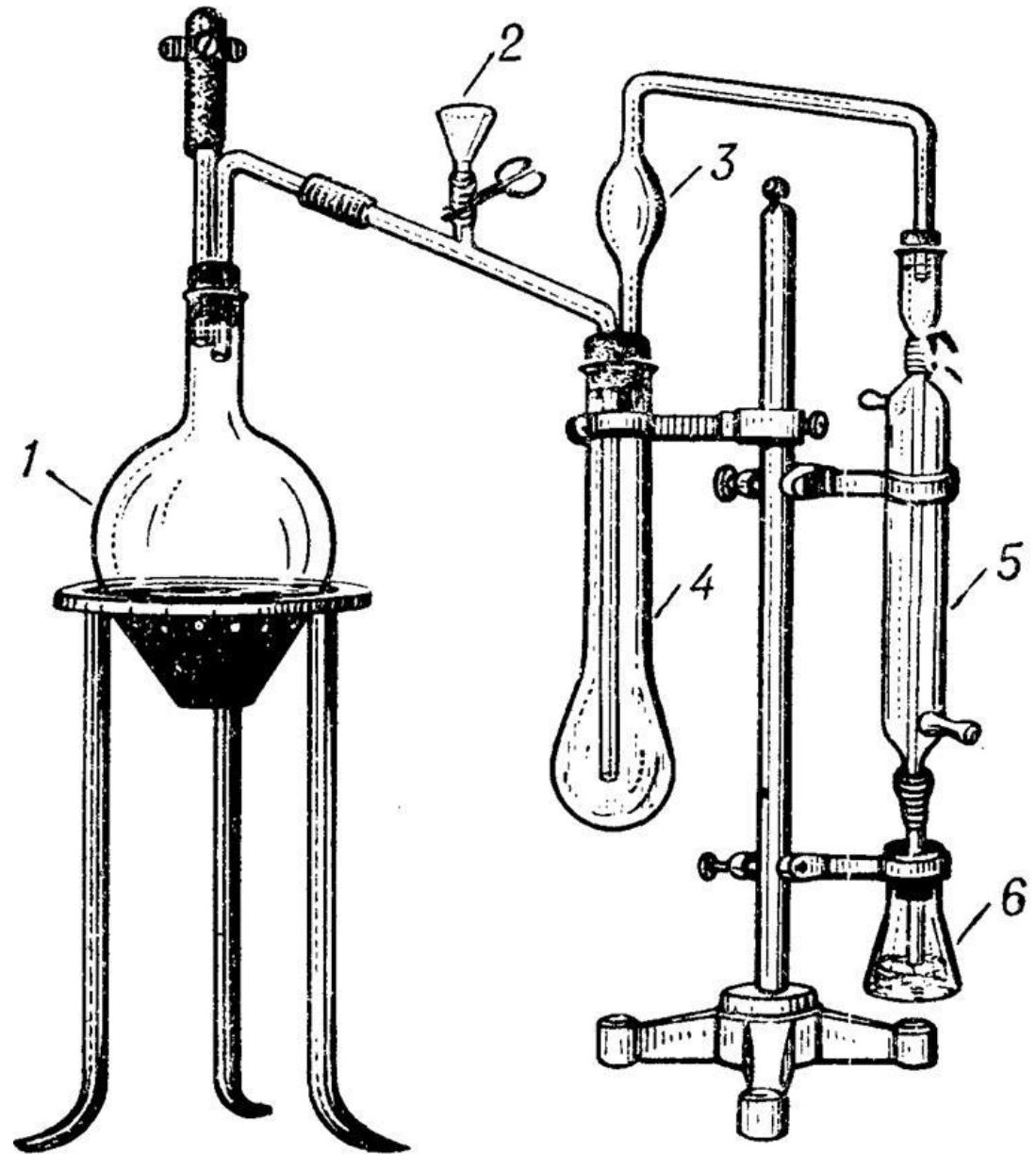




Основные методы фракционирования аминокислот, пептидов и белков.

МЕТОД КЬЕЛЬДАЛЯ

- ГОСТ 23327-98 Молоко и молочные продукты. Метод измерения массовой доли общего азота по Кьельдалю и определение массовой доли белка
- ГОСТ Р 53951-2010 Продукты молочные, молочные составные и молокосодержащие. Определение массовой доли белка методом Кьельдаля



