

**Учреждение образования  
«БЕЛОРУССКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»**

**Кафедра химии**

# **ХИМИЯ**

**Лабораторный практикум**

**Лабораторная работа  
Биохимия мышечной ткани.**

## Лабораторная работа

В среднем в организме животных 40-45 % от всей массы тела приходится на мышцы. Мышечная ткань содержит воды 70-80 % и сухого вещества 20-30 %. Сухое вещество представлено минеральными соединениями (до 1,5 %) и органическими веществами, такими, как: белки, небелковые азотистые экстрактивные вещества (креатин, карнозин, ансерин), безазотистые вещества (углеводы, липиды).

Мышцы являются важнейшей тканью организма, обеспечивающей подавляющее большинство его функций. Работа мышц в организме связана с функцией их сокращения, в основе которой лежит превращение химической энергии в механическую. Основным структурным элементом скелетных мышц является мышечное волокно. Это многоядерная гигантская клетка длиной от нескольких миллиметров до десятков сантиметров (длиннейшая мышца спины). Важнейшей составной частью мышечной ткани являются белки, они различаются по физико-химическим и биологическим свойствам. В связи с чем выделяют белки саркоплазмы (миоген, миоглобин, глобулины), белки миофибрилл (миозин, актин, тропомиозин), белки стромы (коллаген, эластин, нейрокератин). Белки мышц можно разделить на ряд фракций с помощью последовательной экстракции водой, солевыми и щелочными растворами.

**Цель занятия.** Изучить химический состав мышечной ткани различных видов животных. Выделить из биологической ткани (мышцы) альбумины, глобулины, склеропротиды, изучить их свойства и биологическое назначение.

**Материалы и оборудование.** Гидроксид натрия, 10%-ный раствор; сульфат меди, 1%-ный раствор; сульфат аммония, кристаллический; трихлоруксусная кислота, 6%-ный раствор; сульфат аммония, насыщенный раствор; хлорид аммония, 10 %-ный раствор; серная кислота (у. в. 1,84); уксусная кислота (ледяная); мышца. Шуттель-аппарат, химические стаканчики, ножницы, воронки, штатив с пробирками, пипетки, марля.

**Опыт 1. Выделение альбуминовой фракции.** Свжую мышцу освобождают от жира, соединительной ткани и тщательно измельчают. 8-10 г измельченной мышцы помещают в химический стакан, заливают тройным объемом дистиллированной воды и экстрагируют, взбалтывая на шуттель-аппарате в течение 20 мин. Вытяжку отделяют фильтрованием через три слоя марли в другой химический стакан, а

оставшуюся мышечную кашицу сохраняют для последующей солевой экстракции. В водный экстракт переходят белки саркоплазмы – миоген, миоальбумин и миоглобин, с которыми проводят следующие реакции.

В 4 пробирки наливают по 2 мл полученного экстракта. Для определения белка в экстракте в первой пробирке проводят биуретовую реакцию (добавляют 2 мл 10%-ного NaOH и 1-3 капли 1%-ного  $\text{CuSO}_4$  – появляется фиолетовое окрашивание). Во вторую пробирку добавляют порошок сульфата аммония до насыщения, при этом выпадает осадок альбуминов. В других пробирках проводят реакции на осаждение белков солями тяжелых металлов (ацетат свинца, сульфат меди) и органическими кислотами (трихлоруксусная кислота, сульфосалициловая кислота).

**Опыт 2 Выделение глобулиновой фракции.** Остаток мышечной кашицы после экстракции водой помещают в стаканчик, заливают двойным объемом 10%-ного раствора хлорида аммония и экстрагируют при встряхивании в течение 30 мин. Солевой экстракт отфильтровывают через три слоя марли. Остаток мышечной ткани на фильтре сохраняют для дальнейшего исследования. В солевой экстракт переходят белки глобулиновой фракции – миозин и актомиозин.

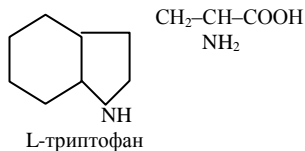
В три пробирки наливают по 2 мл полученного солевого экстракта мышц. В первой пробирке наличие белка устанавливают с помощью биуретовой реакции. Во вторую пробирку добавляют равный объем насыщенного раствора сульфата аммония, при этом наблюдают выпадение осадка миозина и актомиозина. К экстракту в третьей пробирке добавляют дистиллированную воду до появления осадка нерастворимых в воде миозина и актомиозина.

**Опыт 3. Выделение склеропротеидов.** В остатке мышечной ткани после экстракции водными и солевыми растворами содержатся склеропротеины (коллаген и эластин).

Остаток мышечной ткани помещают в химический стакан, заливают тройным объемом воды и кипятят в течение 30 мин, сохраняя объем жидкости в стакане периодическим добавлением горячей воды. При кипячении коллаген, подвергаясь неглубокому гидролизу, превращается в растворимую в воде желатину.

Горячий раствор отфильтровывают в пробирку и в фильтрате открывают желатину с помощью биуретовой реакции. Желатина не содержит триптофан и тирозин, но богата пролином. На фильтре остаются тонкие волокна и пленки эластина.

**Опыт 4. Качественная реакция на аминокислоту триптофан (реакция Адамкевича).** L-триптофан ( $\alpha$ -амино-  $\beta$ -индолилпропионовая кислота) находится почти во всех белках, но практически отсутствует в склеропотеинах (коллагене и эластине). Эти белки богаты пролином.



