

Документ подписан простой электронной подписью  
Информация о владельце:

ФИО: Комарова Светлана Юрьевна

Должность: Проректор по образовательной деятельности

Дата подписания: 08.02.2024 11:23:10

Агротехнологический факультет

Уникальный программный ключ:

43ba42f5deae4116bbfcbb9ac98e39108031227e81add207cbef414012098d7a

ОПОП по направлению

19.03.03 Продукты питания животного происхождения

## МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по освоению учебной дисциплины

**Б1.В.ДВ.03.01 Ферменты: структура, свойства и применение**

**Направленность (профиль) «Технология молока и молочных продуктов»**

Обеспечивающая преподавание дисциплины кафедра

Продуктов питания и пищевой биотехнологии

Разработчик,  
Канд.биол.наук

Погорелова Н.А.

Омск

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
1. Место учебной дисциплины в подготовке	4
2. Структура учебной работы, содержание и трудоёмкость основных элементов дисциплины	7
2.1. Организационная структура, трудоемкость и план изучения дисциплины	7
2.2. Содержание дисциплины по разделам	7
3. Общие организационные требования к учебной работе обучающегося, условия получения зачета по дисциплине	9
3.1. Организация занятий и требования к учебной работе обучающегося	9
3.2. Условия получения дифференцированного зачета по дисциплине	9
4. Лекционные занятия	10
5. Практические занятия по курсу и подготовка обучающегося к ним	11
6. Лабораторные занятия по курсу и подготовка студента к ним	12
7. Общие методические рекомендации по изучению отдельных разделов дисциплины	21
8. Общие методические рекомендации по оформлению и выполнению отдельных видов ВАРС	21
8.1. Рекомендации по выполнению доклада	23
8.1.1. Шкала и критерии оценивания	25
8.2. Рекомендации по самостоятельному изучению тем	28
8.2.1. Шкала и критерии оценивания	28
8.3. Перечень заданий для контрольных работ студентов заочной формы обучения	29
9. Текущий (внутрисеместровый) контроль хода и результатов учебной работы обучающегося	29
9.1. Вопросы для входного контроля	31
9.2. Текущий контроль успеваемости	32
9.2.1. Шкала и критерии оценивания	32
10. Промежуточная (семестровая) аттестация	32
10.1 Нормативная база проведения промежуточной аттестации по результатам изучения дисциплины	33
10.2. Подготовка к заключительному тестированию по итогам изучения дисциплины	33
10.2.1. Шкала и критерии оценивания	37
11. Учебно-информационные источники для изучения дисциплины	38

## **ВВЕДЕНИЕ**

1. Настоящее издание является основным организационно-методическим документом учебно-методического комплекса по дисциплине в составе основной профессиональной образовательной программы высшего образования (ОПОП ВО). Оно предназначено стать для них методической основой по освоению данной дисциплины.

2. Содержательной основой для разработки настоящих методических указаний послужила Рабочая программа дисциплины, утвержденная в установленном порядке.

3. Методические аспекты развиты в учебно-методической литературе и других разработках, входящих в состав УМК по данной дисциплине.

4. Доступ обучающихся к электронной версии Методических указаний по изучению дисциплины, обеспечен в информационно-образовательной среде университета.

При этом в электронную версию могут быть внесены текущие изменения и дополнения, направленные на повышение качества настоящих методических указаний.

### **Уважаемые обучающиеся!**

Приступая к изучению новой для Вас учебной дисциплины, начните с вдумчивого прочтения разработанных для Вас кафедрой специальных методических указаний. Это поможет Вам вовремя понять и правильно оценить ее роль в Вашем образовании.

Ознакомившись с организационными требованиями кафедры по этой дисциплине и соизмерив с ними свои силы, Вы сможете сделать осознанный выбор собственной тактики и стратегии учебной деятельности, уберечь самих себя от неразумных решений по отношению к ней в начале семестра, а не тогда, когда уже станет поздно. Используя эти указания, Вы без дополнительных осложнений подойдете к промежуточной аттестации по этой дисциплине. Успешность аттестации зависит, прежде всего, от Вас. Ее залог – ритмичная, целенаправленная, вдумчивая учебная работа, в целях обеспечения которой и разработаны эти методические указания.

## 1. Место учебной дисциплины в подготовке выпускника

Учебная дисциплина относится к дисциплинам ОПОП университета, состав которых определяется вузом и требованиями ФГОС.

**Цель дисциплины –** : формирование у студентов системных знаний о структуре и свойствах ферментов, механизме действия энзимов, основах биохимических процессов в технологии производства и хранения продуктов для производственной и исследовательской деятельности в области инженерной энзимологии, основанной на использовании каталитических свойств ферментов.

### 1.1.Перечень компетенций с указанием этапов их формирования в результате освоения учебной дисциплины:

Компетенции, в формировании которых задействована дисциплина		Код и наименование индикатора достижений компетенции	Компоненты компетенций, формируемые в рамках данной дисциплины (как ожидаемый результат ее освоения)		
код	наименование		знать и понимать	уметь делать (действовать)	владеть навыками (иметь навыки)
1			2	3	4
<b>Профессиональные компетенции</b>					
ПК-1	Осуществляет управление подразделениями производственных предприятий в части реализации технологического процесса производства продукции из сырья животного происхождения	ИД-6 <sub>ПК-1</sub> Разрабатывает мероприятия по совершенствованию технологических процессов производства продукции различного назначения.	- способы получения ферментных препаратов, и использование их в биотехнологических процессах - химическую природу, свойства и механизм действия ферментов	- регулировать действие энзимов путём использования физико-химических и технологических факторов;	-проведения испытаний по определению качества ферментных препаратов и оценки их активности -работы с отдельными приборами в лаборатории исследования качества пищевых продуктов

## 1.2. Описание показателей, критериев и шкал оценивания и этапов формирования компетенций в рамках дисциплины

Индекс и название компетенции	Код индикатора достижений компетенции	Индикаторы компетенции	Показатель оценивания – знания, умения, навыки (владения)	Уровни сформированности компетенций				Формы и средства контроля формирования компетенций	
				компетенция не сформирована	минимальный	средний	высокий		
				Оценки сформированности компетенций					
				2	3	4	5		
				Оценка «неудовлетворительно»	Оценка «удовлетворительно»	Оценка «хорошо»	Оценка «отлично»		
				Характеристика сформированности компетенции					
				Компетенция в полной мере не сформирована. Имеющихся знаний, умений и навыков недостаточно для решения практических (профессиональных) задач	Сформированность компетенции соответствует минимальным требованиям. Имеющихся знаний, умений, навыков в целом достаточно для решения практических (профессиональных) задач	Сформированность компетенции в целом соответствует требованиям. Имеющихся знаний, умений, навыков и мотивации в целом достаточно для решения стандартных практических (профессиональных) задач	Сформированность компетенции полностью соответствует требованиям. Имеющихся знаний, умений, навыков и мотивации в полной мере достаточно для решения сложных практических (профессиональных) задач		
Критерии оценивания									
ПК-1 Осуществляет управление подразделениями производственных предприятий в части реализации технологического процесса производства продукции из сырья животного происхождения	ИД-6п <sub>к-1</sub>	Полнота знаний	<b>Знает</b> -способы получения ферментных препаратов, и использование их в биотехнологических процессах, - химическую природу, свойства и механизм действия ферментов	-Не знает способы получения ферментных препаратов, и использование их в биотехнологических процессах,  -Не знает химическую природу, свойства и механизм действия ферментов	-Поверхностно ориентируется в способах получения ферментных препаратов, и использовании их в биотехнологических процессах,  - поверхностно ориентируется в химической природе, свойствах и механизме действия ферментов	-Свободно ориентируется в способах получения ферментных препаратов, и использовании их в биотехнологических процессах,  - Свободно ориентируется в химической природе, свойствах и механизме действия ферментов	- В совершенстве знает способы получения ферментных препаратов, и использовании их в биотехнологических процессах,  - В совершенстве знает химическую природу, свойства и механизм действия ферментов	тестирование; теоретические вопросы к семинарским занятиям; лабораторные работы, опрос, доклад, контрольная работа	
		Наличие умений	<b>Умеет</b> -регулировать действие энзимов путём использования физико-химических и технологических факторов,	-Не умеет регулировать действие энзимов путём использования физико-химических и технологических факторов,	- Умеет регулировать действие энзимов путём использования отдельных физико-химических и технологических факторов ,	- Умеет регулировать действие энзимов путём использования комплекса физико-химических и технологических факторов ,	- Умеет регулировать действие энзимов путём использования физико-химических и технологических факторов и прогнозировать их влияние,	Лабораторные работы	
		Наличие навыков (владение опытом)	<b>Имеет навыки</b> -проведения испытаний по определению качества ферментных препаратов и оценки их активности, - Не имеет навыков работы	-Не имеет навыков проведения испытаний по определению качества ферментных препаратов и оценки их активности,  - Не имеет навыков работы	-Имеет навыки проведения отдельных испытаний по определению качества ферментных препаратов,  - Имеет неустойчивые на-	- Имеет навыки проведения комплекса испытаний по определению качества ферментных препаратов,  - Имеет устойчивые на-	- Имеет навыки проведения комплекса испытаний по определению качества ферментных препаратов и оценки их активности,	Лабораторные работы	

			<p>ратов и оценки их активности,</p> <p>- работы с отдельными приборами в лаборатории исследования качества пищевых продуктов</p>	<p>с отдельными приборами в лаборатории исследования качества пищевых продуктов</p>	<p>навыки работы с отдельными приборами в лаборатории исследования качества пищевых продуктов</p>	<p>выки работы с отдельными приборами в лаборатории исследования качества пищевых продуктов</p>	<p>- Имеет устойчивые навыки работы с отдельными приборами в лаборатории исследования качества пищевых продуктов с учетом выбора наиболее рационального метода анализа</p>	
--	--	--	---	---	---	---	--	--

## 2. Структура учебной работы, содержание и трудоёмкость основных элементов дисциплины

### 2.1 Организационная структура, трудоемкость и план изучения дисциплины

Вид учебной работы	Трудоемкость, час		
	семестр, курс*		
	очная	заочная форма	
	5 сем.	4 курс	
<b>1. Аудиторные занятия, всего</b>	130	<b>18</b>	
- лекции	28	4	
- практические занятия (включая семинары)	28	4	
- лабораторные работы	28		
- консультации	46	10	
<b>2. Внеаудиторная академическая работа</b>	50	<b>158</b>	
<b>2.1 Фиксированные виды внеаудиторных самостоятельных работ:</b>			
- доклад	5		
- контрольная работа		30	
<b>2.2 Самостоятельное изучение тем/вопросов программы</b>	15	<b>103</b>	
<b>2.3 Самоподготовка к аудиторным занятиям</b>	15	<b>10</b>	
<b>2.4 Самоподготовка к участию и участие в контрольно-оценочных мероприятиях</b> , проводимых в рамках текущего контроля освоения дисциплины (за исключением учтённых в гл. 2.1 – 2.2):	15	<b>15</b>	
<b>3. Получение зачёта по итогам освоения дисциплины</b>	-	<b>4</b>	
<b>ОБЩАЯ трудоемкость дисциплины:</b>	<b>Часы</b>	180	<b>180</b>
	<b>Зачетные единицы</b>	5	5

Примечание:

\* – **семестр** – для очной и очно-заочной формы обучения, **курс** – для заочной формы обучения;

\*\* – КР/КП, реферата/эссе/презентации, контрольной работы (для обучающихся заочной формы обучения), расчетно-графической (расчетно-аналитической) работы и др.;

2.2. Укрупнённая содержательная структура учебной дисциплины и общая схема её реализации в учебном процессе

Номер и наименование раздела дисциплины. Укрупненные темы раздела	Трудоемкость раздела и ее распределение по видам учебной работы, час.									Формы текущего контроля успеваемости и промежуточной аттестации	№№ компетенций, на формирование которых ориентирован раздел		
	общая	Аудиторная работа					ВАРС						
		всего	лекции	практические (всех форм)	занятия	лабораторные	консультации	всего	Фиксированные виды				
	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			
<b>Очная форма обучения</b>													
1  1.1 Химическая природа и структура ферментов	22	12	4		2	6	10	5	Устный опрос, контрольная работа, тестирование	ПК-1			
2  2.1 Механизм ферментативного катализа 2.2 Кинетика ферментативных реакций 2.3 Влияние температуры на активность ферментов	38	28	4	6	8	10	10						

	2.4 Влияние pH среды на активность ферментов.									
	2.5 Активаторы и ингибиторы ферментов.									
3	<b>3. Получение ферментных препаратов</b>	36	26	6	4	6	10	10	Устный опрос, контрольная работа, тестирование	ПК-1
	3.1 Источники ферментов									
	3.2 Технология культивирования микроорганизмов – продуцентов ферментов									
	3.3 Технология выделения и очистки ферментных препаратов									
	3.4 Иммобилизованные ферменты									
4	<b>4. Промышленные процессы с использованием иммобилизованных ферментов и клеток</b>	42	32	8	8	6	10	10	Устный опрос, контрольная работа, тестирование	ПК-1
	4.1 Получение глюкозофруктозных сиропов									
	4.2 Получение L-аминокислот из их рацемических смесей									
	4.3 Получение L-аспарагиновой кислоты									
	4.4 Получение L-аланина									
	4.5 Получение L-яблочной кислоты									
5	<b>5. Использование ферментов в пищевой промышленности</b>	42	32	6	10	6	10	10	Устный опрос, контрольная работа	ПК-32
	5.1 Гидролитические ферменты в мясоперерабатывающей промышленности									
	5.2 Амилолитические ферменты в промышленной переработке крахмала:									
	• Амилазы в хлебопечении									
	• Амилазы в крахмалопаточной промышленности									
	• Амилазы в технологии пивоварения									
	• Роль амилаз в технологии спирта									
	<b>Итого по дисциплине</b>		180	130	28	28	28	46	50	5

#### Заочная форма обучения

	<b>1. Структура ферментов</b>					2	25	30		ПК-1
1	1.1 Химическая природа и структура ферментов									
2	<b>2. Ферментативный катализ</b>				2		2	25		ПК-1
	2.1 Механизм ферментативного катализа									
	2.2 Кинетика ферментативных реакций									
	2.3 Влияние температуры на активность ферментов									
	2.4 Влияние pH среды на активность ферментов.									
	2.5 Активаторы и ингибиторы ферментов.									
3	<b>3. Получение ферментных препаратов</b>			2	2		2	40		ПК-1
	3.1 Источники ферментов									
	3.2 Технология культивирования									

	микроорганизмов – продуцентов ферментов										
	3.3 Технология выделения и очистки ферментных препаратов										
	3.4 Иммобилизованные ферменты										
4	<b>4. Промышленные процессы с использованием иммобилизованных ферментов и клеток</b>			2			2	40		Устный опрос	ПК-1
	4.1 Получение глюкозофруктозных сиропов										
	4.2 Получение L-аминокислот из их рацемических смесей										
	4.3 Получение L-аспарагиновой кислоты										
	4.4 Получение L-аланина										
	4.5 Получение L-яблочной кислоты										
	<b>5. Использование ферментов в пищевой промышленности</b>						2	28			ПК-1
	5.1 Гидролитические ферменты в мясоперерабатывающей промышленности										
	5.2 Амилолитические ферменты в промышленной переработке крахмала:										
	• Амилазы в хлебопечении										
	• Амилазы в крахмалопаточной промышленности										
	• Амилазы в технологии пивоварения										
	• Роль амилаз в технологии спирта										
	5.3 Пектолитические ферменты и их роль в плодовоощной промышленности										
	5.4 Протеолитические ферменты										
	5.5 Ферменты молочной промышленности										
	Итого по дисциплине	180	18	4	4		10	158	30	4	

### 3. Общие организационные требования к учебной работе обучающегося

#### 3.1. Организация занятий и требования к учебной работе обучающегося

Организация занятий по дисциплине носит циклический характер. По разделам дисциплины предусмотрена взаимоувязанная цепочка учебных работ: лекция – самостоятельная работа студентов (аудиторная и внеаудиторная). Для своевременной помощи студентам при изучении дисциплины кафедрой организуются индивидуальные и групповые консультации, устанавливается время приема выполненных работ.

