

Introducere

Dezvoltarea și realizările remarcabile ale biochimiei - multe încununată cu Premiul Nobel - au impus-o cu autoritate ca unul din cele mai dinamice domenii în ansamblul științelor contemporane.

Obiectivele esențiale ale biochimiei se referă la organizarea chimică a organismelor vii sub raportul structurii, funcției și proprietăților biomoleculilor, la natura și mecanismele reacțiilor biocatalitice asociate structurilor celulare și intracelulare, la procesele biochimice ale metabolismului, la reglarea și controlul biochimic al activității celulare. Biochimia vegetală pune la dispoziția studenților și specialiștilor un material documentat cât mai aproape de specialitatea lor. Prin conținutul său acest material urmărește însușirea cunoștințelor de biochimie absolut necesare altor discipline care se bazează pe datele biochimice, cât și pentru rezolvarea unor probleme practice cu care se confruntă viitorul specialist.

Biochimia este știința care studiază materia vie și fenomenele specifice acesteia sub raportul organizării moleculare, a compoziției și constituției chimice, precum și a proceselor de transformare (biosinteză și degradare) a acestor biomoleculi prin care se generează și se utilizează energia necesară manifestărilor vitale. Rezultă astfel că abordarea biochimică a materiei vii implică două aspecte:

- a) biochimia descriptivă (identificarea și descrierea substanțelor din alcătuirea materiei vii);
- b) metabolismul (cunoașterea mecanismelor de transformare a materiei vii, transformare care stă la baza vieții).

MODUL I

1. GLUCIDE

1.1. Considerații generale, clasificare

Glucidele (hidrați de carbon, zaharide) sunt substanțe universal răspândite în regnul vegetal și animal. În organismele vegetale superioare, proporția lor este de peste 50% din substanța uscată. Sub aspect fiziologic și biochimic sunt substanțe foarte importante. Ele au atât rol structural cât și energetic, furnizând în urma proceselor metabolice 50-70% din energia totală.

Clasificarea glucidelor

În funcție de posibilitatea de hidroliză și unele caracteristici structurale, glucidele se clasifică în următoarele grupe: oze și ozide. Ozele sunt glucide simple care nu mai hidrolizează. Ozidele sunt substanțe care sub influența enzimelor sau acizilor suferă scindare hidrolitică, trecând numai în oze (în cazul holozidelor) și în oze și substanțe neglucidice (agliconul), în cazul heterozidelor.

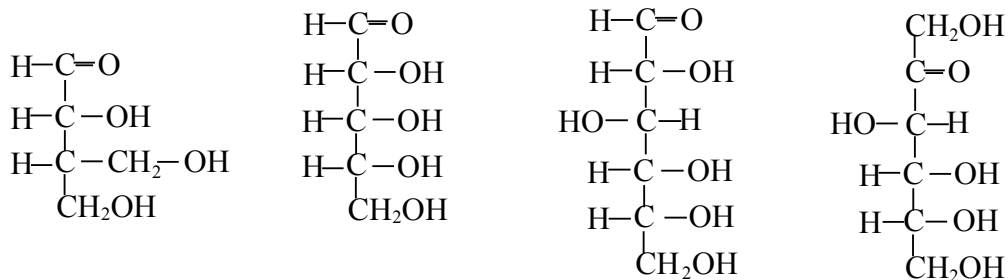
1.2. Oze (monoglucide, monozaharide): structură, izomerie, proprietăți, reprezentanți

Ozele conțin o grupare carbonil și mai multe grupări hidroxil, pot fi considerate produși de oxidare ale poliolilor aciclici. Dacă se oxidează gruparea de alcool primar se obține o grupare funcțională de aldehydă (aldoze), iar dacă se oxidează o grupare de alcool secundar se obține o cetonă (cetoze).

În funcție de numărul atomilor de carbon din molecule, aldozele și cetozele naturale pot fi: trioze, tetroze, pentoze, hexoze, heptoze, etc.

1.2.1. Structura și izomeria ozelor

În general, ozele au catenă liniară aciclică, doar câteva au catena ramificată, de exemplu apioza (pentoză din pătrunjel).



D - apioza

D - riboza

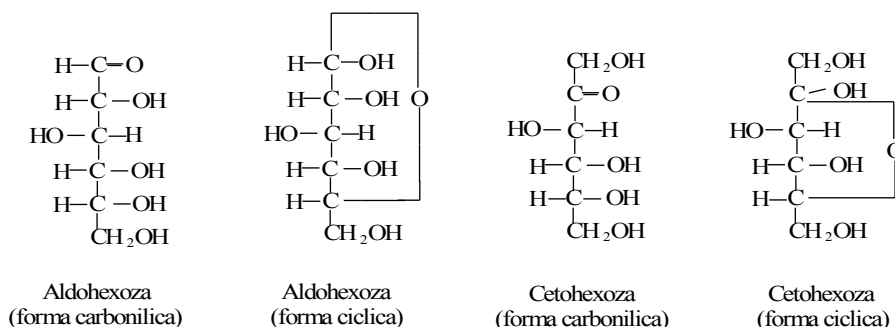
D - glucoza

D - fructoza

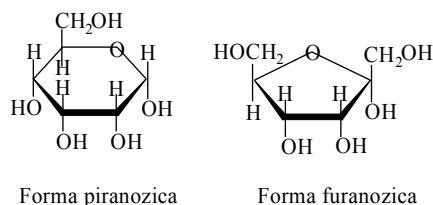
Unele dintre proprietățile fizico-chimice ale ozelor nu pot fi explicate cu aceste structuri de exemplu reacția Schiff sau fenomenul de mutarotație.

Aceste comportări ale ozelor au putut fi explicate, admițând pentru oze o structură ciclică (Tollens 1884 și E. Fischer 1912). Ciclizarea este rezultatul adăugării intramoleculare a unei grupări hidroxilice la gruparea carbonil.

Teoretic, gruparea carbonil ar putea reacționa cu oricare din grupările hidroxil, dar din cauza unghiurilor de valență ale atomului de carbon, 109°28', stabile sunt numai ciclurile cu 5 și 6 atomi. Astfel, ciclizarea la aldoze se face între gruparea carbonil de la C₁ și hidroxilii din poziția 5 sau 6. În acest caz la C₁ (aldoze) și C₂ (cetoze), apare o grupare hidroxil numită hidroxil glicozidic sau semiacetalic cu proprietăți deosebite de ale celorlalți hidroxili din moleculă.



Astfel heterociclul cu 6 atomi se numește piranozic, deoarece derivă de la piran și cel cu 5 atomi se numește furanozic deoarece provine de la furan. Monoglucidele cele mai importante se găsesc libere, cel mai adesea ca piranoze, iar ca furanoze se află în compuși (diglucide, poliglucide, acizi nucleici). Pentru redarea corectă a valențelor, W. N. Haworth a propus formulele perspective. Trecerea de la reprezentarea Tollens la structura Haworth se face ținând cont de următoarele reguli: radicalii orientați la dreapta în formula Tollens, se găsesc sub planul hexagonal sau pentagonal în structura Haworth, iar cei din partea stângă se găsesc deasupra planului. Carbonii care nu se găsesc în ciclu se scriu deasupra planului.



-
- ◆ Sarcină de lucru:
Scrieți formele piranozice și furanozice ale glucozei și fructozei.
-

Izomeria ozelor

Ozele sunt compuși care formează mai multe tipuri de izomerie.

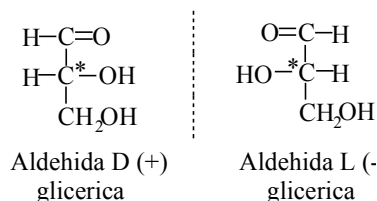
Începând de la trioze întâlnim izomeria de compensație funcțională, izomerii fiind determinați de natura grupării carbonilice. Proprietățile fizico-chimice ale aldozelor și cetozele cu același număr de atomi de carbon, sunt mult diferite.

Activitate

- ◆ Indicați ozele izomere de compensație funcțională din: trioze, pentoze și hexoze.
-

Stereoizomeria ozelor

a) Activitatea optică. Ozele, cu excepție cetotriozele prezintă activitate optică întrucât conțin în molecula lor atomi de carbon substituiți asimetric. Prezența acestor carboni determină apariția stereoisomerilor dextrogiri (+) care rotesc planul luminii polarizate spre dreapta și levogiri (-) care rotesc planul luminii polarizate spre stânga. Cele două forme stereoisomere diferite se numesc enantiomeri sau antipozii optici



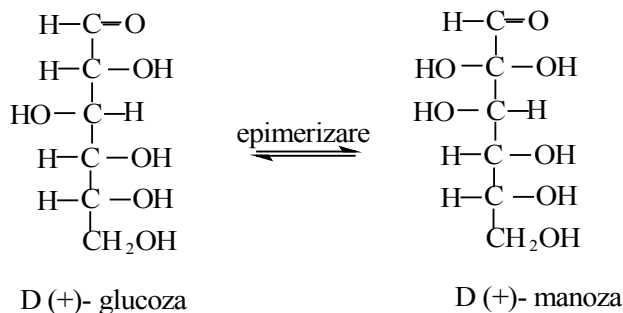
Sarcină de lucru

◆ Prezentați numărul stereoisomerilor pentru aldopentoze, cetopentoze, aldohexoze și cetohexoze.

În determinarea structurii ozelor au o deosebită importanță noțiunile de **serie sterică D** și **serie sterică L**. Pentru stabilirea acestora se ia drept criteriu structura aldehidei glicerice care are un singur carbon asimetric. Ea va avea cele două forme enantiomere (+) și (-).

Forma spațială în care hidroxilul de la carbonul asimetric este în partea dreaptă se notează cu D, iar cealaltă formă cu L. Toate ozele care au configurația atomului de carbon asimetric cel mai îndepărtat de gruparea carbonil la fel cu D-aldehida glicerică, fac parte din seria D iar cele care îl au în partea stângă fac parte din seria L. În plante predomină ozele din seria sterică D.

b) Epimeria ozelor. Organismele vii sunt capabile să transforme o oză în alta. Aceste transformări constau în inversarea configurației unui atom de carbon asimetric, astfel glucoza este epimeră cu manoză. Inversarea are loc la carbonul 2 la manoză.

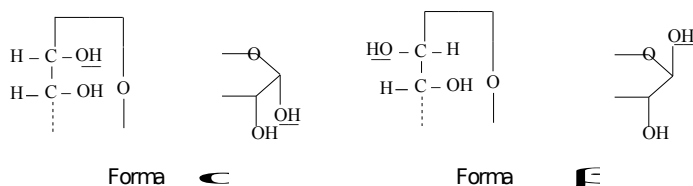


Epimeria poate avea loc atât la aldoze cât și la cetoze. Asemenea transformări au loc sub acțiunea enzimelor.

Activitate

- ◆ Analizați o altă hexoză care poate fi epimeră cu glucoza în afară de manoză.
Scrieți cetopentozele epimere.
-

c) Anomeria α și β sau fenomenul de mutarotație. Prin ciclizarea ozelor, atomul de carbon din funcțiunea carbonil devine asimetric. Hidroxilul glicozidic (semiacetalic) poate avea două poziții: în dreapta carbonului în formula Tollens sau sub plan în formula perspectivă. Această poziție corespunde izomerului α . Izomerul β corespunde poziției din stânga a hidroxilului sau deasupra planului.



Acești izomeri se cunosc sub numele de anomeri. Formele α și β au fost izolate în stare pură. Trecerea unei monoglucide din forma α în formă β , poartă numele de mutarotație, fenomen ce constă în modificarea în timp a valorii unghiului de rotație specifică, stabilindu-se un echilibru între cele 2 forme izomere. De exemplu, la glucoză, izomerul α rotește cu $+112,2^\circ$, izomerul β rotește cu $+18,7^\circ$. Cei doi izomeri $\alpha \leftrightarrow \beta$ la echilibru rotesc cu $+52,2^\circ$.

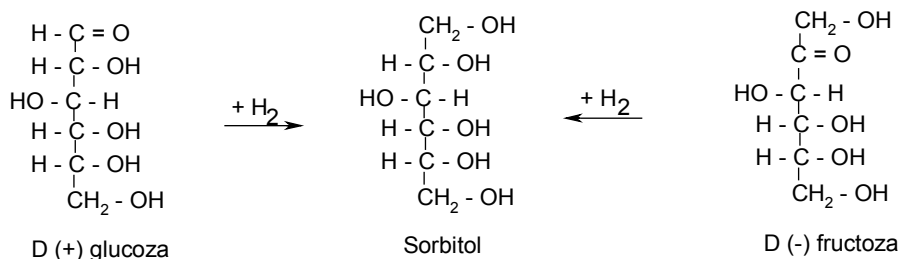
1.2.2. Proprietățile fizice și chimice ale ozelor

a) Proprietăți fizice. Ozele sunt substanțe solide cristalizate, ușor solubile în apă, greu solubile în alcool, eter, cloroform. Au gust dulce, cu unele excepții.

b) Proprietăți chimice: sunt date de grupările funcționale din moleculă.

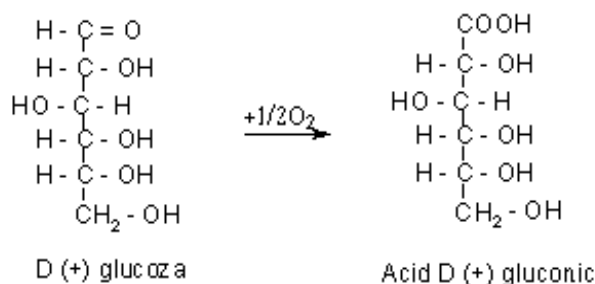
Reacții pe seama grupei carbonil ($>C=O$)

Reducerea. Ozele sub acțiunea hidrogenului activat catalitic se transformă în polioli. Pentozele se transformă în pentitoli iar hexozele în hexitoli.



Reacții de oxidare

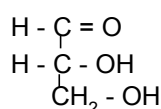
Oxidarea se realizează mai ușor la aldoze și mai greu la cetoze. Astfel, sub acțiunea oxidanților slabi (apa de Cl sau Br), aldozele trec în acizi aldonic.



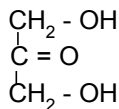
Această reacție demonstrează caracterul reducător al aldozelor. Această proprietate este folosită în chimia analitică pentru identificarea ozelor folosind următorii reactivi: Tollens, Fehling, Nylander, acid picric, etc.

Prin oxidare mai energetică a aldozelor, cu acid azotic concentrat se obțin acizii dicarboxilici, numiți acizi zaharici.

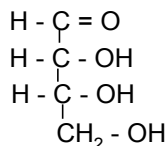
Trioze și tetroze. Acestea apar în natură în special sub formă de esteri fosforici în metabolismul glucidelor.



D (+) glicerin aldehida

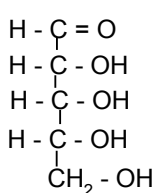


dihidroxiacetona

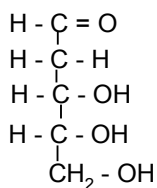


D (+) eritroza

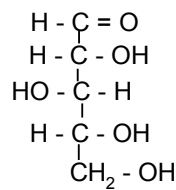
Pentoze. Alături de hexoze, constituie cele mai importante și răspândite oze. Se găsesc mai mult sub formă combinată de poliglucide (pentozani), intrând în structura unor poliglucide neomogene cum sunt: hemicelulozele, substanțele pectice, gumele etc



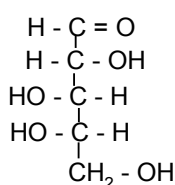
D (+) riboza



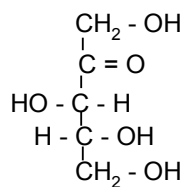
D (+) dezoxiriboza



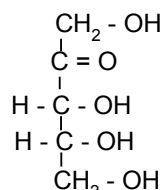
D (+) xiloza



L arabinoza



D xiluloza



D ribuloza

Riboza și dezoxiriboza se găsesc în toate celulele vii, deoarece intră în structura acizilor nucleici (ARN și ADN). Le mai găsim în constituția unor vitamine și enzime. Forma cea mai întâlnită este cea furanozică.

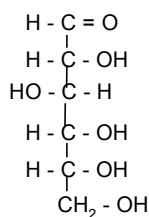
Xiloza se găsește sub formă polimerizată în xilanii care însoțesc celuloza în țesuturile vegetale. Cantități mari de xilani se găsesc în paie, coceni de porumb, tije de floarea soarelui. Structura cea mai întâlnită este cea piranozică.

Arabinoza este una din puținele pentoze din seria L care se găsește în natură.

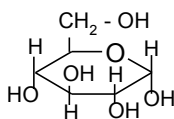
Ribuloza este cea mai importantă cetopentoză deoarece pe ea se fixează CO₂ în procesul de fotosinteză.

Hexoze. Sunt cele mai răspândite oze atât în stare liberă cât și în formă combinată.

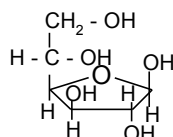
D(+) glucoza sau zahărul de struguri, în stare liberă se găsește în cantitate mică în toate organele plantelor, predomină în fructe și în special în struguri. Forma de structură este piranozică.



D (+) glucoza



D (+) glucopiranoza



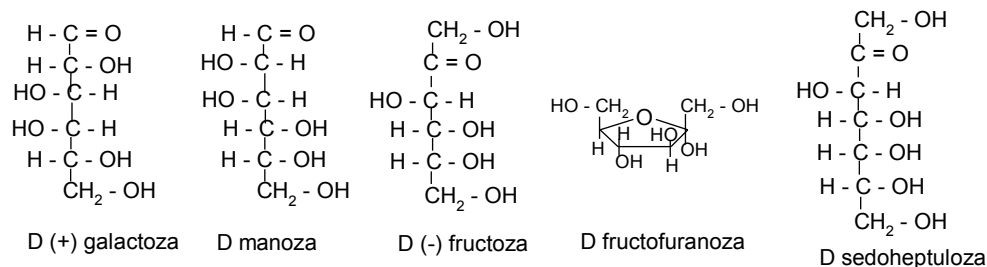
D (+) glucofuranaza

Glucoza se găsește în cantitate mare sub formă combinată în holozide: maltoză, zaharoză, celobioză, lactoză, amidon, celuloză și în heterozide. Pentru regnul animal ea reprezintă glucida de circulație.

Galactoză se găsește în cantitate mică în organismul vegetal, de exemplu în poliglucidele din semințele de in și agar-agar.

Manoza este răspândită în plante sub forma poliozidelor numite manani.

Fructoza este cetohezoza cea mai răspândită atât în stare liberă cât și combinată. Liberă o găsim în fructe, mierea de albine, tomate, iar combinată în zaharoză și fructani. Liberă ea are structură piranozică iar combinată, structură furanozică. Este cea mai dulce oză.



Heptoze. Sedoheptuloza este cea mai importantă, se găsește în cloroplaste și participă în fotosinteză sub forma esterilor fosforici.

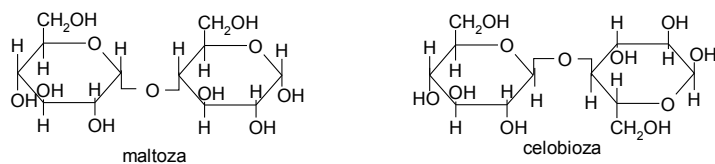
1.3. Oligozide

În această grupă se situează glucidele alcătuite din 2 - 6 molecule de oză, identice sau diferite (diholozide, triholozide, tetraholozide etc.)

1.3.1. Diholozide (dizaharide)

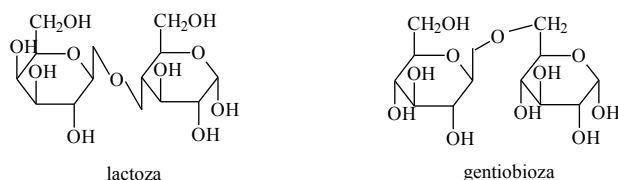
Dintre oligozide, cele mai importante sunt diholozidele care rezultă prin eliminarea unei molecule de apă între două oze. Legătura de tip eter se poate face între un hidroxil glicozidic și unul neglicozidic și rezultă dizaharide cu caracter reducător, iar dacă această legătură se face între hidroxilii glicozidici, rezultă diholozide nereducătoare.

Dintre dizaharidele reducătoare mai importante sunt: maltoza, celuloza, lactoza, gențiobioza etc.



Maltoza numită și zahărul de malț, apare în cantitate mare în germenii de orz încolțit. Apare de asemenea la degradarea enzimatică a amidonului. Fermentează ușor, de aceea are rol important la fabricarea berii. Ea este formată din două molecule de α glucopiranoză legate 1 - 4 α glicozidic.

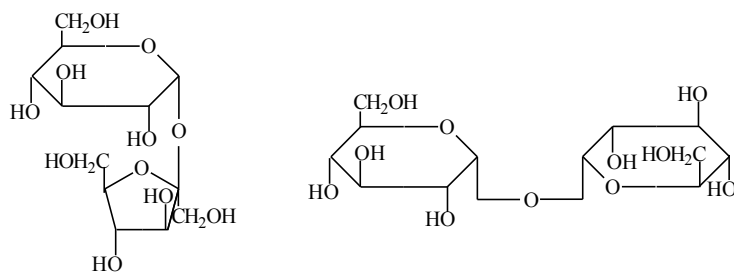
Celobioza este formată din 2 molecule de β glucopiranoză. Resturile de glucoză sunt rotite cu 180° una față de alta. Ea constituie unitatea structurală a unor poliozide cum ar fi celuloza.



Lactoza este formată dintr-o moleculă de β galactopiranoză și una de α glucopiranoză. Se găsește în laptele mamiferelor (4,8% în laptele de vacă). Sub acțiunea unor bacterii lactice suferă fermentația lactică.

Gențiobioza este formată dintr-o moleculă de β glucopiranoză și alta de α glucopiranoză legate 1 - 6. În cantitate mare se găsește în triglicidul gențianoză și glicozidul amidalină.

Dizaharidele reducătoare au ca reprezentanți: zaharoza și trehaloza.



Zaharoza

Trehaloza

Zaharoza este cel mai răspândit diholozid din regnul vegetal, găsindu-se în semințe, frunze, fructe etc. În cantitate mare se găsește în rădăcinile sfeclei de zahăr (16 - 20%) și în tulpinile trestiei de zahăr (14 - 16%). Este formată dintr-o moleculă de α glucopiranoză și una de β fructofuranoză legate 1 - 2. Zaharoza este dextrogiră (+66,5); în plante ea are rol de substanță de rezervă.

Trehaloza este formată din 2 molecule de α glucopiranoză legate 1 - 1. Se găsește în drojdia de bere, în diferite ciuperci, în alge roșii și în licheni.

1.4. Poliozide (poliglucide)

Poliozidele sunt substanțe macromoleculare formate dintr-un număr mare de molecule de oze. Sunt substanțe optic active cu masă moleculară mare. Ele se găsesc atât în regnul vegetal cât și cel animal, cu un rol fiziologic important; unele constituie substanțe de rezervă și de nutriție (amidonul, glicogenul), iar altele formează scheletul rigid al plantelor (rol de structură) cum sunt: celuloza, hemiceluloza etc.

Poliozidele formate dintr-un singur fel de oze sau derivați de oze se numesc omogene, iar cele formate din oze diferite se numesc neomogene. Ele sunt materii prime în industria alimentară, farmaceutică, textilă etc.

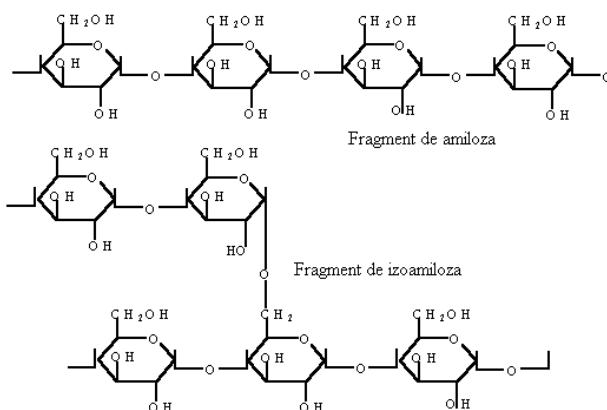
1.4.1. Poliglucide omogene

Cele mai importante sunt glucanii (amidonul, celuloza, glicogenul).

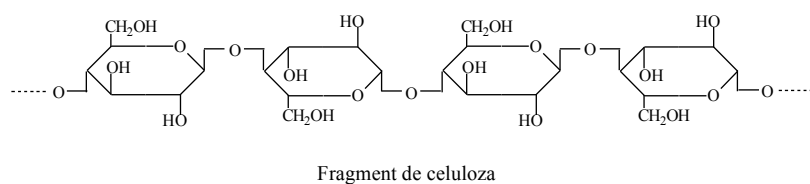
Amidonul este primul produs ușor vizibil al fotosintezei. El reprezintă o glucidă de rezervă și este depozitat în cantitate mare în semințe, fructe, tuberculi și chiar părțile lemnoase ale plantelor. Conținutul cel mai ridicat de amidon îl găsim la orez boabe (70 - 80%), cereale (40 - 65%), fasole (40 - 43%), cartofi (13 - 25%). Amidonul este o substanță albă, granulară cu aspect amorf, insolubil în apă rece; în apă caldă la 60 - 80°C formează o soluție coloidală. Cu iodul dă o colorație albastră. Granulele de amidon sunt alcătuite din două componente: amiloza (20 - 30%) și izoamiloza (amilopectina) repartizată în granule în proporție de 70 - 80%. Atât amiloza cât și izoamiloza la hidroliză totală trec în molecule de α glucoză.

În amiloză resturile de α D glucoză sunt legate între carbonii 1 - 4, având un grad de polimerizare cuprins între 250 - 3000 molecule. În izoamiloză resturile de α glucoză sunt legate 1 - 4 și 1 - 6. Ramificațiile apar cam după 25 resturi de α glucoză. Izoamiloză are un grad mai mare de polimerizare decât amiloză.

Cea mai importantă reacție a amidonului este hidroliza. Aceasta are loc în prezența enzimelor prin încălzire. Hidroliza are loc treptat, mai întâi cu formare de poliozide numite dextrine, apoi maltoză iar în final glucoză.



Celuloza are rol de substanță de structură, constituind partea principală a pereților celulari. Cea mai mare cantitate de celuloză se găsește în bumbac, în proporție de 99,8% și în lemn 30 - 40%.



Celuloza are aceeași formulă moleculară ca și amidonul ($C_6H_{10}O_5$)_n. Molecula de celuloză este formată din resturi de β glucoză legate 1 - 4 β glicozidic, în care resturile de glucoză sunt rotite unul față de altul cu 180°. Unitatea structurală a celulozei este celobioza. Masa moleculară a celulozei are valori mari, ceea ce indică un grad mare de polimerizare, de ordinul miilor. În stare pură celuloza este o substanță albă cu aspect amorf fără gust. Este insolubilă în apă și în alți solvenți, este solubilă în reactivul Schweizer (hidroxid tetra amoniacocupric).

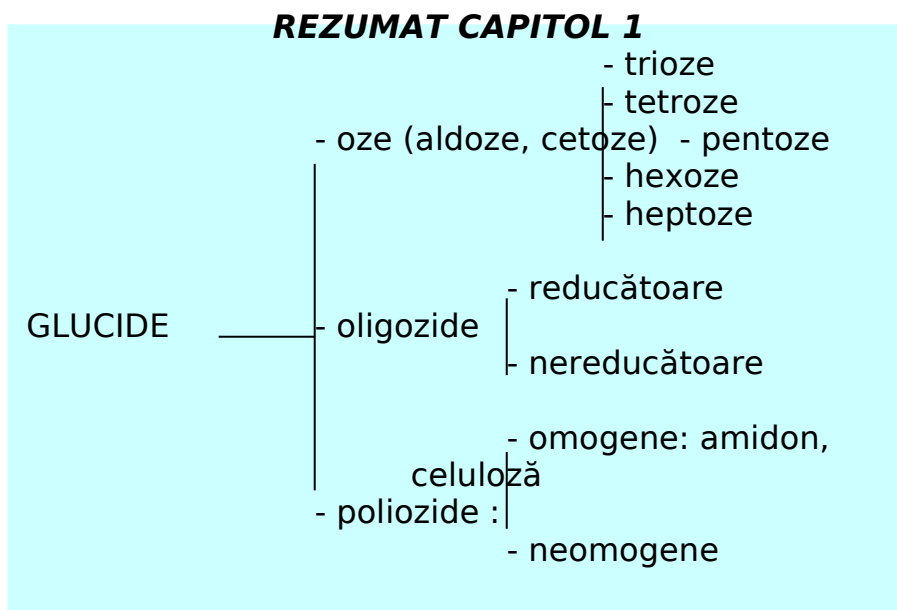
Test de autoevaluare:

1. Monoglucidele sunt compuși cu funcțiuni mixte:
 - a) o grupare carbonil și mai multe grupări hidroxil;
 - b) o grupare hidroxil și mai multe grupări carbonil;
 - c) o grupare carboxil și mai multe grupări hidroxil;
 - d) o grupare carbonil și o grupare amină.
2. Monoglucidele pot prezenta următoarele tipuri de izomerie:
 - a) izomerie optică;
 - b) izomerie geometrică;
 - c) izomerie de poziție;
 - d) izomerie de catenă.
3. Izomeria optică poate determina:
 - a) conformația scaun – baie;
 - b) activitatea optică dextrogiră și levogiră;
 - c) fenomenul de mutarotație;
 - d) epimeria.