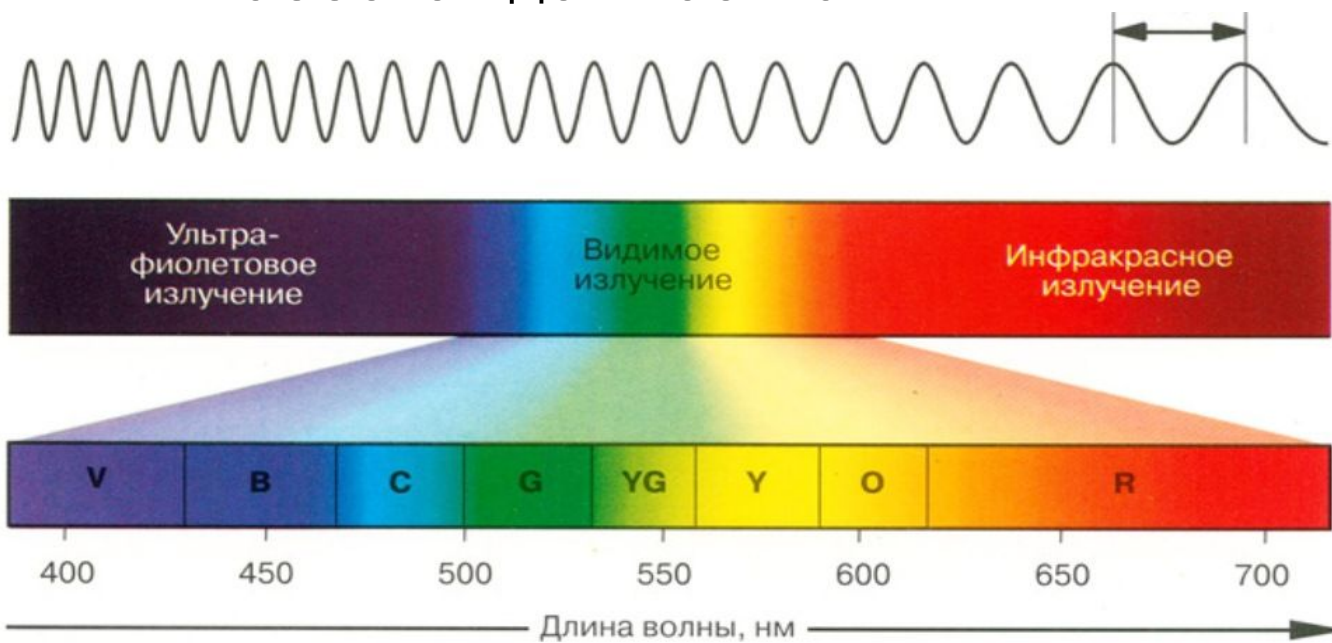
МЕТОД КЬЕЛЬДАЛЯ

Комплект оборудования для анализа по Кьельдалю на базе АКВ-10 продвинутый



КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

- Колориметр – прибор для измерения интенсивности цвета в какой-либо цветовой модели или для сравнения интенсивности окраски исследуемого раствора со стандартным.
- ГОСТ 25179-2014 Молоко и молочные продукты. Методы определения массовой доли белка

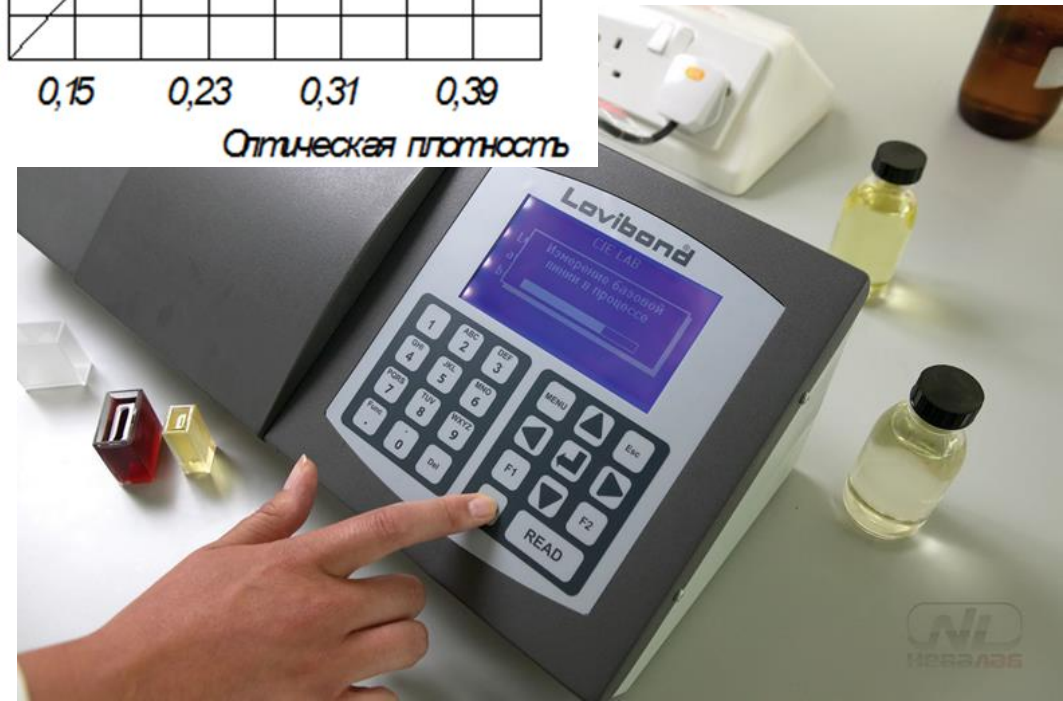
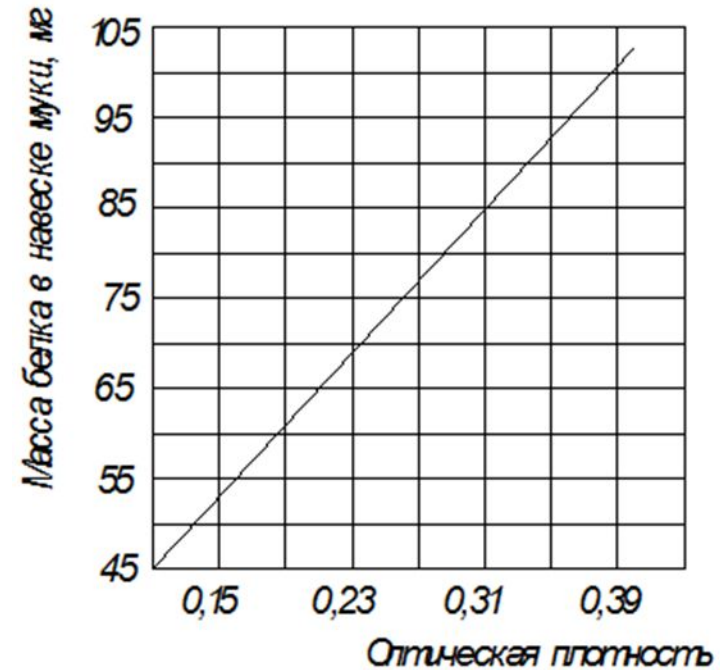