По итогам изучения дисциплины осуществляется аттестация студента в форме дифференцированного зачета.

Учитывая статус дисциплины к её изучению предъявляются следующие организационные требования

- обязательное посещение студентом всех видов аудиторных занятий;
- качественная самостоятельная подготовка к практическим/лабораторным занятиям (см. п.4.), активная работа на них;
- своевременная сдача преподавателю отчетных документов по аудиторным и внеаудиторным видам работ;
- в случае наличия пропущенных студентом занятий, необходимо получить консультацию по подготовке и оформлению отдельных видов заданий.

Для успешного освоения курса, студенту предлагаются учебно-информационные источники в виде учебной, учебно-методической литературы и комплекта видеофильмов по всем разделам (см. п.11).

#### 3.2 Условия получения дифференцированного зачета

Дифференцированный зачет выставляется обучающемуся согласно Положению о текущем контроле успеваемости, промежуточной аттестации обучающихся по программам высшего образования (бакалавриат, специалитет, магистратура) и среднего профессионального образования в ФГБОУ ВО Омский ГАУ, выполнившему в полном объеме все перечисленные в п.3.1 требования к учебной работе, прошедшему все виды контроля с положительной оценкой.

В случае не полного выполнения указанных условий по уважительной причине, студенту могут быть предложены индивидуальные задания по пропущенному учебному материалу.

#### 4. Лекционные занятия

Для изучающих дисциплину читаются лекции в соответствии с планом, представленным в таблице 3.

*Таблица 3 - Лекционный курс.*

№		Тема лекции. Основные вопросы темы	Трудоемкость по разделу, час.		Применяемые интерактивные формы обучения	
раздела	лекции		очная форма	заочная форма		
1	2	3	4	5	6	
1	1-2	<b>Тема: 1. Химическая природа и структура ферментов</b>	4			
		Химическая природа ферментов, активный центр ферментов, номенклатура и классификация ферментов, характеристика отдельных классов ферментов				
2	3-4	<b>Тема: 2. Ферментативный катализ</b>	4	2	Лекция-беседа	
		Механизм ферментативного катализа. Кинетика ферментативных реакций. Влияние температуры на активность ферментов. Влияние pH среды на активность ферментов. Активаторы и ингибиторы ферментов.				
3	5-7	<b>Тема: 3 Получение ферментных препаратов</b>	6		Лекция-беседа	
		Источники ферментов. Технология культивирования микроорганизмов – продуцентов ферментов. Технология выделения и очистки ферментных препаратов. Иммобилизованные ферменты				
4	8-11	<b>Тема: 4. Промышленные процессы с использованием иммобилизованных ферментов и клеток</b>	8	2		
		Получение глюкозофруктозных сиропов. Получение L-аминокислот из их рацемических смесей. Получение L-аспартагиновой кислоты. Получение L-аланина. Получение L-яблочной кислоты				
	12-14	<b>Тема: 5. Использование ферментов в пищевой промышленности</b>	6			
		- Гидролитические ферменты в мясоперерабатывающей промышленности - Амилолитические ферменты в промышленной переработке крахмала: • Амилазы в хлебопечении • Амилазы в крахмалопаточной промышленности • Амилазы в технологии пивоварения • Роль амилаз в технологии спирта - Пектолитические ферменты и их роль в плодовоощной промышленности - Протеолитические ферменты - Ферменты молочной промышленности				
Общая трудоемкость лекционного курса			28	4	x	
Всего лекций по дисциплине:		час.	Из них в интерактивной форме:		час.	
- очная форма обучения		28	- очная форма обучения		10	
- заочная форма обучения		4	- заочная форма обучения		2	

*Примечания:*

- материально-техническое обеспечение лекционного курса – см. Приложение 6;
- обеспечение лекционного курса учебной, учебно-методической литературой и иными библиотечно-информационными ресурсами и средствами обеспечения образовательного процесса – см. Приложения 1 и 2.

## 5. Практические занятия по дисциплине и подготовка к ним

Практические занятия по курсу проводятся в соответствии с планом, представленным в таблице 4.

Таблица 4 - Примерный тематический план практических занятий по разделам учебной дисциплины

№		Тема занятия/ Примерные вопросы на обсуждение (для занятий в формате семинарских)	Трудоёмкость по разделу, час.	Используемые интерактивные формы	Связь занятия с ВАРС*					
раздела (модуля)	занятия									
1	2	3	4	5	6	7				
2	1	<b>1. Кинетика ферментативных реакций</b>	2		дискуссия, дебаты;	ОСП				
		1. Химическая кинетика								
		2. Влияние концентрации фермента на скорость реакции								
		3. Характеристика кинетических констант $K_m$ и $\vartheta_{max}$								
2	2	<b>2. Влияние различных факторов на активность ферментов</b>	2	2	Различные приёмы технологии развития критического мышления (клэстеры, денотатный график и др.)	ОСП				
		1. Влияние температуры на активность ферментов								
		2. Влияние pH среды на активность ферментов								
2	3	<b>3. Активаторы и ингибиторы ферментов</b>	2		дискуссия, дебаты	ОСП				
		1. Виды ингибирования								
		2. Конкурентный тип ингибирования.								
3	4-5	<b>4. Иммобилизация ферментов</b>	4	2	дискуссия, дебаты	ОСП				
		1. Методы иммобилизации								
		2. Физические методы иммобилизации ферментов								
		3. Химические методы иммобилизации ферментов								
		4. Иммобилизация клеток – продуцентов ферментов								
4	6-9	<b>5. Амилолитические ферменты в промышленной переработке крахмала</b>	8			ОСП				
		1. Амилазы в хлебопечении. Особенности использования амилаз в технологии хлеба								
		2. Амилазы в крахмалопаточной промышленности								
		3. Амилазы в технологии пивоварения								
		4. Роль амилаз в технологии спирта								
5	10-12	<b>6. Протеолитические ферменты</b>	6			ОСП				
		1. Источники протеолитических ферментов								
		2. Растительные протеазы – бромелин, фицин и папайн. Использование их мясоперерабатывающей промышленности								
		3. Протеазы семян злаковых культур								
5	13-14	<b>7. Ферменты в молочной промышленности</b>	4			ОСП				
		1. $\beta$ -галактозидаза и ее применение								
		2. Ренин, применение в сыроделии.								
		3. Микробные молокосвертывающие препараты								
Всего практических занятий по учебной дисциплине:			час	в интерактивной форме:		час				
- очная форма обучения			28	- очная форма обучения		20				
- заочная форма обучения			4	- заочная форма обучения						
В том числе в формате семинарских занятий:										
- очная форма обучения			4							
- заочная форма обучения										
* Условные обозначения: ОСП - предусмотрена обязательная самоподготовка к занятию; УЗ СРС - на занятии выдаётся задание на конкретную СРС - занятие содержательно базируется на результатах выполнения студентами конкретной ВАРС; ...										
Примечания: - материально-техническое обеспечение практических занятий – см. Приложение 6 - обеспечение практических занятий учебной, учебно-методической литературой и иными библиотечно-информационными и и средствами обеспечения образовательного процесса – см. Приложения 1 и 2										

## **Вопросы и задачи для самоподготовки к семинарским занятиям**

В процессе подготовки к семинарскому занятию студент изучает представленные ниже вопросы по темам. На занятии студент демонстрирует свои знания по изученным вопросам в форме устного ответа. Представляет доклад. Для усвоения материала по теме занятия обучающийся решает задачи.

### **1. Кинетика ферментативных реакций**

1. Химическая кинетика
2. Влияние концентрации фермента на скорость реакции
3. Характеристика кинетических констант  $K_m$  и  $\vartheta_{max}$
4. Графоаналитический метод определения  $K_m$  и  $\vartheta_{max}$

### **2. Влияние различных факторов на активность ферментов**

1. Влияние температуры на активность ферментов
2. Влияние pH среды на активность ферментов

### **3. Активаторы и ингибиторы ферментов**

1. Виды ингибирования
2. Конкурентный тип ингибирования
3. Неконкурентный тип ингибирования

### **4. Иммобилизация ферментов**

1. Методы иммобилизации
2. Физические методы иммобилизации ферментов
3. Химические методы иммобилизации ферментов
4. Иммобилизация клеток – продуцентов ферментов
5. Носители для иммобилизации ферментов, требования к ним, их модификация

### **5. Амилолитические ферменты в промышленной переработке крахмала**

1. Амилазы в хлебопечении. Особенности использования амилаз в технологии хлеба
2. Амилазы в крахмалопаточной промышленности
3. Амилазы в технологии пивоварения
4. Роль амилаз в технологии спирта

### **6. Протеолитические ферменты**

1. Источники протеолитических ферментов
2. Растительные протеазы – бромелин, фицин и папаин. Использование их в мясоперерабатывающей промышленности
3. Протеазы семян злаковых культур
4. Микробные протеазы

### **7. Ферменты в молочной промышленности**

1.  $\beta$ -галактозидаза и ее применение
2. Ренин, применение в сыроделии
3. Микробные молокосвертывающие препараты

### **Критерии оценки самоподготовки к семинарским занятиям**

- оценка «зачтено» выставляется, если студент на основе самостоятельного изученного материала смог всесторонне раскрыть теоретическое содержание темы. Владеет методиками лабораторных исследований.

- оценка «не зачтено» выставляется, если студент неаккуратно оформил отчетный материал на основе самостоятельного изученного материала, не смог всесторонне раскрыть теоретическое содержание темы. Затрудняется выполнять лабораторные работы.

### **6. Лабораторные занятия по дисциплине и подготовка студента к ним**

Лабораторные занятия по дисциплине проводятся в соответствии с планом, представленным в таблице 6.

Подготовка студентов к лабораторным занятиям осуществляется с учетом общей структуры учебного процесса. На лабораторных занятиях осуществляется аудиторный контроль в виде проверки отчета по лабораторной работе.

Цель практикума – закрепить знания теоретических основ дисциплины, привить студентам навыки самостоятельной и экспериментальной работы.

Поскольку программа практикума рассчитана на самостоятельное изучение теории по каждой конкретной работе, то, получив от преподавателя задание по выполнению лабораторной работы, подготовьтесь к ее выполнению. Для этого ознакомьтесь с рекомендациями, приведенными в настоящих методических указаниях. Изучите теоретический материал, пользуясь рекомендованной литературой и конспектами лекций.

Приступайте к выполнению работы только после разрешения преподавателя. Результаты опыта обязательно покажите преподавателю. Работайте в халатах!

При составлении отчета по работе придерживайтесь следующего плана: название работы, цель работы, ход работы, результаты и наблюдения, выводы.

Работа считается зачтенной после представления отчета и ответа на контрольные вопросы преподавателя.

### Критерии оценки:

- оценка «зачтено» выставляется, если студент на основе самостоятельного изученного материала смог всесторонне раскрыть теоретическое содержание темы. Владеет методиками лабораторных исследований.

- оценка «не зачтено» выставляется, если студент неаккуратно оформил отчетный материал на основе самостоятельного изученного материала, не смог всесторонне раскрыть теоретическое содержание темы. Затрудняется выполнять лабораторные работы.

Таблица 5 - Примерный тематический план лабораторных занятий по разделам учебной дисциплины

№	раздела *	лабораторной работы (ЛР)	лабораторного занятия	Тема лабораторной работы	Трудоемкость ЛР, час.		Связь с ВАРС		Применяемые интерактивные формы
					очная форма	заочная форма	Предусмотрена самоподготовка занятию +/-	Задача отчёта о ЛР во внеаудиторное время +/-	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	
1	1	1	Изучение свойств ферментов дегидрогеназ	2			-		
2	2	2-3	Изучение кинетических характеристик ферментативного гидролиза крахмала	4		+	-		работа в малых группах
3-4	3	4-6	Выделение сахаразы из пекарских дрожжей	6		+			
3-4	4	7-9	Иммобилизация сахаразы на угле и определение активности фермента	6			-		
2	5	10-11	Изучение кинетических характеристик ферментативного гидролиза белковых субстратов	4		+			
5	6	12-14	Контроль качества молокосвертывающих ферментных препаратов	6		+	-		работа в малых группах
Итого ЛР			Общая трудоёмкость ЛР	28			x		

**Примечания:**

- материально-техническое обеспечение лабораторного практикума – см. Приложение 6
- обеспечение лабораторного практикума учебной, учебно-методической литературой и иными библиотечно-информационными ресурсами и средствами обеспечения образовательного процесса – см. Приложение 1 и 2

### **Лабораторная работа 1. Изучение свойств ферментов дегидрогеназ.**

**Цель работы:** изучить экспериментально окислительно-восстановительные свойства дегидрогеназ животного происхождения.

**Посуда и реактивы:** 0,5%-ный раствор формальдегида (аптечный формалин разбавить водой в десять раз); 0,02%-ный раствор метиленового синего (можно использовать разбавленные синие чернила); раствор янтарной кислоты, осторожно нейтрализованного пищевой содой до прекращения выделения пузырьков; вазелиновое или растительное масло.

**Объекты исследования** - свежее коровье молоко и мясо курицы или кролика.

**Ход работы.**

1. **Исследования свойств фермента дегидрогеназы молока.** Сначала посмотрим, как окисляет формальдегид дегидрогеназа свежего молока. Чтобы это стало заметно, и понадобился раствор красителя метиленового синего: дегидрогеназа отнимет у формальдегида атом водорода, перенесет его на легко восстанавливющийся краситель, и он обесцветится. А формальдегид окисляется при этом до муравьиной кислоты. Обесцвеченный после восстановления краситель легко окисляется кислородом воздуха и вновь синеет. Поэтому реакционную смесь придется изолировать от воздуха слоем масла.

Пронумеруйте шесть пробирок. В пробирки 1 и 2 налейте по 5 мл свежего не кипяченого молока, а в пробирку 3 - такое же количество холодного кипяченого молока.

Воду в водяной бане нагрейте до 37 °C. Во все три пробирки добавьте по 0,5 мл 0,5%-ного раствора формальдегида и по 5 капель 0,02%-ного раствора метиленового синего. Смесь станет голубой. В каждый флакон налейте немного масла, чтобы образовался тонкий изолирующий слой на поверхности, и поставьте пробирки 1 и 3 на водяную баню. Пробирку 2 оставьте при комнатной температуре. Заметьте время начала реакции и наблюдайте за изменением окраски растворов. Результаты запишите в тетрадь. Сделайте выводы и ответьте на вопросы.

Прежде чем проверить правильность своих выводов, поставьте еще один опыт с дегидрогеназой, а потом уже рассмотрим результаты обоих опытов. В мышцах животных содержится специфический фермент - дегидрогеназа янтарной кислоты. Она катализирует превращение янтарной кислоты в фумаровую с переносом отнятого водорода на подходящее вещество, например, на метиленовый синий. Эта реакция протекает без участия кислорода, как говорят, в анаэробных условиях.