4. Următorii reprezentanți ai monoglucidelor - glucoza, fructoza, manoză, galactoză – sunt:
- trioze
 - tetroze;
 - pentoze;
 - hexoze.
5. Caracterul reducător al aldozelor se pune în evidență cu:
- reacția Selivanov;
 - reacția Tollens;
 - reacția Molisch;
 - reacția de formare a osazonelor.
6. Amidonul este un:
- monoglucid;
 - diglucid;
 - triglucid;
 - poliglucid.
7. Amidonul poate fi recunoscut cu ajutorul:
- soluției de iod în iodură de potasiu;
 - reacției cu acidul picric;
 - soluției concentrate de hidroxid de sodiu;
 - reactivului Selivanov.
8. Proprietățile celulozei sunt:
- este solubilă în apă;
 - este solubilă în reactiv Schweitzer;
 - este solubilă în eter etilic;
 - este solubilă în cloroform.
9. Diferențele dintre amidon și celuloză sunt:
- formula moleculară;
 - oza care intră în structura lor;
 - rolul lor în plante;
 - caracterul reducător.

Rezultate corecte:

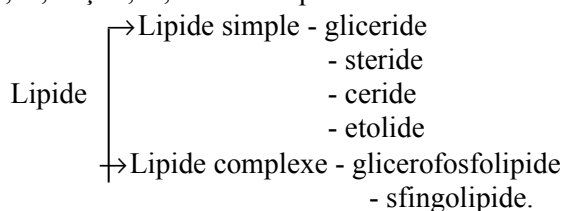
1 - a; 2 – a; 3 – b; 4 – d; 5 – b,c,d; 6 – d; 7 – a; 8 – b; 9 – c.



2. LIPIDE

2.1. Considerații generale

Lipidele constituie o grupă de esteri naturali răspândite în toate organismele vegetale și animale. Ele îndeplinesc atât rol plastic cât și energetic, participând la formarea membranei celulare și la transportul în lichide biologice a unor substanțe liposolubile. În plante ele sunt depozitate în anumite organe vegetale cum sunt: semințe, fructe, pulpă etc. Legumele au un conținut redus de lipide 0,1 - 1,6%. Fructele și cerealele au 0,1 - 2%. Bogate în lipide sunt: alunele, nucile, migdalele, ricinul, măslinile, cu un conținut care variază între 30 - 60%, semințele de floarea soarelui 40 - 50%, soia - 20%. Lipidele se pot clasifica în funcție de proveniența lor (vegetale și animale), de structura lor și de rolul îndeplinit în organismele vii. În funcție de structură ele se pot clasifica în lipide simple (substanțe ternare formate din C, H și O) și lipide complexe care conțin pe lângă C, H, O și P, N, S. Toate lipidele se clasifică în funcție de natura alcoolului.



2.2. Constituenții chimici din structura lipidelor

Unitățile structurale ale lipidelor sunt acizii grași și unii alcooli, de a căror natură chimică depind proprietățile lipidelor.

2.2.1. Acizii grași - care intră în constituția lipidelor sunt acizi monocarboxilici (R - COOH) cu număr par de atomi de carbon. Ei se pot clasifica în : acizi grași aciclici saturați și nesaturați, acizi grași ramificați, hidroxilați și ciclici. În organismele vegetale se întâlnesc, în mod frecvent, acizi grași cu 4 - 30 atomi de carbon. În plantele superioare predomină cantitativ următorii acizi saturați aciclici:

1. $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{10}-\text{COOH}$ - acidul lauric (C_{12})
2. $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{12}-\text{COOH}$ - acidul miristic (C_{14})
3. $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{COOH}$ - acidul palmitic (C_{16})
4. $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{COOH}$ - acidul stearic (C_{18})

Acizii grași nesaturați predomină față de cei saturați mai ales în plantele superioare. Ei pot avea una sau multe duble legături.

1. $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_5-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$ - acidul palmitoleic (C_{16})
2. $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$ - acidul oleic (C_{18})
3. $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$ - acidul linoleic
4. $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{COOH}$ - acidul linolenic (C_{18})
5. $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4-(\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2)_4-(\text{CH}_2)_2-\text{COOH}$ - acidul arahidonic (C_{20})

Acizii linoleic, linolenic și arahidonic formează acizii grași esențiali ("AGE"), care sunt absolut necesari pentru buna dezvoltare a organismului animal. Ei intră în constituția vitaminei F, intră în structura fosfolipidelor, componentele de bază ale membranelor celulare, ale mitocondriilor și ale țesutului nervos.

Alcoolii din constituția lipidelor nu sunt prea numeroși, dar sunt destul de diferiți sub aspectul structurii moleculare, astfel ei pot fi: aciclici și ciclici, mono și polihidroxicili, saturați și nesaturați, azotați și neazotați.

Subiect de analiză

◆ {tiind că acizii grași au aceleași proprietăți cu acizii organici, scrieți reacțiile cu alcoolii, hidroxizii alcalini și reacția de adiție a hidrogenului și halogenilor la dubla legătură; comentați produșii obținuți.

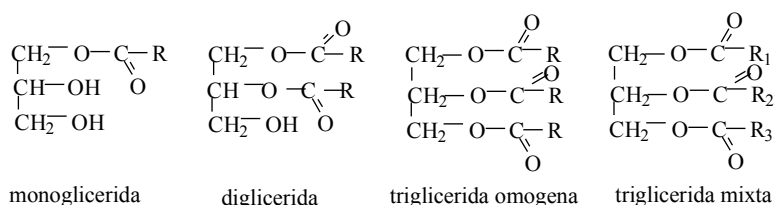
2.3. Lipide simple.

Lipidele simple sunt compuși organici în compoziția cărora intră C, H, O (subst. ternare). Din punct de vedere chimic sunt esteri ai acizilor grași cu diferiți alcooli. Clasificarea se face în funcție de natura alcoolului în : gliceride, steride, ceride și etolide.

2.3.1. Gliceride (acil gliceroli)

Gliceridele sunt esteri naturali ai glicerolului cu acizii grași. Se găsesc atât în regnul vegetal cât și în cel animal, fiind cele mai răspândite lipide. În semințele de floarea soarelui avem 30%; în nuci - 59%; măsline - 50%; soia - 20% etc.

În majoritatea gliceridelor vegetale sunt predominanți acizii grași nesaturați, ceea ce explică aspectul lor uleios. Din cei saturați, cei mai întâlniți sunt acizii palmitic și stearic. Gliceridele vegetale sunt amestecuri de monogliceride, digliceride și trigliceride care pot fi omogene și neomogene (mixte). În plante predomină cele mixte, adică glicerolul este esterificat cu acizi grași diferiți.



Proprietăți fizice și chimice

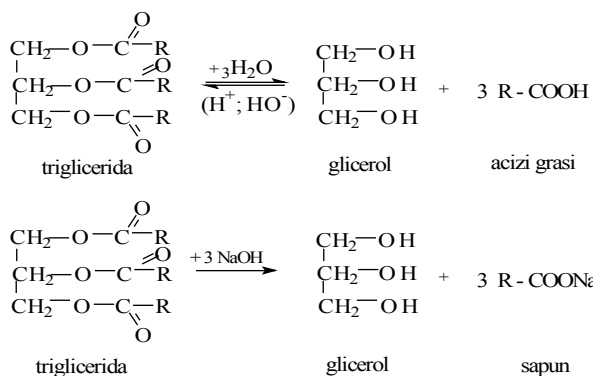
Proprietățile fizice depind mult de natura acizilor grași constituenți; astfel trigliceridele acizilor inferiori și ale acizilor nesaturați sunt lichide uleioase la temperatura obișnuită. Trigliceridele celorlalți acizi sunt semisolide. Trigliceridele prezintă puncte duble sau triple de topire, care în general sunt coborâte. Sunt insolubile în apă, solubile în solvenți organici (acetonă, eter, clorofom).

Proprietățile chimice.

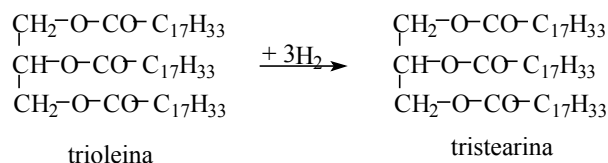
Aceste proprietăți sunt determinate de caracterul lor de esteri, natura acizilor grași constituenți și prezența glicerolului.

Hidroliza gliceridelor. Hidroliza se realizează greu, fie sub acțiunea catalizatorilor chimici (acizi, baze), fie sub acțiunea temperaturilor ridicate și a presiunilor mari. În organismele vii reacția are loc sub acțiunea enzimelor numite lipaze (esteraze).

În cazul hidrolizei realizată în cataliză bazică, se obține glicerolul și sărurile acizilor grași numite săpunuri. Această reacție este caracterizată de indicele de saponificare, care reprezintă cantitatea de hidroxid de potasiu exprimată în miligrame necesare saponificării unui gram de grăsime. Acesta se deosebește de indicele de aciditate care caracterizează reacția de hidroliză și reprezintă tot cantitatea de KOH exprimată în miligrame, care însă neutralizează acizi grași liberi dintr-un gram de grăsime.

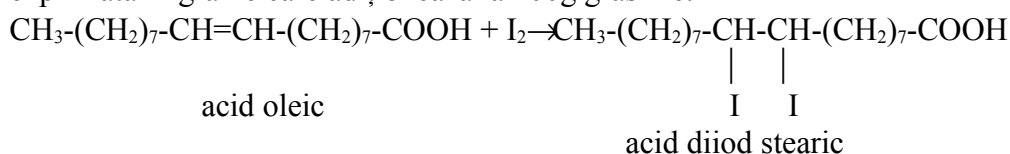


Hydrogenarea gliceridelor nesaturate se realizează pe seama dublelor legături din moleculă. Adiția hidrogenului se face la cald 200°C și în prezența catalizatorilor (Ni, Pt).



Gliceridele nesaturate uleioase, trec în gliceride solide sau semisolide. Procesul este utilizat la fabricarea margarinei.

Halogenarea gliceridelor care conțin în moleculă acizi grași nesaturați are loc la nivelul dublelor legături. În practică, pentru a determina gradul de nesaturare, se determină indicele de iod, care reprezintă cantitatea de iod exprimată în grame care adăunează la 100g grăsime.



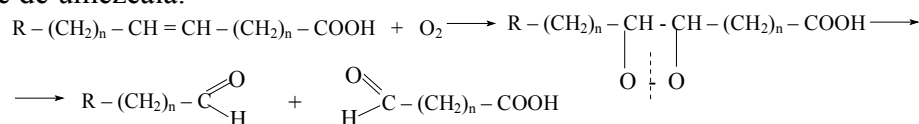
În funcție de valoarea indicelui de iod uleiurile pot fi sicative cum este uleiul de in ($I_i = 173 - 203$), semisicative - uleiul de bumbac, rapiță, muștar ($I_i = 95 - 120$) și nesicative uleiul de măsline, migdale ($I_i = 79 - 90$)

Sarcină de lucru

◆ Analizați cei 3 indici care caracterizează gliceridele și stabiliți rolul lor pentru stabilitatea și valorificarea acestor grăsimi.

Râncezirea gliceridelor. Acest proces reprezintă o alterare a gliceridelor în prezența aerului, luminii și vaporilor de apă. Din punct de vedere chimic râncezirea reprezintă o însumare de reacții de hidroliză și oxidare. Acizii grași rezultați în urma hidrolizei parțiale suferă o oxidare cu formare de aldehide, cetone, hidroxiacizi cu miros și gust neplăcut. Cel mai răspândit tip de râncezire îl întâlnim la acizii grași nesaturați la nivelul dublelor legături cu formare de peroxizi sau hidroperoxizi-substanțe instabile care se descompun ușor.

Râncezirea poate fi evitată dacă se păstrează grăsimile la rece, întuneric, ferite de umezeală.

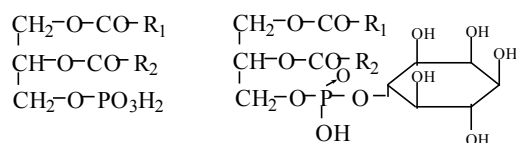


2.4. Lipide complexe

Sunt compuși larg răspândiți în natură, se găsesc în cantități mici în toate celulele, atât la plante cât și la animale. În cantitate mare se află în țesuturile și organele cu activitate biochimică și fiziologică intensă: creier 30%, ficat 10%, inimă 7%. În plante, în cantitate mare se află în semințele plantelor leguminoase și cereale 1 - 2%.

2.4.1. Glicerofosfolipide, numite și fosfolipide, conțin în molecula lor glicerol, acizi grași, acid fosforic, mezoinozitol etc.

Acizii fosfatidici sunt substanțe formate dintr-o moleculă de glicerol în care două funcțiuni hidroxil sunt esterificate cu acizii grași, iar cea de a treia este esterificată cu acid fosforic



Acid fosfatidic

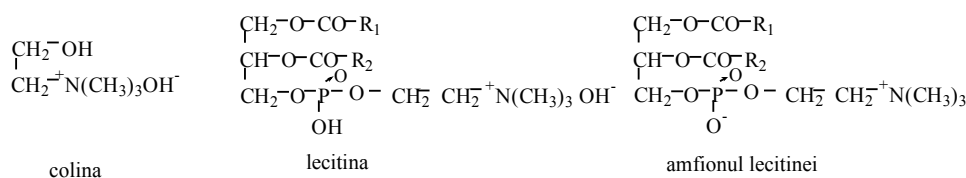
Inozitolfosfatida

Acizii fosfatidici sunt cele mai simple fosfatide, se găsesc mai frecvent în organismele vegetale, în cantități mai mari în țesutul frunzei.

Inozitol fosfolipide - conțin mezoinozitolul care esterifică restul de acid fosforic din acizii fosfatidici. Se găsesc atât în regnul vegetal cât și în cel animal. Predomină în germenii de grâu, boabe de soia, arahide, pere, boabe de porumb, semințe de in, bacterii, creier etc.

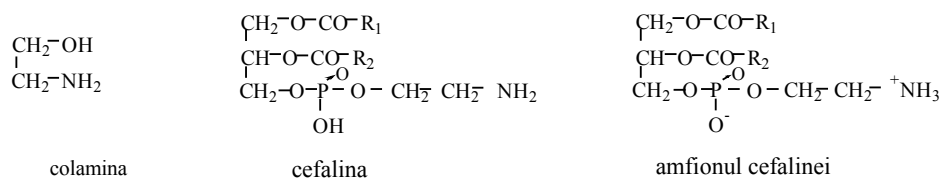
2.4.2. Gliceroaminofosfolipide.

Colinofosfolipide sau lecitine - sunt cele mai răspândite lipide complexe. Ele pot fi considerate ca provenind de la acizii fosfatidici prin esterificarea restului fosforic cu aminoalcoolul colina.



Lecitinele se găsesc în cantitate mare în gălbenuș (10%), în creier (6%), măduva oaselor (5%), semințele de soia (8%), semințele de leguminoase și cereale (2%). Proprietățile fizice sunt determinate de natura acizilor grași din structura lor. Toate lecitinele sunt insolubile în acetonă. Au un caracter bipolar. Acidul fosforic și colina sunt componentele hidrofile iar acizii grași componentele hidrofobe. În soluție se comportă ca amfion pe seama funcțiunii bazice din colină și a funcțiunii acide din acidul fosforic.

Colaminofosfolipide sau cefaline sunt glicerofosfatide care însoțesc lecitinele; au structură asemănătoare cu acestea, se deosebesc prin aminoalcoolul care este colamina.



S-au identificat în germenii de grâu, semințe de floarea soarelui, in, lupin etc. În cantitate mare se găsesc în creier, de unde au fost extrase pentru prima dată. Proprietățile lor sunt asemănătoare cu ale lecitinelor, diferă însă prin solubilitatea în diferiți solvenți organici, fiind greu solubile în alcool metilic, alcool etilic, eter etilic.

Test de autoevaluare:

1. Lipidele simple sunt:
 - a) esteri;
 - b) eteri;
 - c) compuși cu funcțiuni mixte;
 - d) compuși macromoleculari.
2. Proprietățile chimice ale gliceridelor sunt:
 - a) reacția de hidroliză;
 - b) reacția cu albastru de metilen;
 - c) reacția cu reactivul Fehling;
 - d) reacția cu reactivul Tollens.
3. Dintre lipidele complexe fac parte:
 - a) etolidele;
 - b) acil glicerolii;
 - c) colaminfosfatidele;
 - d) lecitinele.

Rezultate corecte:

1 – a; 2 – a; 3 – c,d.

REZUMAT CAPITOL 2

→ Lipide simple - gliceride
- steride
Lipide - ceride
- etolide

- acizi fosfatidici
- inozitol fosfatide
→ Lipide complexe - glicerofosfolipide - lecitine
- cefaline
- sfingolipide.

3. PROTIDE

3.1. Definiție, clasificare

Prin protide se desemnează o grupă foarte importantă de substanțe, în care sunt incluși aminoacizii și toți compușii care la hidroliză formează aminoacizi (peptide și proteine).

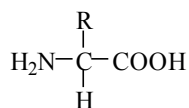
Peptidele rezultă prin combinarea unui număr restrâns de aminoacizi. Proteinele au caracter macromolecular, rezultând prin condensarea unui număr mare de aminoacizi. Protidele naturale reprezintă o formă superioară de organizare a materiei, reprezintă treapta la care apare viața.

În plante, protidele se găsesc în cantități care variază între 2-35% din substanța uscată. Numărul elementelor constituente este în mod constant patru și anume: carbon, oxigen, hidrogen și azot; pe lângă acestea mai putem întâlni și alte elemente cum sunt: sulful, fosforul și unele metale (Fe, Cu, Co). Elementul caracteristic și principal pentru protide este azotul care se găsește în proporție de 16%.

3.2. Aminoacizi

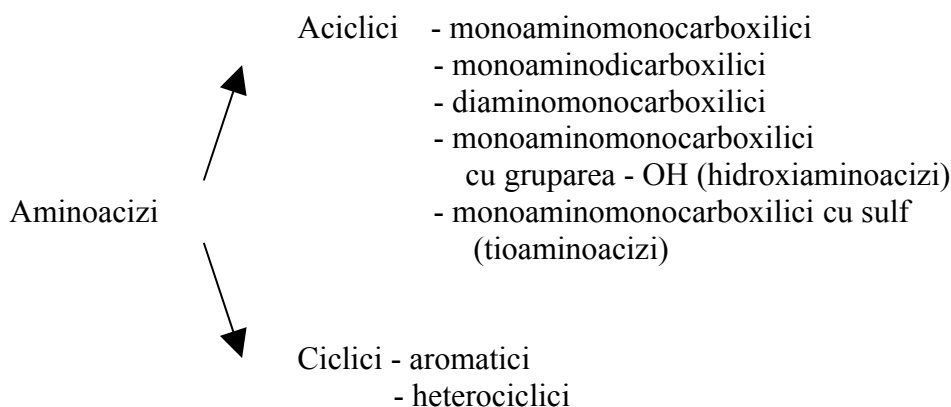
3.2.1. Constituție generală și clasificare

Aminoacizii reprezintă unitatea structurală de bază din structura protidelor. Deși în natură se cunosc peste 200 aminoacizi, în structura protidelor organismele utilizează un număr restrâns de aminoacizi (20-22).



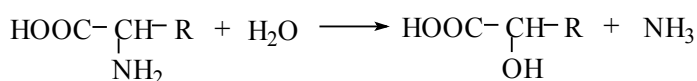
Aminoacizii sunt substanțe organice cu funcțiuni chimice mixte, funcția carboxil (-COOH) care imprimă caracter acid și funcția amină (-NH₂) care imprimă caracter bazic.

Toți acizii au în comun o catenă principală H₂N-CHR-(COOH), diferențierea făcându-se prin catena laterală (R). Aminoacizii se pot clasifica după diferite criterii: natura radicalului "R", numărul funcțiunilor amino și carboxil, plus alte funcțiuni existente în moleculă.



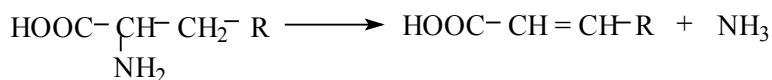
3.2.2. Structura chimică a aminoacizilor din protidele naturale

Aminoacizii monoaminomonocarboxilici. Sunt aminoacizi simpli, catenele laterale (R) sunt nepolare, manifestă o solubilitate redusă în apă și prezintă afinitate pentru radicalii de aceeași natură.



e)

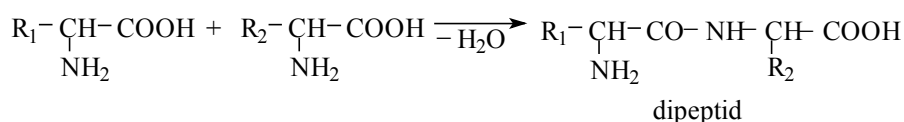
Dezaminarea desaturantă determină formarea de acid nesaturat și amoniac.



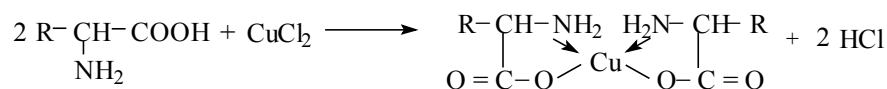
Aceste dezaminări cu excepția celei cu acid azotos au loc în organismele vii sub acțiunea enzimelor, reprezentând o cale de metabolizare a aminoacizilor.

c) Reacțiile aminoacizilor pe seama ambelor funcțiuni

1. Formarea legăturilor peptidice se datorează reacției dintre funcțiunea amino a unui aminoacid și funcțiunea carboxil a următorului aminoacid. Această reacție este importantă pentru organisme, deoarece astfel se sintetizează peptidele și proteinele.



2. Reacția cu sărurile unor metale grele (cupru, cobalt, nichel) cu formare de săruri complexe (compuși cu legături chelatice) care sunt stabile, greu solubile și colorate.



3. Reacția cu ninhidrina cu formarea unei colorații albastru violet. Reacția servește atât la identificarea aminoacizilor, cât și la dozarea lor cantitativă (folosind metoda colorimetrică).

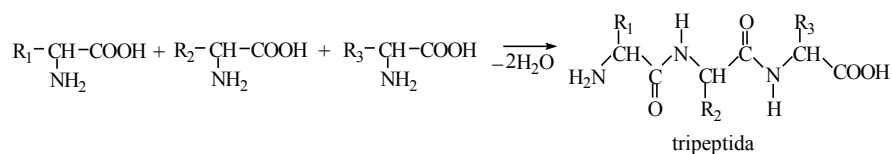
Activitate

◆ Enumerați care dintre reacțiile aminoacizilor sunt utilizate în laborator pentru identificarea sau dozarea lor cantitativă.

3.3. Peptide

3.3.1. Definiție, structură, proprietăți și reprezentanți

Peptidele sunt substanțe naturale, constituite dintr-un număr restrâns de aminoacizi. După numărul de aminoacizi componenți, peptidele pot fi: oligopeptide (2 - 10) și polipeptide.



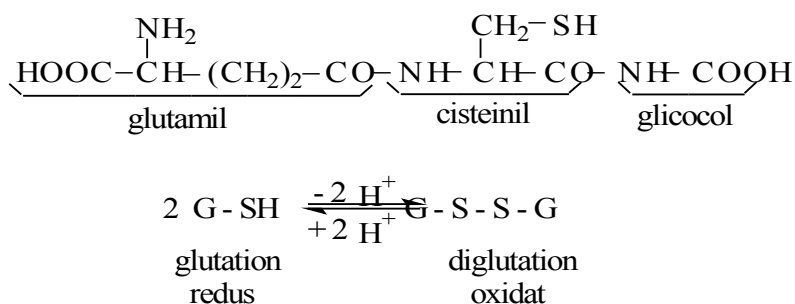
Lanțul polipeptidic are la un capăt o funcție amino liberă, iar la celălalt capăt o funcție carboxil.

Structura și funcțiile peptidelor sunt determinate de secvența aminoacizilor constituenți. În funcție de această secvență și de numărul lor, se pot prezenta sub forme izomere. O tripeptidă are 6 forme izomere.

Peptidele sunt substanțe solide, în majoritatea lor cristalizate, iar solubilitatea în apă este variabilă (mai mare pentru cele cu număr mic de aminoacizi și scade pentru cele cu masă moleculară mare care vor forma soluții coloidale). Sunt insolubile în alcool absolut și alți solvenți organici. Peptidele ca și aminoacizii sunt substanțe amfotere. Nu sunt denaturate de căldură, deci nu coagulează la temperaturi ridicate. Ele dau reacții pe seama funcțiunilor amină și carboxil libere. Pot da de asemenea reacții pe seama radicalilor și pe seama legăturii peptidice.

Una din cele mai importante reacții pe seama legăturii peptidice este reacția "biuretelui" folosită și la identificarea și dozarea lor cantitativă. Această reacție are loc în prezența sărurilor de cupru în mediu alcalin cu formare de compuși colorați în albastru violet. O altă reacție importantă este reacția de hidroliză în prezența acizilor tari sau enzimelor (peptidaze), când rezultă aminoacizii componenți.

Reprezentanții peptidelor. Cel mai important peptid este un tripeptid neproteic izolat pentru prima oară din drojdia de bere numit **glutation**. Se găsește în toate organismele vii, în plante predomină în semințe în timpul încolțirii. El este format din: acid glutamic, cisteină și glicocol.



Glutationul este o substanță albă, solidă, solubilă în apă și alcool. Are activitate optică levogiră (-85°). Având două grupări carboxil libere, are un pronunțat caracter acid (pH=2,8).

În celule, glutationul se poate găsi sub formă redusă (G-SH) sau sub formă oxidată (G-S-S-G). Trecerea lui dintr-o formă în altă constituie unul din cele mai importante sisteme redox din celule. De asemenea, glutationul se comportă ca un activator al unor enzime. El mai poate acționa ca antioxidant, protejând unele substanțe cum sunt vitamina C și hemoglobina.

Insulina este o polipeptidă cu rol hormonal secretată de pancreas. Acționează asupra nivelului glucozei sanguine (glicemiei). Este formată din 51 de aminoacizi.

Multe bacterii produc peptide care au acțiune antibiotică (gramicidinele, tirocidinele etc).

Sarcină de lucru

Analizați structura glutationului și precizați:

- ◆ - din ce grupă de aminoacizi fac parte cei trei constituenți;
- pe seama cărei grupări se explică caracterul său reducător.

3.4. Proteine

3.4.1. Caracterizare generală. Proteinele sunt substanțe cu structură macromoleculară cu un grad înalt de organizare structurală rezultată prin condensarea unui număr mare de aminoacizi (de la sute la zeci de mii de molecule). În organismele vegetale cantitatea de proteine este mult mai mare decât peptidele sau aminoacizii liberi.