Оптический диапазон электромагнитных излучений и спектр видимого света



БИУРЕТОВЫЙ МЕТОД

- Биуретовую реакцию дают все белки, пептоны и полипептиды, начиная с тетрапептидов.
- Реакция длительное время использовалась как качественная реакция на белок. В дальнейшем она стала применяться для количественного определения белка в различных объектах.
- Наиболее часто используется биуретовый метод определения белка в модификации Дженнинга.



НЕФЕЛОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

- Метод основан на измерении интенсивности светового потока, рассеянного твердыми или коллоидными частицами, находящимися в растворе во взвешенном состоянии. По интенсивности светорассеяния, определяемой нефелометром, судят о концентрации исследуемого вещества.
- Концентрация белка может быть определена по интенсивности опалесценции.
- Нефелометрический метод с использованием сульфосалициловой кислоты отличается быстротой, высокой точностью, простотой и хорошей корреляцией с методом Кьельдаля.



РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД

- ГОСТ 25179-2014 Молоко и молочные продукты. Методы определения массовой доли белка
- Метод основан на установлении разности показателей преломления исследуемого вещества и раствора, полученного после осаждения белков раствором хлористого кальция при кипячении.
- Содержание белка в молоке (в %) рассчитывают по формуле

$$\text{или } X_1 = X_2 - X_3$$



УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ

- Спектрофотометр – прибор, предназначенный для измерения отношений двух потоков оптического излучения, один из которых – поток, падающий на исследуемый образец, другой – поток, испытавший взаимодействие с образцом.
- Белки и пептиды, содержащие ароматические аминокислоты можно определять методом абсорбционной УФ-спектрофотометрии.
- Концентрацию белка вычисляют по формуле: $a = 1,45 D_{280} - 0,74 D_{260}$