Сырое мясо курицы или кролика (около 10 г) мелко нарежьте и разотрите на блюдце. Кашицу промойте несколько раз водой на марле, чтобы удалить растворимые вещества. Промытую кашицу размешайте с тройным объемом воды, в которую добавлена поваренная соль - примерно треть чайной ложки. Разбавленную кашицу влейте в пробирки 4, 5 и 6 - по 5 мл в каждую. Пробирку 4 погрузите на пять минут в кипящую водяную баню и охладите до комнатной температуры. Затем в пробирки 4 и 5 добавьте по 0,5 мл раствора янтарной кислоты и по 10 капель раствора метиленового синего, а в пробирку 6 добавьте 0,5 мл воды и 10 капель красителя. В каждый флякон долейте чуть-чуть масла, чтобы изолировать смесь от воздуха. Проследив изменение окраски, попробуйте ответить на вопросы.

И еще один опыт с этим же ферментом, но с другим объектом - с микроорганизмами, а точнее – грибками. Речь идет об обычных пекарских дрожжах. Среди множества активных ферментов, которые вырабатываются дрожжами, есть и дегидрогеназа.

Кусочек прессованных дрожжей разотрите на блюдце с двумя чайными ложками кипяченой воды. Растирать лучше пластмассовой или алюминиевой ложкой. Когда смесь станет однородной, внесите ее чистой пипеткой в две пробирки. Их надо предварительно вымыть с мылом ватным тампоном на палочке, промыть водой и высушить. Другой пипеткой добавьте в обе пробирки немного масла.

Пробирку 1 поставьте на пять минут в кастриюлю с кипящей водой и охладите до комнатной температуры. В обе пробирки добавьте по щепотке сахарного песка и осторожно взболтайте, чтобы сахар растворился. Третьей пипеткой введите в обе пробирки по 10-15 капель раствора красителя. Наблюдайте за окраской раствора.

Опыт можно несколько усложнить, для этого понадобится больше пробирок. Попробуйте изменять температуру раствора, брать разные количества дрожжей и сахарного песка. А выводы предоставляем вам сделать самостоятельно.

#### **Контрольные вопросы:**

1. При какой температуре раствор обесцвечивается быстрее?
2. Сохраняет ли фермент свою активность в кипяченом молоке?
3. Что произойдет, если продуть через обесцвеченный раствор воздух?
4. Восстанавливается ли краситель в присутствии прокипяченной кашицы из мяса?
5. Нужна ли для этой реакции янтарная кислота?
6. Сходно ли поведение ферментов из тканей при высокой температуре?

#### **Лабораторная работа 2. Изучение кинетических характеристик ферментативного гидролиза крахмала.**

**Цель работы:** изучить экспериментально влияние температуры на активность амилолитических ферментов мёда, приобрести навыки работы с ФЭКом, знать влияние фермента (амилазы) на крахмал, уметь объяснять влияние катализатора на скорость химической реакции, уметь рассчитывать энергию активации процесса.

Провести реакцию гидролитического расщепления крахмала при следующих температурах: 30<sup>0</sup>, 35<sup>0</sup>, 40<sup>0</sup>, 45<sup>0</sup>, 50<sup>0</sup>. Рассчитать величину диастазного числа, характеризующего активность амилолитических ферментов мёда. Построить график зависимости активности амилолитических ферментов мёда от температуры, сделайте выводы о полученной зависимости.

Эти же данные спрятать в координатах  $\lg D\cdot c$  от  $\frac{1}{T \cdot 10^3}$  и рассчитать энергию активации процесса.

**Подготовка к занятию** – знать общие свойства ферментов. Знать из курса физической химии понятия формальной кинетики: молекулярность, порядок реакции, уравнение Аррениуса для определения энергии активации, основные теории кинетики, особенности ферментативных реакций.

**Аппаратура и реактивы:** термостат, ФЭК, секундомер, колбы мерные по 50мл, 8 пробирок, пипетка на 10, 5, 1 мл, мерный цилиндр, 2 кюветы с рабочей длиной 10 мм, раствор мёда (5 г на 50 мл воды), 0,25 М раствора иода, 0,2 М раствор CH<sub>3</sub>COOH, 0,2 М раствор CH<sub>3</sub>COONa, 0,1 М раствор NaCl, 0,25% раствор крахмала, 2,4 – динитрофенол.

#### **Ход работы**

Определение активности амилазы основано на фотометрическом измерении падения концентрации крахмала после обработки реакционной смеси раствором иода.

1. **Приготовление комбинированного реагента.** Ацетатный буфер концентрацией 0,2 М с pH = 5 приготавливают, смешивая одну объёмную часть раствора 0,2 М CH<sub>3</sub>COOH и три объёмных части 0,2 М CH<sub>3</sub>COONa. В полученном буферном растворе растворяют 2,4 – динитрофенол с таким расчётом, чтобы его концентрация в комбинированном реагенте составила 0,05%. Проверяют pH раствора потенциометрически и в случае отклонения от pH = 5 его корректируют, добавляя 0,2 М раствор CH<sub>3</sub>COOH или 0,2 М раствор CH<sub>3</sub>COONa. Комбинированный реагент готовят из 8 объёмных частей 0,25% раствора крахмала, 5 объёмных частей буферного раствора с 2,4 – динитрофенолом и одной объёмной части 0,1 М раствора NaCl.

2. **Поведение реакции гидролитического расщепления крахмала.** Процесс гидролиза крахмала осуществляют при следующих температурах: 30, 35, 40, 45 и 50<sup>0</sup>С. В термостате устанавливают нужную температуру. Две сухих пробирки заполняют комбинированным реагентом (по 14 мл в каждую пробирку), закрывают резиновыми пробками и помещают на 10 мин в термостат. Через 10 мин в одну пробирку вносят пипеткой 1 мл раствора мёда, в другую – 1 мл воды. Содержимое перемешивают пятикратным перевёртыванием и пробирки вновь помещают на водянную баню, одновременно включая секундомер. Пробирку выдерживают на водянной бане в течение 15 мин, через 15 мин пипеткой отбирают из каждой пробирки 2 мл реакционной смеси, которую вносят при перемешивании в мерную колбу на 50 мл, содержащую 40 мл воды и 1 мл раствора иода, имеющих температуру 20<sup>0</sup>С в течении 10 мин.

Оптическую плотность полученных растворов измеряют на ФЭКе против воды при светофильтре №7 ( $\lambda$  = 582 или 590 нм). Колориметрируя растворы, определяют значения оптической плотности испытуемого раствора ( $D_{исп}$ ) и контрольного опыта ( $D_k$ ) с точностью до 0,001.

3. **Расчёт величины диастазного числа.**

Диастазное число (D.ч.) характеризует активность амилолитических ферментов мёда.

Диастазное число вычисляют по формуле:

$$\text{Д.ч.} = \frac{(D_K - D_{\text{исп.}}) \times 100 \times 80}{D_K \times (100 - 18)};$$

На миллиметровой бумаге строят зависимость диастазного числа от температуры. График поясняют выводом о влиянии температуры на активность амилолитических ферментов мёда. Второй график строят в координатах  $\lg \text{Д.ч.} \text{ от } \frac{1}{T \cdot 10^3}$ . Из этого графика по тангенсу угла наклона определяют энергию активации ферментативного процесса.

### Лабораторная работа 3. Изучение свойств ферментов оксидаз и пероксидаз

**Цель работы:** изучить экспериментально окислительно-восстановительные свойства дегидрогеназ растительного происхождения.

**Объекты исследования:** капустная кочерыжка, яблоко, клубень картофеля с ростками, луковица с корешками, проросшая в темноте.

**Реактивы:** гидрохинон, раствор 2% перекиси водорода.

**Посуда:** терка для овощей, водяная баня, 6 пробирок, пипетки, марля или белая ткань.

#### Ход работы.

1. **Исследование свойств ферментов капустного сока.** Кусочек капустной кочерыжки, примерно 20 г, измельчите на терке, полученную кашицу отожмите через два слоя марли или один слой ткани, сок соберите в стакан и разбавьте водой в десять раз. Сразу же предупреждаем: при исследовании других растительных объектов сок нужно разбавлять не более чем в два-три раза.

Шесть чистых сухих пробирок пронумеруйте. В пробирки № 1, 2, 3 и 4 налейте по 1 мл разбавленного капустного сока. Пробирки 1 и 2 поставьте для инактивации ферментов минут на пять в кипящую водяную баню, а затем охладите до комнатной температуры. В пробирки 5 и 6 вместо сока налейте по 1 мл воды.

Все шесть пробирок добавьте немногого, на кончике ножа, гидрохинона. Затем в пробирки 1, 3 и 5 налейте по пять капель воды, а в пробирки 2, 4 и 6 - по пять капель пероксида водорода. Содержимое каждой пробирки тщательно перемешайте.

№ п/п	Сок капусты	Вода	Гидрохинон	Перекись водорода	Кипячение	Результаты
1	1 мл		+		+	
2	1 мл		+	5 капель	+	
3	1 мл		+			
4	1 мл		+	5 капель		
5		1 мл	+			
6		1 мл	+	5 капель		

Через десять-пятнадцать минут наблюдайте результаты опыта. Результаты запишите в виде таблицы. Внесите в таблицу номера пробирок и состав смеси в каждой из них, в графе против каждой смеси пометьте, изменилась ли окраска в ходе опыта, а если изменилась, то как именно. В следующей графе сделайте вывод - произошло ли окисление.

Проанализируйте полученные данные.

Поставьте такие же опыты с клубнем картофеля и его ростками, с мякотью яблок, с мясистыми чешуями луковицы, а также с ее донцем и листьями ("перьями"). Напоминаем: в этих случаях полученный сок надо разбавлять водой в 2-3 раза.

Определите в каком из исследованных материалов окислительные ферменты активнее. Могут ли одновременно присутствовать в растительных тканях оксидазы и пероксидазы? Сделайте выводы.

2. **Исследование термолабильности ферментов.** Натрите кочерыжку на терке, сок, как и прежде, отожмите через марлю или ткань и разбавьте водой в двадцать раз. Пронумеруйте вновь пробирки, если старая нумерация почему-либо стерлась, и налейте в пробирки 1, 2, 3 и 4 по 1 мл разбавленного капустного сока, а затем добавьте гидрохинон на кончике ножа. В пробирки 5 и 6 вместо сока налейте по 1 мл воды и тоже насыпьте гидрохинон. А затем расставьте пробирки следующим образом: 1 - в банку со снегом или льдом; 2 - в банку с теплой водой ( $40^{\circ}\text{C}$ ); 3 - в банку с горячей водой ( $60^{\circ}\text{C}$ ); 4 - оставьте на столе при комнатной температуре; 5 - в банку с кипящей водой; 6 - оставьте при комнатной температуре.

Через 5 мин после начала опыта во все пробирки, начиная с более холодных, влейте по пять капель пероксида водорода. Смесь осторожно взболтайте и заметьте время начала реакции. Еще через 5 мин выньте пробирки из банок и запишите результаты опыта в виде таблицы.

Проанализируйте полученные данные и сделайте выводы.

#### Контрольные вопросы:

- Может ли пероксид водорода окислить гидрохинон в отсутствие капустного сока?
- Окисляется ли гидрохинон под действием сока капусты без пероксида водорода?
- Сохраняется ли активность ферментов в соке после кипячения?
- Какие окислительные ферменты содержатся в капустном соке - оксидазы или пероксидазы?
- Ускоряется ли реакция окисления при повышении температуры без добавления фермента?
- Можно ли сказать, что ферменты лучше действуют при охлаждении?
- Какая температура наиболее благоприятна для действия пероксидаз?
- Почему пищевые продукты дольше сохраняются в холодильнике?
- Для чего кипятят молоко?
- Почему теплокровные животные - млекопитающие и птицы - наиболее жизнеспособные животные на Земле?

## Лабораторная работа 4. Определение степени гидролиза лактозы молока криоскопическим методом при участии фермента $\beta$ -галактозидазы.

**Цель работы:** изучить действие  $\beta$ -галактозидазы на лактозу молока, научится определять степень гидролиза лактозы криоскопическим методом.

**Аппаратура и реактивы:** термометр Бекмана, криоскоп, цилиндр на 200 мл, пипетки на 5 и 1 мл, водяная баня, раствор фермента лактазы, молоко,

### Ход работы

1. **Определение массовой доли лактозы в молоке.** Содержание лактозы в молоке ( $X, \%$ ) определяют йодометрическим методом по ГОСТ.

2. **Определение плотности молока.** Плотность молока ( $\rho_{\text{молока}}, \text{г}/\text{см}^3$ ) ареометрическим методом по ГОСТ 3625-84.

Рассчитайте молярную концентрацию лактозы по формуле

$$C_{\text{лактозы}} = \frac{X \cdot 1000 \cdot \rho_{\text{молока}}}{M_{\text{лактозы}} \cdot 342 - X}$$

где  $X$  массовая доля молочного сахара в молоке, %;  $M_{\text{лактозы}} = 342 \text{ г}/\text{моль}$ .

3. **Определение температуры замерзания чистого растворителя.** Приготовьте замораживающую смесь в сосуде прибора Бекмана, для чего заполните сосуд на 1/3 водопроводной водой, добавьте толченый лед или снег и 4-5 ложек технического NaCl. Общий объем замораживающей смеси должен не доходить до края сосуда на 2-3 см. Тщательно перемешайте смесь мешалкой. В пластмассовую пробирку налейте на 1/3 дистиллированной воды, чтобы уровень её был на 1-1,5 см выше уровня основного резервуара термометра Бекмана. Соберите криоскоп: термометр и мешалку вставьте в пробирку, которую укрепите в крышке, предварительно надетой на сосуд с замораживающей смесью и мешалкой.

Энергично перемешивайте воду в пробирке мешалкой и одновременно следите за положением ртути в капилляре термометра Бекмана. По мере охлаждения воды ртутный столбик в капилляре вначале медленно опускается, затем резко (скачком) поднимается вверх (началась кристаллизация - выделяется тепло). Продолжая перемешивать воду в пробирке, дождитесь, чтобы уровень ртути достиг максимальной работы. Если ртуть больше не поднимается, сделайте отсчет по шкале и запишите данные. Это и будет температура замерзания растворителя, соответствующая  $0^\circ$  по обычному термометру для воды, то есть "нулевая точка" термометра Бекмана.

4. **Определение температуры замерзания молока.** Осторожно выньте термометр из пробирки (держите вертикально, не переворачивайте!), вылейте воду и, сполоснув пробирку молоком, наполните её до нужного уровня. Вставьте термометр Бекмана в пробирку и определите температуру замерзания молока описанным выше способом. По разности между температурой замерзания по термометру Бекмана воды и молока рассчитаем  $\Delta t_{\text{опытмолока}}$ .

$$\Delta t_{\text{опыт молока}} = \Delta t_{\text{лактозы}} + \Delta t_1$$

$\Delta t_1$  - понижение температуры замерзания молока обусловлено растворенными солями, белками и др. Величина постоянная.

