

SPIS TREŚCI

OD AUTORÓW	5
-------------------------	----------

BIAŁKA

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 rozdzielania i identyfikacji aminokwasów	16
2.3.1. Chromatografia jonowymienna	17
2.3.2. Chromatografia bibułowa i cienkowarstwowa	17
3. Struktura i właściwości białek	18
3.1. Struktura białek	19
3.1.1. Wiązania odpowiedzialne za strukturę białek	20
3.1.2. Struktura pierwszorzędowa i wtórna białek	21
3.2. Klasyfikacja białek	24
3.2.1. Budowa białek	24
3.2.2. Kształt cząsteczki	26
3.2.3. Wartość odżywcza białek	27
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	30
3.3.5. Oddziaływania pomiędzy białkami	31

3.4. Izolacja i oczyszczanie białek	31
3.4.1. Dializa	33
3.4.2. Ultrawirowanie	33
3.4.3. Chromatografia	34
3.4.4. Elektroforeza	36
3.5. Ilościowe oznaczanie białek	38
3.5.1. Bezpośrednia metoda pomiaru absorbancji w nadfiolecie	38
3.5.2. Pośrednie metody kolorymetryczne	38
3.6. Test immunoenzymatyczny ELISA (<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>) – wykrywanie i ilościowe oznaczanie białek	39
4. Zagadnienia do powtórzenia	40
5. Część eksperymentalna	40
5.1. Reakcje barwne aminokwasów i białek	40
5.1.1. Reakcja z ninhydryną	40
5.1.2. Reakcja Adamkiewicza–Hopkinsa (wykrywanie tryptofanu)	42
5.1.3. Reakcja Sakaguchi (wykrywanie argininy)	42
5.1.4. Reakcja Pauliego (wykrywanie histydyny)	43
5.1.5. Reakcje aminokwasów siarkowych	43
5.1.6. Reakcja biuretowa – wykrywanie wiązań peptydowych	43
5.2. Metody wytrącania białek z roztworu	44
5.2.1. Wysalanie białek siarczanem amonowym	44
5.2.2. Wytrącanie białka etanolem	45
5.2.3. Wytrącanie białka za pomocą kationów	45
5.2.4. Wytrącanie białka za pomocą anionów	46
5.2.5. Denaturacja białka przez ogrzewanie	46
5.3. Chromatografia aminokwasów i białek	47
5.3.1. Rozdział aminokwasów metodą chromatografii cienkowarstwowej ...	47
5.3.2. Odsalanie białka metodą chromatografii żelowej na kolumnie z żelem Sephadex G-25	48
5.4. Ilościowe oznaczanie białek	49
5.4.1. Metoda Lowry’ego	49
5.4.2. Metoda Bradforda	51
6. Zadania do wykonania	52

WĘGLOWODANY

1. Wprowadzenie	53
2. Podział węglowodanów	53
3. Funkcje węglowodanów i ich występowanie	54
4. Właściwości funkcjonalne i znaczenie technologiczne węglowodanów	55
5. Struktura węglowodanów	57
5.1. Monosacharydy	57
5.2. Disacharydy i inne ważniejsze oligosacharydy	63
5.3. Polisacharydy	65
5.4. Pochodne węglowodanów i polisacharydy kwaśne	67

6. Właściwości fizyczne i chemiczne węglowodanów	69
6.1. Czynność optyczna i zjawisko mutarotacji	70
6.2. Właściwości redukujące	71
6.3. Właściwości węglowodanów w środowisku kwaśnym	73
7. Metody wykrywania i ilościowego oznaczania węglowodanów	74
7.1. Metody fizyczne	74
7.2. Metody chemiczne	76
7.3. Metody enzymatyczne	79
7.4. Metody chromatograficzne	80
8. Zagadnienia do powtórzenia	84
9. Część eksperymentalna	84
9.1. Wykrywanie węglowodanów z wykorzystaniem ich właściwości redukujących	84
9.1.1. Próba Fehlinga	84
9.1.2. Redukcja błękitu metylenowego	85
9.1.3. Próba Barfoeda	85
9.2. Metody oparte na reakcjach barwnych w środowisku kwaśnym	86
9.2.1. Próba Molischa	86
9.2.2. Próba Biała	87
9.2.3. Próba Seliwanowa	87
9.3. Wykrywanie glukozy przy użyciu oksydazy glukozowej	88
9.4. Wykrywanie skrobi	88
9.5. Rozdział mono- i disacharydów metodą chromatografii cienkowarstwowej na żelu krzemionkowym	89
10. Zadania do wykonania	90