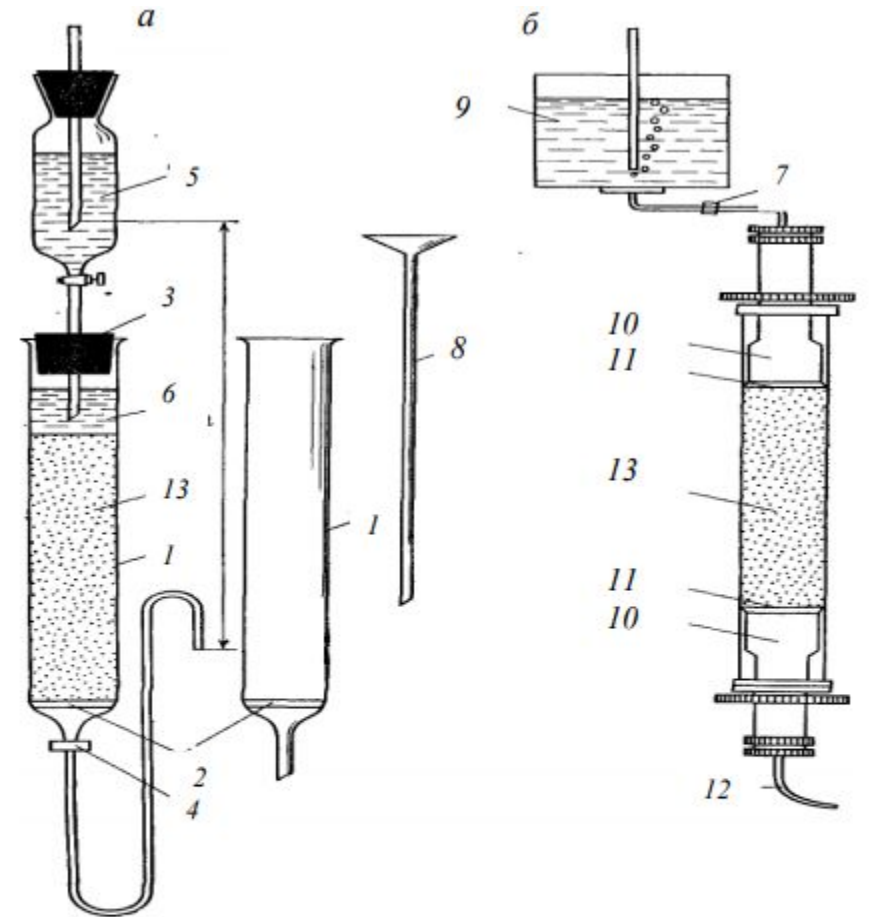


ХРОМАТОГРАФИЯ

- Хроматография - метод разделения и анализа смесей веществ, а также изучения физико-химических свойств веществ. Основан на распределении веществ между двумя фазами — неподвижной (твёрдая фаза или жидкость, связанная на инертном носителе) и подвижной (газовая или жидкая фаза, элюент).



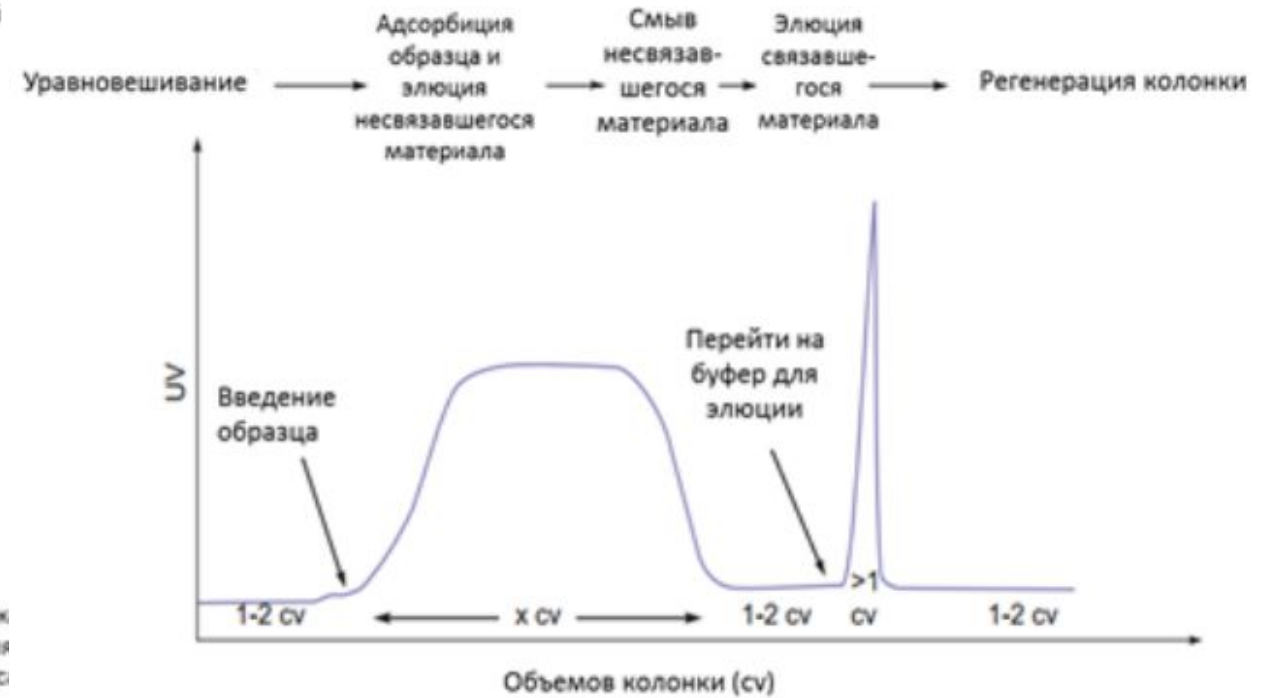
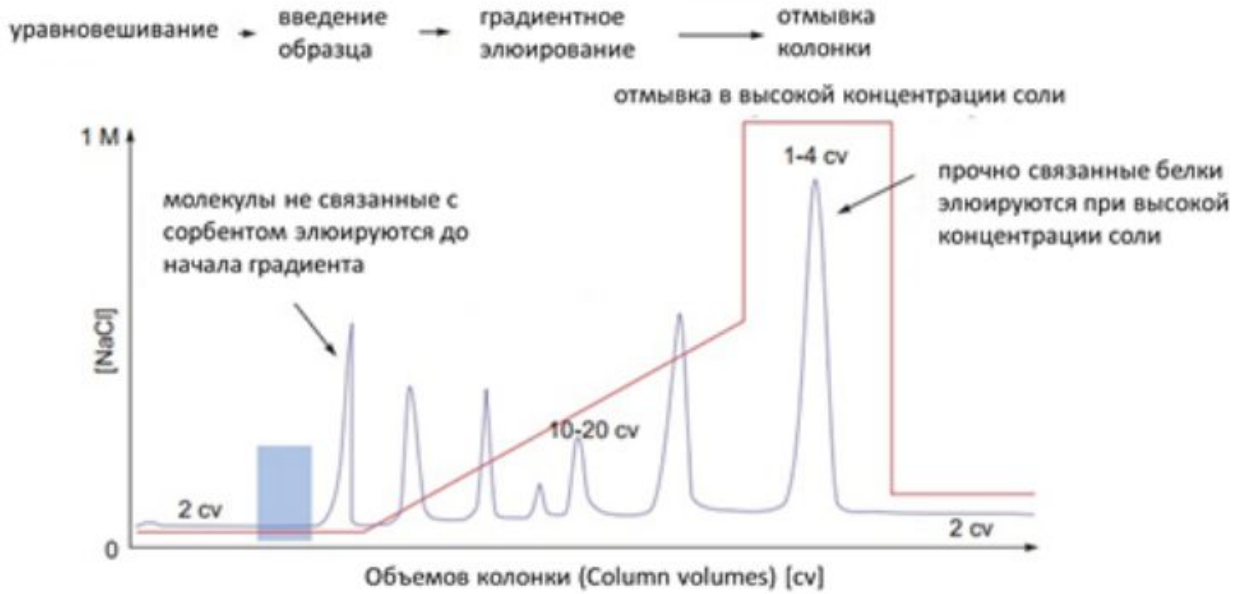
Хроматографическая система Bio-Rad BioLogic LP