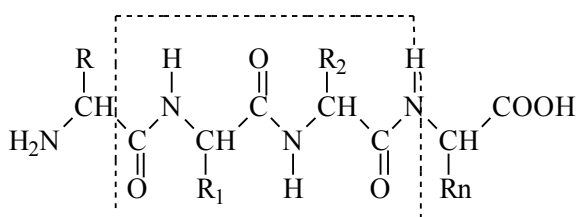
După structura lor proteinele se clasifică în două grupe mari:

- holoproteine, care la hidroliză pun în libertate numai aminoacizi;
- heteroproteine (proteide) care la hidroliză pe lângă aminoacizi mai pun în libertate și compuși cu structură neproteică numite componente prostetice (metale, acid fosforic, glucide, lipide, pigmenți, acizi nucleici etc).

3.4.2. Structura proteinelor. Structura proteinelor stă la baza modului lor de acțiune în organisme. Cu ajutorul metodelor moderne de analiză s-a ajuns la concluzia că substanțele proteice au patru niveluri de organizare: primar, secundar, terțiar și cuaternar.

Structura primară reflectă structura de bază a proteinelor, celelalte structuri reflectă organizarea spațială tridimensională a proteinelor. Între aceste niveluri de organizare structurală nu există delimitări precise, ele interacționând în cadrul unei structuri unice.

Structura primară reflectă structura de bază a proteinelor și este determinată de felul, numărul și succesiunea aminoacizilor în lanțul polipeptidic.



Grupările funcționale $>C=O$ și $>N-H$ implicate în stabilirea legăturii peptidice sunt coplanare, iar radicalii aminoacizilor (R_1, R_2, \dots) sunt dispuși alternativ deasupra și dedesubtul planurilor legăturilor peptidice într-un trans repetabil. Problema stabilirii secvenței aminoacizilor este dificilă. Structura tridimensională și activitatea biologică a proteinelor sunt dependente și controlate de secvența aminoacizilor, secvență care este sub control genetic. Deci structura primară este coloana vertebrală a oricărei molecule proteice.

Structura secundară se referă la aranjamentul spațial al catenelor polipeptidice și la legăturile chimice care o stabilizează. Structura secundară este stabilizată în spațiu prin intermediul legăturilor de hidrogen intracatenare și intercatenare între grupările $>C=O$ și $>N-H$ din două legături peptidice diferite.

Referitor la această structură a fost admisă teoria lui Pauling și Corey (1943), care au luat premiul Nobel în 1953. Ei au elaborat două modele, modelul α -helix și modelul planurilor pliate sau β -conformației.

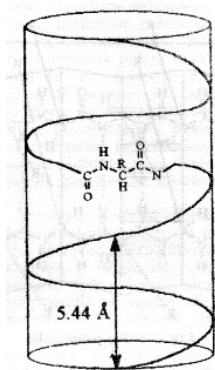


Fig. 3.1. Modelul α -helix

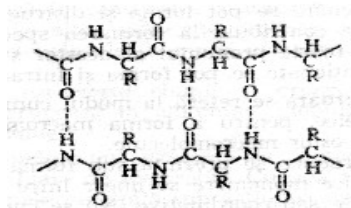


Fig. 3.2. Fragment polipeptidic în faza de pliere

Modelul α -helix (fig.3.1.) rezultă prin spiralarea catenei polipeptidice în jurul unui cilindru imaginar. Stabilitatea structurii spiralate este dată de numărul mare de legături de hidrogen intercatenare care se formează între gruparea $>C=O$ a unui aminoacid și gruparea $>N-H$ de la al patrulea aminoacid. Distanța dintre spire este de 5,4Å.

Modelul planurilor pliate (fig. 3.2.) reprezintă de asemenea o structură ordonată și stabilizată prin legături de hidrogen intercatenare. Toate legăturile peptidice participă la aceste legături conferind structurii o mare stabilitate. Acest tip de structură o întâlnim la proteinele de tipul β -keratinei și fibroinei.

Structura terțiară reprezintă un nivel superior de organizare a macromoleculii proteice. Structura terțiară este caracteristică proteinelor globulare. Această formă de organizare rezultă prin replierea catenelor polipeptidice. Legăturile care stabilizează această structură sunt:

- legături ionice care se stabilesc între grupări ionice de semn contrar ($-NH_3^+$) și ($-COO^-$). Sunt legături slabe și formarea lor depinde de pH-ul mediului;
- legături de hidrogen, diferite de cele existente la nivelul legăturilor peptidice ($-OH$; $-COOH$);
- legături van der Waals, care se stabilesc între radicalii de aminoacizi nepolari.

Structura terțiară prezintă un grad mare de labilitate în raport cu diferiți factori fizici și chimici; desfacerea legăturilor din această structură implică procesul de denaturare al proteinelor, proces însoțit de pierderea proprietăților biologice.

Structura cuaternară reprezintă cel mai înalt nivel de organizare al proteinelor care au deja o structură primară, secundară și terțiară bine definită.

Structura cuaternară reprezintă asocierea unor catene polipeptidice (denumite protomeri) într-un ansamblu sau agregat denumit oligomer. Structura cuaternară este stabilizată prin legături electrostatice și de hidrogen. Hemoglobina este un tetramer, formată din patru protomeri, două catene α identice (141 aminoacizi) și două catene β identice (146 aminoacizi). Numeroase enzime cu rol în metabolism se caracterizează printr-un nivel cuaternar de organizare.

3.4.3. Proteine vegetale. Reprezentanți

Clasificarea în cele patru grupe se face în funcție de solubilitate și rolul biologic. În organismele vii ele se găsesc în amestec.

Albuminele sunt proteine cu masa moleculară variabilă, în majoritatea lor mică, solubile în apă. Au un caracter slab acid, aproape neutru. Albuminele se găsesc în toate organele plantelor, în amestec de multe ori cu globulinele. Exemplu de albumine avem: *legumelina* din semințele de leguminoase, *leucozina* din semințele de cereale, *ricina* din semințele de ricin, *crotina* din semințele de *Croton tiglium*. Acestea două din urmă se mai numesc și toxalbumine și sunt foarte toxice.

Globulinele sunt proteine solubile în soluții diluate de săruri (5-10% NaCl) și insolubile în apă. La fierbere globulinele coagulează mai greu decât albuminele. Au un caracter slab acid, deoarece conțin o cantitate mai mare de acid asparagic și glutamic. În semințele de leguminoase și oleaginoase, globulinele reprezintă 50% din totalul de proteine.

Exemple de globuline: *glicinina* din semințele de soia, *legumina* din boabele de mazăre și linte, *edestina* din boabele de grâu și semințele de cânepă.

Prolaminele sunt proteine cu un conținut ridicat de acid glutamic și prolină ceea ce le conferă un caracter acid. Sunt solubile în alcool 70%, din cauza prolinei, care este singurul aminoacid solubil în alcool. Prolaminele se găsesc în cantitate mare în semințele de cereale, alături de **gluteline**.

Reprezentanți ai acestor grupe sunt: *gliadina* din semințele de grâu, *hordeina* din orz, *avenina* din cele de ovăz. Prolaminele sunt sărace în lizină și triptofan, aminoacizi esențiali, de aceea au o valoare scăzută pentru alimentația omului.

Glutelinele sunt proteine solubile în soluții diluate de acizi sau baze. Au un caracter acid ca și prolaminele datorită conținutului ridicat de acid glutamic. Se găsesc în citoplasma plantelor verzi, însoțind în majoritatea cazurilor prolaminele.

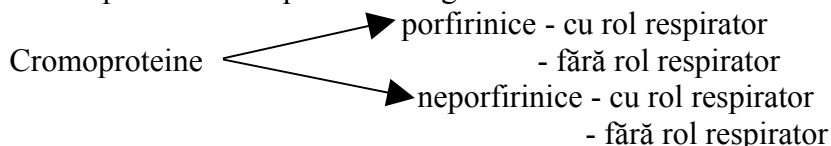
Ca reprezentanți avem: *glutelina* din semințele de grâu și *orizenina* din orez.

3.5. Heteroproteine

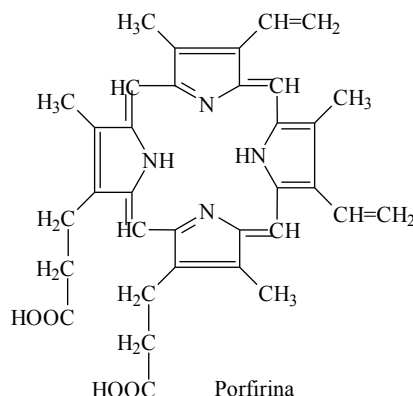
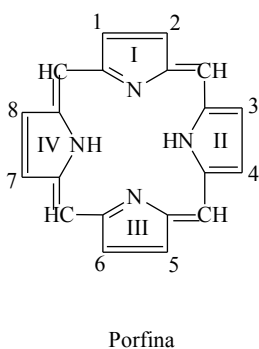
Heteroproteinele sunt substanțe formate dintr-o holoproteină și o substanță neproteică, numită grupare prostetică. Clasificarea lor se face în funcție de gruparea prostetică, astfel avem: metaloproteine, fosfoproteine, lipoproteine, glicoproteine, nucleoproteine și cromoproteine.

3.5.1. Cromoproteine

Cromoproteinele sunt heteroproteine care au ca grupare prostetică un pigment. Sunt substanțe universal răspândite, cu funcțiuni importante pentru organism. Cromoproteinele se clasifică pe baza structurii grupării prostetice și a rolului pe care îl îndeplinesc în organisme.



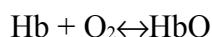
Cele mai răspândite cromoproteine sunt cele cu structură porfirinică. Acestea au drept grupare prostetică porfirinele care sunt substanțe cu structură complexă și formează radicali metin. Acestea se găsesc în porfirine și se găsește în unele metale (Fe, Cu, I).



3.5.1.1. Cromoproteine porfirinice cu rol respirator

Hemoglobina este numită și pigmentul respirator al vertebratelor. Este o cromoproteină formată din 4% hem, care este gruparea prostetică și 96% componenta proteică numită globina.

Hemul este identic pentru toate speciile, globina variază de la o specie la alta. Hemul reprezintă combinația complexă dintre porfirină și fierul divalent care este hexacovalent. Cu 4 valențe se leagă de nucleele pirolice, cu o valență de globină și cu cea de a șasea se leagă reversibil de oxigen. La nivelul plămânului oxigenul se combină cu hemoglobina și formează oxihemoglobina care se transportă prin sângele arterial la celule unde din cauza presiunii mici eliberează oxigenul conform schemei:



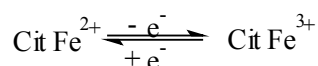
Hemoglobina eliberată se combină cu CO_2 din celule formând carbohemoglobina. Acest compus, transportat la nivelul plămânilor, eliberează CO_2 și se recombina cu oxigenul.

Leghemoglobina este heteroproteina din nodozitățile de pe rădăcinile de leguminoase și de pe alte plante.

Gruparea prostetică a acestei cromoproteine este identică cu hemul din hemoglobină. Leghemoglobina se formează în citoplasma celulelor rădăcinilor, în procesul de simbioză al leguminoaselor cu bacteriile fixatoare de azot din genul *Rhizobium*. Cantitatea de azot fixată de nodozitățile leguminoaselor este proporțională cu conținutul de leghemoglobină din aceste nodozități.

Enzimele heminice sunt cromoproteine porfirinice cu rol în procesele de oxidoreducere. Cele mai importante sunt: citocromii, peroxidazele și catalazele.

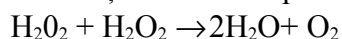
Citocromii sunt răspândiți în toate celulele vegetale și animale. În regnul vegetal, citocromii se găsesc în cantitate mare în frunzele verzi și în drojdiile. În procesele de oxidoreducere, au rolul de transportor de electroni.



Citocromii pot exista sub formă redusă (Fe^{2+}) și sub formă oxidată (Fe^{3+}). În celule predomină forma redusă. Citocromii se deosebesc între ei prin masă moleculară, potențial redox, spectre de absorbție și proprietăți chimice. Ei au fost notați cu litere mici ale alfabetului, astfel avem: cit a, cit b, cit c etc.

Peroxidazele catalizează reacții de felul: $\text{AH}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{A} + 2\text{H}_2\text{O}$. Sunt foarte răspândite în plante. Ele descompun apa oxigenată care rezultă în urma proceselor metabolice în celule și care este toxică.

Catalazele - catalizează reacția de descompunere a apei oxigenate:



Catalazele se găsesc și în regnul vegetal și în cel animal, dar predomină în organismele animale.

3.5.1.2. Cromoproteine porfirinice fără rol respirator

Cloroglobina este cromoproteina care se găsește în toate celulele și țesuturile verzi. Are ca grupare prostetică clorofila care este pigmentul verde din frunze. Cloroglobina este localizată în cloroplastele celulare. În cloroplastele plantelor superioare aproximativ 69% reprezintă componenta proteică, 22% lipide, 7,5% clorofile, 0,5% carotenoide etc.

Clorofila din plantele superioare și din algele verzi este un amestec de două clorofile: clorofila a și clorofila b.

Raportul dintre cele două clorofile în majoritatea plantelor este de 3:1. Ambele clorofile sunt porfirine care conțin magneziu. Clorofila b se deosebește de clorofila a prin aceea că are la C₃ din ciclul pirolitic II o grupare aldehydă (-CHO) în locul grupării metil (-CH₃). Clorofila a este cel mai important pigment de pe planeta noastră, deoarece poate să transforme energia luminoasă în energie chimică în procesul de fotosinteză.

Clorofilele a și b sunt substanțe solide, cristalizate, insolubile în apă, solubile în solvenți organici (acetona, alcool, eter). În soluție alcoolică clorofila a are o culoare albastră-verzuie, iar clorofila b o culoare galben-verzuie. Sunt substanțe destul de reactive.

Test de autoevaluare

- Aminoacizii sunt compuși cu funcțiuni mixte:
 - funcție amino și funcție carbonil;
 - funcție amino și funcție carboxil;
 - funcție amino și funcție hidroxil;
 - funcție amino și funcție tiol (-SH).
- Aminoacizii se pot clasifica după următoarele criterii:
 - natura radicalului;
 - numărul și felul elementelor;
 - tipurile de izomerie;
 - apartenența la seria sterică.
- Aminoacizii pot fi identificați prin:
 - reacția cu ninhidrina;
 - reacția Tollens;
 - reacția cu alcoolii;
 - reacția cu albastrul de metilen.

REZUMAT CAPITOL 3

- Aminoacizii dau reacții pe serina:
 - funcției amino, **monoaminomonocarboxilici**
 - funcției carboxil, **- monoaminodicarboxilici**
 - funcției tiol(-SH); **- hidroxiaminoacizi**
 - funcției carbonil. **ciclici** **- tioaminoacizi**

Peptide: (ex. glutation, insulină)

1 – b; 2 –

Proteine

- holoproteine

- heteroproteine



TEME DE VERIFICARE PENTRU MODULUL 1

1. Glucide

1. Glucoza, manoza, galactoza și fructoza sunt hexoze. Să se indice:
 - structurile ciclice;
 - diferențe de structură;
 - forme anomere (α , β).
2. Ce condiție trebuie să îndeplinească ozele pentru a aparține la seriile sterice D și L?
3. Scrieți reacțiile care pun în evidență caracterul reducător al aldozelor.
4. Maltoza, lactoza și zaharoza sunt dizaharide. Să se precizeze: denumirea și structura ozelor rezultate la hidroliză.
 - semnul de rotație specifică a amestecului de oze rezultat din hidroliza fiecărui diglucid.
5. Să se definească ce este un poliglucid și să se facă o paralelă între structura amidonului și cea a celulozei menționând:
 - asemănările și deosebirile structurale;
 - tipurile de legătură stabilite.

2. Lipide

1. Să se indice acizii grași cu rol important în organism (vitamină și componente din structura membranelor celulare, țesutului nervos, mitocondriilor).
2. Stearodipalmitina este o trigliceridă mixtă. Să se indice:
 - reacțiile de saponificare ale acestei trigliceride;
 - denumirea săpunurilor rezultate din reacție.
3. Analiza unei probe de gliceridă evidențiază prezența acizilor stearic, oleic și palmitic. Să se indice:
 - structura gliceridei;
 - gradul său de consistență.
4. Prin hidroliza unui amestec de lipide complexe rezultă următorii produși:
 - glicerol, acid palmitic, acid oleic, acid ortofosforic;
 - glicerol, acid stearic, acid linoleic, acid ortofosforic, mezoinozitol.Să se stabilească structurile chimice ale lipidelor și denumirea lor.
5. Se dau următoarele tipuri de lipide: oleodistearina, colaminfosfatida și colinfosfatida. Să se indice:

- structurile chimice ale acestor lipide;
- localizarea lor în diferite țesuturi.

3. Proteine

1. Comentați caracterul amfoter al aminoacizilor și rolul lor în organismele vii, pe seama acestei proprietăți.
2. Scrieți reacțiile ce reprezintă în organismele vii căile de degradare ale aminoacizilor.
3. Comentați structura și rolul peptidelor în organismele vii.
4. Care din cele patru trepte de structură ale proteinelor reprezintă coloana vertebrală a moleculei proteice? Comentați această structură.
5. Care grupă de cromoproteine este mai importantă? Enumerați reprezentanți și comentați rolul lor în organismele vii.

MODUL II

4. ACIZI NUCLEICI

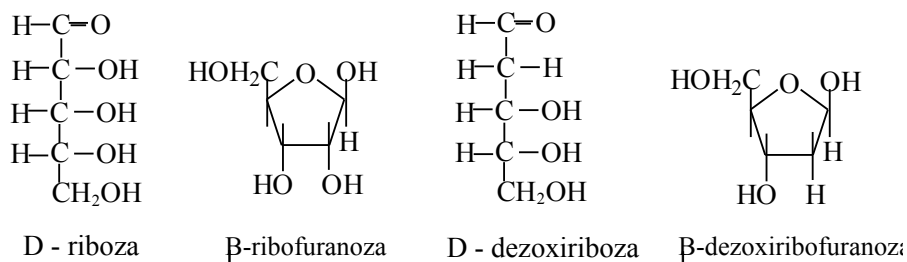
4.1. Caracterizare generală

Acizii nucleici sunt compuși cu structură macromoleculară, polinucleotidică, cu rol în stocarea și transmiterea informației genetice. Denumirea de "acid nucleic" provine de la faptul că acidul dezoxiribonucleic "ADN" a fost izolat inițial din nucleii celulari. Acizii nucleici reprezintă gruparea prostetică în nucleoproteine. Acestea eliberează prin hidroliză acizii nucleici și proteine cu caracter bazic.

Acizii nucleici la hidroliză pun în libertate fragmente mai mici (oligonucleotide), iar acestea hidrolizează la mononucleotide, în final obținându-se baze azotate, acid fosforic și pentoze.

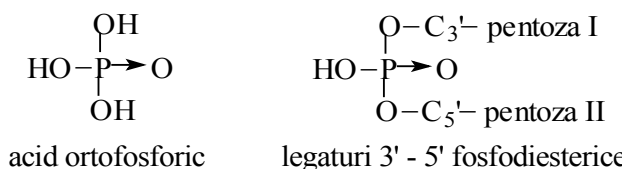
4.2. Componentele mononucleotidelor

Pentoză. Pentozele care intră în constituția acizilor nucleici sunt riboza și dezoxiriboza. Ambele aparțin seriei sterice D și au configurația β -furanozică. În pentoze atomii de carbon se numerează cu numere prime.



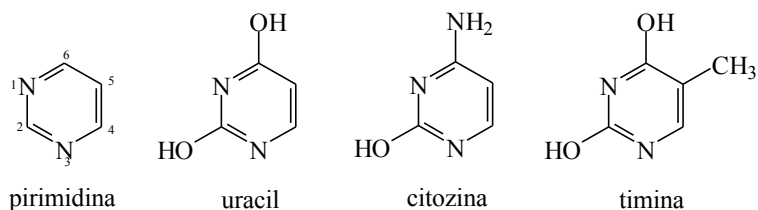
Componenta glucidică se leagă β -glicozidic de bazele azotate din acizii nucleici. Prezența uneia din cele două pentoze în molecula acizilor nucleici determină clasificarea lor în acizi ribonucleici (ARN) și dezoxiribonucleici (ADN).

Acidul fosforic intră în molecula acizilor nucleici sub formă de acid ortofosforic. El reprezintă 8-14% din compoziția acizilor nucleici și le imprimă caracterul acid. Acidul ortofosforic esterifică pentozele în pozițiile 2', 3' și 5' la riboză și 3' și 5' la dezoxiriboză. Acidul fosforic are rolul de a lega mononucleotidele între ele prin legături de tip fosfodiesterice și se realizează între grupările -OH din poziția 3' și 5' ale pentozelor vecine.



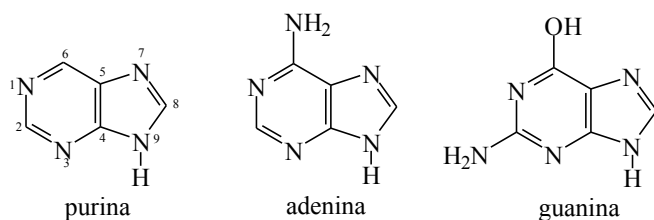
Bazele azotate sunt combinații heterociclice cu caracter aromatic, conțin 2 sau mai mulți atomi de azot și derivă de la pirimidină sau purină.

Bazele pirimidinice:



Aceste baze sunt sintetizate de către celulele vii. În stare liberă se găsesc în cantități mici, de obicei ca produși de hidroliză ai nucleotidelor. Uracilul este prezent în ARN, citozina este prezentă în ARN și ADN iar timina în ADN.

Bazele purinice au o structură biciclică, ele derivă de la purină și sunt adenina și guanina; ambele intră atât în structură ARN-ului cât și a ADN-ului.

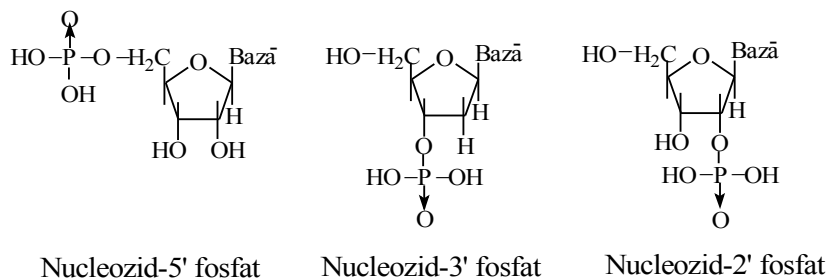


Bazele azotate au caracter slab bazic și cele care conțin oxigen pot exista în mai multe forme tautomere în funcție de pH-ul mediului.

4.3. Nucleotide

Nucleotidele sunt unități monomere ale polinucleotidelor (acizi nucleici). Ele rezultă de la hidroliza parțială a acizilor nucleici sub acțiunea enzimelor, dar se găsesc și în stare liberă în toate celulele, îndeplinind o serie de roluri biochimice. Sunt formate din trei componente chimice: bază azotată + pentoză + acid fosforic.

Pentoză se leagă prin legături β -glicozidice între C₁ și N₁ al bazei pirimidinice sau N₉ al bazei purinice. Acidul fosforic esterifică riboza în pozițiile 2', 3' și 5' și dezoxiriboza în pozițiile 3' și 5'.



În funcție de natura pentozei, nucleotidele pot fi: ribonucleotide și dezoxiribonucleotide. În funcție de natura bazei azotate pot fi purinice și pirimidinice. Nucleotidele predominante din celulă sunt cele cu radicalul acidului fosforic în poziția 5'.

Un rol important în organismele vii îl au nucleotidele polifosforice. Acestea conțin în molecula lor două sau trei resturi de acid fosforic legate între ele prin legături

bogate în energie (macroergice) notate cu \approx . Dacă o legătură fosforică simplă eliberează prin hidroliză 2-3 kcal/mol, o legătură macroergică eliberează 7-12 kcal/mol.

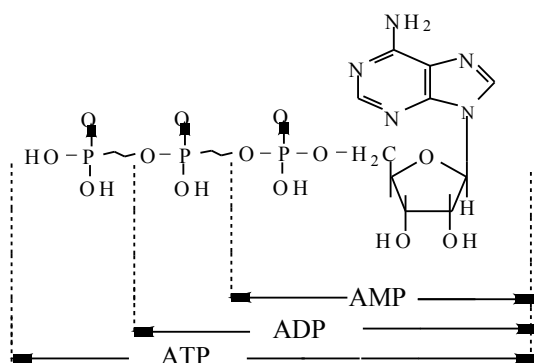


Fig. 4.1. Structura chimică a adenzin 5' mono, di și trifosfați

Nucleotidele polifosforice au un rol important în organismele vii, deoarece participă în procesele de conservare și utilizare a energiei eliberate în cadrul metabolismului celular.

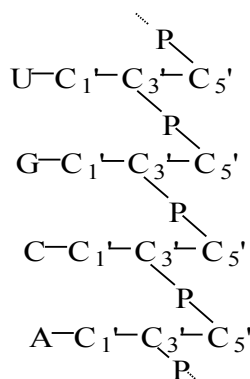
Reacția reversibilă $ADP + H_3PO_4 \leftrightarrow ATP$ reprezintă cheia de bază a bioenergeticii; formarea ATP-ului reprezintă procesul de înmagazinare a energiei, iar scindarea ATP-ului reprezintă procesul de eliberare a energiei.

Un rol important al nucleotidelor polifosforice este cel de transportor macroergic al unor glucide în sinteza poliglucidelor (ADP și UDP), de asemenea participă în biosinteza fosfogliceridelor (CTP). Ele mai intră în constituția unor coenzime NAD^+ (nicotinamid-adenin-dinucleotid) și FAD-ul (flavin-adenin-dinucleotid) implicate în procesele de oxido-reducere ale respirației celulare.

4.4. Polinucleotide (acizi nucleici)

Acizii nucleici sunt substanțe macromoleculare care pot să apară libere sau ca grupare prostetică în nucleoproteine.

Mononucleotidele reprezintă unitatea lor structurală de bază. Lanțurile de dezoxiribonucleotide legate covalent formează acidul dezoxiribonucleic (ADN), iar ribonucleotidele formează acizii ribonucleici (ARN).



Acidul fosforic stabilește legături fosfodiesterice între gruparea hidroxil din poziția 3' a pentozei dintr-un mononucleotid și hidroxilul din poziția 5' a pentozei din mononucleotidul vecin. Astfel, catena principală constă din grupări fosforice, alternând cu radicali din pentoză, iar bazele azotate apar ca radicali laterali ai lanțului polipeptidic (fig. 4.2.).

Fig. 4.2. Reprezentarea simbolică a structurii polinucleotidului.

4.4.1. Acidul dezoxiribonucleic (ADN)

Acesta este localizat în cea mai mare parte în nucleul celular, reprezentând materialul genetic al cromozomilor. Cantitatea de ADN raportată la nucleul celular este o constantă a fiecărei specii. Macromolecula de ADN diferă de la o

specie la alta, dar este identică în organele aceleiași specii. Bazele azotate care intră în structura lor sunt: citozina, timina, adenina și guanina.

Structura primară indică natura, proporția și secvența bazelor azotate purinice și pirimidinice ale nucleotidelor care constituie macromolecula de ADN. Informația genetică stocată în ADN este codificată în secvența de baze azotate (nucleotide) existente de-a lungul catenelor polinucleotidice.

Structura secundară se referă la organizarea tridimensională a lanțului polipeptidic. Modelul de structură spațială a fost elaborat în anul 1935 de către J.D. Watson și H.C. Crick, confirmat ulterior în alte experiențe. Argumentele experimentale pe baza cărora s-a elaborat modelul structurii spațiale a ADN-ului sunt următoarele: numărul bazelor purinice (A+G) este egal cu numărul bazelor pirimidinice (C+T), din care cauză raportul $A+G/T+C=1$. Numai raportul $A+T/G+C$ variază după natura speciei și are valori de 1,3 - 1,5, dar este constant pentru aceeași specie.

Din punct de vedere structural și energetic adenina și timina din nucleotide se pot lega prin două legături de hidrogen iar guanina și citozina prin trei legături de hidrogen. Astfel, modelul elaborat pentru molecula de ADN este format din două catene polinucleotidice răsucite într-o spirală dublă orientată spre dreapta, în jurul unei axe comune simetrice și orientate antiparalele formând un dublu helix. Bazele azotate sunt plasate spre interiorul helix-ului, perpendicular pe axa lui verticală, iar pentoza și legăturile fosfodiesterice sunt aranjate în exterior. O tură completă a spiralei duble cuprinde 10 perechi de baze azotate și are înălțimea (pasul) de 34 Å, iar diametrul helixului este de 20 Å.