Характеристика питательной ценности мяса предусматривает определение триптофан-оксипролинового показателя. Чем больше триптофана содержится в мышцах, тем выше питательная ценность мяса.

Реакция Адамкевича основана на том, что при нагревании растворов белков со смесью крепкой серной и ледяной уксусной кислот появляется красивое красно-фиолетовое окрашивание, обусловленное взаимодействием аминокислоты триптофана с глиоксиловой кислотой, находящейся в уксусной кислоте в виде примеси.

К свежеприготовленной смеси (2 мл концентрированной серной и 4 мл ледяной уксусной кислот) прибавляют 2-3 мл экстрактов, полученных в опытах 1-3, и нагревают содержимое пробирок, при этом через непродолжительное время смесь с экстрактом из опытов 1 и 2 приобретает красно-фиолетовую окраску, а смесь с экстрактом, где содержались белки коллаген и эластин (экстракт из опыта 3), не дает подобного окрашивания.

## ЛИТЕРАТУРА

### *Основная*

1. Барковский, Е. В. Введение в химию биогенных элементов и химический анализ: учеб. пособие / Е. В. Барковский, С. В. Ткачев, Г. Э. Атрахимович и др. – М.: Высшая школа, 1997. – 126 с.
2. Биохимия животных: Учебник для студ. зооинженер. и ветеринарн. ф-тов с/х вузов / А.В. Четкин, И.Д. Головацкий, П.А. Калиман, В.И. Воронянский /Под ред. проф. А.В.Четкина. – М., Высш. школа, 1982. – 511 с.
3. Грандберг, И.И. Органическая химия: Учебник для студентов вузов обучающихся по агрономическим специальностям 6-ое изд, стереотипное. – Дрофа:– 2004. – 672 с.
4. Князев Д. А. Неорганическая химия/ Д. А. Князев, С. Н. Смарицын. – М.: Высш. шк., 1990. - 425 с.
5. Кононский, А.И. Биохимия животных: учебник пособие для вузов/ А. И. Кононский. – Киев: Вища школа. Головное изд-во, 1980. – 432 с.
6. Химия. Лабораторный практикум: учеб. пособие/А. Р. Цыганов, О. В. Поддубная, И. В. Ковалева, Т. В. Булак.–Минск: ИВЦ Минфина, 2015. – 320 с.
7. Химия. Общая химия с основами аналитической : учебно-методическое пособие / А. Р. Цыганов [и др.]. – Горки : БГСХА, 2012. – 204 с. ISBN 978-985-467-393-6.
8. Цыганов, А.Р. Биохимия практикум: учебное пособие / А.Р. Цыганов, И.В. Сучкова, И.В. Ковалева. – Минск: ИВЦ Минфина, 2007. – 150 с.
9. Цыганов, А. Р. Сборник задач и упражнений по химии : учеб. пособие / А. Р. Цыганов, О. В. Поддубная. – Минск : ИВЦ Минфина, 2013. – 234 с.

### *Дополнительная*

1. Алешин, В.А. и др. Практикум по неорганической химии - М.: Издат. Центр "академия", 2004. – 384 с.
2. Березов, Т.Т. Биологическая химия: учебник / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – М.: Медицина, 1998. - 704 с.
3. Белясова, Н.А. Биохимия и молекулярная биология: учеб. пособие. – Минск: Книжный дом, 2004. – 416 с.
4. Введение в лабораторный практикум по неорганической химии: Учеб. пособие / В.В. Свиридов, Г.А.Попкович и др. – Мн: Выш. шк., 2003. – 96с.
5. Зайцев, С.Ю. Биохимия животных. – Санкт-Петербург: Изд-во «Лань», 2004.- 382с.
6. Кудряшов Л. С. Физико-химические и биохимические основы производства мяса и мясных продуктов. - М.: ДеЛи принт, 2008. - 160 с.
7. Ленский, А. С. Введение в бионеорганическую и биофизическую химию / А. С. Ленский. – М.: Высшая школа, 1989.
8. Метревели, Т.В. Биохимия животных. Санкт-Петербург: Изд-во «Лань», 2004.- 295с.
9. Микробиологический анализ мяса, птицы и яйцепродуктов. /Под ред. Дж. К.Мида; пер. с англ. И.С.Горожанкиной.- М.: Профессия, 2009. - 384с.
10. Николаев, А.Я. Биологическая химия: учебник / А.Я. Николаев. – М.: Мед. информ. агенство, 2004. - 566 с.
11. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов: учебник для вузов/ Ю.А. Ершов, В.А. Попков и др. 6-е изд.,стер. М.: Высш. шк., 2007. – 560с.
12. Слесарев, В. И. Химия: основы химии живого: учебник для вузов / В. И. Слесарев. – СПб: Химиздат, 2001.
13. Угай, Я. А. Общая и неорганическая химия: учеб. для вузов. 4-е изд. - М.: Высш. шк., 2004. – 440 с.

14. Хазипов, Н.З. Биохимия животных: учебник / Н.З. Хазипов, А.Н. Аскарова. – Казань: КГАВМ, 2003. – 312 с.

***Справочники***

1. Кольман, Я., Рем, К.-Г. Наглядная биохимия: Пер. с нем. — М.: Мир, 2000. - 469 с.

2. Лидин, Р.А. Химические свойства неорганических веществ/ Под ред. Р.А. Лидина. – 5-е изд., стер. – М.: КолосС, 2008, - 480 с.: ил.

Составители

**Поддубная** Ольга Владимировна

**Ковалева** Ирина Владимировна

**Мохова** Елена Владимировна