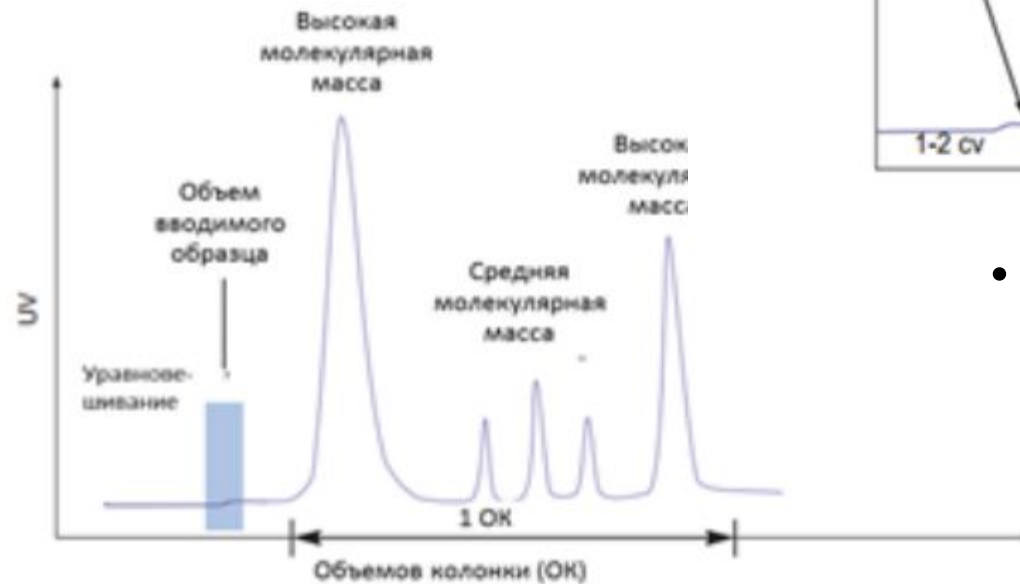
Хроматографические колонки упрощенного (а) и усложненного (б) варианта:

1 – стеклянная колонка; 2 – перфорированный диск; 3 – пробка со стеклянной трубкой; 4, 7 – кран-зажим; 5, 9 – верхний резервуар; 6 – буферный раствор над гелем; 8 – стеклянный поршень; 10 – адаптеры; 11 – сетка из нейлона; 12 – капиллярный шланг, соединенный с регистрирующим устройством и (или) коллектором фракций; 13 – сорбент