Arhitectura spațială este menținută și stabilizată prin legături de hidrogen realizate între bazele complementare ($A=T$ și $G\equiv C$). Datorită legăturilor de hidrogen care determină asocierea specifică a celor două catene într-o spirală dublă, deși nu sunt identice, fiecare lanț polinucleotidic devine replica complementară a celuilalt, explicând faptul că ADN-ul reprezintă unicul substrat chimic al eredității.

4.4.2. Acizi ribonucleici (ARN)

Acizii ribonucleici sunt și ei constituenți ai tuturor celulelor cu rol important în biosinteza proteinelor. Macromolecula de ARN este formată dintr-o singură catenă polinucleotidică liniară mai scurtă decât a ADN-ului (cu excepția unor virusuri), iar bazele azotate care se găsesc frecvent în ARN sunt: citozina, uracilul, adenina și guanina. În cazul ARN-ului, se pare că pe lângă legăturile fosfodiesterice C_3' și C_5' există și legături C_3' și C_2' . După rolul pe care îl îndeplinește în biosinteza proteinelor, ARN-ul poate fi: ARN de transfer (ARN_t), ARN mesager (ARN_m) și ARN ribozomal (ARN_r).

Acizii ribonucleici de transfer au masa moleculară de ordinul $20 - 30 \cdot 10^3$ și reprezintă 10 - 15% din acizii ribonucleici. Se găsesc în citoplasmă și au rolul de a transporta aminoacizii activați spre centrul de sinteză al proteinelor (ribozomi).

Fixarea aminoacidului se face la un capăt al lanțului polinucleotidic, care este identic la toți ARN_t și care are secvența bazelor azotate: citozină-citozină-adenină. Tot în cadrul lanțului polinucleotidic se află anticodonul (tripletă de baze azotate) care este complementar cu un alt triplet numit codon, dintr-o secvență de pe ARN_m . Fiecare aminoacid din molecula proteinelor are cel puțin un ARN_t corespunzător.

Acizii ribonucleici mesageri au o viață foarte scurtă, de ordinul minutelor. Lungimea medie a ARN_m la plante este de aproximativ 1200 baze și reprezintă 5% din acizii ribonucleici. Ei sunt sintetizați în nucleu pe un segment de ADN

care le servește drept matriță, iar secvența bazelor lor nucleice este complementară cu cea a catenei de ADN din care s-au format. În acest fel informația genetică din ADN este copiată enzimatic în ARN_m , procesul numindu-se transcripție. ARN_m transferă mesajul genetic codificat la nivelul ribozomilor citoplasmatici pentru a servi drept tipar la biosinteza proteinelor.

Acizii ribonucleici ribozomali nu se găsesc liberi ci asociați cu proteinele formând complexe ribonucleoproteice denumite ribozomi. Ribozomii sunt particule mici, submicroscopice care conțin 64% ARN_r și 35% proteine. ARN_r reprezintă 80% din totalul ARN -ului celular. În timpul sintezei proteinelor, ribozomii formează agregate numite polizomi în care este înglobată câte o moleculă de ARN_m

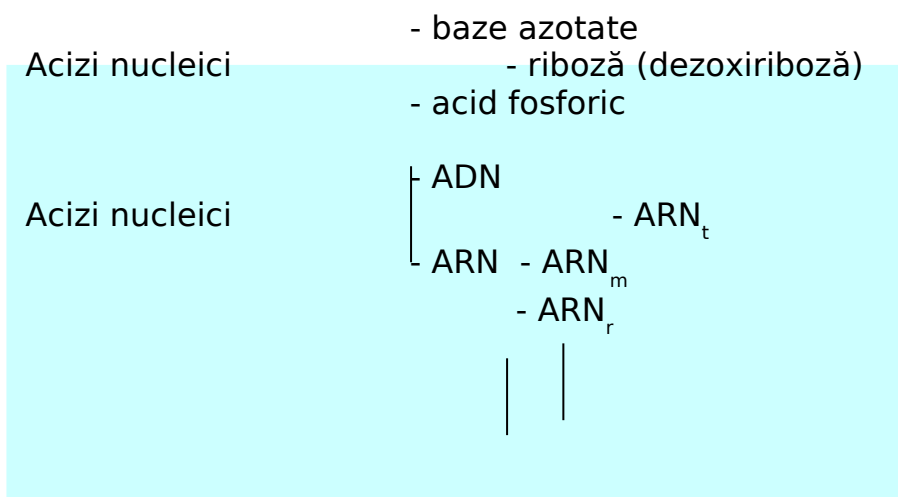
Test de autoevaluare

- Din structura acizilor ribonucleici (ARN) face parte:
 - arabinoza;
 - xiloza;
 - riboza;
 - fructoza.
- Molecula de ADN constă din două catene polinucleotidice:
 - paralele;
 - legate prin legături fosfodiesterice;
 - legate prin legături de hidrogen între $G \equiv C$ și $T = A$;
 - răsucite în spirală în jurul unei axe comune de simetrie.

Rezultate corecte:

1 – c; 2 – b,c,d.

REZUMAT CAPITOL 4



5. VITAMINE

5.1. Definiție și clasificare

Vitaminele sunt biocatalizatori esențiali pentru organismele heterotrofe. Se mai numesc și factori de creștere. Plantele autotrofe sintetizează vitaminele sau unele substanțe precursorale numite provitamine, care sunt folosite de organismele heterotrofe. În organismele animale, vitaminele se repartizează în țesuturi și organe independent de rolul pe care îl au de îndeplinit. Ele manifestă un spectru larg de acțiune, prezentând următoarele caracteristici:

- sunt indispensabile creșterii normale și manifestării proceselor vitale ale organismului;
- sunt componente esențiale pentru evoluția normală a proceselor metabolice;
- unele vitamine acționează în calitate de coenzime, asigurând efectul catalitic al enzimelor;
- unele vitamine acționează în procesele de oxidoreducere;
- există o disproporție între cantitățile mici în care acționează în organism și efectele biochimice și fiziologice pe care le produc;
- lipsa lor în organism duce la tulburări metabolice care se cunosc sub denumirea de "avitaminoze" sau "hipovitaminoze".

Cea mai folosită clasificare a vitaminelor este cea care ține cont de solubilitatea lor. După acest criteriu avem:

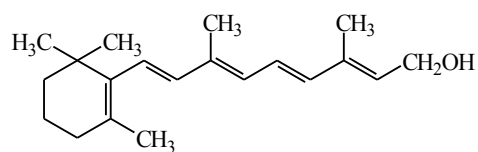
- vitamine liposolubile (solubile în lipide și solvenții acestora);
- vitamine hidrosolubile.

5.2. Vitamine liposolubile

Din această grupă fac parte: retinoli (vitaminele A), calciferolii (vitaminele D), tocoferolii (vitaminele E), vitaminele K și vitaminele F. Acestea sunt în general termostabile și pot fi stocate sub diverse forme în anumite organe sau țesuturi.

Vitaminele A (retinoli) rezultă pe cale biochimică din carotenoide care sunt provitaminele lor. Din β -caroten rezultă două molecule de retinol. Pentru organismele vii prezintă importanță retinolul (vitamina A₁) și dehidretinolul (vitamina A₂). Aceste vitamine sunt distruse de radiațiile ultraviolete și de cele luminoase.

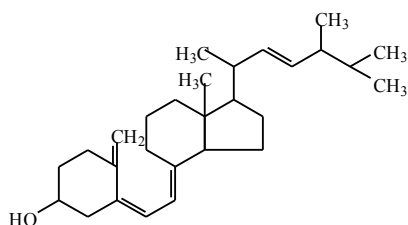
Rolul biologic al acestor vitamine: - participă la sinteza rodopsinei (substanță fotochimică activă în procesul vederii);
- participă în fotosinteză (absorbția radiațiilor luminoase).



vitamina A₁

Avitaminoza se manifestă prin uscarea celulelor epiteliale (piele, păr, unghii) și îndeosebi a corneei ochilor (xeroftalmie).

Vitaminele D (calciferoli) - au ca provitamine sterolii din care provin sub acțiunea radiațiilor ultraviolete. Cea mai importantă vitamină D₂ provine prin fotoizomerizarea sub acțiunea razelor ultraviolete a ergosterolului. Cele mai mari cantități există în uleiul de ficat de pește. Pentru organismul animal calciferolii au o acțiune antirahitică (intervin în metabolismul calciului și fosforului).



vitamina D₂

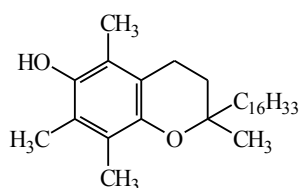
Vitaminele E (tocoferoli) se deosebesc între ei prin numărul radicalilor metil de pe nucleul benzenic. Cel mai important este α - tocoferolul. În cantitate mare îl găsim în plante cum ar fi uleiul de semințe de porumb, grâu, ovăz, bumbac, soia, floarea soarelui etc.

Activitatea biochimică a vitaminelor E se manifestă prin:

- asigurarea condițiilor fiziologice pentru reproducerea normală (se mai numesc vitaminele antisterilității);

- protecția vitaminelor A, D, F și a unor enzime față de agenții oxidanți;

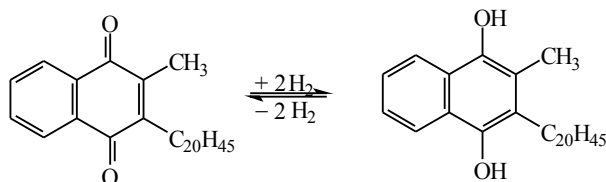
- participă la procesul de fosforilare oxidativă și formarea mononucleotidelor polifosforice.



α - tocoferolul

Vitaminele K au în structura lor nucleul naftochinonic. Diferențierea vitaminelor din această grupă se face după natura substituenților de la nucleul chinonic.

Vitamina K₁ se găsește în frunze, unde este aproape complet înmagazinată în cloroplaste. În organismele animale vitaminele K sunt produse de flora intestinală și au un rol important în coagularea sângelui, de aceea se mai numesc și antihemoragice. Rolul biologic al acestor vitamine se datorează sistemelor de



Sistemul redox al vitaminei K

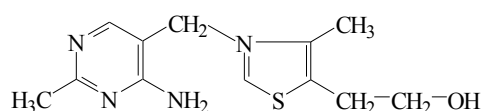
oxido-reducere formate în celule, asigurând astfel transportul hidrogenului pe cale neenzimatică.

Vitaminele F se mai numesc și antidermatitice și sunt reprezentate de trei acizi grași nesaturați în amestec: linoleic, linolenic și arahidonic). Deoarece nu pot fi sintetizați de organismul animal, ei sunt luați din hrana vegetală, în special din uleiuri vegetale.

5.3. Vitamine hidrosolubile

Din această grupă fac parte vitaminele integrate în complexul B, vitamina C, vitamina PP, vitamina H etc. Sunt vitamine termolabile și nu se acumulează ca rezervă în organismul animal. Sunt instabile în mediul alcalin și stabile în mediul acid.

Vitamina B₁ (*tiamina*) este o vitamină foarte răspândită în regnul vegetal. Este o substanță solidă insolubilă în solvenți organici. Esterul tiaminei cu acidul pirofosforic numit pirofosfatul de tiamină (TPP), constituie coenzima unor enzime.

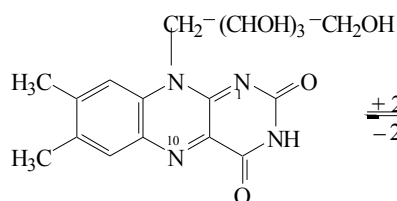


vitamina B₁ (tiamina)

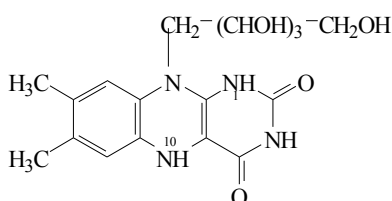
Activitatea sa biologică se bazează în mare măsură pe acest rol de coenzimă. Lipsa ei în organismul uman produce astenie, tulburări gastrointestinale, slăbire și atrofierea musculară. Organismele vegetale

sunt o sursă bogată de tiamină; în cantitate mare se găsește în germenii de cereale și în frunzele tinere.

Vitamina B₂ (*riboflavina*) este o vitamină foarte răspândită în regnul vegetal și animal, atât în stare liberă cât și sub formă de compuși.



Riboflavina

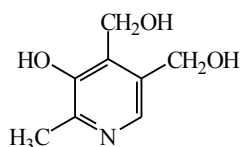


Leucoriboflavina

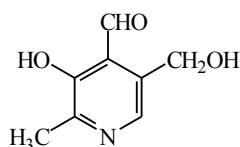
Riboflavina este rezistentă în absența luminii la acțiunea oxidanților și acizilor. Prin reducere (proces reversibil) ea trece în leucoriboflavină. Reducerea are loc la atomii de azot din pozițiile 1 și 10. Datorită acestei proprietăți participă în procesele de oxido-reducere.

Prin esterificarea OH-ului din poziția 5' a ribitolului se obține fosforiboflavina numită și flavin-mononucleotid (FMN). Acesta combinat cu acidul adenilic formează flavin-adenin-dinucleotidul (FAD). Aceste două substanțe FAD și FMN participă în structura unor oxido-reductaze cu rol important în procesele de respirație, pe post de coenzime.

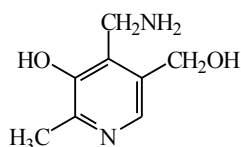
Vitamina B₆ (*piridoxina*) se prezintă sub formă de trei compuși, toți derivați de piridină, diferențiați după funcțiunea care se găsește la atomul de carbon C₄. Aceștia sunt: piridoxol, piridoxal, piridoxamina.



Piridoxol



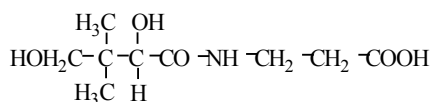
Piridoxal



Piridoxamina

Funcțiunea -OH din gruparea hidroximetilică, substituită la atomul de carbon C₅ în piridoxal și piridoxamină, poate fi esterificată cu acid fosforic. Esterii fosforici sunt coenzimele unor enzime implicate în metabolismul proteinelor. În organismul animal predomină piridoxalul și piridoxamina, iar în cel vegetal, toate cele trei forme se găsesc în cantități aproximativ egale.

Vitamina B₃ (acidul pantotenic) este universal răspândită în organismele

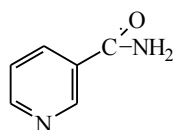


Acidul pantotenic

vii, atât liberă cât și sub formă de compuși. În structura ei se găsește acidul pantoic, legat prin legătură peptidică de β-alanină. În plante această vitamină se găsește mai mult sub formă combinată. În cantitate

mare se găsește în lăptișorul de matcă 130 - 500 micrograme, grâu încolțit, drojdie de bere, soia, fasole, ouă, ficat etc. Rolul biologic al acidului pantotenic se datorește faptului că este componenta structurală a coenzimei A. În celule, această vitamină este transformată în HS-CoA care participă la metabolismul intermediar al lipidelor și protidelor, activând acizii grași și aminoacizii.

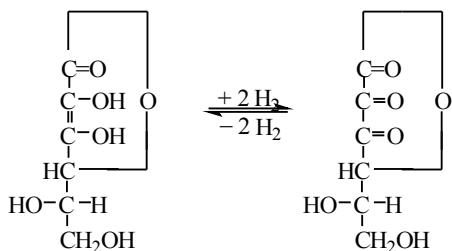
Vitamina PP (nicotinamida) numită și vitamina antipelagrosă, este amida acidului nicotinic. Acțiunea biochimică se datorește participării ei în constituția unor coenzime cu structură nucleotidică. Cele mai importante sunt nicotinamid-adeninucleotid (NAD⁺) și nicotinamid-adenin dinucleotid fosfat (NADP⁺).



vitamina PP

Aceste coenzime intră în structura unor enzime numite dehidrogenaze care catalizează reacții de oxido-reducere. Rolul acestor enzime este de a transporta hidrogenul, aceasta făcându-se pe seama nucleului nicotinic. Numeroase plante conțin în frunze vitamina PP. Se mai găsește în embrionul de grâu, în drojdie, tărâțe, lapte etc. Această vitamină are rolul de a preveni pelagra, boală ce apare în urma unui consum îndelungat de porumb.

Vitamina C (acidul L-ascorbic) numită și vitamină antiscorbutică, se găsește răspândită în regnul vegetal, aproape universal în plantele superioare și în multe plante inferioare. Vitamina C este o substanță solidă, albă, solubilă în apă și alcool. Carbonii din pozițiile 4 și 5 sunt asimetrici, ceea ce duce la prezența izomeriei optice. Izomerul dextrogir este cel care are acțiune fiziologică și aparține seriei sterice L. Transformarea reversibilă a acidului ascorbic în acid dehidroascorbic are loc și în organismele vii. În plante s-a constatat că predomină forma redusă (acid ascorbic). Sistemul redox acid ascorbic ↔ acid dehidroascorbic se pare că intervine și în procesul de fotosinteză, precum și în alte procese biologice. În plante, cantitatea cea mai mare de vitamina C o găsim în regiunile de creștere activă. Sediul de sinteză sunt cloroplastele. În cantitate mare o găsim în măceșe 2000 - 4500 mg%, nuci verzi 3000 mg%, mărar 135 mg%, citrice 55 mg%, mere 5 - 40 mg %.



Acid L-ascorbic

Acid L-dehidroascorbic

Acidul ascorbic îndeplinește și alte roluri ca: acțiune antitoxică, mărirea rezistenței organismului față de infecții, favorizează transportul și depozitarea fierului

etc. Carența în această vitamină provoacă boala numită scorbut (sângerarea gingiilor).

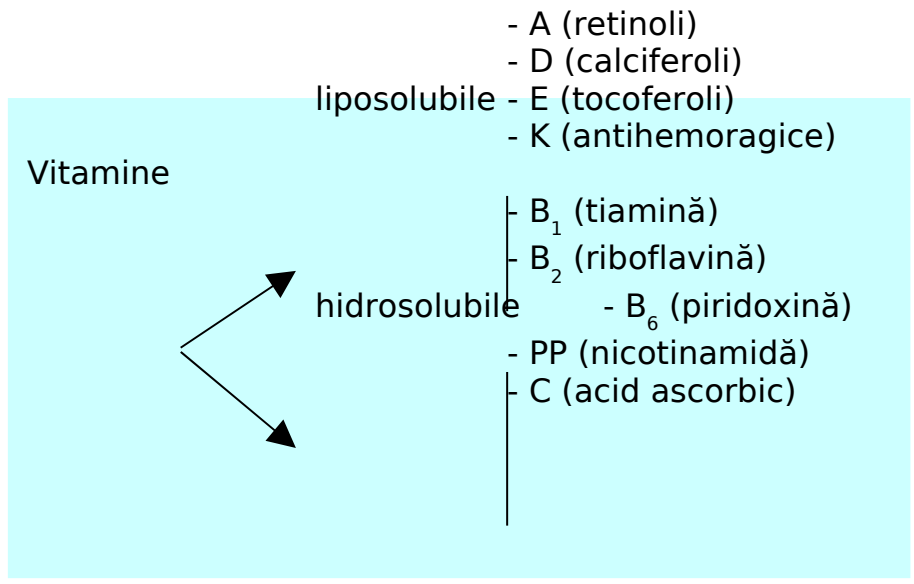
Test de autoevaluare

1. Care din vitaminele de mai jos conțin în structura lor un nucleu de piridină?
 - a) tiamina (B₁);
 - b) piridoxina (B₆);
 - c) acidul ascorbic (C);
 - d) retinoli (A).
2. Tocoferolii intervin în:
 - a) coagularea sângelui;
 - b) sunt antioxidanți naturali;
 - c) combaterea scorbutului;
 - d) procesul vederii.

Răspunsuri corecte

1 – b; 2 – b.

REZUMAT CAPITOL 5



6. ENZIME

6.1. Considerații generale

Enzimele sunt substanțe organice care catalizează reacțiile de sinteză și de degradare din organisme. În general, enzimele acționează asemănător catalizatorilor neenzimatici:

- acționează în cantități extrem de mici, dar manifestă o activitate extrem de intensă;
- nu se consumă și nu se transformă în reacțiile catalizate;
- catalizează reacții termodinamic posibile, adică reacții care corespund unei diminuări a energiei libere;
- nu modifică starea finală de echilibru a reacțiilor ci numai viteza cu care se realizează acest echilibru.

Reacțiile catalizate de enzime se numesc reacții enzimatică, iar substanța care este transformată se numește substrat. În organismele vii sinteza enzimelor are loc în toate celulele.

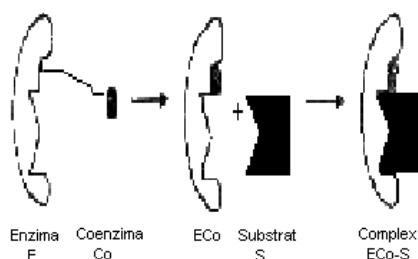
6.2. Natura și structura chimică a enzimelor

Studiul enzimelor obținute în stare pură a dus la concluzia că ele sunt substanțe de natură proteică. Unele sunt holoproteine, iar majoritatea sunt heteroproteine.

Substratul (S) reprezintă compusul chimic de care se poate lega o enzimă (E) cu formarea unui complex activat enzimă-substrat $S + E \leftrightarrow ES$. Această fixare se face în zone bine determinate de pe suprafața enzimei, numite "centri activi" sau "situsuri catalitice" care sunt formate din resturi de aminoacizi din catena polipeptidică, apropiați în spațiu în urma plierii lanțului de aminoacizi.

Enzimele heteroproteice (cu structură binară) sunt formate din două componente: una proteică nedializabilă și termolabilă numită apoenzimă și alta neproteică, dializabilă și termostabilă numită coenzimă. În procesul biochimic, apoenzima fixează substratul și determină și specificitatea de acțiune, adică

direcția reacției, iar coenzima participă în mod esențial la transformarea enzimatică. Aceste enzime prezintă de obicei doi centri activi: unul situat în



fragmentul proteic (situsul catalitic), iar celălalt în zona din moleculă la care se atașează coenzima.

Fig. 6.1. Schema complexului enzimă-coenzimă-substrat

Coenzimele sunt reprezentate de substanțe cu structură diferită, multe din acestea fiind vitamine sau derivați ai acestora, hormoni, metale etc.

Situsul allosteric, aparținând unei clase speciale de molecule proteice, se caracterizează sub aspect structural prin două trăsături generale distincte, în strânsă corelație și anume: zone care sunt esențiale pentru manifestarea activității catalitice (situs catalitic) sau pentru funcția de reglare a unor secvențe de reacții (situs allosteric).

O serie de enzime oligomere (formate din mai multe subunități) denumite și enzime allosterice care au rolul de reglare enzimatică, conțin în molecula lor, pe lângă situsul catalitic și un al doilea situs numit "situs allosteric" (fig. 6.2.).

În aceste mecanisme de reglare intervine cu rol determinant un efector allosteric (activator sau inhibitor) care se leagă de situsul allosteric.

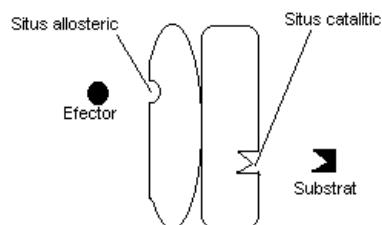
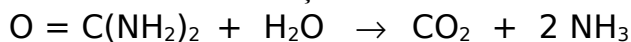


Fig. 6.2. Structura unei enzime allosterice

6.3. Specificitatea enzimelor

O caracteristică esențială a enzimelor este marea lor specificitate, adică ele acționează catalitic asupra unui singur substrat sau a unei grupe de substanțe cu caracter chimic comun și catalizează numai anumite reacții. Deci specificitatea este de substrat și de acțiune.

Specificitatea de substrat. Există unele enzime care au specificitate absolută. De exemplu ureaza (ureamid-hidrolaza) catalizează numai reacția de scindare a ureei în dioxid de carbon și amoniac.



Altele au însă specificitate relativă, de exemplu pepsina hidrolizează toate tipurile de proteine. Un caz deosebit este specificitatea stereochemică, adică o enzimă acționează numai asupra unuia din izomerii unui substrat, preferându-l în raport cu alt izomer. Se cunoaște faptul că numai glucidele din seria sterică D sunt asimilate și aminoacizii din seria sterică L.

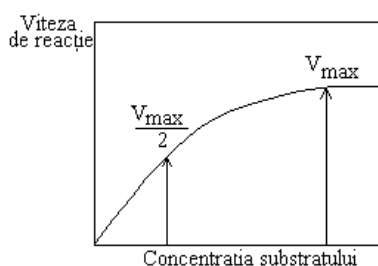
Specificitatea de acțiune este însușirea unor enzime de a alege, dintre toate reacțiile posibile, numai una pe care o vor cataliza.

Pentru aceasta, energia de activare este atât de mult coborâtă, încât se poate stabili echilibrul. De exemplu, un L-aminoacid poate suferi decarboxilarea numai sub acțiunea decarboxilazelor, iar transaminarea numai sub acțiunea transaminazelor. Deci fiecare enzimă manifestă o anumită specificitate de acțiune; specificitatea enzimelor se datorează în mare măsură apoenzimei.

6.4. Factorii care influențează viteza reacțiilor enzimaticice

Cei mai importanți factori sunt: concentrația substratului, concentrația enzimei, temperatura, pH-ul mediului, efectorii.

Influența concentrației substratului. Acesta este unul din cei mai importanți factori care influențează viteza reacției enzimatică. Dependența vitezei de reacție de concentrația substratului a fost redată matematic de către Michaelis și Menten. Dacă se menține constantă concentrația enzimei, măririi concentrației substratului, viteza de reacție crește, până când la o anumită concentrație a substratului, toată cantitatea de enzimă va fi transformată în complex ES. Acestei concentrații, numită concentrație de saturare îi corespunde viteza maximă a reacției (V_{max}). Din acest moment viteza de reacție rămâne constantă, oricât de mult s-ar mări concentrația substratului.



Variația vitezei reacției în funcție de concentrația substratului se exprimă grafic printr-o hiperbolă (fig. 6.3.).

Fig. 6.3. Variația vitezei de reacție în funcție de concentrația substratului

Influența concentrației enzimei. Într-un proces enzimatic viteza de reacție este dependentă de concentrația enzimelor: $V = K [E]$. În condițiile în care concentrația substratului este constantă, viteza de reacție (V) inițială este direct proporțională cu concentrații crescânde ale enzimei, între anumite limite. Variația vitezei de reacție în funcție de concentrația enzimei se exprimă grafic printr-o hiperbolă (fig. 6.4.)

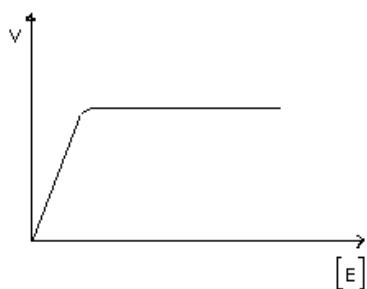


Fig. 6.4. Influența concentrației enzimei asupra vitezei de reacție.

Influența temperaturii. Enzimele au o mare sensibilitate față de variațiile de temperatură. Experimental s-a constatat că enzimele încălzite peste 80°C își pierd ireversibil proprietatea de catalizator biologic. Temperaturile joase nu numai că nu le distrug, dar chiar le conservă. La o astfel de temperatură se realizează numai o oprire reversibilă a activității. O dovadă în acest sens este rezistența la ger a unor semințe încolțite. Fiecare enzimă are o temperatură optimă la care activitatea sa este maximă. Până se atinge această temperatură, pentru fiecare 10°C , activitatea enzimei crește de 1,5 - 3 ori. În general, activitatea optimă a enzimelor se manifestă în domeniul de temperatură de $+35^{\circ}$ și $+40^{\circ}\text{C}$.

