

# SPIS TREŚCI

<b>OD AUTORÓW</b> .....	5
<b>BIAŁKA</b> ( <i>Daniela Gwiazdowska</i> )	
1. Wprowadzenie .....	7
2. Aminokwasy – jednostki strukturalne białek .....	7
2.1. Klasyfikacja aminokwasów .....	9
2.1.1. Aminokwasy białkowe i niebiałkowe .....	9
2.1.2. Zdolność organizmu do syntezy aminokwasów .....	12
2.1.3. Budowa łańcucha bocznego .....	13
2.1.4. Powinowactwo aminokwasów do wody .....	14
2.2. Właściwości aminokwasów .....	15
2.2.1. Właściwości amfoteryczne aminokwasów .....	15
2.2.2. Reakcje charakterystyczne aminokwasów .....	16
2.3. Metody rozdziału i identyfikacji aminokwasów .....	17
2.3.1. Chromatografia jonowymienna .....	17
2.3.2. Chromatografia bibułowa i cienkowarstwowa .....	17
3. Struktura i właściwości białek .....	18
3.1. Struktura białek .....	20
3.1.1. Wiązania odpowiedzialne za strukturę białek .....	20
3.1.2. Struktura pierwszorzędowa i wtórna białek .....	21
3.2. Klasyfikacja białek .....	25
3.2.1. Budowa białek .....	25
3.2.2. Kształt cząsteczki .....	27
3.2.3. Wartość odżywcza białek .....	28
3.3. Właściwości białek .....	28
3.3.1. Właściwości amfoteryczne białek .....	28
3.3.2. Rozpuszczalność białek .....	29
3.3.3. Koagulacja .....	30
3.3.4. Denaturacja .....	31
3.3.5. Oddziaływania pomiędzy białkami .....	32

3.4. Izolacja i oczyszczanie białek .....	32
3.4.1. Dializa .....	33
3.4.2. Ultrawirowanie .....	34
3.4.3. Chromatografia .....	34
3.4.4. Elektroforeza .....	37
3.5. Ilościowe oznaczanie białek .....	38
3.5.1. Bezpośrednia metoda pomiaru absorbancji w nadfiolecie .....	38
3.5.2. Pośrednie metody kolorymetryczne .....	39
3.6. Test immunoenzymatyczny ELISA ( <i>Enzyme-Linked Immuno-sorbent Assay</i> ) – wykrywanie i ilościowe oznaczanie białek .....	40
4. Zagadnienia do powtórzenia .....	41
5. Część eksperymentalna .....	41
5.1. Reakcje barwne aminokwasów i białek .....	41
5.1.1. Reakcja z ninhydryną .....	41
5.1.2. Reakcja Adamkiewicza–Hopkinsa (wykrywanie tryptofanu) .....	43
5.1.3. Reakcja Sakaguchi (wykrywanie argininy) .....	43
5.1.4. Reakcja Pauliego (wykrywanie histydy) .....	44
5.1.5. Reakcje aminokwasów siarkowych (wykrywanie cysteiny) .....	44
5.1.6. Reakcja biuretowa – wykrywanie wiązań peptydowych .....	44
5.2. Metody wytrącania białek z roztworu .....	45
5.2.1. Wysalanie białek siarczanem amonowym .....	45
5.2.2. Wytrącanie białka etanolem .....	46
5.2.3. Wytrącanie białka za pomocą kationów .....	46
5.2.4. Wytrącanie białka za pomocą anionów .....	47
5.2.5. Denaturacja białka przez ogrzewanie .....	47
5.3. Chromatografia aminokwasów i białek .....	48
5.3.1. Rozdział aminokwasów metodą chromatografii cienkowarstwowej ...	48
5.3.2. Odsalanie białka metodą chromatografii żelowej na kolumnie z żelem Sephadex G-25 .....	49
5.4. Ilościowe oznaczanie białek .....	50
5.4.1. Metoda Lowry'ego .....	50
5.4.2. Metoda Bradforda .....	52
6. Zadania do wykonania .....	53

## **WĘGLOWODANY** (*Alina Piotraszewska-Pajak*)

1. Wprowadzenie .....	55
2. Podział węglowodanów .....	56
3. Funkcje węglowodanów i ich występowanie .....	56
4. Właściwości funkcjonalne i znaczenie technologiczne węglowodanów .....	58
5. Struktura węglowodanów .....	59
5.1. Monosacharydy .....	59
5.2. Disacharydy i inne ważniejsze oligosacharydy .....	65
5.3. Polisacharydy .....	68
5.4. Pochodne węglowodanów i polisacharydy kwaśne .....	70