LIPIDY

1. Wprowadzenie	93
2. Klasyfikacja lipidów	94
3. Kwasy tłuszczowe	95
3.1. Kwasy tłuszczowe nasycone	96
3.2. Kwasy tłuszczowe nienasycone	97
3.2.1. Kwasy tłuszczowe jednonienasycone	99
3.2.2. Kwasy tłuszczowe wielonienasycone	99
4. Charakterystyka lipidów	101
4.1. Lipidy proste	101
4.1.1. Lipidy właściwe	101
4.1.2. Woski	103
4.2. Lipidy złożone	103
4.2.1. Fosfolipidy	103
4.2.2. Glikolipidy	105
5. Właściwości fizykochemiczne lipidów	106
6. Metody badania lipidów	108
7. Zagadnienia do powtórzenia	108
8. Część eksperymentalna	109
8.1. Wykrywanie składników tłuszczów właściwych	109

8.1.1. Zmydlanie tłuszczu	109
8.1.2. Wysalanie mydeł	110
8.1.3. Wytrącanie kwasów tłuszczowych z mydeł	110
8.1.4. Wykrywanie nienasyconych kwasów tłuszczowych	111
8.1.5. Wykrywanie glicerolu	111
8.2. Wykrywanie składników glicerofosfolipidów	112
8.2.1. Wykrywanie glicerolu	112
8.2.2. Zmydlanie glicerofosfolipidów	112
8.2.3. Wykrywanie cholicy – metoda chemiczna	113
8.2.4. Wykrywanie cholicy – metoda chromatografii cienkowarstwowej	113
8.3. Rozdział lipidów metodą chromatografii cienkowarstwowej	114
9. Zadania do wykonania	114

KWASY NUKLEINOWE

1. Wprowadzenie	115
2. Nukleotydy – jednostki strukturalne kwasów nukleinowych	115
3. Struktura i funkcje DNA	118
4. Struktura, rodzaje i funkcje RNA	122
5. Badanie kwasów nukleinowych	124
5.1. Izolacja DNA	125
5.2. Izolacja RNA	126
5.3. Metody spektrofotometryczne w analizie nukleotydów i kwasów nukleinowych	127
5.4. Elektroforeza w badaniu kwasów nukleinowych	128
5.5. Łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR)	130
5.6. Wykrywanie pentoz wchodzących w skład kwasów nukleinowych	132
6. Zagadnienia do powtórzenia	133
7. Część eksperymentalna	133
7.1. Izolacja DNA	133
7.1.1. Izolacja DNA z komórek bakterii	133
7.1.2. Izolacja DNA z tkanek zwierzęcych z wysalaniem białek	134
7.2. Elektroforeza DNA w żelu agarozowym	135
7.3. Oznaczanie czystości i obliczanie stężenia DNA i RNA metodą spektrofotometryczną	136
7.4. Identyfikacja i ilościowe oznaczanie nukleotydów metodą spektrofotometryczną	138
7.5. Wykrywanie kwasów nukleinowych na podstawie obecności pentozy	139
7.5.1. Wykrywanie RNA na podstawie obecności rybozy	139
7.5.2. Wykrywanie DNA na podstawie obecności deoksyrybozy	139
8. Zadania do wykonania	140

WITAMINY

1. Wprowadzenie	141
2. Witaminy – zapotrzebowanie i objawy niedoboru	141
3. Źródła witamin w diecie i straty podczas obróbki żywności	146