Определите  $\Delta t_{\text{лактозы}}$  - понижение температуры замерзания молока обусловлено лактозой и  $\Delta t_1$ .

$$\Delta t_{\text{лактозы}} = 1,86 \quad C_{\text{лактозы}}$$

$$\Delta t_1 = \Delta t_{\text{опыт молока}} - \Delta t_{\text{лактозы}}$$

Если степень гидролиза лактозы равна 0%, то  $\Delta t_{\text{опыт молока}} = \Delta t_{\text{лактозы}} + \Delta t_1$ . Концентрация глюкозы и галактозы в ходе ферментативной реакции гидролиза лактозы одинакова и рассчитывается по формуле

$$X_{\text{глюкозы}} = X_{\text{глюкозы}} = \frac{X \cdot 180}{342} = 0,526X$$

где  $X$  - процентная концентрация лактозы.

Если степень гидролиза лактозы 100%, рассчитаем молярную концентрацию образовавшейся глюкозы и галактозы

$$C_{\text{глюкозы}} = C_{\text{глюкозы}} = \frac{X_{\text{глюкозы}} \cdot 1000 \cdot \rho}{180 \cdot 342 - X_{\text{глюкозы}}}$$

Тогда депрессия молока  $\Delta t_{\text{молока}} = \Delta t_{\text{глюкозы}} + \Delta t_{\text{глюкозы}} + \Delta t_1 = 2 \cdot 1,86 \cdot C_{\text{глюкозы}} + \Delta t_1$

Постройте график  $\Delta t_{\text{молока}}$  от степени гидролиза лактозы при 0% и 100%.

Отмерьте цилиндром 200 мл молока и внесите в него 0,24 мл фермента. Поместите на водяную баню с температурой  $37^\circ\text{C}$ . По истечении часа измерьте температуру замерзания молока и по графику определите степень гидролиза лактозы при действии фермента в течение часа.

## **Лабораторная работа 5. Изучение кинетических характеристик ферментативного гидролиза белковых субстратов**

**Цель работы:** дать кинетическую характеристику кинетических параметров процессов ферментативного гидролиза белковых субстратов под действием различных ферментных препаратов.

Определить зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации специфического субстрата, рассчитать константу Михаэлиса при гидролизе стандартных (казеин) и специфических (коллаген) белковых субстратов.

**Методические указания:** для определения активности протеиназ используют метод, в котором о катализитических свойствах судят по степени расщепления белковых субстратов с образованием низкомолекулярных продуктов – пептидов и аминокислот, в частности, по накоплению тирозина. За единицу активности фермента ( $E$ ) принимают то его количество, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата в минуту при заданных условиях определения. При бимолекулярной реакции  $A+B \rightarrow B+G$  за единицу активности фермента принимают то его количество, которое катализирует превращение 1 мкмоль А и Б, или 2 мкмоль А, если  $A=B$ , за 1 мин. Удельная активность выражается числом единиц активности фермента, приходящихся на 1 мг белка. Метод измерения активности фермента основан на определении прироста продукта реакции или убыли субстрата через определённые промежутки времени. Скорость ферментативной реакции зависит от концентрации субстрата, рН, температуры, присутствия активаторов или ингибиторов, природы буфера и др.

**Аппаратура и реагенты:** раствор казеина по Гаммерстену с массовой долей 2%; растворы кристаллических (или очищенных) ферментных препаратов: трипсина, панкреатина, микробных препаратов; фосфатный буфер молярной концентрацией 0,1 моль /л (рН=8,0); 5% раствор трихлоруксусной кислоты (ТХУ); 0,005 моль/л раствор HCl; 0,5 моль/л раствор NaOH; рабочий раствор реагива Фолина; пипетки вместимостью 1-5 мл; воронки стеклянные; фильтры бумажные; ультратермостат; ФЭК; 0,176 моль/л по ацетату натрия ацетатный буферный раствор; биуретовый реагент; коллаген.

**Подготовка проб:** коллаген получают из ахиллова сухожилия крупного рогатого скота. Отобранные на мясокомбинате сухожилия очищают от мышечной ткани, жира и оболочек, немедленно охлаждают и измельчают на волчке. Полученную массу замораживают и лиофильно сушат. Высушенные сухожилия обрабатывают порциями. Для этого 4 г сухих сухожилий измельчают на кофейной мельнице и гомогенизируют в течении 1 мин в 150 мл раствора NaOH для растворения балластных белков. Суспензию центрифугируют, а нерастворившуюся часть промывают раствором NaOH с 0,1 моль/л. Осадок коллагена отделяют центрифугированием. Затем его супензируют в воде, осторожно нейтрализуют раствором 0,1 моль/л HCl, центрифугируют и осадок коллагена промывают водой. Полученный коллаген гомогенизируют в течении 5 мин в 2 л 0,01 моль/л раствора HCl. Вязкий раствор отделяют центрифугированием от нерастворившихся частиц и осторожно нейтрализуют раствором NaOH с 0,1 моль/л. Выпадающие при нейтрализации тонкие хлопья коллагена отделяют центрифугированием, промывают водой до отрицательной реакции на ион хлора. Волокнистый осадок супензируют в 5 порциях этанола по 150 мл, дважды промывают эфиром по 100 мл и сушат на воздухе. Полученную массу измельчают и используют в качестве субстрата.

Растворы ферментных препаратов готовят путём растворения навески 0,01 г в 100 мл буферного раствора (воды).+

### **Опыт 1. Исследование зависимости скорости ферментативной реакции от времени гидролиза**

**Ход работы**

В пять пробирок наливают по 1 мл раствора казеина, по 1,5 мл фосфатного буфера, затем добавляют в четыре пробирки по 0,5 мл раствора фермента, а в пятую пробирку (контрольную) перед добавлением фермента вносят 3 мл раствора ТХУ. Затем пробы инкубируют в термостате при 37 °C.

По истечении каждых 10 мин инкубации извлекают одну пробирку, добавляют 3 мл раствора ТХУ, тщательно перемешивают и фильтруют.

Затем определяют концентрацию тирозина. Для этого отбирают по 2,5 мл фильтрата из каждой пробы в отдельную пробирку. Добавляют к фильтратам по 0,5 мл реагива Фолина и тщательно перемешивают. Через 20 мин измеряют интенсивность окраски на ФЭКе при длине волн 630-690 нм (красный светофильтр). Концентрацию тирозина находят по калибровочному графику. +

Строят график изменения концентрации тирозина в пробе в зависимости от времени инкубации. На графике отмечают период времени, в течении которого скорость реакции находится в линейной зависимости от времени инкубации. Именно этот участок графика и будет соответствовать условиям, при которых измеряется начальная скорость реакции. В пределах этого участка выбирают время инкубации, которое необходимо использовать при дальнейших кинетических исследованиях этого фермента.

Параллельно проводят опыт с использованием в качестве субстрата коллагена. Для этого к 20 мг коллагена в каждой из 6 пробирок добавляют по 5 мл раствора фермента в ацетатном буфере с рН= 5,5. Гидролиз ведут в течении 18 ч при 37 °C при периодическом (через 3 ч) отборе проб. Кроме опытных данных, ставят по 2 контрольных пробы на каждую опытную пробирку. Первый контроль – инкубация субстрата с буферным раствором вместо раствора фермента, второй контроль аналогичен опытной пробе, но без инкубации.

Через каждые 3 ч пробы вынимают из термостата, охлаждают в ледяной бане, фильтруют и в фильтрате определяют содержание растворимых продуктов гидролиза коллагена. Для этого к фильтрату добавляют равный объём биуретового реагива и через 10 мин пробы колориметрируют с зелёным светофильтром против второго контроля. Об активности препаратов судят по величине экстинции ( $E$ ).

Для ориентировочного перевода  $E$  в проценты растворённого коллагена пользуются результатами определения степени расщепления коллагена под действием бактериальных препаратов коллагеназы гравиметрическим методом:

Экстинция ( $E$ )	Процент растворённого коллагена
0,174	54,5
0,116	36,0
0,088	27,8

В случае использования препаратов ферментов с неизвестным уровнем активности рекомендуется сначала подобрать их концентрацию.

**Оформление результатов.** Строят график зависимости молярной концентрации продуктов ферментативного гидролиза от времени инкубации с ферментом и фиксируют найденную начальную скорость реакции при использовании различных субстратов.

Сравнивая начальную скорость реакции в случае стандартного субстрата и коллагена, сделайте выводы.

**Опыт 2. Изучение влияния массовой концентрации фермента на скорость протеолитической реакции**

Начальная скорость ферментативной реакции при условии избытка субстрата пропорциональна массовой концентрации фермента:  $v = kE$ , где  $k$  – константа скорости реакции;  $E$  – массовая концентрация фермента. Графически эта зависимость изображается прямой линией.

Таким образом, сравнивая активность разных препаратов фермента, можно судить о содержании фермента в этих препаратах.

**Ход работы**

В четырёх пробирках готовят инкубационные смеси состава:

Номер пробы	Объём раствора казеина, мл	Объём фосфатного буфера, мл	Объём раствора ферментного препарата, мл
1	1,0	1,9	0,1
2	1,0	1,7	0,3
3	1,0	1,5	0,5
4	1,0	1,2	0,8

Раствор ферментного препарата следует добавлять по возможности быстро, начиная с первой пробирки. После внесения фермента содержимое пробирок перемешивают и инкубируют 15 мин при 40 °C.

Затем реакцию останавливают добавлением в каждую пробирку 3 мл ТХУ, причём раствор ТХУ следует добавлять в пробирки в том же порядке, что и раствор фермента. Содержимое пробирок перемешивают, выпавший осадок отфильтровывают.

В фильтратах определяют массовую концентрацию образовавшего тирозина. Для этого отбирают из каждой пробы по 2,5 мл фильтрата в отдельные пробирки и добавляют по 0,5 мл реагента Фолина. Интенсивность окраски измеряют через 20 мин на ФЭКе против контроля при длине волн 630-690 нм (светофильтр красный). Концентрацию тирозина (мкмоль/мл) находят по градуировочному графику.

Аналогичные исследования проводят при использовании коллагена, внося в опытные пробирки, подготовленные также как и в опыте 1 (для коллагена), по 5 мл растворов ферментного препарата с массовой долей 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,30; 0,40; 0,50%.

**Оформление результатов.** Учитывая массовую долю ферментного препарата в растворе, использованном для экспериментальных исследований, выражают внесённое в пробы количество фермента в мкг белка и оформляют результаты в виде таблицы:

Номер пробы	Массовая концентрация фермента, мкг/мл раствора субстрата	Оптическая плотность	Скорость реакции, мкмоль/мин
1			
2			
3			
4			

Результаты можно представить в виде графика, откладывая на оси ординат скорость реакции (или единицы оптической плотности), а на оси абсцисс – массовую концентрацию фермента. Отмечают характер полученной зависимости и делают выводы о характере влияния массовой концентрации фермента на скорость реакции.

При использовании коллагена строят график зависимости процента растворения коллагена от массовой концентрации раствора ферментного препарата.

**Опыт 3. Изучение влияния массовой концентрации субстрата на скорость ферментативной реакции**

Зависимость начальной скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата показывает, что при низких концентрациях субстрата наблюдается отчётливое влияние его концентрации на скорость реакции. При избытке субстрата скорость реакции постоянна и называется максимальной скоростью. Значение максимальной скорости реакции определяется всем количеством фермента, связанного в фермент-субстратный комплекс.

Концентрация субстрата, при котором достигается скорость, равная половине максимальной, обозначается  $K_m$  и называется константой Михаэлиса характеризует сродство фермента к субстрату: чем выше эта величина, тем больше сродство, и наоборот.

**Ход работы**

В четырёх пробирках готовят инкубационные смеси состава:

Номер пробы	Объём раствора казеина, мл	Объём фосфатного буфера, мл	Объём раствора исследуемого ферментного препарата, мл
1	0,2	2,3	0,5
2	0,4	2,1	0,5
3	0,6	1,9	0,5
4	0,8	1,7	0,5

Пробы тщательно перемешивают и инкубируют в термостате 15 мин. Реакцию останавливают добавлением 3 мл раствора ТХУ. Пробы перемешивают и фильтруют. В фильтрате определяют концентрацию тирозина как в опыте 1.

**Оформление результатов.** Результаты фиксируют в таблице рекомендуемой формы:

Номер пробы	Концентрация субстрата, мкмоль/мл	Скорость реакции, мкмоль/мин
1		
2		

3		
4		

Строят график зависимости скорости реакции от концентрации субстрата. Объясняют характер полученной кривой. Затем рассчитывают  $K_m$  реакции, катализируемой исследуемыми протеолитическими ферментами.

Расчёт величины  $K_m$  ведут с использованием графика. Однако значение  $K_m$ , определённое такими способом, является приблизительным. Для точного вычисления  $K_m$  необходимо представить экспериментальные данные таким образом, чтобы график был линейным.

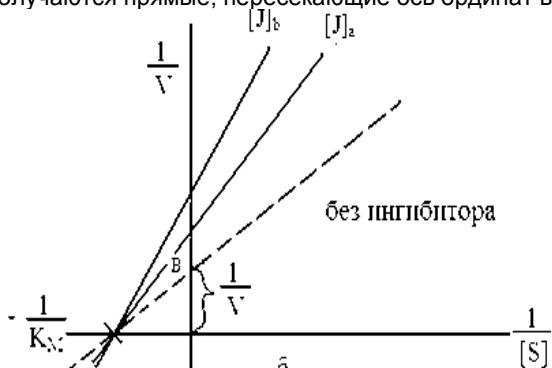
Для этого откладывают на оси ординат отношение  $\frac{1}{V}$ , а на оси абсцисс -  $\frac{1}{[S]}$ . Получается прямая линия.

Продолжив прямую линию до пересечения с осью абсцисс, находят обратную величину  $1/K_m$ .

#### Опыт 4. Определение характера ингибиции протеолитических ферментов

Характер ингибиции может быть выяснен путём исследования зависимости скорости реакции от концентрации субстрата без ингибитора и в присутствии ингибитора. По результатам строят график зависимости обратной величины скорости ( $\frac{1}{V}$ ) от обратной величины концентрации ( $\frac{1}{[S]}$ ).

При неконкурентном ингибиции (например, ингибиция аргиназы избытком ионов  $Mn^{+2}$ ) на графике получаются прямые, пересекающие ось ординат в разных точках:



Отрезок от оси ординат в присутствии ингибитора больше, чем без него, иначе говоря, ингибитор снижает максимальную скорость реакции.

При конкурентном ингибиции (например, ингибиция трипсина трасилолом, аргиназы гуанидином) получаются прямые, пересекающие ось ординат в одной точке:



В присутствии конкурентного ингибитора не изменяется максимальная скорость, а  $K_m$  увеличивается.

#### Ход работы

Готовят два ряда (А и Б) пробирок, четыре в каждом ряду. В пробирки добавляют реагенты, как указано в таблице:

Номер пробы	Объём раствора субстрата, мл	Объём фосфатно-го буфера, мл	Объём раствора ингибитора (например трасилола), мл	Объём раствора фермента (например трипсина), мл
А. Инкубационные смеси без ингибиторов				
1	0,2	2,3	-	0,5
2	0,4	2,1	-	0,5
3	0,6	1,9	-	0,5
4	0,8	1,7	-	0,5
Б. Инкубационные смеси, содержащие ингибитор				

5	0,2	1,8	0,5	0,5
6	0,4	1,6	0,5	0,5
7	0,6	1,4	0,5	0,5
8	0,8	1,2	0,5	0,5

Фермент следует добавлять, начиная с первой пробирки в ряду А, а затем в ряду Б, стараясь выполнить эту процедуру возможно быстрее. Отсчёт времени начинают с момента добавления раствора фермента в первую пробирку. После добавления фермента содержимое пробирок перемешивают и инкубируют в термостате в течение 15 мин.