6. Właściwości fizyczne i chemiczne węglowodanów .....	72
6.1. Czynność optyczna i zjawisko mutarotacji .....	72
6.2. Właściwości redukujące .....	73
6.3. Właściwości węglowodanów w środowisku kwaśnym .....	75
7. Metody wykrywania i ilościowego oznaczania węglowodanów .....	76
7.1. Metody fizyczne .....	77
7.2. Metody chemiczne .....	79
7.2.1. Metody analityczne opierające się na właściwościach redukujących cukrów .....	79
7.2.2. Metody analityczne opierające się na reakcjach barwnych cukrów zachodzących w środowisku kwaśnym .....	80
7.3. Metody enzymatyczne .....	82
7.4. Metody chromatograficzne .....	83
8. Zagadnienia do powtórzenia .....	86
9. Część eksperymentalna .....	87
9.1. Wykrywanie węglowodanów z wykorzystaniem ich właściwości redukujących .....	87
9.1.1. Próba Fehlinga .....	87
9.1.2. Redukcja błękitu metylenowego .....	87
9.1.3. Próba Barfoeda .....	88
9.2. Metody oparte na reakcjach barwnych w środowisku kwaśnym .....	89
9.2.1. Próba Molischa .....	89
9.2.2. Próba Biała .....	89
9.2.3. Próba Seliwanowa .....	90
9.3. Wykrywanie glukozy przy użyciu oksydazy glukozowej .....	90
9.4. Wykrywanie skrobi .....	91
9.5. Rozdział mono- i disacharydów metodą chromatografii cienkowarstwowej na żelu krzemionkowym .....	92
10. Zadania do wykonania .....	93

## **LIPIDY** (*Daniela Gwiazdowska*)

1. Wprowadzenie .....	95
2. Klasyfikacja lipidów .....	96
3. Kwasy tłuszczowe .....	97
3.1. Kwasy tłuszczowe nasycone .....	98
3.2. Kwasy tłuszczowe nienasycone .....	99
3.2.1. Kwasy tłuszczowe jednonienasycone .....	101
3.2.2. Kwasy tłuszczowe wielonienasycone .....	101
4. Charakterystyka lipidów .....	103
4.1. Lipidy proste .....	103
4.1.1. Lipidy właściwe .....	103
4.1.2. Woski .....	105
4.2. Lipidy złożone .....	105
4.2.1. Fosfolipidy .....	105
4.2.2. Glikolipidy .....	107

5. Właściwości fizykochemiczne lipidów .....	108
6. Metody badania lipidów .....	110
7. Zagadnienia do powtórzenia .....	111
8. Część eksperymentalna .....	111
8.1. Wykrywanie składników tłuszczów właściwych .....	111
8.1.1. Zmydlanie tłuszczu .....	112
8.1.2. Wykrywanie produktów reakcji zmydlania .....	113
8.1.3. Wykrywanie nienasyconych kwasów tłuszczowych .....	114
8.1.4. Wykrywanie glicerolu .....	114
8.2. Wykrywanie składników glicerofosfolipidów .....	115
8.2.1. Wykrywanie glicerolu .....	115
8.2.2. Zmydlanie glicerofosfolipidów .....	116
8.2.3. Wykrywanie cholicy – metoda chemiczna .....	116
8.2.4. Wykrywanie cholicy – metoda chromatografii cienkowarstwowej .....	116
8.3. Rozdział lipidów metodą chromatografii cienkowarstwowej .....	117
9. Zadania do wykonania .....	118

## **KWASY NUKLEINOWE** (*Marta Ligaj*)

1. Wprowadzenie .....	119
2. Nukleotydy – jednostki strukturalne kwasów nukleinowych .....	119
3. Struktura i funkcje DNA .....	122
4. Struktura, rodzaje i funkcje RNA .....	126
5. Badanie kwasów nukleinowych .....	128
5.1. Izolacja DNA .....	129
5.2. Izolacja RNA .....	131
5.3. Metody spektrofotometryczne w analizie nukleotydów i kwasów nukleinowych .....	131
5.4. Elektroforeza w badaniu kwasów nukleinowych .....	133
5.5. Łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR) .....	134
5.6. Wykrywanie pentoz wchodzących w skład kwasów nukleinowych .....	137
6. Zagadnienia do powtórzenia .....	137
7. Część eksperymentalna .....	137
7.1. Izolacja DNA .....	137
7.1.1. Izolacja DNA z komórek bakterii .....	137
7.1.2. Izolacja DNA z tkanek zwierzęcych z wysalaniem białek .....	139
7.2. Elektroforeza DNA w żelu agarozowym .....	139
7.3. Oznaczanie czystości i obliczanie stężenia DNA i RNA metodą spektrofotometryczną .....	141
7.4. Identyfikacja i ilościowe oznaczanie nukleotydów metodą spektrofotometryczną .....	141
7.5. Wykrywanie kwasów nukleinowych na podstawie obecności pentozy .....	143
7.5.1. Wykrywanie RNA na podstawie obecności rybozy .....	143
7.5.2. Wykrywanie DNA na podstawie obecności deoksyrybozy .....	143
8. Zadania do wykonania .....	144