Influența pH-ului. Concentrația ionilor de hidrogen influențează viteza reacțiilor enzimatică datorită faptului că modifică sarcina electrică a moleculelor enzimei, a moleculelor substratului și ale complexului ES. Fiecare enzimă are un pH optim la care activitatea sa este maximă: amilaza (6,2), catalaza (7,2), pepsina

(1,8), zaharaza (5,7). La majoritatea enzimelor vegetale valoarea pH-ului optim este în jur de 7.

Influența efectorilor. Efectorii pot fi activatori și inhibitori. Activatorii sunt substanțe care în cantități mici măresc viteza reacțiilor enzimatiche cum sunt:

- unii ioni, în special cationi Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} etc;
- unele vitamine și hormoni.

Spre deosebire de activatori, inhibitorii sunt substanțe care încetinesc sau chiar împiedică o reacție enzimatică. Aceștia pot fi:

- substanțe care formează combinații complexe cu metalele din structura enzimei sau cu metalele care activează enzima. Astfel, monoxidul de carbon și cianurile blochează fierul din enzimele heminice;

- diferite substanțe care au structură asemănătoare cu substratul sau cu enzima (antivitaminele, antibioticele);

- unele substanțe care pot bloca funcțiunile chimice ale enzimelor, de a căror prezență depinde activitatea lor. Astfel: Cu^{2+} și Mg^{2+} blochează funcțiunea tiol (-SH).

6.5. Nomenclatura și clasificarea enzimelor

Criteriul după care s-a stabilit inițial denumirea enzimelor a fost adăugarea sufixului "ază" la rădăcina numelui substratului asupra căruia acționează enzima sau la rădăcina cuvântului care arată reacția pe care o catalizează.

Astfel, enzima care acționează asupra lipidelor -lipază etc. S-au acceptat și denumiri uzuale, de exemplu pepsină, tripsină, emulsină etc.

Actuala clasificare și nomenclatură a enzimelor se bazează pe principiile și regulile stabilite de către Comisia de Enzime a Uniunii Internaționale de Biochimie. Această comisie a prezentat un sistem numerotat codificat, criteriul esențial de clasificare constituindu-l tipul de reacție chimică catalizată de enzimă. Conform acestuia, fiecare enzimă este codificată printr-un număr format din 4 cifre despărțite prin puncte. Toate enzimele cunoscute s-au încadrat în 6 clase (grupe). Cele patru cifre prin care se identifică o enzimă vor reprezenta în ordine: clasa, subclasa, subsubclasa și poziția pe care o deține enzima în subsubclasă. Astfel, de exemplu, lactat dehidrogenaza aparține la clasa 1; subclasa 1; subsubclasa 1; poziția 27, deci se codifică 1.1.1.27.

Clasele de enzime sunt:

1. Oxidoreductaze
2. Transferaze
3. Hidrolaze
4. Liaze
5. Izomeraze
6. Ligaze (sintetaze)

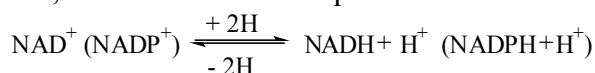
6.6. Prezentarea principalelor clase de enzime

1. **Oxidoreductaze.** Sunt enzimele care catalizează reacțiile de oxidoreducere, reacții de transfer de hidrogen (transhidrogenaze) sau electroni (transelectronaze), de la donor la acceptor sau combinarea substratului direct cu oxigenul molecular.

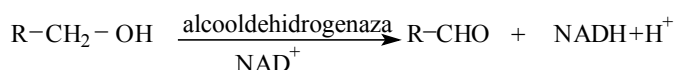
Oxidoreductazele se împart în subclase în funcție de natura donorului, în subsubclase în funcție de natura acceptorului. Astfel, enzimele din această clasă pot fi: dehidrogenaze, electronaze și oxidaze.

Dehidrogenazele sunt enzimele care catalizează transportul hidrogenului de la un substrat la un acceptor. În funcție de natura acceptorului, dehidrogenazele pot fi anaerobe și aerobe.

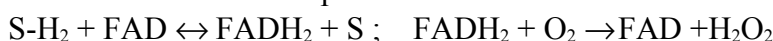
Dehidrogenazele anaerobe transportă hidrogenul de la un substrat la un acceptor oarecare; aceste enzime au drept coenzime NAD^+ sau NADP^+ .



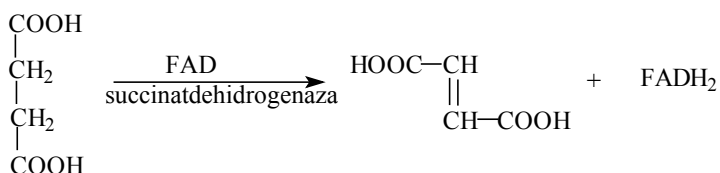
Alcoolii, sub influența alcooldehidrogenazei sunt oxidați la aldehide.



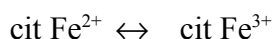
Dehidrogenazele aerobe transportă hidrogenul de pe un substrat pe oxigenul atmosferic. Acestea au drept coenzimă FAD-ul.



Aceste enzime participă la o serie de reacții metabolice (ex. acid succinic → acid fumaric):



Transelectronazele sunt enzimele oxidoreducătoare care transferă electroni de la substanțele donoare pe un acceptor. În funcție de natura acceptorului, transelectronazele pot fi: anaerobe, caz în care nu este oxigenul acceptor și aerobe când acceptorul este oxigenul. Transelectronazele se numesc citocromi. Aceste enzime sunt metaloproteine cu fier; transportul electronilor se face prin intermediul cationilor metalici care pot ușor să treacă din forma redusă în forma oxidată.



Citocromii se află localizați în mitocondrii, proporția lor în celule este în funcție de capacitatea respiratorie a celulei.

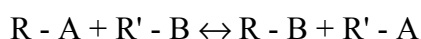
Oxidaze. Sunt enzime care catalizează reacțiile dintre anumite substraturi și oxigenul molecular sau a peroxizilor, fiind caracterizate prin transfer de hidrogen sau electroni de pe un donator pe un acceptor care este oxigenul molecular.

Oxigenazele sunt oxidoreductaze care catalizează reacții de introducere a oxigenului în cursul scindării oxidative a unor legături, de exemplu:

- lipoxidazele catalizează formarea peroxizilor prin adiția oxigenului molecular la dublele legături ale acizilor grași nesaturați.

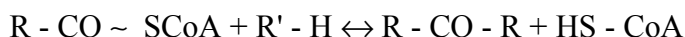
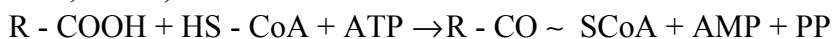
Hidroperoxidaze. Sunt oxidoreductaze care au drept substrat peroxidul de hidrogen (H_2O_2) care se formează în celule în urma proceselor metabolice și este toxic dacă se acumulează. Descompunerea lui este făcută de către peroxidaze și catalaze (vezi 3.5.1.1.)

2. Transferaze. Acestea sunt enzime care catalizează transferul unor grupări din molecula unui substrat, donându-l moleculei altui substrat, acceptorul având reacția generală:

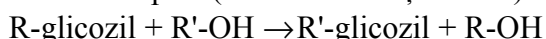


Grupările transferate sunt de natură chimică diferită ca: grupări cu un singur atom de carbon (metil, hidroximetil), grupări aldehidă, cetonă, radicali acil, glicozil, grupări cu azot, cu fosfor etc.

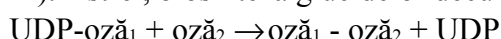
Aciltransferazele sunt enzime care catalizează transferul radicalului acil (R-CO-), având drept coenzimă Hs-CoA (coenzima A), denumită coenzimă acilantă. Gruparea activă la care se leagă radicalul acil și care intervine în reacția de transfer este gruparea tiol (-SH). Radicalul acil poate fi transferat pe diferiți acceptori: oze, amine, aminoacizi.



Glicoziltransferazele sunt enzimele care catalizează transferul de resturi glucidice de la donor la un acceptor (oze sau derivați de oze):

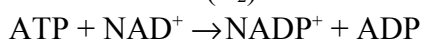
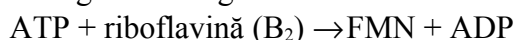


Ca transportor specific al radicalului glicozil funcționează unele nucleotide difosfați (ADP sau UDP). Astfel, biosinteza glucidelor decurge astfel:

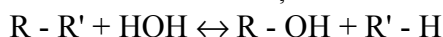


diglucid

Fosfotransferaze. În această grupă se găsesc enzimele care catalizează transferul grupărilor fosfat sau pirofosfat de la un donor la un acceptor. Donori ai acestor grupări sunt nucleotidele polifosforice cum sunt ATP-ul. Drept acceptori care se pot fosforila sunt ozele, aminoacizii, unele vitamine, coenzime etc.

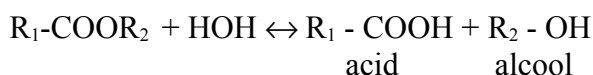


3. Hidrolaze. Sunt enzimele care catalizează reacțiile de scindare a moleculelor unui substrat care se găsește în soluție apoasă, iar moleculele de apă se fixează la produsele scindate conform reacției



Principalele legături chimice care pot fi scindate prin hidroliză enzimatică sunt: legătura esterică, glicozidică, peptidică.

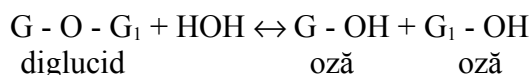
Esteraze. Ele reprezintă subclasa care încadrează enzimele ce catalizează hidroliza esterilor.



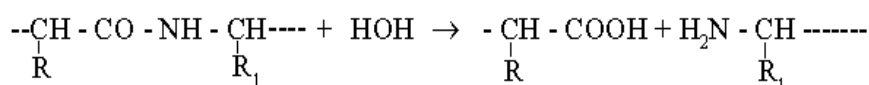
Fosfoesterazele catalizează scindarea hidrolitică a esterilor acidului fosforic, cu formare de alcool și acid fosforic.



Glicozidazele sunt hidrolazele care catalizează scindarea hidrolitică a legăturii glicozidice din ozide.



Peptidhidrolaze. În această subclasă se încadrează hidrolazele care catalizează scindarea legăturii peptidice conform reacției:

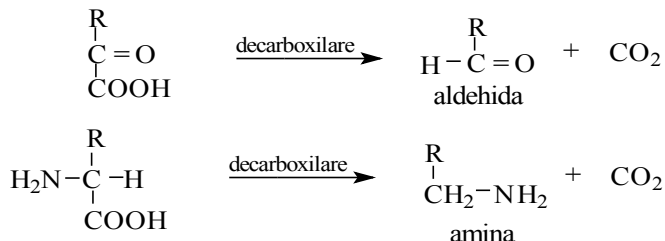


4. Liaze. Liazele sunt enzimele care catalizează scindarea unui substrat la nivelul legăturilor C - C; C - O; C - S; C - N (cu excepția legăturii peptidice), prin

reacții care nu sunt de hidroliză, care determină formarea dublelor legături sau reacții de adiție la dubla legătură.

C - C liazele sunt enzimele care acționează asupra legăturilor C - C și au ca reprezentanți decarboxilazele și aldehydliazele.

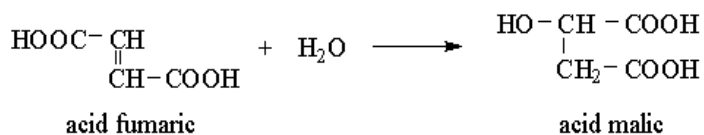
Decarboxilazele catalizează reacțiile de decarboxilare având ca substrat α -cetoacizi, aminoacizi etc.



Aldehydliazele catalizează scindarea legăturii C - C formând produși cu grupări carboxil. Astfel scindarea fructozei-1,6-difosfat este catalizată de fructoza-1,6-difosfatliaza (aldolaza) și este scindată în 2 molecule de triozofosfați.



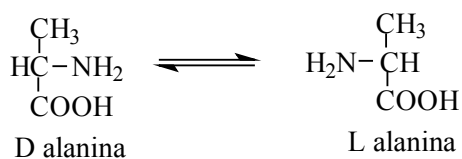
Fumarathidrolaza catalizează reacția de adiție a apei la dubla legătură din acidul fumaric cu formare de acid malic.



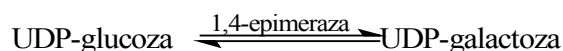
5. Izomeraze. Sunt enzimele care catalizează izomerizarea diferitelor substraturi: $A \leftrightarrow B$.

După tipul de izomerizare, aceste enzime formează mai multe subclase: racemaze, epimeraze cis-trans, transferaze intramoleculare (mutaze).

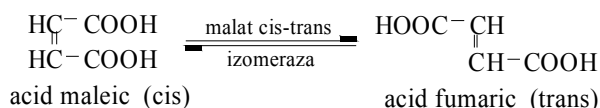
Racemazele sunt enzimele care acționează asupra aminoacizilor și derivaților lor catalizând trecerea formelor D în L.



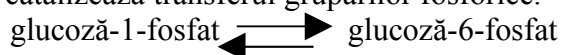
Epimerazele sunt enzimele care acționează asupra glucidelor și catalizează reacția de epimerizare.



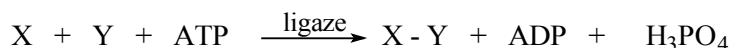
Cis-trans izomerazele sunt enzimele care catalizează trecerea formei cis a unui substrat în forma trans.



Transferazele intramoleculare (mutaze) sunt enzimele ce transferă intramolecular grupări acil, fosforil de la un atom la altul. Exemplu sunt fosfomutazele care catalizează transferul grupărilor fosforice.



6. Ligazele (sintetaze). Sunt enzime care catalizează reacții de sinteză endoergice, energia utilizată provenind prin desfacerea de legături macroergice din molecula de ATP sau a altor compuși cu legătură macroergică.



Ele se împart în mai multe subclase în funcție de natura legăturilor pe care le formează. Prezintă importanță legătura peptidică la sinteza proteinelor și legătura ester la sinteza lipidelor.

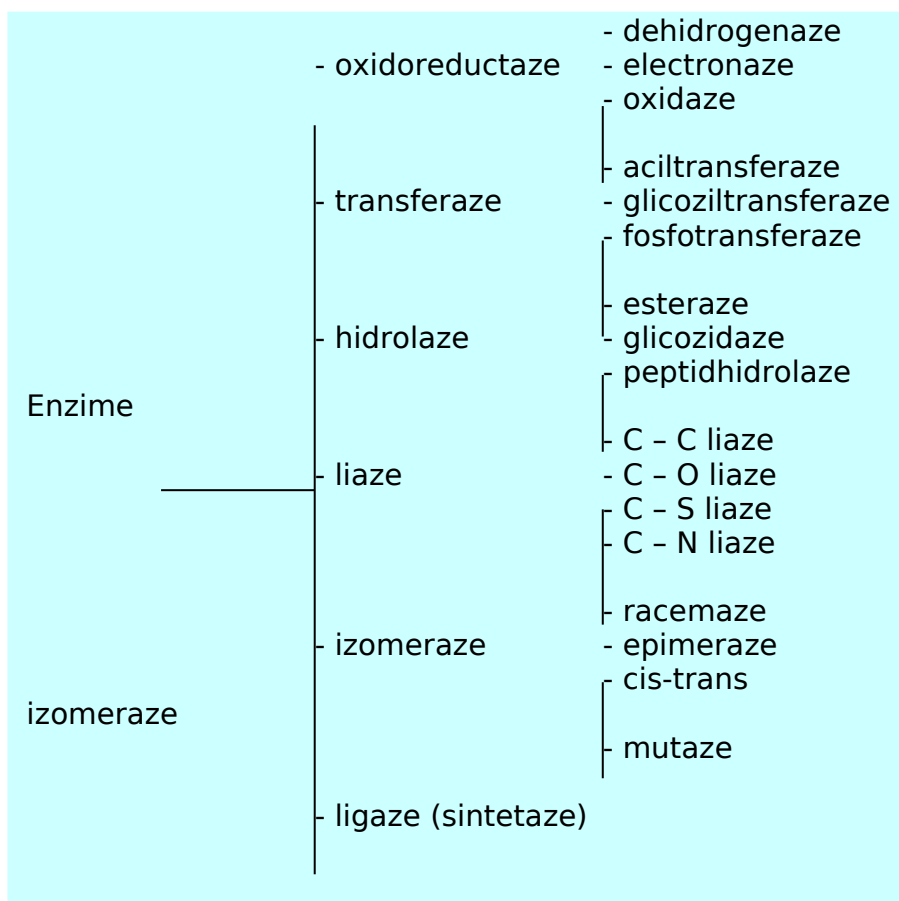
Test de autoevaluare

1. Natura chimică a enzimelor este:

- a) glucidică;
- b) lipidică;
- c) proteică;
- d) polinucleotidică.

Răspuns corect: 1 – c.

REZUMAT CAPITOL 6



Teme de verificare pentru modulul 2

1. Acizi nucleici

1. Care sunt produșii de hidroliză ai mononucleotidelor? Comentați structura compusului care determină clasificarea acizilor nucleici în ARN și ADN.

2. Se dau următoarele baze azotate simbolizate prin literele: A, T, G, U, C. Să se indice:

- denumirea acestor baze azotate;
- structura bazelor purinice;
- care din bazele azotate intră în structura ADN;
- perechile de baze complementare.

3. Comentați rolul și structura nucleotidelor polifosforice.

4. Se dă următoarea secvență de nucleotide dintr-un lanț al ADN, conținând bazele azotate simbolizate prin literele: G - T - C. Să se indice structura chimică a secvenței de nucleotide corespunzătoare din lanțul pereche de ADN.

5. Un fragment dintr-o catenă de ADN bicatenar are următoarea secvență în bazele azotate (nucleotide): A - T - G - C - T - A. Să se stabilească structura chimică a secvenței corespunzătoare în baze azotate (nucleotide) a fragmentului de ARN_m sintetizat.

2. Vitamine și enzime

1. Să se menționeze vitaminele și denumirea coenzimelor respective care participă la transferul enzimatic de hidrogen, cu precizarea grupărilor chimice implicate în reacția de transfer.

2. Ca vitamină, acidul pantotenic participă în structura unei coenzime implicată în transferul de radicali acil. Să se indice denumirea acestei coenzime și reacția de transfer a radicalului acil.

3. Să se precizeze care din vitaminele liposolubile și hidrosolubile participă la reacțiile de oxidoreducere. În acest sens să se facă un tabel:

Denumirea vitaminelor	Reacția de oxidoreducere

4. Se dau următoarele coenzime: NAD⁺, NADP⁺, FAD, FMN, HS-CoA, TPP. Să se indice denumirile acestor coenzime și să se precizeze care din ele participă în reacțiile de transfer a hidrogenului.

5. Se dau următoarele reacții enzimatiche:

- $R - CO - R' + HOH \leftrightarrow R - COOH + R' - OH$
- Fructoza-6-fosfat + ATP → Fructoza 1-6 difosfat + ADP
- UDP-glucoză ↔ UDP-galactoză
- $2\text{cit}_b\text{Fe}^{2+} \leftrightarrow 2\text{cit}_c\text{Fe}^{3+}$
- glucoză-1 fosfat ↔ glucoză-6 fosfat
- acid succinic + FAD ↔ acid fumaric + FADH₂

Să se indice din ce clasă de enzime fac parte enzimele care catalizează fiecare din reacțiile menționate.

MODUL III

7. METABOLISM

7.1. *Considerații generale*

Metabolismul reprezintă ansamblul transformărilor fizice, chimice, biochimice, fiziologice și energetice care se petrec datorită existenței și dezvoltării organismelor în interacțiunea acestora cu mediul înconjurător. Metabolismul este o caracteristică a organismului viu care este din punct de vedere termodinamic un "sistem deschis", el realizează un schimb permanent de substanțe și energie cu mediul înconjurător, aceasta fiind condiția necesară existenței acestuia.

Prin metabolismul intermediar, se înțelege totalitatea transformărilor de substanțe și energie care au loc în interiorul organismului la nivelul diferitelor țesuturi sau organe.

Metabolismul cuprinde două grupe mari de procese care sunt contradictorii.

1. Transformările anabolice sau **anabolism**, în urma cărora, din substanțe mai simple ca structură rezultă substanțe cu structuri mai complexe. Sunt căi de biosinteză în organism.

2. Transformări catabolice sau **catabolism**, în urma cărora substanțele cu structuri complexe sunt degradate la substanțe mai simple.

7.2. *Procese generale în anabolism*

7.2.1. *Compuși cu legătură macroergică*

Procesele de biosinteză necesită absorbție de energie, sunt procese endoergice. Organismele își procură energia după modul lor de viață și anume:

- organismele cu mod de viață autotrof, cum sunt plantele capabile de fotosinteză, își procură energia prin fotosinteză, când înmagazinează energia solară sub formă de legături chimice în compuși organici și în compuși cu legături macroergice;

- organismele chimiotrofe (bacteriile) își sintetizează glucidele ca și cele fotosintetizante din CO₂ și H₂O, însă folosesc energia necesară sintezei din reacțiile de oxidare a substanțelor anorganice.

- organismele cu mod de viață heterotrof (animalele, plantele inferioare și unele plante superioare fără clorofilă) își procură în cea mai mare parte energia din procesele catabolice care sunt reacții energetice.

Legăturile macroergice, notate cu o linie ondulată (~) sunt bogate în energie: astfel ele conțin peste 7000 cal/mol, față de o legătură chimică obișnuită care are cca 3000 cal/mol.

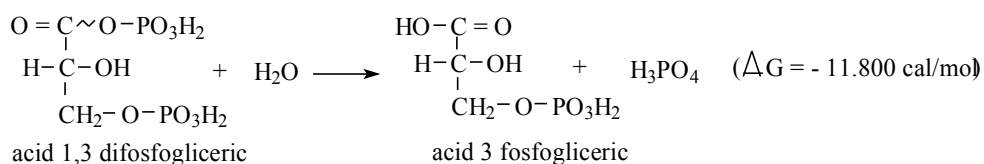
Reprezentanți mai importanți ai compușilor macroergici:

- nucleotidele polifosforice (ATP,CTP,UTP,TTP) cel mai important fiind ATP-ul.

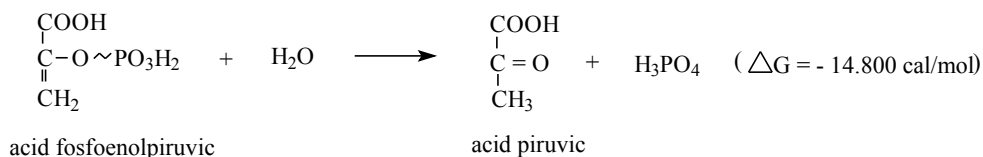
Energia chimică eliberată în reacțiile biochimice de degradare (catabolism) este conservată sub formă de ATP (adenozintrifosfat) și utilizată ulterior, în reacțiile biochimice de sinteză (anabolism).



- acilfosfații, cel mai important fiind acidul 1,3 difosfoglicerice. Acesta se formează în cursul degradării glucozei pe cale anoxibiotică - prin hidroliză eliberează 11800 cal/mol.



- enolfosfații - acidul fosfoenol piruvic este un compus macroergic care se formează de asemenea în procesul de degradare al glucozei. Energia rezultată prin hidroliză este de 14800 cal/mol.



- tioesterii formați pe baza coenzimei A (HS-CoA) în care gruparea reactivă este gruparea tiol (-SH), dețin un rol important în metabolism.



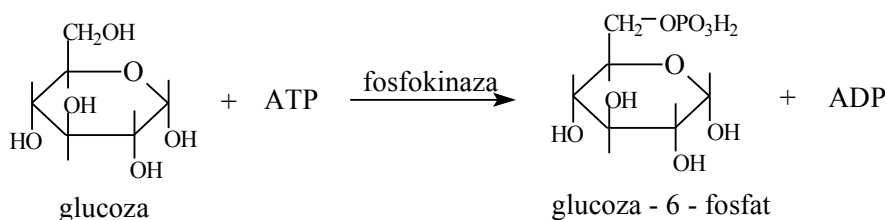
7.2.2. Aspecte generale ale formării legăturilor macroergice în cazul proceselor de biosinteză

În cazul proceselor anabolice, energia înmagazinată în legăturile macroergice poate fi folosită chiar în locul unde se găsește sau trebuie transferată acolo unde se desfășoară procesul respectiv.

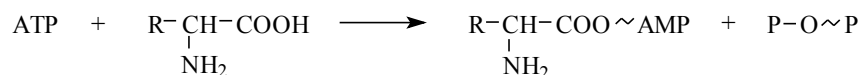
Energia din aceste legături poate fi folosită prin două mecanisme:

1. Formarea unui compus intermediar între compusul macroergic și substratul care va participa la reacție. În felul acesta substratul se activează, el fiind acceptorul de energie de la compusul macroergic care este donatorul. Odată cu energia se transferă din compusul macroergic și unele componente.

Activarea funcțiilor hidroxil se face prin transfer de resturi fosforice. Acest tip de activare îl întâlnim la oze.

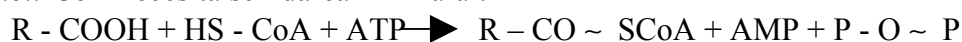


Activarea substratului prin transferul unui rest de mononucleotid. Aceasta este o activare mai puternică și o întâlnim la oze, derivații lor și aminoacizi.



2. Activarea prin hidroliza compușilor macroergici: acest tip de activare este întâlnită în multe reacții biochimice. Biosinteza amidelor, a proteidelor au loc cu scindarea mononucleotidelor polifosforice.

Activarea funcțiunii carboxil din acizii organici sau aminoacizi sub formă de acil-CoA necesită scindarea ATP-ului.



7.3. Procese generale în catabolism

7.3.1. Considerații generale

Prin oxidare, în organism au loc transformări de degradare, unii compuși rezultați intermediar pot fi folosiți în reacții de biosinteză sau se pot acumula. Prin oxidare, se eliberează și o cantitate mare de energie utilizată ulterior de organism, pentru necesitățile lui. Aceste reacții de degradare oxidativă în organism se fac într-un timp îndelungat, fără degajări mari de energie și fără efecte termice vizibile.

Moleculele organice complexe sunt scindate mai întâi în fragmente care conțin doi atomi de carbon, cunoscute sub numele de "acetat activ".

Degradarea ulterioară a acestora se realizează printr-o serie de reacții consecutive, eliberându-se de fiecare dată o moleculă de CO₂ sau 2 atomi de hidrogen. Carbonul nu se combină direct cu oxigenul, acesta provine din apă. Produsul final, dioxidul de carbon, ia naștere fără modificări energetice importante, în urma unor reacții de decarboxilare a acizilor organici.

Hidrogenul din substrat nu se combină direct cu oxigenul, el trece la acesta prin intermediul transportorilor de hidrogen, produsul final fiind apă.

Formarea apei este fenomenul principal de formare a energiei din care o mare parte este depozitată în legăturile chimice din ATP.

Oxidarea biologică are loc în toate celulele, ea se petrece la nivelul mitocondriilor, care conțin totalitatea transportorilor din lanțul respirator. Această oxidare se referă deci la oxidarea hidrogenului și carbonului, constituenți ai substanțelor hidrocarbonate.

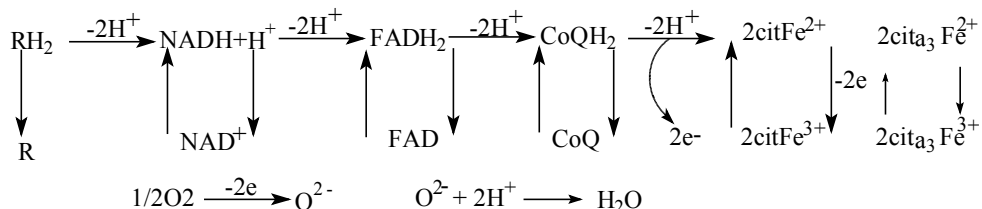
Aceasta se poate realiza uneori și fără intervenția oxigenului atmosferic. În acest caz, fenomenul de degradare se numește fermentație. În ambele cazuri se elimină tot CO₂. Cele două moduri de viață ale celulei vii, respirația și fermentația nu diferă decât prin originea oxigenului, în fermentație el fiind luat din moleculele organice supuse degradării.