Затем реакцию останавливают, добавляя в каждую пробирку по 3 мл раствора ТХУ. Добавление ТХУ следует начинать в том же порядке, что и раствор фермента. Контрольную пробирку готовят, добавляя раствор ТХУ перед внесением раствора фермента. Пробы перемешивают, фильтруют. В фильтрате определяют концентрацию тирозина.

При необходимости опыты могут быть поставлены и при использовании в качестве субстрата коллагена.

**Оформление результатов.** Результаты записывают в таблицу и строят графики зависимости скорости реакции от концентрации ингибитора. Объясните характер полученных кривых и сделайте выводы о характере ингибирования, обращая внимание на сродство ферментов к субстратам.

## Лабораторная работа 6. Контроль качества молокосвертывающих ферментных препаратов

**Цель работы:** оценить качественные характеристики ферментного препарата, уметь определять молокосвёртывающую активность сычужного препарата. Молокосвёртывающая активность выражается количеством молока, которое свёртывается единицей сычужного препарата в условиях метода.

**Аппаратура и реактивы:** весы с точностью до 0,01 г, мерные колбы на 100, 500 и 1000 мл, термометр, колба Эрленмейера на 1000 мл, водяная баня, pH-метр, стаканы на 25 и 50 мл, шприц, молоко свежее, цельное кислотностью 6,8-7,4<sup>0</sup> SH (молоко должно быть получено от здоровых коров в период лактации), молокосвёртывающий порошковый и жидкий препарат, стандартный сычужный порошок, активность которого известна.

### Ход работы

#### 1. Органолептическая оценка.

а) Органолептическая оценка порошкового препарата. Качественный сычужный порошок должен иметь следующие свойства: вид – сыпучий порошок, мелкозернистый; цвет – от светло-серого до серо-жёлтого; запах – чистый. Некачественный сычужный порошок имеет следующие показатели: вид – препарат в виде хлопьев и комков; цвет – от тёмно-жёлтого до коричневого; запах – кислый, едкий, гнилостный, прогорклый.

б) Органолептическая оценка препарата в таблетках. Свойства качественного препарата в таблетках: вид – таблетки компактные, не дробятся; цвет – от светло-серого до серо-жёлтого; запах – чистый, без примесей; другие требования – масса должна отвечать норме с максимальным отклонением  $\pm 5\%$ .

Некачественный сычужный препарат в таблетках имеет следующие показатели: вид – дробящиеся таблетки; цвет – от тёмно-жёлтого до коричневого; запах – не отвечает требованиям.

в) Органолептическая оценка жидкого препарата. Качественный жидкий препарат должен иметь следующие свойства: вид – абсолютно прозрачный, без осадка и мути; цвет – жёлто-коричневый; запах – явно пряный.

Некачественный жидкий препарат имеет следующие показатели: вид – непрозрачный, осадок, муть; цвет – бесцветный, грязно-серый; запах – гнилостный.

2. Оценка растворимости. 0,5 г точно отвешенного сычужного порошка переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в небольшом количестве тёплой воды до пастообразного состояния и доливают водой при 20<sup>0</sup>C до метки. Содержимое колбы основательно перемешивают. Если порошок имеет цвет от жёлтого до светло-коричневого и содержит видимый осадок, то препарат имеет плохое качество. Следует учитывать, что таблетки растворяются медленнее, чем порошок.

#### 3. Определение активной кислотности (pH).

а) Электрометрические определения. 20-30 мл жидкого сычужного препарата или раствора сычужного порошка наливают в стакан и нагревают до 20<sup>0</sup>C. В стакан погружают электроды pH-метра и согласно прилагаемой к прибору инструкции замеряют pH. Раствор сычужного порошка готовят, растворяя 0,5 г сычужного препарата в 100 мл дистиллированной воды.

б) Определение кислотности с помощью индикаторной бумаги. Индикаторную бумагу PHAN с диапазоном pH 3,9-5,4 погружают в жидкий сычужный препарат или раствор сычужного порошка. Окраску сравнивают с окраской полос эталона. Полученные таким образом величины pH являются ориентировочными и могут отличаться от истинных на несколько десятых.

#### 4. Определение молокосвёртывающей активности классического сычужного препарата по Сокслету.

Молокосвёртывающая активность, определяемая этим методом, выражается числом миллилитров сырого цельного молока, которое коагулируется 1 мл жидкого или 1 г порошкового препарата при 35<sup>0</sup>C в течение 40 мин.

Если препарат имеет активность 1:100000, он содержит 100000 единиц, поскольку 1 мл сычужного препарата коагулирует 100000 мл молока.

Взвешивают точно 0,5 г сычужного порошка, затем растворяют в небольшом количестве воды в мерной колбе на 100 мл. После этого добавляют около 50 мл воды температурой 20<sup>0</sup>C. Раствор перемешивают круговыми движениями до полного растворения препарата и доводят до метки водой. Содержимое снова основательно перемешивают и точно через 30 мин с момента растворения его используют для определения активности сы-

чужкого препарата. В колбу Эрленмейера на 1000 мл отмеривают 500 мл молока, которое нагревают на водяной бане до 35<sup>0</sup>С; в ходе нагревания температура не должна превышать 40<sup>0</sup>С. После достижения температуры молока 35<sup>0</sup>С из мерной колбы пипеткой отбирают 1 мл раствора сычужного препарата соответствующих 0,05 г исходного сычужного порошка.

Раствор должен быть основательно перемешан. Отмеренное количество раствора быстро выдывают из пипетки в молоко и в момент, когда сычужный раствор вытек из пипетки в молоко, включают секундомер. Препарат тотчас же хорошо перемешивают с молоком и в ходе определения контролируют температуру, которая может колебаться максимально ± 0,5<sup>0</sup>С. Первые две минуты молоко оставляют в покое, перемешивают время от времени, потом содержимое колбы перемешивают круговыми движениями постоянно. Колбу держат в наклонном положении и против света на стенке колбы наблюдают образование плёнки, которая возникает при перемешивании. В ходе определения молоко медленно загустевает. В момент, когда на стенках колбы появляются хлопья свернувшегося молока, секундомер останавливают и отмечают время (D<sub>1</sub>), которое указывает момент свёртывания. Подобным образом приготавливают раствор стандартного сычужного препарата и определяют время свёртывания (D<sub>2</sub>).

Результаты обычно выражают уравнением

$$A_1 = (A_2 D_2 / D_1) \cdot (K_2 / K_1),$$

где A<sub>1</sub> – активность испытуемого ферментного препарата; A<sub>2</sub> – активность стандартного препарата; D<sub>1</sub> – время свёртывания испытуемым препаратом; D<sub>2</sub> – время свёртывания стандартным препаратом; K<sub>1</sub> – количество (концентрация) испытуемого препарата; K<sub>2</sub> - количество (концентрация) стандартного препарата.

Если при разбавлении испытуемого образца и стандартного препарата в указанном рабочем процессе поступали одинаково, то K<sub>2</sub>/K<sub>1</sub> равно 1.

## **7. Общие методические рекомендации по изучению отдельных разделов дисциплины**

При изучении конкретного раздела дисциплины, из числа вынесенных на лекционные и практические занятия, обучающемуся следует учитывать изложенные ниже рекомендации. Обратите на них особое внимание при подготовке к аттестации.

Работа по теме прежде всего предполагает ее изучение по учебнику или пособию. Следует обратить внимание на то, что в любой теории, есть либо неубедительные, либо чрезвычайно абстрактные, либо сомнительные положения. Поэтому необходимо вырабатывать самостоятельные суждения, дополняя их аргументацией, что и следует демонстрировать на семинарах. Для выработки самостоятельного суждения важным является умение работать с научной литературой. Поэтому работа по теме кроме ее изучения по учебнику, пособию предполагает также поиск по теме научных статей в научных журналах по праву. Такими журналами являются: Хранение и переработка сельхозсырья, Вопросы питания, Молочная промышленность и др. Выбор статьи, относящейся к теме, лучше делать по последним в году номерам, где приводится перечень статей, опубликованных за год.

Самостоятельная подготовка предполагает использование ряда методов.

1. Конспектирование. Конспектирование позволяет выделить главное в изучаемом материале и выразить свое отношение к рассматриваемой автором проблеме.

Техника записей в конспекте индивидуальна, но есть ряд правил, которые могут принести пользу его составителю: начиная конспект, следует записать автора изучаемого произведения, его название, источник, где оно опубликовано, год издания. Порядок конспектирования:

- а) внимательное чтение текста;
- б) поиск в тексте ответов на поставленные в изучаемой теме вопросы;
- в) краткое, но четкое и понятное изложение текста;
- г) выделение в записи наиболее значимых мест;
- д) запись на полях возникающих вопросов, понятий, категорий и своих мыслей.

2. Записи в форме тезисов, планов, аннотаций, формулировок определений. Все перечисленные формы помогают быстрой ориентации в подготовленном материале, подборе аргументов в пользу или против какого-либо утверждения.

3. Словарь понятий и категорий. Составление словаря помогает быстрее осваивать новые понятия и категории, увереннее ими оперировать. Подобный словарь следует вести четко, разборчиво, чтобы удобно было им пользоваться. Из приведенного в УМК глоссария нужно к каждому семинару выбирать понятия, относящиеся к изучаемой теме, объединять их логической схемой в соответствии с вопросами семинарского занятия.

### **Раздел 1. Структура ферментов**

#### **Методические советы**

Изучение дисциплины следует начать с ознакомления с химической природой ферментов, их функцией. Далее необходимо усвоить в чем сходство и различия механизмов химического и ферментативного катализа. При изучении номенклатуры и классификации ферментов обратите внимание на два типа назва-

ний этих соединений: тривиальные и систематические, принцип составления шифра каждого фермента. Ознакомьтесь со всеми классами, важнейшими подклассами и отдельными ферментами.

#### Вопросы для самопроверки

1. Какую роль играют ферменты в живой клетке? Какова химическая природа ферментов?
2. В состав какого кофактора входит витамин В<sub>2</sub>: а) тиаминпирофосфата; б) NAD; в) FAD?
3. Расскажите о химическом строении и структуре апофермента и кофактора.
4. Как и по какому принципу подразделяют ферменты на классы?

### Раздел 2. Ферментативный катализ

#### Методические советы

Прежде всего, необходимо уяснить, что ферменты, как и катализаторы неорганической природы, не вызывают каких-либо новых химических реакций, а ускоряют существующие посредством снижения энергии активации, необходимой для прохождения химических реакций. Ведущая роль в механизме ферментативного катализа принадлежит образованию промежуточного фермент-субстратного комплекса, который в конце реакции распадается с освобождением фермента и продуктов реакции. В ходе ферментативного катализа выделяют следующие стадии: образование фермент-субстратного комплекса; изменение субстрата на ферменте (поляризация, деформация связей, смещение электронов), делающее его доступным для соответствующей химической реакции; образование на поверхности фермента продукта реакции; отделение конечных продуктов реакции от фермента.

Важно запомнить, что ферменты обладают всеми свойствами белков, однако имеют и свои специфические свойства: специфичность, зависимость от pH, температуры, концентрации фермента и концентрации субстрата, активаторов и ингибиторов и т. п.

#### Вопросы для самопроверки

1. Объяснить зависимость скорости ферментативной реакции от температуры и pH среды. В чём их формальное сходство и различие с физико-химической точки зрения?
2. В чём сущность ферментативного катализа? Как изменяются стандартная свободная энергия реакции и энергия активации?
3. В реакции первого порядка сахароза → инвертный сахар концентрация сахарозы в начальный момент 10 моль<sup>-1</sup>, спустя 1 мин стала равной 5 моль<sup>-1</sup>. Какой она станет спустя 5 мин?
4. Докажите, что  $K_M = \frac{V_0}{2} \cdot V$ .
5. Определите конкурентный или неконкурентный тип ингибирования ферментативной реакции по следующим данным:

Концентрация субстрата, моль/дм <sup>3</sup>	2	4	8	16
Скорость реакции в отсутствии ингибитора, моль <sup>-1</sup> · с <sup>-1</sup>	0,5	0,7	1,0	1,5
Скорость реакции в присутствии ингибитора, моль <sup>-1</sup> · с <sup>-1</sup>	0,1	0,4	0,8	1,4

### Раздел 3. Получение ферментных препаратов

#### Методические советы

Изучение этого раздела следует начать с характеристики источников ферментов. Рассмотрите технологическую схему получения ферментных препаратов микробного происхождения, технологию получения ферментных препаратов из растений и животного сырья. Затем следует познакомиться с понятием «иммобилизованные ферменты» и отметить преимущества иммобилизованных ферментов в сравнении со свободными молекулами. Особое внимание обратите на носители (органические и неорганические материалы), используемые для иммобилизации ферментов и требования, предъявляемые к ним. Подробно следует изучить методы иммобилизации ферментов, клеток и субклеточных структур (физические и химические), достоинства и недостатки каждого из методов.

#### Вопросы для самопроверки

1. Назовите основные источники ферментов.
2. Опишите основные этапы выделения и очистки ферментных препаратов.

3. Что такое препараты иммобилизованных ферментов? Какие вы знаете методы иммобилизации ферментов, их достоинства и недостатки.
4. Расскажите о преимуществах использования иммобилизованных клеток.

#### **Раздел 4. Промышленные процессы с использованием иммобилизованных ферментов и клеток**

##### **Методические советы**

В настоящее время в мире разработаны крупномасштабные производства с использованием иммобилизованных ферментов и клеток. В данном разделе более подробно следует рассмотреть процессы: получение глюкозофруктозных сиропов, получение оптически активных L-аминокислот из их рацемических смесей, синтез L-аспарагиновой кислоты из фумарата аммония, синтез L-аланина из L-аспарагиновой кислоты, синтез L-яблочной кислоты из фумаровой кислоты. Объясните необходимость получения данных соединений, суть процессов.

##### **Вопросы для самопроверки**

1. Какие ферменты используются для получения фруктозы, глюкозо-фруктозных сиропов?
2. По каким критериям оцениваются ферменты с точки зрения их эффективного использования в технологии пищевых продуктов?
3. Как выделяют L – аминокислоты из рацемической смеси?
4. Перечислите ферменты, используемые для получения L – аминокислот.

#### **Раздел 5. Использование ферментов в пищевой промышленности**

##### **Методические советы**

При изучении этого раздела необходимо усвоить, что применение ферментных препаратов в отраслях пищевой промышленности позволяет интенсифицировать технологические процессы, улучшать качество готовой продукции, увеличивать её выход, а также сэкономить ценное пищевое сырьё. Обратите внимание, что ферментные препараты должны удовлетворять требованиям, предъявляемым конкретными технологиями не только по типу катализируемой реакции, но и в отношении условий их действия: pH, температуры, стабильности, присутствия активаторов и ингибиторов, т. е. тех факторов, которые обуславливают эффективность действия препарата в данной среде и позволяют правильно определить технологические режимы его применения. Кроме того, в зависимости от цели применения к ферментным препаратам предъявляются определённые требования в отношении степени очистки, применяемых наполнителей, стоимости и ряда других параметров.