ХРОМАТОГРАММЫ



- хроматограмма аффинного разделения

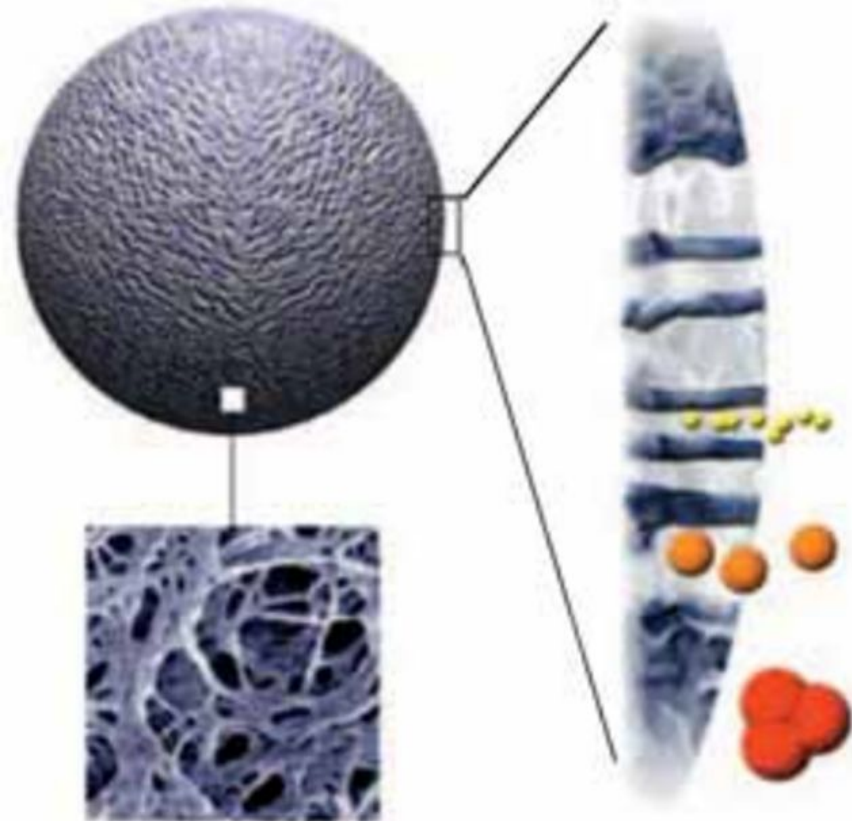


- ГФ-хроматограмма

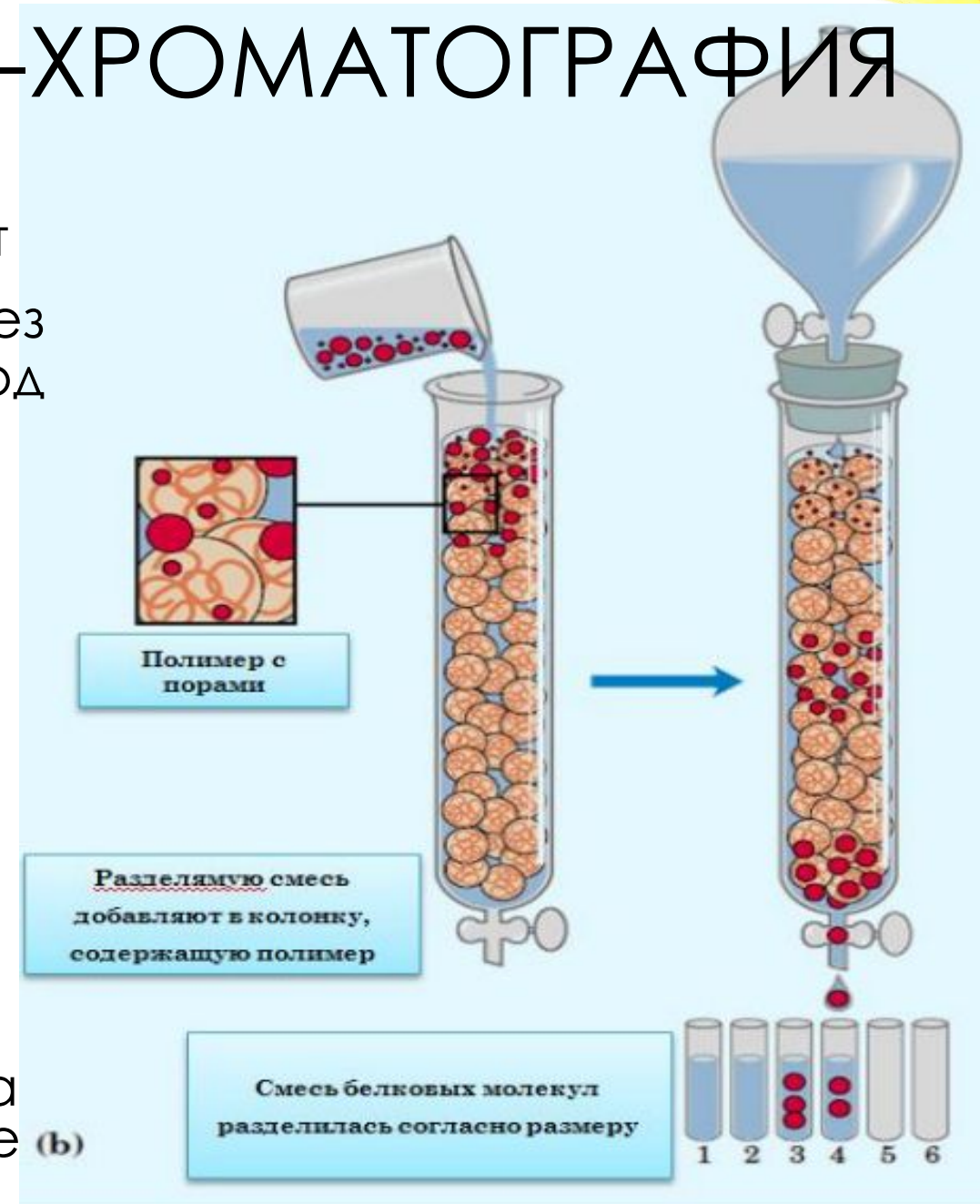
- хроматограмма ионнообменного разделения

ГФ-ХРОМАТОГРАФИЯ

- гель-фильтрация или метод молекулярных сит
- заключается в пропускании белков через колонку с гелем и представляет собой метод разделения в соответствии с их размером



- Изображение шарика сорбента и его электронное приближение.