7.3.2. Oxidarea hidrogenului sau lanțul respirator

Este un proces complex, hidrogenul substratului ajunge indirect să se combine cu oxigenul prin intermediul transportorilor de hidrogen care sunt: NAD⁺, FAD, coenzima Q, citocromii b, c, c₁, a și a₃. Coenzimele care participă în procesul de oxidoreducere pot fi în formă redusă sau oxidată. Unele pot să preia

atomii de hidrogen de la substrat, altele preiau numai electronii. Succesiunea lor în lanțul respirator este determinată de potențialul redox al grupărilor prostetice. Coenzima inițială depinde de potențialul redox al substratului, iar cea finală trebuie să fie capabilă să transfere electronii oxigenului și să-l transforme în O^{2-} : acesta este citocromul a_3 care este ușor autooxidabil.

Schematizat, un lanț respirator poate fi prezentat astfel:



Lungimea lanțului respirator, dat de numărul și natura coenzimelor participante la transportul hidrogenului și electronilor este dat de potențialul redox al substratului.

Oxidarea fosforilantă este procesul prin care energia eliberată odată cu transportul hidrogenului este utilizată pentru fosforilarea ADP la ATP. Legătura macroergică se poate forma numai în unele etape ale lanțului de oxidare și anume în acele etape în care energia eliberată este mai mare decât energia de formare a legăturii macroergice. În schema lanțului respirator se formează 3 moli de ATP în etapele: NADH_2/FAD ; $\text{CoQH}_2/\text{cit } c_1\text{Fe}^{3+}$ și $\text{cit } a_3\text{Fe}^{2+}/\text{oxigen}$.

Ca o regulă generală, la toate lanțurile de oxidare, când încep cu coenzimele NAD^+ sau NADP se vor forma 3 legături macroergice, iar cele care încep cu FAD vor forma doar două legături macroergice.

7.3.3. Oxidarea carbonului (ciclul Krebs)

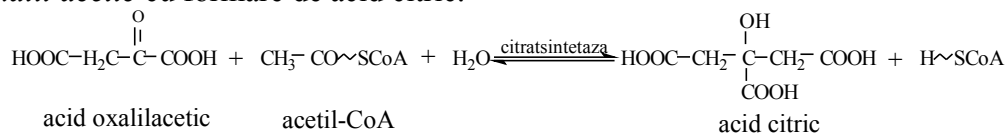
Carbonul este cel de-al doilea element din catenele hidrocarbonate care suferă oxidare la nivelul celulei.

Din substanțele complexe (glucide, lipide, proteine) pe căile catabolice specifice, catenele hidrocarbonate sunt scindate în fragmente de câte doi atomi de carbon formând un radical acetil care este activat cu HSCoA ($\text{CH}_3 - \text{CO} \sim \text{SCoA}$). Acidul acetic activat este substanța de plecare în catabolismul final, indiferent de proveniența sa. Această oxidare mai este cunoscută și sub numele de ciclul lui Krebs sau ciclul acizilor tricarboxilici (ATC). În acest ciclu atomul de carbon este îmbogățit în oxigen până ce se formează carboxilul ($-\text{COOH}$), care apoi prin decarboxilare elimină CO_2 . Acest ciclu reprezintă cea mai mare parte a respirației celulare. Principala caracteristică a ciclului ATC este aceea că necesită un compus esențial, care intră în ciclu și se regăsește la sfârșit, inițiind un nou ciclu.

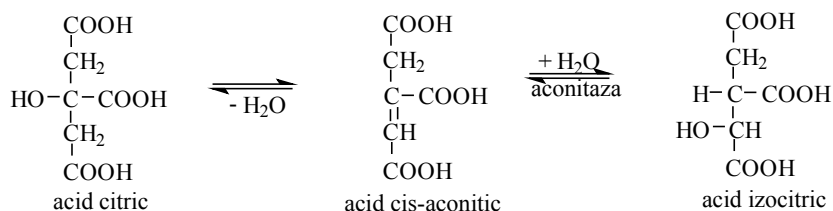
Acest compus este acidul oxalil-acetic. El fixează o moleculă de acid acetic activat și dă naștere la un acid cu șase atomi de carbon, care printr-o succesiune de reacții de oxidare pierde doi atomi de carbon sub formă de CO_2 și regenerează o moleculă de acid oxalilacetic.

Etapele ciclului Krebs care sunt prezentate au atât importanță metabolică cât și energetică.

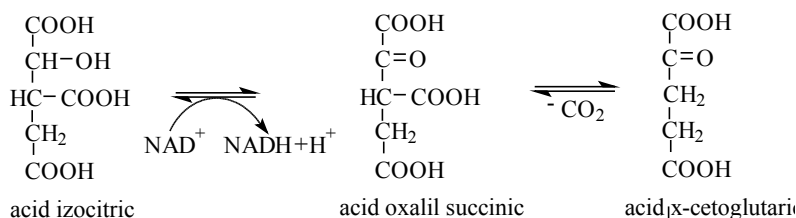
Prima reacție este cea de *condensare între acidul acetic activat și acidul oxalil acetic* cu formare de acid citric.



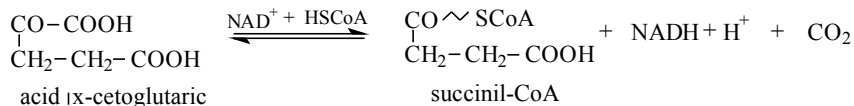
Izomeria acidului citric. Acidul citric pierde o moleculă de apă și trece în acid cis-aconitic care sub acțiunea unei enzime numită aconitază fixează o moleculă de apă și trece în acid izocitric.



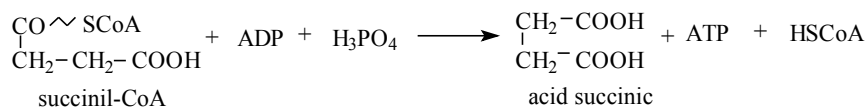
Oxidarea acidului izocitric are loc în prezența izocitrat dehidrogenazei cu NAD^+ din mitocondrii cu transformarea grupei OH secundare în grupare cetonică cu formarea acidului oxalil succinic, care este decarboxilat la acidul α cetoglutamic.



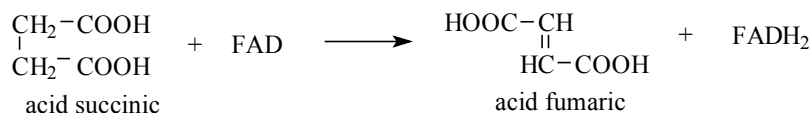
Decarboxilarea oxidativă a acidului α cetoglutamic este realizată de un sistem enzimatic complex cu formare de succinil-CoA



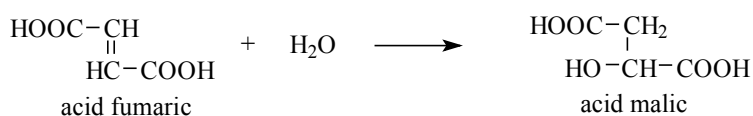
Formarea acidului succinic. Succinil-CoA conține o legătură macroergică care este în general utilizată pentru formarea de ATP din ADP și fosfat anorganic.



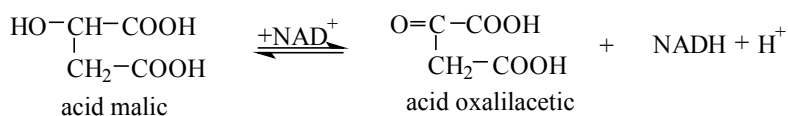
Oxidarea acidului succinic are loc în prezența succinat dehidrogenazei care are drept coenzimă FAD-ul cu formare de acid fumaric.



Hidratarea acidului fumaric are loc la dubla legătură în prezența fumarazei cu formarea acidului malic.



Oxidarea acidului malic are loc în prezența malat-dehidrogenazei cu NAD^+ , la acid oxalilacetic.



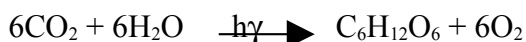
Bilanțul energetic al ciclului ATC. Acest ciclu constituie o sursă principală de energie pentru organism. Organismul utilizează această energie în parte pentru menținerea temperaturii corpului și în altă parte ca energie chimică cu formare de ATP câștigată prin fosforilare oxidativă.

Un mol de $\text{NADH} + \text{H}^+$ este echivalent cu 3 moli de ATP, iar un mol de FADH_2 este echivalent cu 2 moli de ATP (corespunde la o cantitate totală de 12 moli ATP).

7.4. Metabolismul intermediar al glucidelor

7.4.1. Anabolismul intermediar al ozelor - Fotosinteza

Prin fotosinteză se înțelege procesul de formare al substanțelor organice din substanțe anorganice, în plantele verzi, cu ajutorul energiei luminoase. Este un proces biochimic de importanță principală pentru biosinteza catenelor hidrocarbonate și acumulării de energie. Substanțele care apar în urma acestui proces sunt glucidele; cu toate că acest proces este complex, el poate fi redat astfel:



Din punct de vedere chimic fotosinteza este un proces de oxido-reducere, astfel apa este oxidată iar CO_2 este redus. Fotosinteza poate fi considerată ca sumă a trei grupe de reacții care se petrec în cloroplaste și în zona citoplasmei care le înconjoară. Aceștia conțin pigmenții care absorb energia luminoasă (clorofila a, b, pigmenții carotenoizi, xantofile).

1. Fotoliza apei este procesul care folosește energia luminoasă pentru descompunerea apei în oxigen și hidrogen. Procesul se produce cu un consum mare de energie - 56 kcal/mol. Este considerată reacția primară a fotosintezei și demonstrează că oxigenul eliberat în atmosferă provine din apă.

2. Fotofosforilarea. Problema principală care se cere a fi cunoscută în fotosinteză este mecanismul prin care energia luminoasă se transformă în energie chimică.

Arnon și colaboratorii (1954) au constatat că în timpul fotosintezei se formează în cloroplaste o cantitate mare de ATP și $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Deci o parte din energia luminoasă se înmagazinează sub formă de energie chimică în compușii cu legătură macroergică conform reacțiilor:



Hidrogenul rezultat la fotoliza apei se combină cu NADP^+



deoarece formarea lui este cuplată cu fotoliza apei, ecuația totală este:

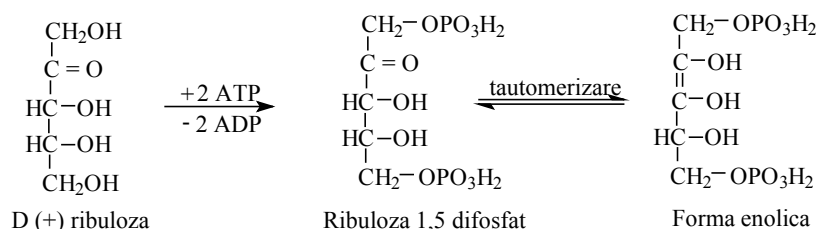


PPNR este enzima care catalizează reacția (piridin-nucleotid reductaza fotosintetică). NADPH + H⁺ format va fi folosit în etapa a treia-reducerea CO₂.

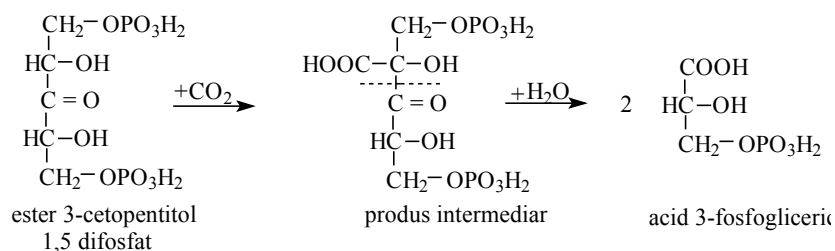
Succeșiunea reacțiilor în faza luminoasă a fotosintezei:

- fotoactivarea pigmentilor din cloroplaste;
- fotoliza apei în care rezultă energia ce este utilizată la formarea coenzimelor de bază a acestui proces prin fotofosforilarea fotosintetică a ADP-ului și reducerea transhidrogenazei anaerobe NADP⁺.

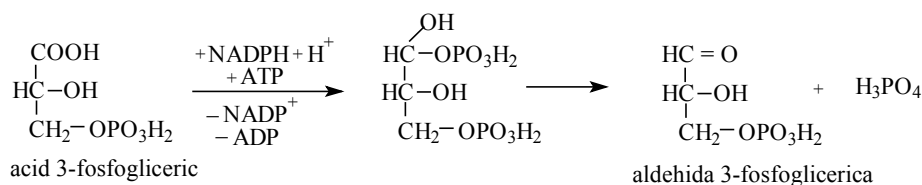
3. Fixarea dioxidului de carbon (reducerea CO₂). Acest proces nu mai necesită intervenția luminii, el poate avea loc și la întuneric. Acceptorul de CO₂ este ribuloza care mai întâi este fosforilată și transformată în celulă în ribuloză 1,5 difosfat sub acțiunea unei transfosfataze.



Forma enolică izomerizează din nou în forma ceto. Pe acest compus, sub acțiunea enzimei carboxilaza care se află în cloroplaste și este caracteristică asimilației clorofilene, se fixează dioxidul de carbon formând un compus intermediar instabil care prin hidroliză se transformă în două molecule de acid-3-fosfoglicerice (APG).



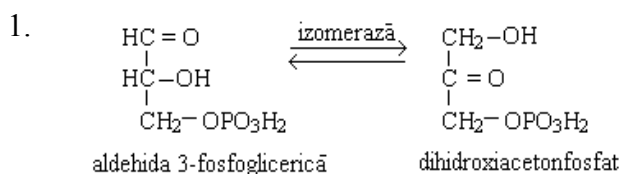
Transformarea acidului-3-fosfoglicerice în aldehydă 3-fosfoglicerice este un proces de reducere de importanță vitală, proces specific plantelor verzi, de care depinde întreg metabolismul substanțelor atât în regnul vegetal cât și pentru cel animal. Reducerea acidului la aldehydă necesită o cantitate mare de energie, care este acumulată în coenzimele formate în faza luminoasă a fotosintezei.



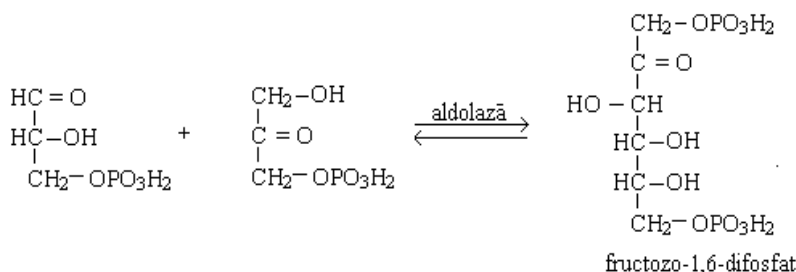
De la aldehida 3 fosfoglicerică pornește întregul proces de biosinteză a glucidelor.

7.4.2. Formarea hexozelor

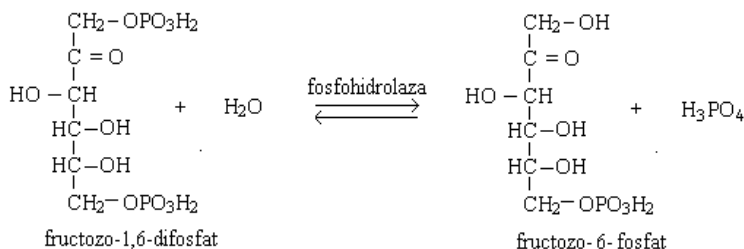
Reacțiile de formare ale hexozelor plecând de la trioze au fost studiate de Calvin cu ajutorul atomilor marcați ^{14}C . Aceste reacții se desfășoară în sens invers glicolizei.



2. Aldehida 3-fosfoglicerică se condensează cu dihidroxiacetonfosfatul și formează fructozo-1,6-difosfat; această reacție este catalizată de o aldolază.

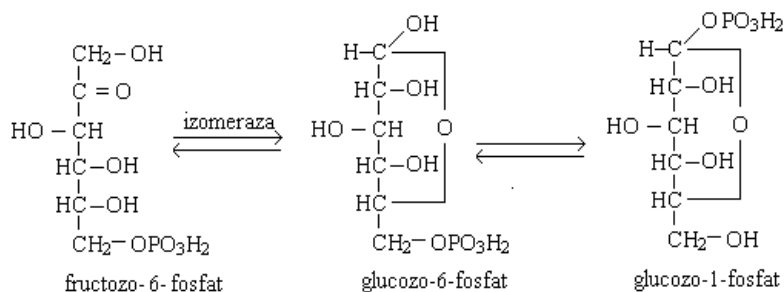


3. Fructozo-1,6 difosfat în reacție cu apa scindează o moleculă de acid fosforic, rămânând fructozo-6-fosfat.



4. Fructozo-6-fosfatul va suferi o izomerizare, trecând în glucozo-6-fosfat; acest compus, în urma unei izomerizări intramoleculare, prin transferul restului de acid fosforic de la C_6 la C_1 , va trece în glucozo-1-fosfat. Transferul este catalizat de o enzimă numită transferază. Glucozo-1-fosfatul este produsul de plecare în biosinteza diglucidelor și a poliglucidelor.

Glucozo-6-fosfatul reprezintă componenta intermediară în catabolizarea monoglucidelor pe diferite căi: glicoliză, calea aerobă, calea pentozofosfaților, calea acizilor uronici.



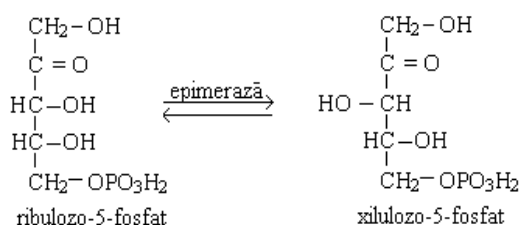
7.4.3. Transformarea reciprocă a ozelor (interconversia)

Organismele au posibilitatea de a transforma un glucid în altul. Astfel, hexozele pot trece din una în alta. Această interconversie se poate realiza prin mai multe mecanisme.

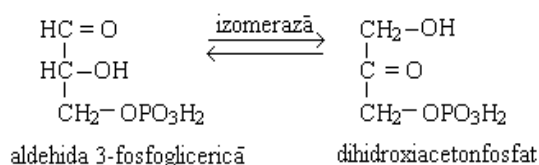
I. Epimerizarea și izomerizarea

Această cale se întâlnește la ozele care își păstrează același număr de atomi de carbon în decursul transformării.

Epimerizarea biochimică se realizează în organism prin inversarea configurației sterice la un atom de carbon.

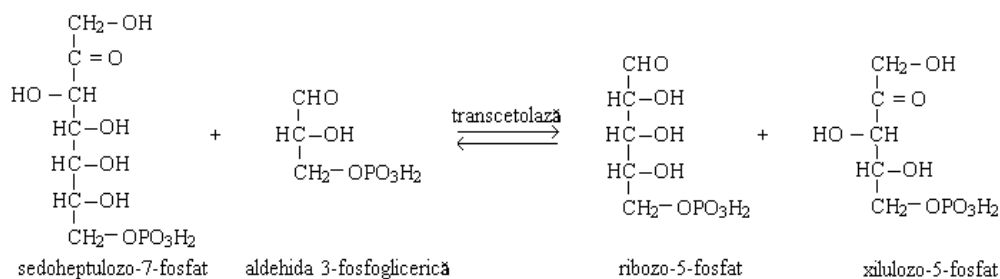


Izomerizarea biochimică realizează trecerea reversibilă aldooză ↔ cetoză.



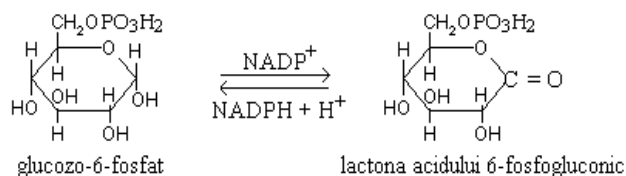
II. Transformarea printr-un mecanism de transfer a unor fragmente de doi sau trei atomi de carbon de la o oză la alta

În felul acesta de la hexoze se ajunge la trioze, tetroze, pentoze, heptoze. Ca donori de fragmente de doi sau trei atomi de carbon funcționează cetozele, iar aldoozele sunt acceptori.

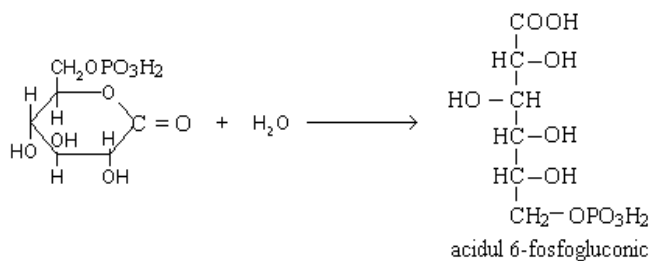


III. Scindarea oxidativă a unui atom de carbon sub formă de dioxid de carbon

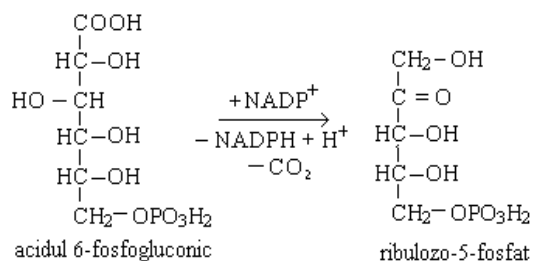
În urma scindării se ajunge la o oză cu un atom de carbon mai puțin; în acest fel se transformă hexozele în pentoze.



Aceasta suferă un proces de hidroliză și trece în acidul 6-fosfogluconic.



Acest acid suferă concomitent o reacție de decarboxilare și una de dehidrogenare, rezultând ribulozo-5-fosfat.



Regenerarea ribulozo-5-fosfatului care participă din nou în fixarea dioxidului de carbon ne arată că fotosinteza este un proces ciclic.

MODUL IV – LUCRĂRI DE LABORATOR

1. Acizii organici din plante. Forme de aciditate

Produsele vegetale conțin o serie de acizi organici ficși sau volatili; alături de aceștia se mai întâlnesc săruri cu caracter acid, ca de exemplu fosfații primari, unii aminoacizi liberi, mici cantități de acizi minerali.

Într-un extract, după condițiile de lucru, se pot determina 3 forme de aciditate: aciditate actuală sau reală, aciditate potențială și aciditate totală.

Aciditatea actuală sau reală se datorează ionilor de hidroniu liberi pe care îi conține soluția la un moment dat și se determină prin măsurarea pH-ului.

Aciditatea potențială a soluției este dată de ionii de hidrogen din moleculele de acid nedisociate și care pot fi puși în libertate prin deplasarea echilibrului în sensul disocierii (ionizării).

Aciditatea totală a soluției reprezintă suma ionilor de hidrogen liberi și a ionilor de hidrogen legați, care pot fi ionizați numai în măsura în care cei liberi se consumă. Aciditatea totală se determină prin titrare alcalimetrică, cuprinzând practic toți componenții cu reacție acidă care se neutralizează cu bazele.

În cazul produselor vegetale, interesează numai aciditatea totală, deoarece cunoașterea ei ne dă indicații asupra gradului de maturare și a calității lor pentru consum (cazul legumelor și fructelor).

Determinarea acidității titrabile la fructe și legume proaspete

Principiul metodei

Determinarea acidității totale se bazează pe reacția de neutralizare cu soluții alcaline până la punctul de echivalență. Fiind vorba de o aciditate datorată în primul rând acizilor organici care sunt acizi slabi, se vor folosi ca indicatori fenolftaleina sau albastrul de timol.

Pentru soluții sau extracte puternic colorate, și mai ales pentru cele tulburi, sunt recomandate metodele electrometrice.

Reactivi

1. soluție de hidroxid de sodiu, 0,1n;
2. fenolftaleină, soluție alcoolică 1%.

Modul de lucru

Într-un mojar se mojarază cât mai repede 20 g produs vegetal, se trece totul cantitativ într-un pahar de 200 ml, se adaugă 50 ml apă distilată și se fierbe timp de o oră, adăugându-se periodic apa pierdută prin evaporare.

Se transvazează totul într-un balon cotat de 100 ml, se aduce la semn și se filtrează într-un balon uscat, printr-o hârtie de filtru uscată.

Din filtrat se iau cu pipeta 25 ml, se diluează până la un volum de 50 ml cu apă distilată proaspăt fiartă și răcită, se adaugă câteva picături de fenolftaleină și se titrează cu hidroxid de sodiu 0,1n până la apariția colorației net roz.

Calculul rezultatelor

Exprimarea rezultatelor se face prin numărul de mililitri de hidroxid de sodiu 0,1n care au neutralizat acizii din 100 g material vegetal.

În cazul exprimării rezultatelor în grame acid predominant, volumul de soluție 0,1n folosit la titrare se multiplică cu următorii factori de echivalență:

- 0,0064 pentru exprimarea în acid citric;
- 0,0067 pentru exprimarea în acid malic;
- 0,0060 pentru exprimarea în acid acetic;
- 0,0075 pentru exprimarea în acid tartric;
- 0,0045 pentru exprimarea în acid oxalic;
- 0,0090 pentru exprimarea în acid lactic.

Pentru exprimarea procentuală a acidității se utilizează următoarea formulă:

$$A = \frac{n \cdot f \cdot t \cdot d}{a \cdot v} \cdot 100$$

în care:

A - aciditatea în procente;

n - numărul de mililitri de soluție de hidroxid de sodiu 0,1n consumați la titrare;

f - factorul soluției de hidroxid de sodiu 0,1n;

t - cantitatea de acid (g) echivalentă unui mililitru de soluție de hidroxid de sodiu 0,1n;

d - volumul total al extractului (volumul balonului cotat);

a - masa probei analizate (g);

v - volumul extractului luat pentru titrare (ml).

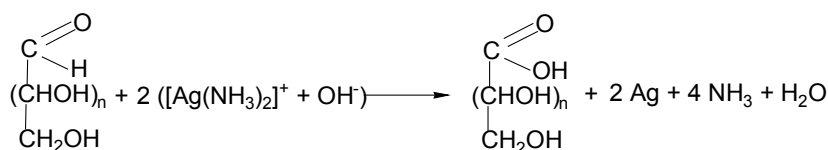
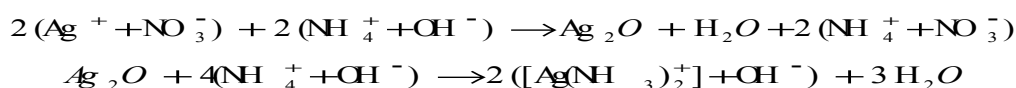
2. Oze (monoglucide, monozaharide, monoze)

Ozele sunt hidroxialdehide sau hidroxicetone. Ele pot fi considerate ca rezultând din polioli alifatici prin oxidarea grupelor funcționale hidroxil. Dintre ozele naturale, cele mai importante se consideră a fi pentozele și hexozele.

Reacția Tollens

Principiul reacției

În prezența ozelor reducătoare (aldoze), azotatul de argint, în mediu alcalin, la cald, este redus la argint metalic care se depune pe pereții eprubetei sub forma unei oglinzi. Reacțiile care au loc sunt:



Reactivi

1. glucoză, soluție 2%
2. azotat de argint, soluție apoasă 2%
3. amoniac, soluție diluată 2%
4. hidroxid de sodiu, soluție concentrată (40 - 50%).

Modul de lucru

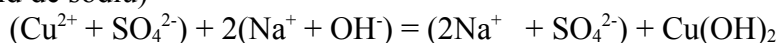
Într-o eprubetă se introduc 1-2 ml soluție azotat de argint 2%, se adaugă apoi amoniac, picătură cu picătură, până se dizolvă precipitatul format inițial, se mai adaugă o picătură de hidroxid de sodiu concentrat și apoi 2 ml soluție de glucoză. Se omogenizează conținutul și apoi se încălzește ușor la flacără. Se observă depunerea argintului pe pereții eprubetei.

Reacția Fehling

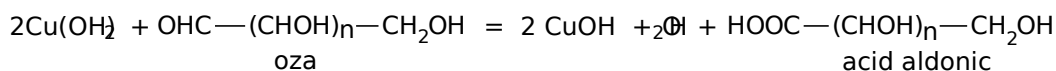
Principiul reacției

În mediu alcalin, ozele reduc hidroxidul cupric, cu formare de oxid cupros (Cu_2O) care se depune sub forma unui precipitat roșu-cărămiziu.