## **WITAMINY** (*Marta Ligaj*)

1. Wprowadzenie .....	145
2. Witaminy – zapotrzebowanie i objawy niedoboru .....	145
3. Źródła witamin w diecie i straty podczas obróbki żywności .....	150
4. Oznaczanie zawartości witamin w żywności .....	151
5. Witaminy i prowitaminy, aktywność biologiczna i sposoby jej wyrażania .....	151
6. Biologiczne funkcje witamin .....	152
6.1. Koenzymatyczne funkcje witamin .....	153
6.2. Witaminy jako przeciwutleniacze .....	154
7. Podział witamin .....	155
7.1. Witaminy rozpuszczalne w tłuszczach .....	155
7.1.1. Witamina A .....	156
7.1.2. Witamina D .....	159
7.1.3. Witamina E .....	161
7.1.4. Witamina K .....	162
7.2. Witaminy rozpuszczalne w wodzie .....	163
7.2.1. Witamina C .....	165
7.2.2. Witamina B <sub>1</sub> .....	167
7.2.3. Witamina B <sub>2</sub> .....	168
7.2.4. Witamina PP .....	171
7.2.5. Kwas pantotenowy .....	172
7.2.6. Witamina B <sub>6</sub> .....	173
7.2.7. Kwas foliowy .....	175
7.2.8. Witamina B <sub>12</sub> .....	176
7.2.9. Biotyna .....	178
8. Zagadnienia do powtórzenia .....	178
9. Część eksperymentalna .....	179
9.1. Rozdział karotenoidów metodą chromatografii adsorpcyjnej na tlenku glinu, oznaczanie ilościowe β-karotenu i likopenu .....	179
9.1.1. Zadania do wykonania .....	183
9.2. Oznaczanie ilościowe witaminy C .....	183
9.2.1. Oznaczanie kwasu L-askorbinowego metodą miareczkowania roztworem 2,6-dichlorofenoloindofenolu .....	183
9.2.2. Oznaczanie sumy kwasów L-askorbinowego i dehydro-L-askorbinowego metodą Pijanowskiego .....	186
9.2.3. Zadania do wykonania .....	187
9.3. Oznaczanie zawartości witaminy B <sub>2</sub> w mleku na podstawie fluorescencji ryboflawiny .....	188
9.3.1. Zadanie do wykonania .....	191

## **ENZYMY** (*Marian Filipiak*)

1. Wprowadzenie .....	193
2. Proces katalizy enzymatycznej .....	193
3. Klasyfikacja enzymów .....	194
4. Aktywność enzymatyczna .....	195

5. Czynniki wpływające na szybkość reakcji enzymatycznej .....	196
5.1. Temperatura .....	196
5.2. pH .....	197
5.3. Stężenie enzymu .....	197
5.4. Stężenie substratu .....	197
5.5. Aktywatory i inhibitory .....	198
6. Zagadnienia do powtórzenia .....	199
7. Część eksperymentalna .....	200
7.1. Oksydoreduktazy. Oznaczanie aktywności peroksydazy i katalazy .....	200
7.1.1. Charakterystyka enzymów katalizujących procesy utleniania i redukcji .....	200
7.1.2. Oznaczanie aktywności peroksydazy w materiale roślinnym .....	203
7.1.3. Oznaczanie aktywności katalazy w mące .....	205
7.1.4. Zadania do wykonania .....	206
7.2. Scukrzanie skrobi przy udziale hydrolaz glikozydów .....	206
7.2.1. Charakterystyka enzymów katalizujących rozkład węglowodanów ...	206
7.2.2. Hydroliza skrobi przy użyciu glukoamylazy .....	209
7.2.3. Oznaczanie zawartości cukrów redukujących .....	210
7.2.4. Zadania do wykonania .....	211
8. Przegląd podstawowych procesów metabolicznych .....	212
8.1. Metabolizm węglowodanów .....	215
8.2. Metabolizm białek .....	217
8.3. Metabolizm lipidów .....	219
9. Zagadnienia do powtórzenia .....	220
 <b>WYBRANE METODY STOSOWANE W ANALIZIE BIOCHEMICZNEJ</b>	
<i>(Daniela Gwiazdowska, Marta Ligaj)</i>	
1. Wprowadzenie .....	221
2. Metody spektrofotometryczne .....	221
2.1. Spektrofotometria absorpcyjna UV–VIS .....	222
2.2. Spektrofluorymetria .....	227
3. Metody chromatograficzne .....	230
3.1. Charakterystyka wybranych metod chromatograficznych .....	231
3.1.1. Technika wykonania rozdziału .....	231
3.1.2. Charakter oddziaływań pomiędzy fazą stacjonarną i ruchomą .....	232
3.1.3. Stan skupienia fazy ruchomej .....	240
4. Elektroforeza .....	242
 <b>SPIS LITERATURY</b> .....	 245