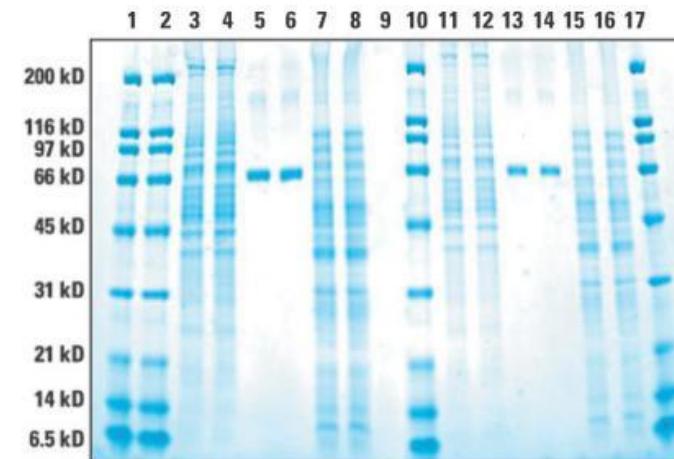
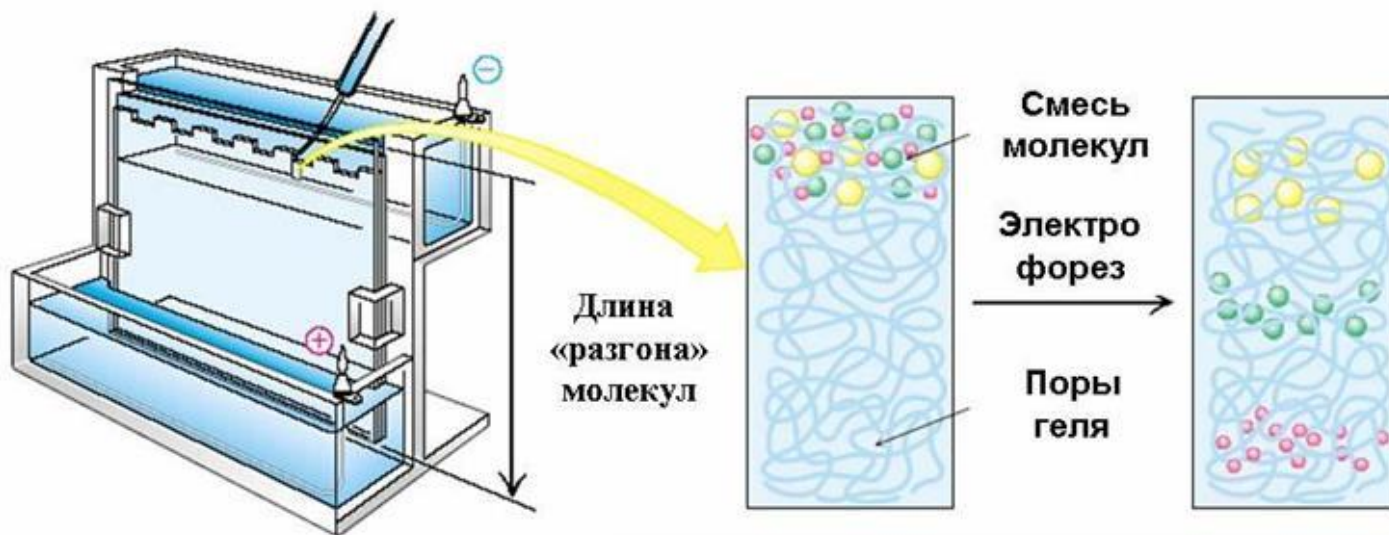
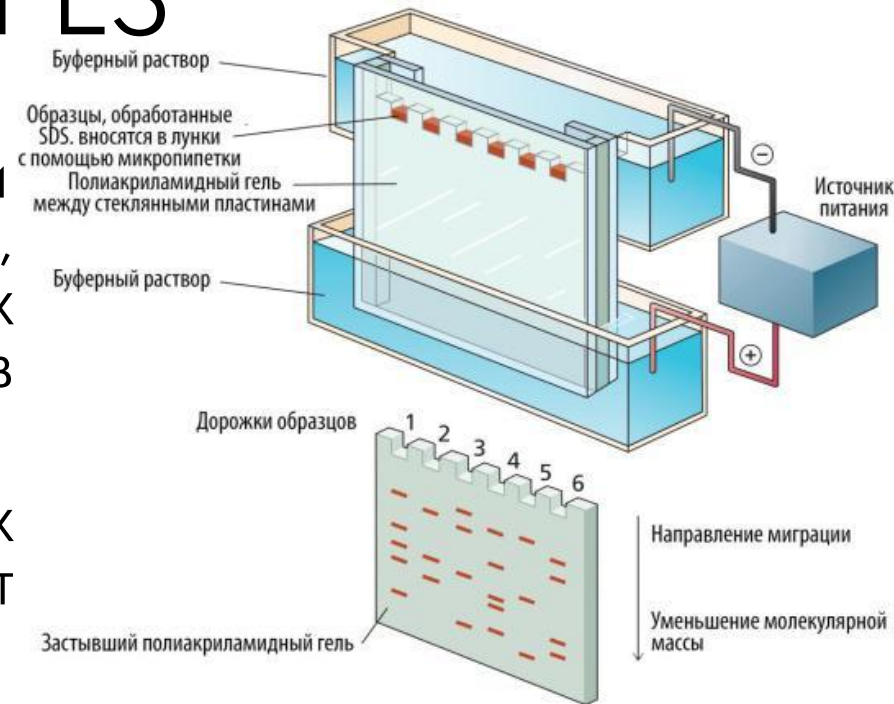
Принцип гельфильтрации