Mecanismul reacției este următorul: sulfatul de cupru din soluția Fehling I (soluție de CuSO_4) reacționează cu hidroxidul de sodiu din soluția Fehling II (amestec de soluții de sare Seignette - tartrat dublu de sodiu și potasiu - și hidroxid de sodiu)



Hidroxidul cupric, de culoare albastră, în prezența glucozei sau a altor oze care au gruparea glicozidică liberă, la cald, este redus la hidroxid cupros, de culoare galbenă.



Prin încălzire, hidroxidul cupros se deshidratează, transformându-se în oxid cupros.



Reactivi

1. glucoză, soluție 2%
2. soluție Fehling I (40 g CuSO_4 dizolvate în 1000 ml apă distilată)
3. soluție Fehling II (150 g NaOH + 200 g sare Seignette dizolvate în 1000 ml apă distilată)

Modul de lucru

Într-o eprubetă se introduc cu pipeta 1-2 ml din soluția de analizat (glucoză 2%) și apoi se adaugă 1 ml licoare Fehling (amestec proaspăt preparat din soluțiile Fehling I și Fehling II în proporție de 1 : 1). Conținutul eprubetelor se încălzește până la fierbere. Se observă depunerea unui precipitat roșu-cărămiziu.

Sarea Seignette are rolul de a menține ionii cuprici în soluție, sub formă de complex tartro-cupric.

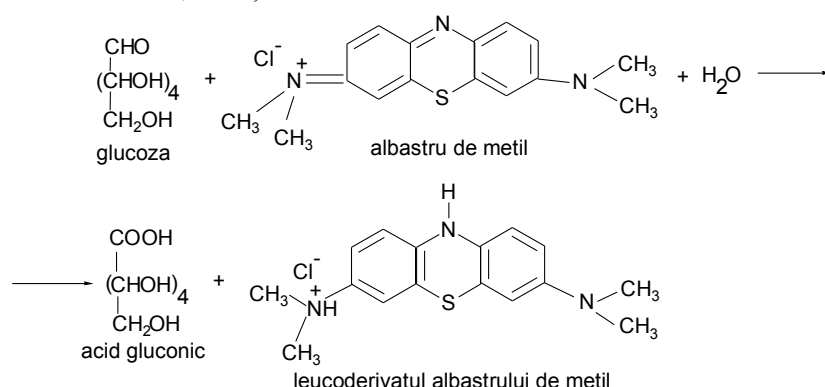
Reacția cu albastru de metil

Principiul reacției

Ozele reducătoare sunt oxidate cu formarea acidului aldonic respectiv, iar soluția de albastru de metil este redusă cu formarea leucoderivatului (derivat incolor).

Reactivi

1. glucoză, soluție 1%
2. carbonat de sodiu, soluție 2%
3. albastru de metil, soluție 1%.



Modul de lucru

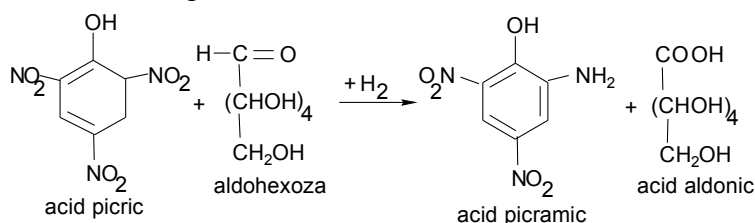
La 2 ml soluție de glucoză 1% se adaugă 3 picături soluție carbonat de sodiu 2% și 5 picături soluție albastru de metil 1%. Amestecul astfel obținut se încălzește pe o baie de apă. Se observă decolorarea treptată a conținutului eprubetei.

Forma redusă, incoloră, a colorantului, în contact cu oxigenul din aer, cedează acestuia 2 atomi de hidrogen cu formare de apă și reparația formei colorate.

Reacția cu acidul picric

Principiul reacției

Ozele reducătoare reduc acidul picric în mediu alcalin, la cald, transformându-l în acid picramic.



Reactivi

1. glucoză, soluție 1% sau alt glucid reducător
2. acid picric, soluție 0,5%
3. hidroxid de sodiu, soluție 10%.

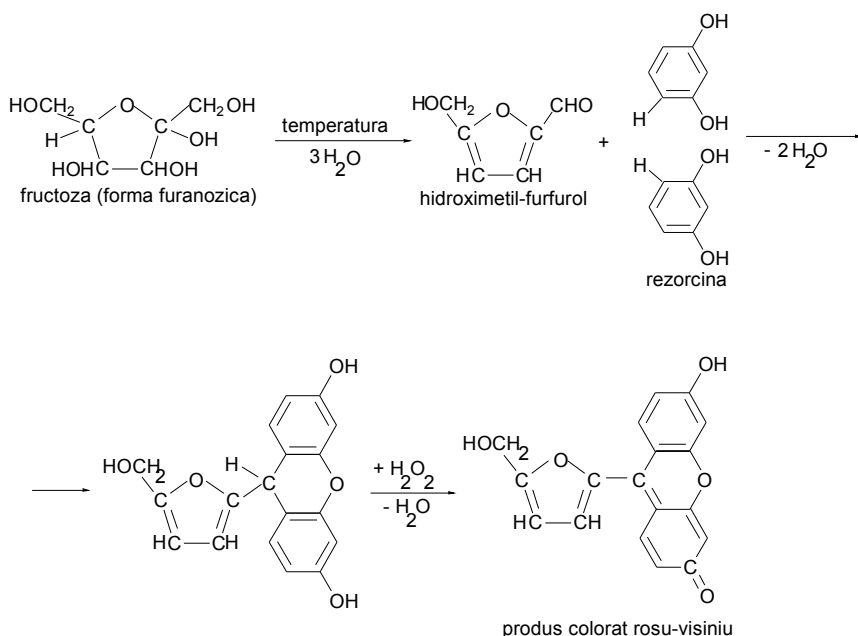
Modul de lucru

Intr-o eprubetă se introduc 1-2 ml soluție de analizat, se adaugă 2 ml soluție de acid picric 0,5% și 1 ml soluție de hidroxid de sodiu 10%. Prin fierbere, culoarea galbenă a acidului picric trece în roșu.

Reacția Selivanov

Principiul reacției

Cetozele (fructoza), prin încălzire în prezența acidului clorhidric și a rezorcinei, colorează soluția în roșu-vișiniu sau roșu. Reacția Selivanov este specifică pentru cetozes, permițând identificarea acestora din amestecurile cu aldoze, deoarece acestea din urmă dau produsul colorat mult mai lent (aproape de 20 de ori).



Reactivi

1. fructoză, soluție 1%
2. reactiv Selivanov: în 100 ml soluție de acid clorhidric 20% se dizolvă 0,05 g de rezorcină
3. acid clorhidric, soluție 20%: 45ml acid clorhidric, $d = 1,19$ se diluează până la volumul de 100 ml.

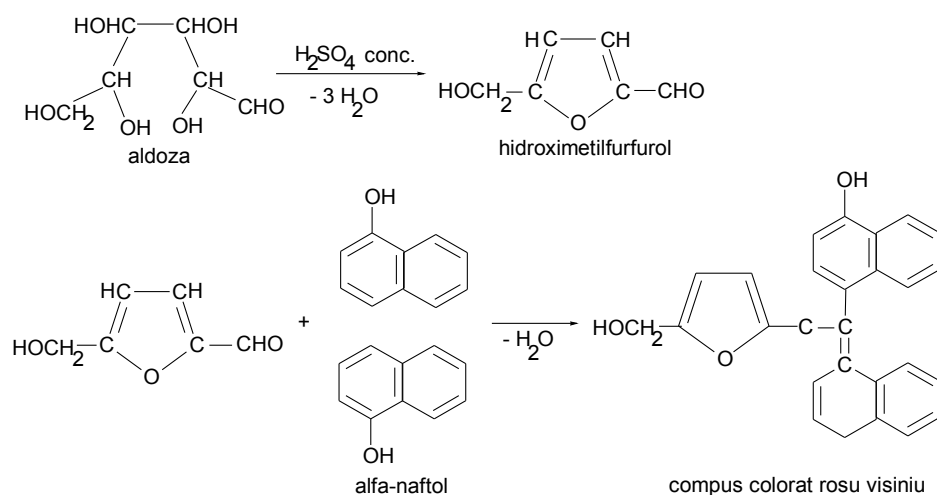
Modul de lucru

Într-o eprubetă se pipetează 1 - 2 ml soluție Selivanov la care se adaugă 2 - 3 picături de soluție de fructoză. Eprubeta se încălzește pe o baie de apă până la fierbere, când apare complexul colorat.

Reacția Molisch-Udranski

Principiul reacției

Glucidele dau cu alfa-naftolul, în prezența acidului sulfuric concentrat, compuși colorați în violet. Reacția este următoarea:



Reactivi

1. soluție de glucid 1 - 2% (glucoză)
2. soluție alcoolică proaspăt preparată de alfa-naftol 1%
3. soluție de acid sulfuric concentrat, $d = 1,84$.

Modul de lucru

Se introduce într-o eprubetă aproximativ 1 ml din soluția de analizat, se adaugă 3 - 4 picături din soluția de alfa-naftol și se agită conținutul. Se prelinge cu atenție pe pereții eprubetei înclinată, 1 ml de acid sulfuric concentrat, fără a se agita ulterior eprubeta. La suprafața de separare a celor două lichide apare un inel colorat în vișiniu.

3. Oligozide

Dintre oligozide, diholozidele au importanța biologică cea mai mare.

Caracterul reducător și nereducător al diholozidelor

Principiul reacțiilor

Diholozidele în care ozele se leagă monocarbonilic (maltoza, lactoza, celobioza etc.) au proprietăți reducătoare. Diholozidele în care ozele se leagă dicarbonilic nu au proprietăți reducătoare.

Reacția Fehling

Reactivi

1. maltoză, soluție 1%
2. lactoză, soluție 1%
3. zaharoză, soluție 1%
4. soluție Fehling I
5. soluție Fehling II.

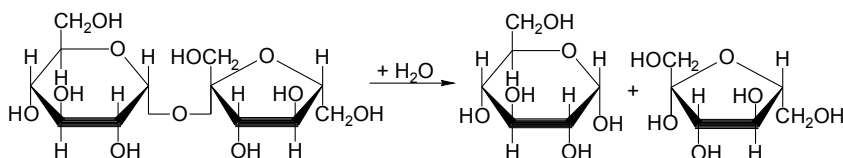
Modul de lucru

În trei eprubete se pipetează câte 4 ml licoare Fehling formată din volume egale de soluție Fehling I și II. Se fierbe conținutul eprubetelor pe o baie de apă. Se adaugă apoi în prima eprubetă 2 ml soluție de zaharoză, în a doua, 2 ml soluție lactoză, în a treia, 2 ml soluție maltoză, continuându-se fierberea. În eprubeta cu soluție de zaharoză nu apare precipitatul roșu-cărămiziu, așa cum apare în celelalte două eprubete, cu lactoză și maltoză.

Hidroliza zaharozei (invertirea zaharozei)

Principiul reacției

Prin fierbere cu acid clorhidric diluat, zaharoza hidrolizează în componenții săi (glucoză și fructoză). Totodată se produce și o inversiune în activitatea optică a zaharozei. Înainte de fierbere cu acid clorhidric diluat, zaharoza este dextrogiră. După fierbere cu acid clorhidric diluat, amestecul este levogir, datorită fructozei. În urma acestui fapt, hidroliza zaharozei poartă numele de invertire, iar amestecul, zahăr invertit, prezentând proprietăți reducătoare:



Reactivi

1. zaharoză, soluție 2%
2. acid clorhidric diluat 1 : 1
3. carbonat de sodiu, cristale
4. soluție Fehling I
5. soluție Fehling II
6. hârtie de turnesol.

Modul de lucru

Intr-o eprubetă se pipetează 2 ml soluție de zaharoză, peste care se adaugă 2-3 picături de acid clorhidric diluat și se fierbe. Peste soluția fierbinte se adaugă cristale de carbonat de sodiu, până la neutralizare (în prezența hârtiei de turnesol) și apoi licoarea Fehling, după care se continuă fierberea. Se va obține un precipitat roșu-cărămiziu de oxid cupros, datorită funcției aldehydice a glucozei.

Poliozide

Sunt substanțe macromoleculare, greu solubile sau insolubile în apă, nu prezintă caracter reducător și nici proprietățile specifice ozelor.

Pentru poliozide este caracteristică reacția de hidroliză, acestea prezentând și unele reacții specifice.

Reacțiile amidonului

Reacția amidonului cu iodul

Principiul reacției

Amidonul formează la rece cu o soluție de iod în iodură de potasiu, o colorație albastră ce permite identificarea sa.

Apariția acestei culori se datorează adsorbției iodului la suprafața micelilor aflate în soluție. Colorația dispare la o temperatură mai mare de 60°C și reapare la răcire.

Reactivi

1. amidon, soluție 1%
2. soluție de iod în iodură de potasiu (1 g iod și 2 g iodură de potasiu, se completează cu apă până la 100 ml)

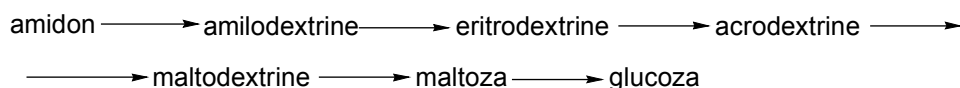
Modul de lucru

Într-o eprubetă se introduc 1 - 2 ml soluție de amidon și se adaugă câteva picături de soluție de iod în iodură de potasiu. Apare imediat o colorație albastră. Se încălzește soluția la fierbere și culoarea dispare imediat. Răcind soluția, culoarea albastră reapare.

Hidroliza amidonului

Principiul reacției

În prezența enzimelor sau pe cale chimică (în mediu slab acid) macromoleculele de amidon se scindează pe rând în molecule ce se pot identifica prin reacții de culoare. Schematic, hidroliza amidonului poate fi reprezentată astfel:



Amilodextrinele dau o colorație violetă cu iodul în iodură de potasiu; eritrodextrinele, o colorație roșie-brună; acrodextrinele, maltodextrinele, maltoza și glucoza nu colorează soluția de iod.

Hidroliza se poate urmări și efectuând reacția Fehling cu diferiți produși de hidroliză ce se obțin. Apariția și creșterea puterii reducătoare a acestora ne indică faptul că se obțin compuși cu masă moleculară din ce în ce mai mică.

Reactivi

1. amidon, soluție 5%
2. acid clorhidric concentrat
3. reactiv Fehling I
4. reactiv Fehling II
5. hidroxid de sodiu, soluție 30%.

Modul de lucru

Într-un pahar Berzelius se introduc 10 - 25 ml soluție de amidon. Se adaugă 1 ml HCl concentrat și se încălzește pe baia de apă la 80 - 90°C. Separat, pe o placă de porțelan cu cavități, se picură în fiecare cavitate câteva picături de soluție de iod în iodură de potasiu. Cu o baghetă, se ia în momentul inițial o picătură de soluție de amidon din pahar și se picură în prima cavitate peste soluția de iod. Se observă apariția colorației albastre. Menținând aceeași temperatură în baie, reacția se repetă din timp în timp cca 5 minute, notându-se culorile obținute. Apariția culorilor diferite indică diferite trepte ale hidrolizei. Hidroliza se consideră terminată atunci când o picătură de hidrolizat nu se mai colorează cu iodul. Glucoza rezultată în urma hidrolizei este pusă în evidență prin reacția Fehling, executată cu o porțiune de soluție finală, neutralizată cu o soluție de NaOH 30%. Reacția va fi pozitivă.

Metode cantitative de analiză

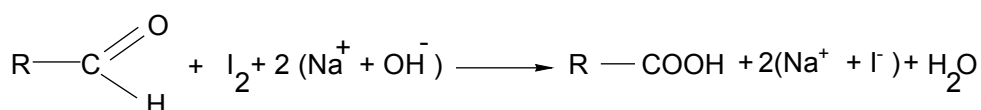
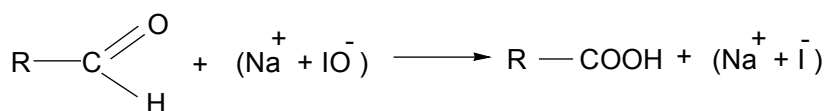
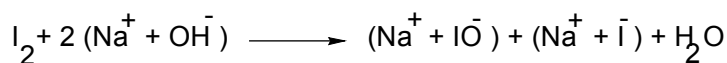
Metodele pentru dozarea glucidelor sunt numeroase și variate. După o primă clasificare se împart în metode chimice și metode fizico-chimice.

Metodele chimice pentru dozarea glucidelor sunt cele mai utilizate. Ele se bazează mai ales pe capacitatea glucidelor reducătoare de a fi oxidate ușor în soluții alcaline de către unii oxidanți relativ slabi (oxizi de cupru și mercur, ferocianură de potasiu, iod).

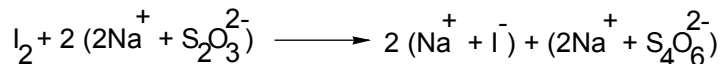
4. Dozarea glucidelor reducătoare prin metoda iodometrică

Principiul metodei

Metoda se bazează pe proprietatea pe care o au aldozele de a putea fi oxidate la acizii carbonilici (aldonici) corespunzători sub acțiunea iodului în mediu alcalin, conform reacțiilor:



Un volum determinat din soluția de analizat se tratează la rece cu un exces dintr-o soluție de iod și apoi iodul rămas după reacția cu aldoza se titrează cu tiosulfat de sodiu, în mediu acid.



Reactivi

1. soluție de acid sulfuric 4 n (111,2 ml acid , d = 1,84, la 1000 ml soluție)
2. amidon, soluție 1%
3. carbonat de sodiu 1 n (122 g carbonat de sodiu cristalizat la 1000 ml soluție)
4. soluție iod 0,1 n (12,7 g iod se dizolvă într-un vas în care se găsesc 25 g iodură de potasiu și 25 ml apă; se agită până la dizolvare, se filtrează și se aduce la volumul de 1000 ml cu apă distilată;
5. tiosulfat de sodiu, soluție 1n (125 g tiosulfat de sodiu cristalizat se dizolvă într-un litru de apă distilată fiartă și răcită, apoi se aduce la volumul de 5 litri, tot cu apă distilată fiartă și răcită).

Modul de lucru

Se pipetează 5 ml din soluția de analizat (care să nu conțină mai mult de 0,05 g glucoză sau 0,1 g maltoză sau lactoză) într-un flacon conic cu dop de sticlă șlefuit. Se adaugă 10 ml (V_1) soluție de iod 0,1n măsurată cu biureta și 7 ml soluție de carbonat de sodiu 1n. Se astupă flaconul cu dopul, se agită ușor și se lasă în repaus 20 de minute la temperatura camerei, într-un loc ferit de lumină. După scurgerea acestui interval se acidulează conținutul flaconului cu 5 ml acid sulfuric 4n și se titrează excesul de iod cu o soluție de tiosulfat de sodiu 0,1n în prezența amidonului (V_2).

Calculul rațional

Notații utilizate:

V_1 = volumul de soluție de iod 0,1n introdus inițial;

f_1 = factorul soluției de iod 0,1n;

V_2 = volumul de soluție de tiosulfat de sodiu 0,1n folosit la titrare;

f_2 = factorul soluției de tiosulfat de sodiu 0,1n

I. Calcularea excesului de iod

Soluția de tiosulfat de sodiu este 0,1 n, deci se poate scrie:

1000 ml sol. $Na_2S_2O_3$ 0,1248 f_2 g $Na_2S_2O_3$

V_2 ml sol. $Na_2S_2O_3$ 0,1248 $V_2 f_2 / 1000$ g $Na_2S_2O_3$

Conform reacției de titrare a excesului de iod rezultă:

1 $E_{Na_2S_2O_3}$ 1 E_{I_2}

248 g 127 g

0,1248 $V_2 f_2 / 1000$ g $Na_2S_2O_3$ x g I_2

$x = 0,1 \cdot V_2 f_2 \cdot 127 / 1000$ g I_2

II. Cantitatea totală de iod: se calculează numărul de grame de iod din 25 ml soluție 0,1n conform relației:

$$0,1 \cdot 127 \cdot V_1 \cdot f_1 / 1000 = b \text{ grame } I_2$$

III. Iodul consumat în reacția de oxido-reducere :

$$b - a = c \text{ grame } I_2$$

IV. Cantitatea de glucid oxidat (glucoza) :

$$180 \text{ g glucoză} \dots\dots\dots 2 \cdot 127 \text{ g } I_2$$

$$90 \text{ g glucoză} \dots\dots\dots 127 \text{ g } I_2$$

$$y \text{ g glucoză} \dots\dots\dots c \text{ g } I_2$$

$$y = 90c/127 \text{ grame glucoză în } 10 \text{ ml soluție}$$

$$\% \text{ glucoză} = y \cdot 10$$

5. Determinarea polarimetrică a amidonului după Ewers-Grossfeld

Principiul metodei

Amidonul se dizolvă în acid clorhidric diluat și se citește la polarimetru deviația planului luminii polarizate de către soluția obținută.

Reactivi

1. acid clorhidric, soluție 1,124%; 57,5 - 58 ml acid clorhidric concentrat pur ($d = 1,19$) se introduc în circa 500 ml apă distilată și se completează apoi volumul soluției cu apă distilată la 2,25 litri;
2. acid clorhidric, soluție 25%; se diluează 600 ml acid clorhidric concentrat ($d = 1,19$) cu apă distilată, până la un volum de 1000 ml;
3. soluție de fosfowolfram de sodiu; 120 g fosfat disodic cristalizat ($Na_2HPO_4 \cdot 12 H_2O$) și 200 g wolfram de sodiu cristalizat ($Na_2WO_4 \cdot 2 H_2O$) se dizolvă în apă distilată și se aduce la un volum de 1000 ml.

Modul de lucru

La balanța analitică, într-o nacelă, se cântăresc 5 g material fin măcinat, care se trece, fără pierderi, într-un balon cotat de 300 ml, unde se amestecă bine cu 25 ml acid clorhidric 1,124% până nu se mai observă aglomerări de material. Se mai adaugă 25 ml din aceeași soluție de acid clorhidric (1,124%) pentru spălarea gâtului balonului, se amestecă ușor și se introduce balonul într-o baie de apă fierbinte, unde se ține exact 15 minute (fierberea nu trebuie să se oprească după introducerea balonului). Balonul se agită des în primele 3 minute, fără a-l scoate din baie. Se scoate apoi balonul, se toarnă în el imediat 20 ml apă distilată rece, se răcește cât mai repede conținutul până la temperatura de 20° C cufundând și agitând balonul într-un cristalizor mare cu apă rece. Se adaugă apoi 20 ml de acid clorhidric 25% și 1 ml soluție fosfowolfram de sodiu. Se aduce conținutul balonului la semn cu apă distilată, se amestecă și se filtrează printr-un filtru uscat, turnând filtratul într-un vas uscat și eliminând primii 10 ml. Se polarimetrează filtratul limpede într-un tub de 200 mm, având grijă ca temperatura soluției să fie de 20° C.

Calculul rezultatelor

Cantitatea de amidon brut conținută în produsul de cântărit, exprimată în grame, este dată de relația:

$$A = \frac{100 \cdot p}{l \cdot \alpha_D^{20}} = \frac{100 \cdot p}{2 \cdot 183.7} = 0.2722 \cdot p$$

în care:

p = grade polarimetrice citite;

l = lungimea tubului polarimetric, în decimetri;

α_D^{20} = deviația polarimetrică specifică amidonului, care în cazul soluțiilor obținute în modul de mai sus are valoarea medie de + 183,7°.

6. Analiza calitativă a gliceridelor

Formarea și identificarea acroleinei

Acroleina se formează pe seama glicerolului prezent în gliceride, precum și în glicerofosfolipide.

Acroleina, aldehydă nesaturată, poate fi pusă în evidență printr-o reacție specifică aldehydelor (Tollens, Fehling).

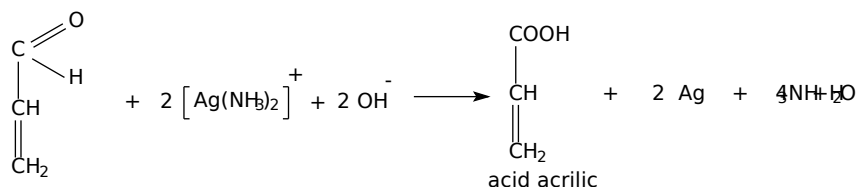
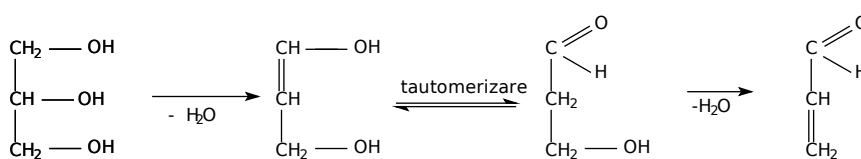
Reactivi

1. sulfat acid de potasiu, substanță solidă;
2. reactiv Tollens (vezi reacția Tollens).

Modul de lucru

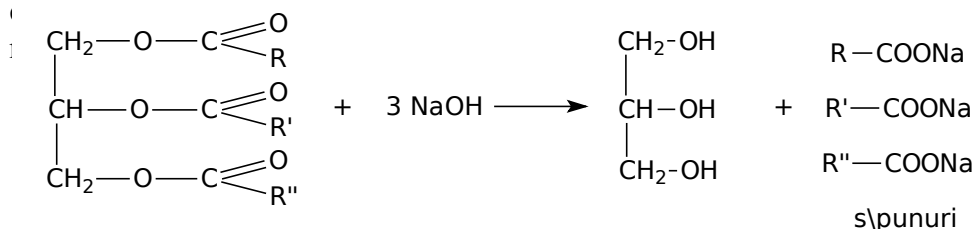
Într-o eprubetă se introduc câteva picături de ulei vegetal și circa 0,5 g sulfat acid de potasiu. Se încălzește eprubeta, amestecul din eprubetă se înnegește și se degajă produse volatile (vapori de apă, bioxid de carbon, acroleină). La gura eprubetei, se așează o fâșie de hârtie de filtru impregnată cu reactiv Tollens.

Hârtia de filtru în contact cu acroleina se înnegește, datorită depunerii argintului metalic din reactiv.



Saponificarea gliceridelor

Prin hidroliză, gliceridele se descompun în glicerol și acizii grași



Reactivi

1. hidroxid de sodiu, soluție 40 %;
2. clorură de sodiu, soluție saturată.

Modul de lucru

Într-o capsulă de porțelan, se introduc 3 ÷ 4 g ulei vegetal și 6 ÷ 7 ml soluție de hidroxid de sodiu de concentrație 40% (cu cilindrul).

Conținutul capsulei se fierbe la flacăra unui bec, pe o sită de azbest, sau pe o baie de nisip, timp de 20 ÷ 30 minute, agitând continuu cu o baghetă de sticlă. Din timp în timp, se completează apa evaporată, prin adăugare de apă fierbinte, în așa fel încât să se păstreze volumul inițial.

Sfârșitul saponificării se controlează prin introducerea câtorva picături din amestec, într-o eprubetă, în care se găsesc 5 ÷ 6 ml apă fierbinte, se agită; lipsa picăturilor de grăsime indică sfârșitul saponificării.

În acest moment se adaugă 10 ÷ 15 ml soluție caldă de clorură de sodiu, se agită cu bagheta și se lasă să se răcească.

Săpunul se ridică la suprafața soluției, sub forma unui strat solidificat.

7. Determinarea indicilor ce caracterizează lipidele

Determinarea unor caractere fizice sau chimice, cum sunt densitatea, punctul de topire, indicele de refracție, de aciditate, de saponificare, de iod etc, ale grăsimilor naturale, este importantă deoarece prin acestea se pot stabili: natura, originea, însușirile tehnologice și în general valoarea diferitelor grăsimi, cu alte cuvinte caracterizarea lor.

Determinarea indicelui de aciditate

Uleiurile și grăsimile naturale conțin întotdeauna mici cantități de acizi liberi organici, apărute prin hidroliza lor, din care cauză au o oarecare aciditate. În general, la materiile grase proaspăt preparate, acești acizi se găsesc în proporție mică, cantitatea de acizi liberi crește însă odată cu învechirea grăsimii. Pentru aceste motive, determinarea acidității libere a unei grăsimi, exprimată prin "indice de aciditate", ne permite să apreciem gradul de conservare al grăsimii respective.