4. Oznaczanie zawartości witamin w żywności	147
5. Witaminy i prowitaminy, aktywność biologiczna i sposoby jej wyrażania	147
6. Biologiczne funkcje witamin	148
6.1. Koenzymatyczne funkcje witamin	149
6.2. Witaminy jako przeciwutleniacze	150
7. Podział witamin	151
7.1. Witaminy rozpuszczalne w tłuszczach	151
7.1.1. Witamina A	152
7.1.2. Witamina D	155
7.1.3. Witamina E	157
7.1.4. Witamina K	158
7.2. Witaminy rozpuszczalne w wodzie	159
7.2.1. Witamina C	161
7.2.2. Witamina B ₁	163
7.2.3. Witamina B ₂	164
7.2.4. Witamina PP	167
7.2.5. Kwas pantotenowy	168
7.2.6. Witamina B ₆	169
7.2.7. Kwas foliowy	170
7.2.8. Witamina B ₁₂	171
7.2.9. Biotyna	173
8. Zagadnienia do powtórzenia	174
9. Część eksperymentalna	175
9.1. Rozdział karotenoidów metodą chromatografii adsorpcyjnej na tlenku glinu, oznaczanie ilościowe β -karotenu i likopenu	175
9.1.1. Zadania do wykonania	178
9.2. Oznaczanie ilościowe witaminy C	179
9.2.1. Oznaczanie kwasu L-askorbinowego metodą miareczkowania roztworem 2,6-dichlorofenolindofenolu	179
9.2.2. Oznaczanie sumy kwasów L-askorbinowego i dehydro-L-askorbinowego metodą Pijanowskiego	182
9.2.3. Zadania do wykonania	183
9.3. Oznaczanie zawartości witaminy B ₂ w mleku na podstawie fluorescencji ryboflawiny	184
9.3.1. Zadania do wykonania	187

ENZYMY

1. Wprowadzenie	189
2. Proces katalizy enzymatycznej	189
3. Klasyfikacja enzymów	190
4. Aktywność enzymatyczna	191
5. Czynniki wpływające na szybkość reakcji enzymatycznej	192
5.1. Temperatura	192
5.2. pH	193
5.3. Stężenie enzymu	193

5.4 Stężenie substratu	193
5.5. Aktywatory i inhibitory	194
6. Zagadnienia do powtórzenia	195
7. Część eksperymentalna	196
7.1. Oksydoreduktazy. Oznaczanie aktywności katalazy i peroksydazy	196
7.1.1. Charakterystyka enzymów katalizujących procesy utleniania i redukcji	196
7.1.2. Oznaczanie aktywności peroksydazy w materiale roślinnym	198
7.1.3. Oznaczanie aktywności katalazy w mące	201
7.1.4. Zadania do wykonania	202
7.2. Scukrzanie skrobi przy udziale hydrolaz glikozydów	202
7.2.1. Charakterystyka enzymów katalizujących rozkład węglowodanów	202
7.2.2. Hydroliza skrobi przy użyciu glukoamylazy	204
7.2.3. Oznaczanie zawartości cukrów redukujących	205
7.2.4. Zadania do wykonania	207
8. Przegląd podstawowych procesów metabolicznych	207
8.1. Metabolizm węglowodanów	210
8.2. Metabolizm białek	213
8.3. Metabolizm lipidów	214
9. Zagadnienia do powtórzenia	215

WYBRANE METODY STOSOWANE W ANALIZIE BIOCHEMICZNEJ

1. Wprowadzenie	217
2. Metody spektrofotometryczne	217
2.1. Spektrofotometria absorpcyjna UV–VIS	218
2.2. Spektrofluorymetria	223
3. Metody chromatograficzne	226
3.1. Charakterystyka wybranych metod chromatograficznych	227
3.1.1. Technika wykonania rozdzielu	227
3.1.2. Charakter oddziaływań pomiędzy fazą stacjonarną i ruchomą	228
3.1.3. Stan skupienia fazy ruchomej	236
4. Elektroforeza	238

SPIS LITERATURY	241
------------------------------	------------