ХРОМАТОГРАФЫ

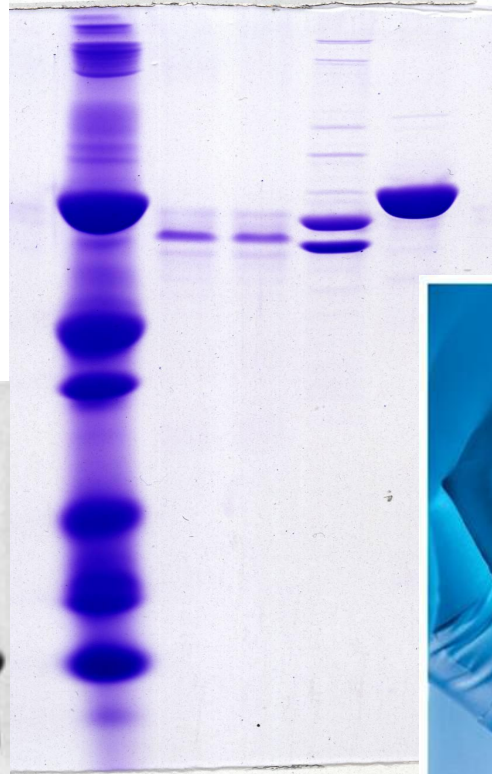
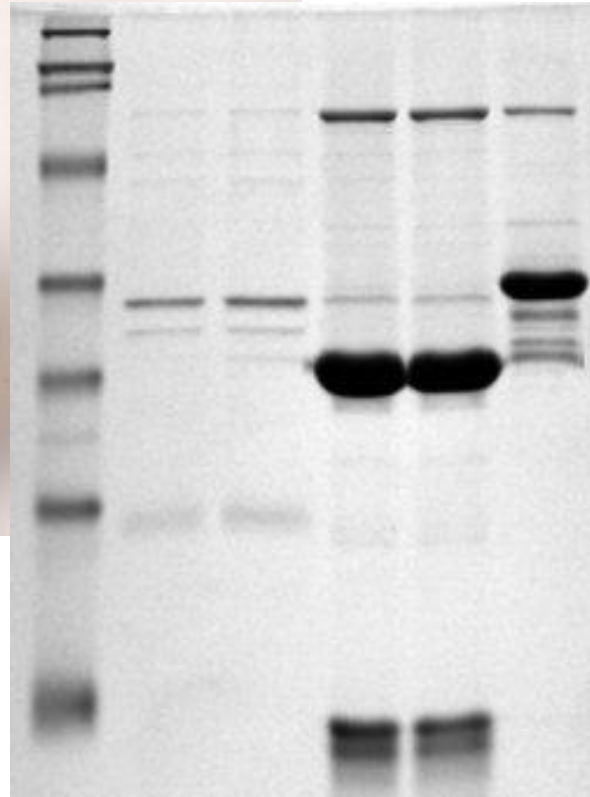


ЭЛЕКТРОФОРЕЗ

- Электрофорез белков – способ разделения смеси белков на фракции или индивидуальные белки, основанный на движении заряженных белковых макромолекул различного молекулярного веса в стационарном электрическом поле.
- При анализе пищевых белков и продуктов их гидролиза чаще всего используют полиакриламидный гель-электрофорез.



ФОТОГРАФИИ ПААГ С ФРАКЦИОНИРОВАННЫМИ БЕЛКАМИ



ЛИТЕРАТУРА

- Элтеш С. Методы анализа пищевых продуктов. Определение компонентов и пищевых добавок / С. Элтеш. – пер. с англ. – СПб.: Профессия, 2016. – 564 с.
- Семак И.В Биохимия белков: практикум / И.В. Семак, Т.Н. Зырянова, О.И. Губич. – Минск: БГУ, 2007. – 49 с.
- Нолтинг Б. Новейшие методы исследования биосистем / Б. Нолтинг. – М.: Техносфера, 2005. – С. 52 – 75.
- Giorgio Carta. Protein Chromatography: Process Development and Scale Up/ Giorgio Carta, Alois Jungbauer. – Wiley VCH.2010. – 346 p.
- Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот / Л.А. Остерман. – М.: Наука, 1985. – 536 с.
- Шаповалова Е.Н Хроматографические методы анализа: методическое пособие для специального курса / Е.Н. Шаповалова, А.В. Пирогов. – МГУ, 2007. – 203 с.
- Ибрагимов А.Н. [и др.] Хроматографические методы очистки белков. Учебно-методическое пособие. – Казань: ФГАОУ ВПО КФУ, 2013. – 48 с.
- Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: Электрофорез и ультрацентрифугирование / Л.А. Остерман. – М.: Мир, 1981. – 288 с.