##### **Вопросы для самопроверки**

1. Перечислите ферменты, широко используемые в пищевой промышленности.
2. Расскажите о специфичности действия и свойствах амилаз.
3. Пектинрасщепляющие ферменты и их роль в пищевой промышленности.
4. По каким критериям оцениваются ферменты с точки зрения их эффективного использования в технологии пищевых продуктов?
5. Расскажите о проблемах, стоящих перед прикладной энзимологией в области использования ферментов в пищевой, мясо-молочной промышленности.
6. Сколько глюкозы образуется при гидролизе 10 г крахмала глюкоамилазой?
7.  $\beta$  - Амилазой прогидролизовано 20 г амилозы. Какой образуется сахар? Сколько?
8. 5 г глюкозы окислились глюкозооксидазой. Какой продукт образуется? Сколько?

После изучения каждого раздела проводится рубежный контроль. Рубежный контроль осуществляется с целью определения качества проведения образовательных услуг по дисциплине, для оценки степени достижения обучающимися состояния, определяемого целевыми установками дисциплины, а также для формирования корректирующих мероприятий. Рубежный контроль осуществляется по разделам дисциплины в соответствии с планом. Рубежный контроль состоит из выполнения заданий на практических и лабораторных занятиях и устного опроса или письменной контрольной по разделам дисциплины.

#### **8. Общие методические рекомендации по оформлению и выполнению отдельных видов ВАРС**

## **Рекомендации по оформлению презентации / доклада**

Тема презентации/доклада избирается студентом из предложенного преподавателем списка. Презентация/доклад подготавливается студентом индивидуально на основе самостоятельной проработки рекомендованной преподавателем и самостоятельно подобранный основной и дополнительной учебной литературы по теме презентации/доклада. Презентация/доклад относится к категории обзорных.

### **Перечень примерных тем доклада**

1. Основные этапы развития учения о ферментах.
2. Современной энзимологии: задачи, основные направления развития, перспективы.
3. Классификация и номенклатура ферментов.
4. Сущность ферментативного катализа. Отличительные особенности протекания ферментативной и химической реакции.
5. Методы исследования ферментативного катализа.
6. Источники получения ферментов. Источники растительных и животных ферментов.
7. Продуценты ферментов. Основные требования к штаммам-продуcentам ферментов, используемых в пищевой промышленности.
8. Производство промышленных ферментов: источники получения, методы получения, типовые схемы производства.
9. Обоснование выбора и правила работы с ферментными препаратами.
10. Характеристика отдельных ферментных препаратов, используемых в различных отраслях промышленности.
11. Выделение и очистка ферментов: способы, приемы, методы.
12. Осаждение, высаливание, мембранные технологии выделения и очистки ферментных препаратов.
13. Аппаратурное оформление процессов выделения ферментов. Ферментация.
14. Гель-хроматография – сущность метода, использование.
15. Критерий чистоты ферментных препаратов. Аналитический электрофорез.
16. Способы выражения активности ферментов.
17. Общие понятия ферментативной кинетики. Влияние концентрации фермента на скорость реакции.
18. Влияние концентрации субстрата на скорость ферментативной реакции.
19. Характеристика кинетических констант  $K_m$  и  $V_{max}$ .
20. Субстратная специфичность ферментов. Виды специфичности: относительная и абсолютная.
21. Понятие об активном центре ферментов. Химия активных центров.
22. Методы идентификации функциональных групп активного центра.
23. Основные механизмы действия ферментов.
24. Влияние температуры на активность и стабильность ферментов.
25. Влияние pH на активность и стабильность ферментов.
26. Регуляция активности ферментов. Основные механизмы регуляции: за счет регуляции скорости его синтеза и распада, аллостерический механизм.
27. Регуляция активности ферментов. Основные механизмы регуляции: за счет ковалентная модификация, адсорбционный механизм.
28. Множественность форм ферментов.
29. Влияние физико-химических факторов на активность ферментов: радиация, давление, влажность и т.д.
30. Ингибиторы и активаторы ферментативных реакций. Виды ингибирования.
31. Биохимические основы использования ферментных препаратов в различных отраслях промышленности.
32. Применение ферментных препаратов в хлебопекарной и мукомольной промышленности.
33. Применение ферментных препаратов в мясной промышленности.
34. Применение ферментных препаратов в кондитерской промышленности.
35. Применение ферментных препаратов в производстве соков, вин, безалкогольных напитков.
36. Применение ферментных препаратов в спиртовой и пивоваренной промышленности.
37. Применение ферментных препаратов в молочной промышленности.
38. Основные направления использования карбогидраз, протеолитических ферментов, липолитических ферментов, пектолитических ферментов в биотехнологических процессах.
39. Аспекты применения ферментов, связанные с их безвредностью для здоровья.

## 40. Перспективы пищевой энзимологии.

### Методические рекомендации по работе над презентации / докладом

В процессе работы над докладом можно выделить 4 этапа:

- вводный – выбор темы, работа над планом и введением;
- основной – работа над содержанием и заключением;
- заключительный – оформление доклада в виде презентации;
- выступление с докладом на занятии в виде конференции

#### 1) Выбор темы доклада

Работа над докладом начинается с выбора темы исследования. Заинтересованность автора в проблеме определяет качество проводимого исследования и соответственно успешность его защиты. Выбирая круг вопросов своей работы, не стоит спешить воспользоваться списком тем, предложенным преподавателем. Надо попытаться сформулировать проблему своего исследования самостоятельно.

При определении темы доклада нужно учитывать и его информационную обеспеченность. С этой целью, во-первых, можно обратиться к библиотечным каталогам, библиотечным информационным системам, а во-вторых, проконсультироваться с преподавателем и библиотекарем.

Если возникнет необходимость ознакомиться не только с литературой, имеющейся в библиотеке, но и вообще с научными публикациями по определенному вопросу, можно воспользоваться библиографическими указателями. С согласия библиотеки нужные книги и журналы можно выписать по специальному межбиблиотечному абонементу из любой другой библиотеки. Полезно также знать, что ежегодно в последнем номере научного журнала публикуется указатель статей, помещенных в этом журнале за год. Отобрав последние номера журнала за несколько лет, можно разыскать по указателям, а затем найти в соответствующих номерах все статьи по той или иной теме, опубликованные в журнале за эти годы.

Структура доклада включает в себя следующие элементы:

- титульный лист;
- содержание;
- введение;
- содержание (главы и параграфы);
- заключение;
- приложения (если есть);
- список использованной литературы.

#### 2) Формулирование цели и задач

Выбрав тему доклада и изучив литературу, необходимо сформулировать цель работы и составить план.

Цель – это осознаваемый образ предвосхищаемого результата. Целеполагание характерно только для человеческой деятельности. Возможно, формулировка цели в ходе работы будет меняться, но изначально следует ее обозначить, чтобы ориентироваться на нее в ходе исследования. Определяясь с целью дальнейшей работы, параллельно надо думать над составлением плана: необходимо четко соотносить цель и план работы.

Можно предложить два варианта формулирования цели:

1. Формулирование цели при помощи глаголов: исследовать, изучить, проанализировать, систематизировать, осветить, изложить (представления, сведения), создать, рассмотреть, обобщить и т.д.

2. Формулирование цели с помощью вопросов.

Цель разбивается на задачи – ступеньки в достижении цели.

#### 3) Работа над планом

Работу над планом необходимо начать еще на этапе изучения литературы. План – это точный и краткий перечень положений в том порядке, как они будут расположены в докладе, эта-пы раскрытия темы. Черновой набросок плана будет в ходе работы дополняться и изменяться. Существует два основных типа плана: простой и сложный (развернутый). В простом плане содержание делится на

параграфы, а в сложном на главы и параграфы. Но как построить грамотно план? Конкретного рецепта здесь не существует, большую роль играет то, как предполагается расставить акценты, как сформулирована тема и цель работы. При описании, например, исторического события можно остановиться на стандартной схеме: причины события, этапы и ход события, итоги и значения исторического события.

При работе над планом необходимо помнить, что формулировка пунктов плана не должна повторять формулировку темы (часть не может равняться целому).

#### 4) Работа над введением

Введение – одна из составных и важных частей доклада. При работе над введением необходимо опираться на навыки, приобретенные при написании изложений и сочинений. В объеме доклада введение, как правило, составляет 1-2 машинописные страницы. Введение обычно содержит вступление, обоснование актуальности выбранной темы, формулировку цели и задач, краткий обзор литературы и источников по проблеме, историю вопроса и вывод.

Вступление – это 1-2 абзаца, необходимые для начала. Желательно, чтобы вступление было ярким, интригующим, проблемным, а, возможно, тема доклада потребует того, чтобы начать, например, с изложения какого-то определения, типа «политические отношения – это...».

Обоснование актуальности выбранной темы – это, прежде всего, ответ на вопрос: «почему я выбрал(а) эту тему, чем она меня заинтересовала?». Можно и нужно связать тему доклада с современностью.

Краткий обзор литературы и источников по проблеме – в этой части работы над введением необходимо охарактеризовать основные источники и литературу, с которой автор работал, оценить ее полезность, доступность, высказать отношение к этим книгам.

История вопроса – это краткое освещение того круга представлений, которые сложились в науке по данной проблеме и стали автору известны. Вывод – это обобщение, которое необходимо делать при завершении работы над введением.

#### 5) Требования к содержанию доклада

Содержание доклада должно соответствовать теме, полно ее раскрывать. Все рассуждения нужно аргументировать. Реферат показывает личное отношение автора к излагаемому. Следует стремиться к тому, чтобы изложение было ясным, простым, точным и при этом выразительным.

#### 6) Работа над заключением

Заключение – самостоятельная часть доклада. Оно не должно быть переложением содержания работы. Заключение должно содержать:

- основные выводы в сжатой форме;
- оценку полноты и глубины решения тех вопросов, которые вставали в процессе изучения темы.

Объем 1-2 машинописных или компьютерных листа формата А4.

#### 7) Правила оформления библиографических списков

Список литературы оформляют в соответствии с ГОСТ – 7.1-2003.

Общие требования, предъявляемые к подготовке презентации/доклада

Требования к содержанию мультимедийной презентации:

- соответствие содержания презентации поставленным дидактическим целям и задачам;
- соблюдение принятых правил орфографии, пунктуации, сокращений и правил оформления текста (отсутствие точки в заголовках и т.д.);
- отсутствие фактических ошибок, достоверность представленной информации;
- лаконичность текста на слайде;
- завершенность (содержание каждой части текстовой информации логически завершено);
- объединение семантически связанных информационных элементов в целостно воспринимающиеся группы;
- сжатость и краткость изложения, максимальная информативность текста;

- расположение информации на слайде (предпочтительно горизонтальное расположение информации, сверху вниз по главной диагонали; наиболее важная информация должна располагаться в центре экрана; если на слайде картинка, надпись должна располагаться под ней; желательно форматировать текст по ширине; не допускать «рваных» краев текста);
- наличие не более одного логического ударения: краснота, яркость, обводка, мигание, движение;
- информация подана привлекательно, оригинально, обращает на себя внимание обучающихся.

Требования к тексту:

- читаемость текста на фоне слайда презентации (текст отчетливо виден на фоне слайда, использование контрастных цветов для фона и текста);
- кегль шрифта соответствует возрастным особенностям учащихся и должен быть не менее 16 пунктов;
- отношение толщины основных штрихов шрифта к их высоте ориентировочно составляет 1:5; наиболее удобочитаемое отношение размера шрифта к промежуткам между буквами: от 1:0,375 до 1:0,75;
- использование шрифтов без засечек (их легче читать) и не более 3 вариантов шрифта;
- длина строки не более 36 знаков;
- расстояние между строками внутри абзаца – 1,5, а между абзацев – 2 интервала;
- подчеркивание используется лишь в гиперссылках.

Требования к дизайну:

- использование единого стиля оформления;
- соответствие стиля оформления презентации (графического, звукового, анимационного) содержанию презентации;
- использование для фона слайда психологически комфортного тона;
- фон должен являться элементом заднего (второго) плана: выделять, оттенять, подчеркивать информацию, находящуюся на слайде, но не заслонять ее;
- использование не более трех цветов на одном слайде (один для фона, второй для заголовков, третий для текста);
- соответствие шаблона представляемой теме (в некоторых случаях может быть нейтральным);
- целесообразность использования анимационных эффектов.

Форма титульного листа презентации представлена в приложении 1. Шаблон оформления презентации размещен в методическом кабинете обучающегося.

При аттестации студента по итогам его работы над презентацией/докладом, руководителем используются критерии оценки качества процесса подготовки презентации/доклада, критерии оценки содержания презентации/доклада, критерии оценки оформления презентации/доклада, критерии оценки участия студента в контрольно-оценочном мероприятии.

1. Критерии оценки содержания презентации/доклада:

- степень раскрытия темы;
- самостоятельность и качество анализа теоретических положений;
- глубина проработки, обоснованность методологической и методической программы исследования;
- качество анализа объекта и предмета исследования;
- проработка литературы при написании презентации/доклада.

2 Критерии оценки оформления презентации/доклада:

- логика и стиль изложения;
- структура и содержание введения и заключения;
- объем и качество выполнения иллюстративного материала;
- качество ссылок;
- качество списка литературы;
- общий уровень грамотности изложения;
- качество создания слайдов.

3. Критерии оценки качества подготовки презентации/доклада:

- способность работать самостоятельно;
- способность творчески инициативно решать задачи;

– способность рационально планировать этапы и время выполнения презентации/доклада, диагностировать и анализировать причины появления проблем при выполнении презентации/доклада, находить оптимальные способы их решения;

– дисциплинированность, соблюдение плана, графика подготовки презентации/доклада;

– способность вести дискуссию, выстраивать аргументацию с использованием результатов исследований, демонстрация широты кругозора;

4. Критерии оценки участия студента в контрольно-оценочном мероприятии:

- способность и умение публичного выступления с докладом в форме электронной презентации;

- способность грамотно отвечать на вопросы;

#### **8.1.1. Шкала и критерии оценивания**

– оценка «отлично» по презентации/докладу присваивается за глубокое раскрытие темы, качественное оформление работы, содержательность доклада и презентации;

– оценка «хорошо» по презентации/докладу присваивается при соответствии выше перечисленным критериям, но при наличии в содержании работы и ее оформлении небольших недочетов или недостатков в представлении результатов к защите;

– оценка «удовлетворительно» по презентации/докладу присваивается за неполное раскрытие темы, выводов и предложений, носящих общий характер, отсутствие наглядного представления работы и затруднения при ответах на вопросы;

– оценка «неудовлетворительно» по презентации/докладу присваивается за слабое и неполное раскрытие темы, несамостоятельность изложения материала, выводы и предложения, носящие общий характер, отсутствие наглядного представления работы и ответов на вопросы.

Оценка по презентации/докладу расписывается преподавателем в оценочном листе. (Приложение 2)

### **8.2. Рекомендации по самостоятельному изучению тем**

#### **Темы и вопросы для самостоятельного изучения**

Номер раздела дисциплины	Тема в составе раздела/ вопрос в составе темы раздела, вынесенные на самостоятельное изучение
1	2
Очная форма обучения	
5	<b>Ферменты в пищевой промышленности</b> / Использование ферментных препаратов для увеличения сроков хранения пищевых продуктов.
5	<b>Амилолитические ферменты в промышленной переработке крахмала/</b> Технология получения глюкозо-фруктозных сиропов с применением иммобилизованных ферментов
5	<b>Протеолитические ферменты</b> Использование ферментных препаратов в животноводстве.
Заочная форма обучения	
1	<b>Структура ферментов</b> Химическая природа ферментов, активный центр ферментов, номенклатура и классификация ферментов, характеристика отдельных классов ферментов
2.	<b>Ферментативный катализ</b> Механизм ферментативного катализа. Кинетика ферментативных реакций. Влияние температуры на активность ферментов. Влияние pH среды на активность ферментов. Активаторы и ингибиторы ферментов.
3	<b>Получение ферментных препаратов</b> Источники ферментов. Технология культивирования микроорганизмов – продуцентов ферментов. Технология выделения и очистки ферментных препаратов. Иммобилизованные ферменты
4.	<b>Промышленные процессы с использованием иммобилизованных ферментов и клеток</b> Получение L-яблочной кислоты

5.	<b>Использование ферментов в пищевой промышленности</b> Гидролитические ферменты в мясоперерабатывающей промышленности - Амилолитические ферменты в промышленной переработке крахмала: Амилазы в хлебопечении Амилазы в крахмалопаточной промышленности Амилазы в технологии пивоварения Роль амилаз в технологии спирта - Пектолитические ферменты и их роль в плодовоощной промышленности - Протеолитические ферменты - Ферменты молочной промышленности
----	---

### **8.2.1. Рекомендации по самостоятельному изучению темы**

**Общий алгоритм самостоятельного изучения темы**

- |  |
|--|
| 1) Ознакомиться с рекомендованной учебной литературой и электронными ресурсами по теме (ориентируясь на вопросы для самоконтроля).   |
| 2) На этой основе составить развёрнутый план изложения темы  |
| 3) Выбрать форму отчетности конспектов(план – конспект, текстуальный конспект, свободный конспект, конспект – схема)   |
| 2) Оформить отчётный материал в установленной форме в соответствии методическими рекомендациями  |
| 3) Провести самоконтроль освоения темы по вопросам, выданным преподавателем  |
| 4) Предоставить отчётный материал преподавателю по согласованию с ведущим преподавателем   |
| 5) Подготовиться к предусмотренному контрольно-оценочному мероприятию по результатам самостоятельного изучения темы  |
| 6) Принять участие в указанном мероприятии, пройти рубежное тестирование по разделу на аудиторном занятии и заключительное тестирование в установленное для внеаудиторной работы время |

### **8.2.2. ШКАЛА И КРИТЕРИИ ОЦЕНИВАНИЯ самостоятельного изучения темы**

- «зачтено» выставляется студенту, если он ясно, четко, логично и грамотно излагает тему: дает определение основным понятиям с позиции разных авторов, приводит практические примеры по изучаемой теме, четко излагает выводы;
- «не зачтено» выставляется студенту, если он не соблюдает требуемую форму изложения, не выделяет основные понятия и не представляет практические примеры.

### **8.3.1 ПЕРЕЧЕНЬ ЗАДАНИЙ ДЛЯ КОНТРОЛЬНЫХ РАБОТ СТУДЕНТОВ ЗАОЧНОЙ ФОРМЫ ОБУЧЕНИЯ**

#### **Раздел 1. Структура ферментов**

##### **Методические советы**

Изучение дисциплины следует начать с ознакомления с химической природой ферментов, их функцией. Далее необходимо усвоить в чем сходство и различия механизмов химического и ферментативного катализа. При изучении номенклатуры и классификации ферментов обратите внимание на два типа названий этих соединений: тривиальные и систематические, принцип составления шифра каждого фермента. Ознакомьтесь со всеми классами, важнейшими подклассами и отдельными ферментами.

##### **Вопросы для самопроверки**

1. Какую роль играют ферменты в живой клетке? Какова химическая природа ферментов?
2. В состав какого кофактора входит витамин В<sub>2</sub>: а) тиаминпирофосфата; б) NAD; в) FAD?
3. Расскажите о химическом строении и структуре апофермента и кофактора.
4. Как и по какому принципу подразделяют ферменты на классы?

#### **Раздел 2. Ферментативный катализ**

##### **Методические советы**

Прежде всего, необходимо уяснить, что ферменты, как и катализаторы неорганической природы, не вызывают каких-либо новых химических реакций, а ускоряют существующие посредством снижения энергии активации, необходимой для прохождения химических реакций. Ведущая роль в механизме ферментативного катализа принадлежит образованию промежуточного фермент-субстратного комплекса, который в конце

реакции распадается с освобождением фермента и продуктов реакции. В ходе ферментативного катализа выделяют следующие стадии: образование фермент-субстратного комплекса; изменение субстрата на ферменте (поляризация, деформация связей, смещение электронов), делающее его доступным для соответствующей химической реакции; образование на поверхности фермента продукта реакции; отделение конечных продуктов реакции от фермента.

Важно запомнить, что ферменты обладают всеми свойствами белков, однако имеют и свои специфические свойства: специфичность, зависимость от pH, температуры, концентрации фермента и концентрации субстрата, активаторов и ингибиторов и т. п.

#### Вопросы для самопроверки

- Объяснить зависимость скорости ферментативной реакции от температуры и pH среды. В чём их формальное сходство и различие с физико-химической точки зрения?
- В чём сущность ферментативного катализа? Как изменяются стандартная свободная энергия реакции и энергия активации?
- В реакции первого порядка сахароза → инвертный сахар концентрация сахарозы в начальный момент 10 моль<sup>-1</sup>, спустя 1 мин стала равной 5 моль<sup>-1</sup>. Какой она станет спустя 5 мин?
- Докажите, что  $K_M = \frac{V_0}{V} \cdot V_0$  при  $v = \frac{1}{2} \cdot V$ .
- Определите конкурентный или неконкурентный тип ингибирования ферментативной реакции по следующим данным:

Концентрация субстрата, моль/дм <sup>3</sup>	2	4	8	16
Скорость реакции в отсутствии ингибитора, моль <sup>-1</sup> · с <sup>-1</sup>	0,5	0,7	1,0	1,5
Скорость реакции в присутствии ингибитора, моль <sup>-1</sup> · с <sup>-1</sup>	0,1	0,4	0,8	1,4

### Раздел 3. Получение ферментных препаратов

#### Методические советы

Изучение этого раздела следует начать с характеристики источников ферментов. Рассмотрите технологическую схему получения ферментных препаратов микробного происхождения, технологию получения ферментных препаратов из растений и животного сырья. Затем следует познакомиться с понятием «иммобилизованные ферменты» и отметить преимущества иммобилизованных ферментов в сравнении со свободными молекулами. Особое внимание обратите на носители (органические и неорганические материалы), используемые для иммобилизации ферментов и требования, предъявляемые к ним. Подробно следует изучить методы иммобилизации ферментов, клеток и субклеточных структур (физические и химические), достоинства и недостатки каждого из методов.

#### Вопросы для самопроверки

- Назовите основные источники ферментов.
- Опишите основные этапы выделения и очистки ферментных препаратов.
- Что такое препараты иммобилизованных ферментов? Какие вы знаете методы иммобилизации ферментов, их достоинства и недостатки.
- Расскажите о преимуществах использования иммобилизованных клеток.

### Раздел 4. Промышленные процессы с использованием иммобилизованных ферментов и клеток

#### Методические советы

В настоящее время в мире разработаны крупномасштабные производства с использованием иммобилизованных ферментов и клеток. В данном разделе более подробно следует рассмотреть процессы: получение глюкозофруктозных сиропов, получение оптически активных L-аминокислот из их рацемических смесей, синтез L-аспарагиновой кислоты из фумарата аммония, синтез L-аланина из L-аспарагиновой кислоты, синтез L-яблочной кислоты из фумаровой кислоты. Объясните необходимость получения данных соединений, суть процессов.

#### Вопросы для самопроверки

- Какие ферменты используются для получения фруктозы, глюкозо-фруктозных сиропов?

2. По каким критериям оцениваются ферменты с точки зрения их эффективного использования в технологии пищевых продуктов?
3. Как выделяют L – аминокислоты из рацемической смеси?
4. Перечислите ферменты, используемые для получения L – аминокислот.

## **Раздел 5. Использование ферментов в пищевой промышленности**

### **Методические советы**

При изучении этого раздела необходимо усвоить, что применение ферментных препаратов в отраслях пищевой промышленности позволяет интенсифицировать технологические процессы, улучшать качество готовой продукции, увеличивать её выход, а также сэкономить ценное пищевое сырьё. Обратите внимание, что ферментные препараты должны удовлетворять требованиям, предъявляемым конкретными технологиями не только по типу катализируемой реакции, но и в отношении условий их действия: pH, температуры, стабильности, присутствия активаторов и ингибиторов, т. е. тех факторов, которые обуславливают эффективность действия препарата в данной среде и позволяют правильно определить технологические режимы его применения. Кроме того, в зависимости от цели применения к ферментным препаратам предъявляются определённые требования в отношении степени очистки, применяемых наполнителей, стоимости и ряда других параметров.

### **Вопросы для самопроверки**

1. Перечислите ферменты, широко используемые в пищевой промышленности.
2. Расскажите о специфичности действия и свойствах амилаз.
3. Пектинрасщепляющие ферменты и их роль в пищевой промышленности.
4. По каким критериям оцениваются ферменты с точки зрения их эффективного использования в технологии пищевых продуктов?
5. Расскажите о проблемах, стоящих перед прикладной энзимологией в области использования ферментов в пищевой, мясо-молочной промышленности.
6. Сколько глюкозы образуется при гидролизе 10 г крахмала глюкоамилазой?
7.  $\beta$  - Амилазой прогидролизовано 20 г амилозы. Какой образуется сахар? Сколько?
8. 5 г глюкозы окислились глюкозооксидазой. Какой продукт образуется? Сколько?

Особое внимание следует обращать на определение основных понятий курса. Необходимо тщательно разбирать примеры, которые поясняют такие определения, и уметь находить аналогичные примеры самостоятельно.

## **9. Входной контроль и текущий (внутрисеместровый) контроль хода и результатов учебной работы**

### **9.1 Вопросы для входного контроля**

Входной контроль знаний обучающихся является частью общего контроля и предназначен для определения уровня готовности каждого обучающегося и группы в целом к дальнейшему обучению, а также для выявления типичных пробелов в знаниях, умениях и навыках обучающихся с целью организации работы по ликвидации этих пробелов.

Одновременно входной контроль выполняет функцию первичного среза обученности и качества знаний по дисциплине и определения перспектив дальнейшего обучения каждого обучающегося и группы в целом с целью сопоставления этих результатов с предшествующими и последующими показателями и выявления результативности работы.

Являясь составной частью педагогического мониторинга качества образования, входной контроль в сочетании с другими формами контроля, которые организуются в течение изучения дисциплины, обеспечивает объективную оценку качества работы каждого преподавателя независимо от контингента обучающихся и их предшествующей подготовки, т. к. результаты каждого обучающегося и группы в целом сравниваются с их собственными предшествующими показателями. Таким образом, входной контроль играет роль нулевой отметки для последующего определения вклада преподавателя в процесс обучения.

### **Процедура проведения входного контроля**

Входной контроль проводится в учебной группе в аудиторное время без предварительной подготовки обучающихся. Время проведения входного контроля не должно превышать 45 минут.

При проведении входного контроля обучающиеся не должны покидать аудиторию до его окончания, пользоваться учебниками, конспектами и другими справочными материалами.

По окончании времени, отведенного для входного контроля в группе, преподаватель собирает ответы на проверку. Результаты входного контроля оформляются преподавателем в журнале учета посещаемости и текущей успеваемости студентов.

### **9.1.1. КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ ответов на тестовые вопросы входного контроля**

- оценка «отлично» выставляется обучающемуся, если получено более 81% правильных ответов.
- оценка «хорошо» - получено от 71 до 80% правильных ответов.
- оценка «удовлетворительно» - получено от 61 до 70% правильных ответов.
- оценка «неудовлетворительно» - получено менее 61% правильных ответов.

### **9.2. Текущий контроль успеваемости**

В течение семестра, проводится текущий контроль успеваемости по дисциплине, к которому студент должен быть подготовлен.

Отсутствие пропусков аудиторных занятий, активная работа на практических занятиях (п. 5 настоящих МУ), защита лабораторных работ(п. 6 настоящих МУ); общее выполнение всех видов работ, являются основанием для получения положительной оценки по текущему контролю.

В качестве текущего контроля может быть использован тестовый контроль Тест состоит из небольшого количества элементарных вопросов по основным разделам дисциплины: неправильные решения разбираются на следующем занятии; частота тестирования определяется преподавателем

## **10. Промежуточная (семестровая) аттестация по курсу**

<b>Нормативная база проведения промежуточной аттестации студентов по результатам изучения дисциплины:</b>	
Положение о текущем контроле успеваемости, промежуточной аттестации обучающихся по программам высшего образования (бакалавриат, специалитет, магистратура) и среднего профессионального образования в ФГБОУ ВО Омский ГАУ	
<b>Основные характеристики промежуточной аттестации студентов по итогам изучения дисциплины</b>	
<b>Цель промежуточной аттестации -</b>	установление уровня достижения каждым студентом целей и задач обучения по данной дисциплине, изложенным в п.1 настоящих МУ
<b>Форма промежуточной аттестации -</b>	Дифференцированный зачёт
<b>Место процедуры получения зачёта в графике учебного про- цесса</b>	1) участие студента в процедуре получения зачёта осуществляется за счёт учебного времени (трудоёмкости), отведённого на изучение дисциплины 2) процедура проводится в рамках ВАРС, на последней неделе семестра
<b>Основные условия получения студентом зачёта:</b>	1) студент выполнил все виды учебной работы (включая самостоятельную) и отчитался об их выполнении в сроки, установленные графиком учебного процесса по дисциплине; 2) прохождение заключительного тестирования, по результатам освоения дисциплины;
<b>Процедура получения зачёта -</b> <b>Методические материалы, оп- ределяющие процедуры оцени- вания знаний, умений, навыков:</b>	представлены в фонде оценочных средств по дисциплине

### **Плановая процедура получения зачёта:**

- 1) Студент предъявляет преподавателю совокупность выполненных в течение периода обучения письменных работ.
- 2) Преподаватель просматривает представленные материалы и записи в журнале учёта посещаемости и успеваемости студентов (выставленные ранее студенту дифференцированные оценки по итогам входного контроля и практических занятий)
- 3) Преподаватель выставляет «зачтено» в экзаменационную ведомость и в зачётную книжку студента

Дифференцированный зачет выставляется студенту по факту выполнения графика учебных работ, предусмотренных рабочей программой дисциплины. По итогам изучения дисциплины, студен-

ты проходят заключительное тестирование. Тестирование является формой контроля, направленной на проверку владения терминологическим аппаратом, современными информационными технологиями и конкретными знаниями в области фундаментальных и прикладных дисциплин.

### **10.3 Подготовка к заключительному тестированию по итогам изучения дисциплины**

Тестирование осуществляется по всем темам и разделам дисциплины, включая темы, выносимые на самостоятельное изучение.

Процедура тестирования ограничена во времени и предполагает максимальное сосредоточение студента на выполнении теста, содержащего несколько тестовых заданий.

*Студенту рекомендуется:*

1. при неуверенности в ответе на конкретное тестовое задание пропустить его и переходить к следующему, не затрачивая много времени на обдумывание тестовых заданий при первом проходе по списку теста;
2. при распределении общего времени тестирования учитывать (в случае компьютерного тестирования), что в автоматизированной системе могут возникать небольшие задержки при переключении тестовых заданий.

*Необходимо помнить, что:*

1. тест является индивидуальным. Общее время тестирования и количество тестовых заданий ограничены и определяются преподавателем в начале тестирования;
2. по истечении времени, отведённого на прохождение теста, сеанс тестирования завершается;
3. допускается во время тестирования только однократное тестирование;
4. вопросы студентов к преподавателю по содержанию тестовых заданий и не относящиеся к процедуре тестирования не допускаются;

*Тестируемому во время тестирования запрещается:*

1. нарушать дисциплину;
2. пользоваться учебно-методической и другой вспомогательной литературой, электронными средствами (мобильными телефонами, электронными записными книжками и пр.);
3. использование вспомогательных средств и средств связи на тестировании допускается при разрешении преподавателя-предметника.
4. копировать тестовые задания на съёмный носитель информации или передавать их по электронной почте;
5. фотографировать задания с экрана с помощью цифровой фотокамеры;
6. выносить из класса записи, сделанные во время тестирования.

На рабочее место тестируемому разрешается взять ручку, черновик, калькулятор.

За несоблюдение вышеперечисленных требований преподаватель имеет право удалить тестируемого, при этом результат тестирования удаленного лица аннулируется.

*Тестируемый имеет право:*

Вносить замечания о процедуре проведения тестирования и качестве тестовых заданий.

Перенести сроки тестирования (по уважительной причине) по согласованию с преподавателем.

### **Примерный тест для самоконтроля знаний по дисциплине**

#### **Билет № 1**

##### **1. Биологические катализаторы являются:**

1. пентозанами;
2. стеринами;
3. белками;
4. эйкозанами;

##### **2. Активный центр фермента**

1. находится в центре молекулы
2. называется коферментом
3. является апоферментом
4. состоит из остатков аминокислот и простетических групп

##### **3. На контактном участке не происходит**

1. присоединение субстрата
2. ориентация молекулы субстрата
3. ковалентная модификация субстрата
4. сближение с субстратом

##### **4. На катализическом участке не**

1. действуют аллостерические эффекторы
2. образуется продукт

- 3. регенерирует фермент
- 4. модифицируется кофермент

**5. Ограниченный протеолиз – это**

- 1. механизм активации ферментов**
- 2. реакция, протекающая при определенной температуре
- 3. кратковременная реакция
- 4. реакция с ограниченным набором субстратов

**6. Изоферменты различаются**

- 1. изомерией связей
- 2. набором субъединиц**
- 3. механизмом катализа
- 4. субстратной специфичностью

**7. Изоферменты не обладают**

- 1. органной специфичностью
- 2. одинаковым молекулярным строением**
- 3. кинетическими различиями
- 4. аллостерическими эффектами

**8. Согласно теории индуцированного соответствия Кошланда**

- 1. не происходит изменения конформации активного центра
- 2. перемещаются каталитические группы в ферменте**
- 3. субстрат и фермент подходят как ключ к замку
- 4. субстрат не влияет на структуру фермента

**9. Между молекулами фермента и субстрата не образуются связи**

- 1. пептидные**
- 2. водородные
- 3. электростатические
- 4. гидрофобные

**10. Во взаимодействии металлоферментов с субстратом участвуют связи**

- 1. дисульфидные
- 2. гликозидные
- 3. координационные**
- 4. сложные эфирные

**11. Константа Михаэлиса численно равна**

- 1. скорости реакции
- 2. отношению констант прямой и обратной реакции
- 3. молекулярной активности фермента
- 4. концентрации субстрата при  $v=V_{max}/2$**

**12. Константа диссоциации комплекса  $ES$**

- 1. является мерой сродства фермента к субстрату**
- 2. определяет скорость реакции
- 3. характеризует стадию необратимого распада комплекса  $es$
- 4. зависит от продукта реакции

**13. Уравнение Холдейна-Бриггса**

- 1. учитывает влияние образующихся продуктов на скорость реакции**
- 2. Противоречит положениям Михаэлиса-Ментен
- 3. Не принимает во внимание образование свободных  $E$  и  $P$
- 4. Не учитывает  $K_m$

**14. Высокая эффективность действия фермента обусловлена**

- 1. адсорбцией субстрата
- 2. образованием фермент-субстратных комплексов**
- 3. повышением свободной энергии в системе
- 4. снижением  $\Delta S$

**15. Специфичность не бывает**

1. относительной
2. абсолютной
3. частичной
4. групповой

**16. Относительно специфичные ферменты**

1. катализируют только одну из возможных реакций превращения субстратов
2. ускоряют разные химические реакции
3. катализируют реакции только с одним субстратом
4. в разных условиях катализируют разные типы химических реакций

**17. Высоко специфичные ферменты**

1. не могут «различать» изотопы
2. проявляют избирательность в отношении  $\alpha$ - и  $\beta$ - аномеров
3. не различают оптические изомеры
4. не регулируются действием эффекторов

**18. Образование какого из участников реакции является обратимым?**

1.  $E$
2.  $S$
3.  $ES$
4.  $P$

**19. Переходное состояние фермент-субстратного комплекса соответствует**

1. более высокой энергии активации
2. более низкой энергии активации
3. более высокой  $\Delta H$
4. более высокому энергетическому барьеру

**20. Сходными чертами между ферментами и неферментативными катализаторами являются:**  
Укажите не менее двух вариантов ответов.

1. катализ только энергетически возможных реакций
2. взаимодействие с одним из компонентов реакционной среды
3. неизменность направления реакции
4. обратимость каталитической реакции

**21. В результате взаимодействия фермента с субстратом энергия активации соответствующей ферментативной реакции:**

1. увеличивается
2. уменьшается
3. не изменяется

**22. При взаимодействии фермента с субстратом конформационные изменения характерны для:**

1. фермента
2. субстрата
3. фермента и субстрата

**23. Температура не влияет на**

1. скорость расщепления комплекса  $ES$
2. сродство фермента к субстрату
3. процессы ионизации компонентов реакции
4. первичную структуру апофермента

**24. К бимолекулярным реакциям не относятся реакции**

1. синтеза
2. окисления
3. восстановления
4. изомеризации

**25. В бимолекулярных реакциях**

1. участвуют фермент и активатор
2. переносятся химические группировки с одного соединения на другое
3. не синтезируются новые вещества
4. превращается один субстрат

**26. Бимолекулярные реакции могут протекать по механизму**

- 1.единичного замещения**
- 2.элиминации
- 3.тройного замещения
- 4.инверсии

**27. Вещества, повышающие активность ферментов.- .....**

- Активаторы;**
- Активаторы;**
- АКТИВАТОРЫ;**

**28. Концентрация фермента**

- 1.не влияет на скорость реакции
- 2.оказывает существенное влияние на скорость реакции**
- 3.не связана с начальной скоростью реакции
- 4.определяет величину  $K_m$

**29. Начальная скорость реакции**

- 1.является мерой количества фермента**
- 2.не зависит от количества фермента
- 3.зависит только от концентрации субстрата
- 4.определяется величиной  $K_s$

**30. pH влияет на**

- 1.степень ионизации функциональных групп в активном центре**
- 2.тепловой эффект реакции
- 3.энергию активации
- 4.энергетический барьер

**31. Оптимальные значения pH**

- 1.всегда одинаковы для прямых и обратных реакций
- 2.могут различаться для прямых и обратных реакций**
- 3.всегда одинаковы при действии одного фермента на разные субстраты
- 4.всегда одинаковы при действии разных ферментов на один субстрат

**32. pH-стабильность – это**

- 1.значение pH, при котором фермент сохраняет активность в течение определенного времени**
- 2.величина pH, при которой скорость реакции максимальна
- 3.pH, при котором комплекс ES стабилен
- 4.устойчивость субстрата к изменениям pH среды

**33. Ферменты животного происхождения:**

Укажите не менее двух вариантов ответов.

- 1. трипсин**
- 2. химозин**
- 3. фицин
- 4. папаин
- 5. бромелайн

**34. Ферменты растительного происхождения:**

Укажите не менее трёх вариантов ответов.

- 1. папаин**
- 2. химозин
- 3. фицин**
- 4. бромелайн**
- 5. трипсин

**35. Единственный представитель группы растительных протеиназ, способный гидролизовать нативный коллаген:**

- 1. папаин
- 2. трипсин
- 3. бромелайн
- 4. фицин**

**36. Фермент, выделяемый из млечного сока фикусовых растений:**

- 1. фицин**
2. папаин
3. бромелайн
4. гиалуронидаза

**37. Фермент, выделяемый из ананасов:**

1. фицин
2. папаин
- 3. бромелайн**
4. гиалуронидаза

**38. Ферменты, выделяемые из плодов дынного дерева:**

*Укажите не менее двух вариантов ответов.*

1. фицин
- 2. папаин**
3. бромелайн
4. гиалуронидаза
- 5. химопапаин**

**39. Продуцентами микробных протеаз, используемых в различных отраслях промышленности являются:**

*Укажите не менее двух вариантов ответов.*

- 1. плесневые грибы**
2. вирусы
3. простейшие
- 4. бактерии**

**40. Протеазы животного происхождения:**

*Укажите не менее двух вариантов ответов.*

1. лактатдегидрогеназа
2. папаин
3. бромелайн
- 4. трипсин**
- 5. пепсин**

**ШКАЛА И КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ  
ответов на тестовые вопросы заключительного тестирования**

- оценка «отлично» выставляется обучающемуся, если получено более 81% правильных ответов.
- оценка «хорошо» - получено от 71 до 80% правильных ответов.
- оценка «удовлетворительно» - получено от 61 до 70% правильных ответов.
- оценка «неудовлетворительно» - получено менее 61% правильных ответов.

**11. Информационное и методическое обеспечение учебного процесса по дисциплине**

В соответствии с действующими государственными требованиями для реализации учебного процесса по дисциплине обеспечивающей кафедрой разрабатывается и постоянно совершенствуется учебно-методический комплекс (УМКД), соответствующий данной рабочей программе и прилагаемый к ней. При разработке УМКД кафедра руководствуется установленными университетом требованиями к его структуре, содержанию и оформлению. В состав УМКД входят перечисленные ниже и другие источники учебной и учебно-методической информации, средства наглядности.

Электронная версия актуального УМКД, адаптированная для обучающихся, выставляется в информационно-образовательной среде университета.

**ПЕРЕЧЕНЬ**  
**литературы, рекомендуемой для изучения дисциплины**

Автор, наименование, выходные данные	Доступ
1	2
Нечаев, А. П. Пищевая химия : учебник / А. П. Нечаев, С. Е. Траубенберг, А. А. Кочеткова - Санкт-петербург : ГИОРД, 2015. - 672 с. - ISBN 978-5-98879-196-6. - Текст : электронный // ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. - URL : <a href="https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785988791966.html">https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785988791966.html</a> . - Режим доступа : по подписке.	<a href="http://www.studentlibrary.ru">http://www.studentlibrary.ru</a>
Вопросы питания : научно-практический журнал - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 1932. - .	НСХБ
Основы биологической химии: Учебное пособие / Горчаков Э.В., Багамаев Б.М., Федота Н.В. - Москва :СтГАУ - "Агрус", 2017. - 208 с.: ISBN. - Текст : электронный. - URL: <a href="https://znanium.com/catalog/product/975942">https://znanium.com/catalog/product/975942</a> . – Режим доступа: по подписке.	<a href="http://znanium.com">http://znanium.com</a>
Воронова, Т. Д. Ферменты: строение, свойства и применение : учебное пособие / Т. Д. Воронова, Н. А. Погорелова ; Ом. гос. аграр. ун-т. - Омск : Изд-во ОмГАУ, 2006. - 120 с.	НСХБ
Пищевая промышленность: научно-производственный журнал – Москва : Пищевая промышленность, 1930 -	НСХБ
Пищевая технология : научно-технический журнал / Мин-во образования и науки Рос. Федерации. - Краснодар : Изд-во Кубан. гос. техн. ун-та, 1957. -	НСХБ
Рогов, И. А. Химия пищи / И. А. Рогов, Л. В. Антипова, Н. И. Дунченко. – Москва : КолосС, 2007. - 852 с.	НСХБ
Рогов И. А. Химия пищи [Текст] / И. А. Рогов, Л. В. Антипова, Н. И. Дунченко. - Москва : КолосС, 2007. - 852, [4] с. - (Учебники и учебные пособия для студентов вузов). - ISBN 978-5-9532-0408-8	НСХБ
Химия пищи : учебно-методическое пособие / Новосиб. гос. аграр. ун-т; Биолого-технол. фак.; сост. И. В. Тюньков, О. С. Котлярова. - Новосибирск : Изд-во НГАУ, 2011. - 100 с. - Текст : электронный. - URL: <a href="https://znanium.com/catalog/product/516707">https://znanium.com/catalog/product/516707</a> . – Режим доступа: по подписке.	<a href="http://znanium.com">http://znanium.com</a>
Химический состав российских пищевых продуктов [Текст] : справочник / Ин-т питания РАМН ; ред.: Е. М. Скурихин, В. А. Тутельян. - Москва : Де-Ли прингт, 2002. - 236 с. : табл. - ISBN 5-94343-028-8	НСХБ

**ПЕРЕЧЕНЬ**  
**РЕСУРСОВ ИНФОРМАЦИОННО-ТЕЛЕКОММУНИКАЦИОННОЙ СЕТИ «ИНТЕРНЕТ»**  
**И ЛОКАЛЬНЫХ СЕТЕЙ УНИВЕРСИТЕТА,**  
**необходимых для освоения дисциплины**

<b>1. Удаленные электронные сетевые учебные ресурсы временного доступа, сформированные на основании прямых договоров с правообладателями (электронные библиотечные системы - ЭБС), информационные справочные системы</b>	
Наименование	Доступ
Электронно - библиотечная система «Издательства Лань»	<a href="http://e.lanbook.com">http://e.lanbook.com</a>
Электронно - библиотечная система ZNANIUM.COM	<a href="http://znanium.com">http://znanium.com</a>
Электронно-библиотечная система «Электронная библиотека технического ВУЗа» («Консультант студента»)	<a href="http://www.studentlibrary.ru">http://www.studentlibrary.ru</a>
Справочная правовая система КонсультантПлюс	Локальная сеть университета
<b>2. Электронные сетевые учебные ресурсы открытого доступа:</b>	
<a href="http://www.twirpx.com/files/food/pbad/">http://www.twirpx.com/files/food/pbad/</a> На сайте представлен курс лекций	Компьютерный класс
<a href="http://cat.convdocs.org/docs/index-34020.html">http://cat.convdocs.org/docs/index-34020.html</a> . Пищевые и биологически активные добавки : учебное пособие / Л.А. Маюрникова, М.С. Куракин, Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. - Кемерово, 2006. - 124 с.	Компьютерный класс
<a href="http://nashaucheba.ru/">http://nashaucheba.ru/</a> На сайте представлено учебное пособие Голубев В.Н., Чичева-Филатова Л.В., Шленская Т.В. Пищевые и биологически активные добавки. М., 2003.	Компьютерный класс
<a href="http://www.flex-sport74.ru/articles/15/">http://www.flex-sport74.ru/articles/15/</a>	Компьютерный класс

<a href="http://www.twirpx.com/file/270381/">http://www.twirpx.com/file/270381/</a>	Компьютерный класс
<a href="http://www.ukzdor.ru/minwe.html">http://www.ukzdor.ru/minwe.html</a>	Компьютерный класс
Профессиональные базы данных	<a href="https://clck.ru/MC8Aq">https://clck.ru/MC8Aq</a>