Prin "indice de aciditate" înțelegem cantitatea - în mg - de hidroxid de potasiu necesară neutralizării acizilor grași liberi, dintr-un gram de materie grasă.

Principiul metodei

Metoda se bazează pe neutralizarea acidității libere a unei anumite cantități de grăsime, cu o soluție alcoolică de hidroxid de potasiu de titru și factor cunoscut, în prezența fenolftaleinei. Rezultatele se exprimă în mg de hidroxid de potasiu, la un gram de materie grasă.

Determinarea se poate executa la rece sau la cald.

Reactivi

1. solventul neutru: 1 volum alcool etilic + 2 volume alcool metilic, sau un volum alcool etilic + 4 volume eter etilic;
2. soluție alcoolică de hidroxid de potasiu 0,1 n: 5,6 g hidroxid de potasiu se dizolvă în minimum posibil de apă distilată și se aduce apoi la volumul de 1000 ml cu alcool etilic 96 %;
3. fenolftaleină 1%: 1 g fenolftaleină se dizolvă în 100 ml alcool etilic de 80%.

Modul de lucru

Determinarea la rece: se cântărește la balanța analitică 1 g material de analizat (ulei), se adaugă 10 cm³ amestec solvenți (1 volum alcool etilic + 4 volume eter etilic). Se titrează la rece, cu o soluție alcoolică de hidroxid de potasiu 0,1 n, în prezență de fenolftaleină, agitând mereu până la completa neutralizare. Dacă se presupune o aciditate liberă mai mare de 5 %, este de preferat titrarea cu o soluție de hidroxid de potasiu 0,5 n.

Calculul rezultatelor

La titrare s-au folosit V ml hidroxid de potasiu 0,1 n, cu factorul de corecție f. Echivalentul gram al KOH este 56 g. Deci:

$$1000 \text{ ml KOH } 0,1 \text{ n de factor } f \dots\dots\dots \frac{56 \times f}{10} \text{ g KOH}$$
$$V \text{ ml KOH } \dots\dots\dots x$$

$$x = \frac{V \times 56 \times f}{1000 \times 10} \text{ g}$$

Valoarea lui x se înmulțește cu 1000 pentru a exprima, conform definiției, indicele în mg de KOH. Rezultatul se raportează la 1 g grăsime. Deci valoarea indicelui de aciditate se poate calcula conform relației:

$$I_A = \frac{V \times f \times 5,6}{G}$$

în care:

- I_A reprezintă indicele de aciditate;
- G reprezintă masa de substanță luată în studiu în g.

Determinarea indicelui de saponificare

Se numește indice de saponificare numărul de miligrame de hidroxid de potasiu necesar pentru a saponifica un gram dintr-o grăsime. Determinarea acestei valori va da indicații asupra greutateii moleculare medii a acizilor grași din grăsimea respectivă.

Principiul metodei

Pentru determinarea indicelui de saponificare, se supune saponificării o cantitate cunoscută de grăsime, prin fierbere cu o cantitate în exces de hidroxid de potasiu 0,5 n (soluție alcoolică). După terminarea saponificării se determină, prin titrare cu un acid, hidroxidul de potasiu rămas nereacționat (exces); se stabilește,

prin diferență, cantitatea de hidroxid ce a fost folosită la neutralizarea și saponificarea grăsimii. Se raportează la un gram de grăsime.

Reactivi

1. soluție alcoolică de KOH 0,5 n: 28 g KOH se dizolvă în cât mai puțină apă fiartă și răcită și se completează la 1000 ml cu alcool etilic 96°;
2. soluție de HCl 0,5 n și factor determinat: 41 ml HCl $d = 1,19$ se aduc la volumul de 100 ml, cu apă distilată;
3. fenolftaleină 1 %, în alcool etilic.

Modul de lucru

Se cântăresc la balanța analitică, prin diferență, într-un flacon conic uscat, circa $2 \div 3$ g grăsime. Se adaugă apoi în flacon, cu o biuretă, exact 25 ml hidroxid de potasiu 0,5 n. La flacon se adaptează un refrigerent ascendent răcit cu aer.

Se fierbe moderat, timp de 15 minute, agitând flaconul din când în când. Hidroliza este terminată atunci când în lichidul din flacon nu se mai văd picături de grăsime. În acest moment se scoate refrigerentul, se adaugă $2 \div 3$ picături de fenolftaleină, care va colora lichidul în roșu, se titrează apoi repede, la cald, cu o soluție de HCl 0,5 n, până la dispariția culorii roșii. În paralel, exact în aceleași condiții se execută o probă martor.

Calculul rezultatelor

Notăm:

V_1 - volumul de acid clorhidric 0,5 n folosit pentru proba martor, în cm^3 ;

V_2 - volumul de acid clorhidric folosit pentru titrarea excesului de hidroxid de potasiu, în cm^3 ;

f - factorul de corecție al soluției de acid clorhidric 0,5 n;

G - greutatea materiei grase luate în analiză, în grame.

$E_{\text{KOH}} = 56$ grame;

$E_{\text{HCl}} = 36,5$ grame

1) $V_1 - V_2 = V$ cm^3 HCl 0,5 n reprezintă volumul echivalent de hidroxid de potasiu consumat la saponificare;

2)
$$56 \text{ g KOH} \dots\dots\dots 36,5 \text{ g HCl}$$

$$y \dots\dots\dots \frac{36,5 \times f \times V}{2 \times 1000} \text{ g}$$

$$y = \frac{56 \times f \times V}{2 \times 1000} \text{ g de KOH consumați la saponificare}$$

$$y \times 1000 = M \text{ mg KOH}$$

$$I_s = \frac{M}{G} \text{ în care } G = \text{cantitatea de grăsime luată în analiză.}$$

Pentru aflarea indicelui de saponificare se raportează la 1 g grăsime.

Conform calculului rațional, ajungem la următoarea formulă pentru calcularea indicelui de saponificare:

$$I_s = \frac{(V_1 - V_2) \times f \times 28}{G}$$

(la 1 cm³ acid clorhidric 0,5 n corespund 28 mg KOH).

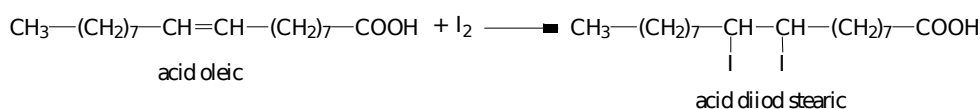
Valorile indicelui de saponificare la principalele uleiuri vegetale:

ulei de bumbac	191 ÷ 198;
ulei de floarea soarelui	188 ÷ 194;
ulei de in	188 ÷ 192;
ulei de măsline	189 ÷ 196;
ulei de porumb	188 ÷ 198.

Determinarea indicelui de iod.

În constituția lipidelor naturale, intră și diferiți acizi grași nesaturați, ca: oleic, linoleic, linolenic. Prezența în molecula lipidelor a acestor acizi conferă grăsimilor proprietatea lor caracteristică, nesaturarea.

Dintre reacțiile de adiție pe care le pot da, importanță analitică o are adiția halogenilor la dubla legătură, conform reacției:



Se numește "indice de iod" cantitatea, în grame, de iod pe care o poate adiționa 100 g materie grasă.

Valoarea indicelui de iod este una din constantele analitice importante, care servește la caracterizarea lipidelor naturale.

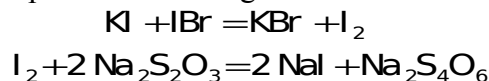
Metodele de determinare a indicelui de iod se deosebesc prin natura halogenului și a solventului în care soluția acestuia este preparată.

Metoda Hanus

În această metodă se folosește soluție de monobromură de iod (IBr) în acid acetic glacial.

Principiul metodei

Se tratează grăsimea respectivă cu un exces cunoscut de iod, cu care se lasă în contact un anumit interval de timp, după care se determină, prin titrare, cantitatea de iod rămasă necombinată. Prin diferența, față de iodul introdus inițial, se află cantitatea de iod pe care s-a fixat grăsimea.



Reactivi

1. cloroform;
2. reactiv Hanus: soluție de bromură de iod în acid acetic concentrat;
3. soluție de KI 10 %, proaspăt preparată;
4. soluție de tiosulfat de sodiu 0,1 n și factor cunoscut;
5. soluție de amidon 0,5 %.

Modul de lucru

Se cântăresc într-un flacon uscat, cu dop șlefuit, 0,1 ÷ 0,15 g ulei. Se dizolvă uleiul în 10 ml cloroform, se adaugă 25 ml reactiv de halogenare, care în cazul acestei metode este o soluție acetică de bromură de iod și se lasă să reacționeze timp de 15'. Pentru uleiurile cu indici mai mari decât 120, se lasă timp de 1/2 ÷ 1 oră. După scurgerea acestui interval de timp, se adaugă 15 ml de soluție apoasă de iodură de potasiu 10 %, 50 ml apă și se titrează cu soluția de tiosulfat 0,1 n, în prezență de amidon.

În paralel se execută exact în aceleași condiții o probă martor, prin care se determină titrul (în iod) reactivului Hanus.

Calculul rezultatelor

Dacă notăm cu:

V_1 - volumul de tiosulfat de sodiu 0,1 n consumat la titrarea probei martor, în ml;

V_2 - volumul de tiosulfat de sodiu 0,1 n consumat la titrarea probei cu ulei, în ml;

f - factorul de corecție al soluției de tiosulfat de sodiu 0,1 n;

G - cantitatea de ulei luată în analiză, în grame.

$E_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} = 248 \text{ g}$, $E_I = 127 \text{ g}$

1) $V_1 - V_2 = V$ ml tiosulfat de sodiu echivalent volumului de iod adăugat

2) $127 \text{ g I} \dots\dots\dots 248 \text{ g Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
 $x \dots\dots\dots \frac{248 \times V \times f}{10 \times 1000}$

$x = \frac{127 \times V \times f}{10 \times 1000}$ grame iod fixat de G grame de grăsime

$I_1 = \frac{x}{G} \times 100$ în care $I_1 =$ indicele de iod

Conform calculului rațional ajungem la următoarea relație pentru calcularea indicelui de iod, cunoscând că 1 ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ n/10 titrează 0,01269 g iod.

$$I_1 = \frac{(V_1 - V_2) \times f \times 0,01269}{G} \times 100$$

Indicele de iod pentru câteva uleiuri vegetale:

ulei de bumbac	102 ÷ 111
ulei de floarea soarelui	119 ÷ 134
ulei de in	176 ÷ 182
ulei de măsline	79 ÷ 85
ulei de porumb	111 ÷ 130
ulei de ricin	81 ÷ 36

8. Reacții calitative pentru aminoacizi

Reacția aminoacizilor cu ninhidrina

Principiul metodei

Aminoacizii participă în reacție cu funcțiunile amino și carboxil, rezultând compuși colorați în albastru-violet, cu excepția prolinei și hidroxi-prolinei, care dau colorații galbene. Reacția se întâlnește și la proteine, peptide, amine etc. Printr-o reacție concomitentă de decarboxilare și dezaminare aminoacizii trec într-o aldehydă cu un atom de carbon mai puțin.:

Aceste reacții se petrec, în cazul folosirii ninhidrinei ca reactiv de dezvoltare, la separarea cromatografică a aminoacizilor.

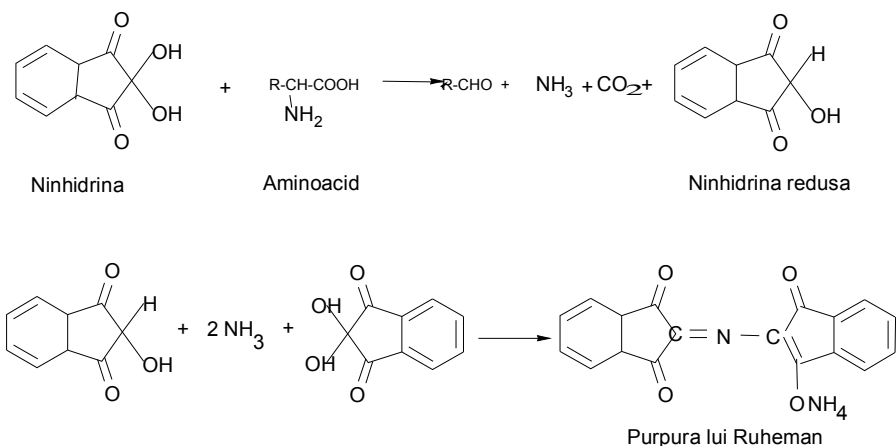
Reactivi

1. soluție apoasă de glicocol, concentrație 0,1-0,2%;

2. soluție ninhidrină în alcool absolut, concentrație 1%.

Modul de lucru

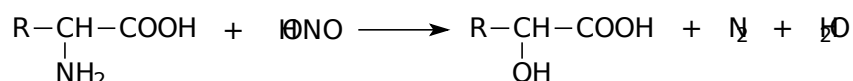
Se introduc într-o eprubetă 1-2 ml soluție de aminoacid și se adaugă câteva picături de soluție de ninhidrină. Apare colorația albastru-violet.



Reacția cu acidul azotos

Principiul metodei

Aminoacizii, la fel ca și aminele primare alifatică, se dezaminează cu acidul azotos și dau α -hidroxi-aminoacizi.



Reacția stă la baza determinării aminoacizilor prin metoda van-Slyke.

Reactivi

1. soluție apoasă de glicocol, de concentrație 5-10%;
2. soluție apoasă de azotit de sodiu, concentrație 5-10%;
3. acid acetic glacial.

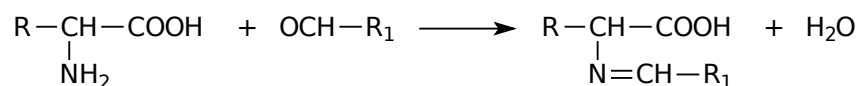
Modul de lucru

Într-o eprubetă se introduc 2 ml soluție de glicocol, se adaugă 2 ml soluție de azotit de sodiu și câteva picături de acid acetic glacial. Se observă degajarea azotului sub formă de bule.

Reacția cu aldehidele

Principiul metodei

Aminoacizii participă cu gruparea funcțională amino la reacții de condensare cu aldehidele, rezultând azometine (baze Schiff). Gruparea amino este blocată, iar cea carboxilică, liberă, va ioniza. Protonii rezultați (aciditatea) se pun în evidență cu ajutorul unui indicator adecvat.



Reactivi

1. soluție apoasă de formaldehidă, concentrație 20%, neutralizată în prezență de fenolftaleină;
2. soluție hidroxid de sodiu 0,1 n, de factor cunoscut
3. soluție alcoolică de fenolftaleină 1%;
4. soluție acid clorhidric 0,1 n;
5. soluție de aminoacid

Modul de lucru

Din soluția de analizat (adusă la volumul de 100 ml) se pipetează 10 ml, se introduc într-un balon cotat de 100 ml și se adaugă 5 picături soluție de fenolftaleină. Pentru aminoacizii cu reacție acidă (cei neutri și cei monoaminocarboxilici) se neutralizează amestecul cu soluție de hidroxid de sodiu 0,1 n. În cazul aminoacizilor cu reacție bazică în soluție (cei diaminomocarboxilici) se neutralizează amestecul cu soluție de acid clorhidric 0,1 n. După neutralizare se introduc 10 ml soluție formaldehidă și se titrează cu soluție de hidroxid de sodiu 0,1 n până la reapariția colorației roz palid, persistentă timp de 30". Se introduc încă 2 ml de soluție de formaldehidă, iar dacă soluția rămâne roz, reacția de ionizare a grupării carboxil este terminată. Se citește volumul V de hidroxid de sodiu consumat la titrare. Dacă la adăugarea celor 2 ml de soluție de formaldehidă colorația roz dispare, se continuă titrarea cu hidroxid până la reapariția acesteia.

Calculul rezultatelor

Cantitatea de aminoacid exprimată sub formă de grame de aminoacid la 100 ml soluție (%) se calculează conform ecuației:

$$\% \text{ Aminoacid} = \frac{E_a \times f \times V}{100 \times n}$$

în care:

E_a - echivalentul chimic al aminoacidului de analizat;

F - factorul de corecție volumetrică al soluției de NaOH 0,1 n;

V - volumul de NaOH consumat la titrare;

n - volumul (ml) de probă luată pentru titrare.

10. Analiza calitativă a proteinelor. Reacții specifice. Reacții de identificare

Proteinele sunt substanțe foarte reactive, datorită prezenței funcțiunilor libere amino și carboxil, a legăturilor peptidice și a naturii radicalilor aminoacizilor componenți. Din multitudinea de reacții calitative, se execută acelea care dau ca produși de reacție compuși colorați sau precipitate. De aceea, în tehnica de laborator, aceste reacții calitative sunt cuprinse în două grupe:

a) Reacții de culoare

b) Reacții de precipitare (denaturare).

Reacții de culoare

Sunt frecvent efectuate și sunt prezente atât la holo cât și la heteroproteine.

Reacția biuretului

Reacția se efectuează pentru identificarea aminoacizilor aromatici (fenilalanină, tirozină) precum și a celor heterociclici (triptofan) în hidrolizatele proteice. În cazul triptofanului, colorația obținută este mai roșie.

Reactivi

1. acid azotic, $d=1,40$;
2. hidroxid de sodiu sau amoniu, soluție apoasă 30-40%.

Modul de lucru

Într-o eprubetă cu 1-2 ml soluție proteică se adaugă 1 ml acid azotic concentrat. Apare un precipitat alb, care la fierbere se solubilizează parțial, apărând colorația galbenă. După răcire, soluția se alcalinizează și culoarea virează în portocaliu.

Reacția xantoproteică se poate realiza direct pe secțiuni de material vegetal sau pe produse biologice animale: lână, piele, pene, ser sangvin etc.

Reacția Millon

Principiul reacției

Soluțiile proteice încălzite cu reactivul Millon formează un precipitat roșu-cărămiziu. Reacția este dată de aminoacizii fenolici (tirozina) din proteine, care cu acidul azotos din reactivul Millon formează nitrozoderivatul colorat. Formarea precipitatului se datorează compoziției reactivului (azotat mercuric, acid acetic, acid azotos), cu acțiune de precipitare a proteinelor. Reacția este dată de toți compușii fenolici.

Reactivi

1. reactivul Millon - livrat de firma producătoare, în sticle brune cu dop rodat, închise ermetic. Reactivul se prepară uzual după următoarea rețetă:
 - soluția **a** - soluție de sulfat mercuric 5% în acid sulfuric de concentrație 5%. Prepararea soluției de acid sulfuric: într-o capsulă de porțelan se introduc 97,15 ml apă distilată și se adaugă 2,85 ml acid sulfuric concentrat ($d=1,84$) cu picătura, sub agitare continuă;
 - soluția **b** - soluție apoasă de azotat de sodiu 1%;Aceste două soluții se păstrează separat și se prepară reactivul Millon în momentul utilizării astfel : peste 2 ml soluție **a** se adaugă 1-2 picături soluție **b**.

Modul de lucru

Într-o eprubetă se tratează 2 ml soluție proteică (extract proteic vegetal, ser sangvin, albuș de ou, cazeină etc.) cu 5 picături reactiv Millon. Apare un precipitat alb, care la încălzire devine roșu-cărămiziu, cu structură spongioasă.

Reacția sulfurii de plumb

Principiul reacției

Soluțiile proteice care conțin tioaminoacizi, la fierbere cu hidroxizi alcalini eliberează sulfurul sub formă de anion sulfură. Acesta formează în prezența cationului plumbos sulfura de plumb, brun-negricioasă.

1. $R-SH + 2(Na^+ + OH^-) = (2Na^+ + S^{2-}) + H_2O + R-OH$
2. $(2Na^+ + S^{2-}) + (Pb^{2+} + 2CH_3-COO^-) = PbS + 2(Na^+ + CH_3-COO^-)$

Reactivi

1. soluție de hidroxid de sodiu 20-30% ;
2. soluție saturată de acetat de plumb ;
3. soluție proteică de analizat (albuș de ou, hidrolizate proteice vegetale bogate în tioaminoacizi etc).

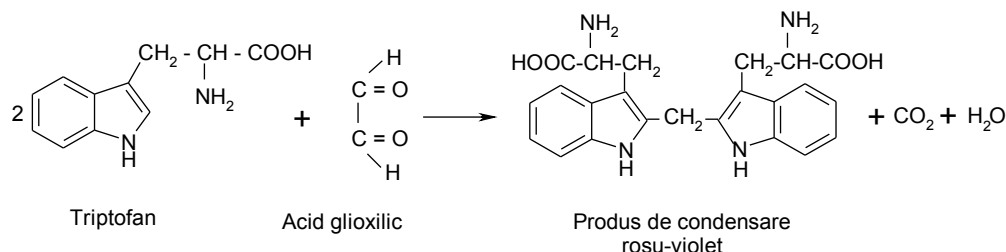
Modul de lucru

Într-o eprubetă se tratează 2-3 ml de soluție proteică de analizat cu 2 ml soluție de hidroxid de sodiu. Se fierbe conținutul timp de 2 minute, după care se adaugă 1 ml soluție de acetat de plumb. Apare precipitatul negru de sulfură de plumb.

Reacția Adamkiewicz

Principiul reacției

Soluțiile proteinelor care conțin triptofan dau cu acidul glioxilic, în prezența acidului sulfuric concentrat, o colorație roșie-violetă. Eliberarea triptofanului are loc la hidroliza acidă a proteinelor (în prezența acidului sulfuric).



Reactivi

1. acid glioxilic sau acid acetic glacial;
2. acid sulfuric concentrat, d=1,84;
3. soluție proteică de analizat : cazeină 1% sau hidrolizat proteic vegetal.

Modul de lucru

Într-o eprubetă se introduc 2 ml soluție de analizat, 10-15 picături acid glioxilic, după care se preling pe peretele eprubetei 2 ml acid sulfuric concentrat. La limita de separare a celor două faze se formează un inel colorat în roșu-violet.

Acidul glioxilic poate fi înlocuit cu acidul acetic glacial (după Schultz), caz în care se folosesc în reacție 3 ml și este necesară o încălzire ușoară a amestecului înainte de adăugarea acidului sulfuric.

Reacția Molisch

Principiul reacției

Glucoproteinele formează cu α -naftolul, pe seama glucidelor din compoziția lor, în prezența acidului sulfuric concentrat, compuși colorați în violet. Acidul sulfuric concentrat deshidratează aldohexozele la hidroximetil-furfurool, care prin condensare cu α -naftolul, formează compusul colorat.

Reactivi

1. α -naftol, soluție alcoolică 20% ;
2. acid sulfuric concentrat, $d=1,84$;
3. soluție de analizat (cazeină 1%).

Modul de lucru

Într-o eprubetă uscată se tratează 4 ml soluție de cazeină cu 3-4 picături soluție de α -naftol. După agitarea soluției se preling pe pereții eprubetei, în porțiuni mici, 2 ml acid sulfuric concentrat. La suprafața de separare a celor două faze se formează un inel colorat în violet.

Reacții de precipitare (denaturare)

Proteinele sunt precipitate (denaturate) sub acțiunea unor factori fizici, chimici și fizico-chimici, modificându-se solubilitatea lor în apă sau în solvenți specifici. Numeroase reacții de precipitare stau la baza unor metode de separare a proteinelor din extracte vegetale sau lichide biologice.

Reacțiile de precipitare pot fi reversibile sau ireversibile. În precipitarea reversibilă, denaturarea proteinelor nu este profundă iar precipitatul format se redizolvă. Precipitarea ireversibilă modifică atât structura secundară cât și cea terțiară, făcând imposibilă refacerea structurilor denaturate.

Substanțele care produc precipitare reversibilă sunt: solvenții organici (alcool, acetonă, dioxan), sărurile neutre (NaCl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4).

Agenții de precipitare ireversibilă sunt: sărurile metalelor grele (Pb , Cu , Ag , Cr , Hg etc.), reactivii de precipitare ai alcaloizilor (acidul picric, fericianura de potasiu etc.), acizii minerali tari, concentrați, acizii organici (sulfosalicilic, wolframic, tricloracetic etc.), căldura etc.

Precipitarea cu solvenți organici

Principiul reacției

Solvenții organici miscibili cu apa deshidratează particulele coloidale care aglutinează și precipită. Fiind o precipitare reversibilă, la adăugare de apă precipitatul se dizolvă.

Reactivi

1. alcool etilic 95%;
2. acetonă;
3. soluție proteică.

Modul de lucru

Într-o eprubetă se introduc 2 ml de soluție proteică, se adaugă în porțiuni mici 1-2 ml alcool și se agită puternic până la apariția precipitatului. Se adaugă 10-15 ml apă. Se agită amestecul și se observă dizolvarea precipitatului.

Se execută aceleași operații și cu acetona.

Precipitarea cu săruri neutre (salifierea)

Principiul reacției

Sărurile neutre ale unor metale alcaline și alcalino-pământoase precipită reversibil proteinele. Acest fapt se datorează neutralizării sarcinilor electrice ale particulelor coloidale cu sarcinile de semn contrar ale ionilor adsorbiți pe suprafața particulelor, precum și deshidratării acestora de către ionii sării.

Reactivi

1. soluții saturate de NaCl, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, MgSO_4 ;
2. soluție proteică de analizat.

Modul de lucru

În trei eprubete se introduc câte 2 ml soluție proteică de analizat și se adaugă în fiecare câte 1 ml din reactivul respectiv de precipitare. Apar precipitate care la adăugare de apă se dizolvă.

Precipitarea cu acizi minerali tari

Principiul reacției

Acizii minerali tari precipită ireversibil proteinele, iar precipitatele formate nu se dizolvă la adăugare de apă.

Reactivi

1. acizi minerali tari (acid clorhidric, $d=1,19$; acid sulfuric, $d=1,84$; acid azotic, $d=1,40$);
2. soluții proteice.

Modul de lucru

În trei eprubete se introduc câte 2 ml soluție proteică de analizat. În fiecare eprubetă se adaugă, de-a lungul pereților, câte 1 ml acid mineral concentrat. În cazul acizilor clorhidric și sulfuric, la suprafața de separare a celor două faze se formează un inel alb (precipitat), care prin agitare se dizolvă (dizolvare în exces de reactiv). Precipitatul format la adăugarea de acid azotic nu se dizolvă (insolubil în exces de reactiv).

Reacția cu acidul azotic (în diferite concentrații) stă la baza unei metode de dozare a albuminelor din urină.

Precipitarea cu acizi organici

Principiul reacției

Unii acizi organici au acțiune specifică asupra proteinelor, fiind folosiți la precipitarea acestora din diferite lichide biologice.

Reactivi

1. acid tricloracetic, soluție 15-20%;
2. acid sulfosalicilic, soluție 15-20%;
3. soluție proteică de analizat.

Modul de lucru

În două eprubete se introduc câte 2 ml soluție proteică de analizat. În prima se adaugă în picături soluție de acid tricloracetic, sub agitare continuă, până când se observă formarea unui precipitat alb, abundent. În cea de-a doua eprubetă

se introduce în același mod, acidul sulfosalicilic și se observă formarea unui precipitat alb, afânat (cu aspect de nor).

Precipitarea cu săruri ale metalelor grele

Principiul reacției

Unele săruri ale metalelor grele precipită ireversibil proteinele, modificând profund structura acestora.

Reactivi

1. sulfat de cupru, soluție 5%;
2. clorură mercurică, soluție 0,5-1%;
3. azotat de argint, soluție 0,5-1%;
4. acetat de plumb, soluție 10%;
5. soluție proteică de analizat.

Modul de lucru

În patru eprubete se introduc câte 2 ml de soluție de analizat și se adaugă apoi soluțiile de săruri. Se observă formarea precipitatelor. Cele rezultate din reacțiile cu sulfatul de cupru și acetatul de plumb sunt solubile în exces de reactiv, iar celelalte două sunt insolubile.

Precipitarea cu reactivii de precipitare ai alcaloizilor

Principiul reacției

Substanțele care produc precipitarea alcaloizilor precipită ireversibil și proteinele. Reacția are loc în mediu acid (în cel alcalin precipitatele se dizolvă).

Reactivi

1. acid picric, soluție saturată;
2. tanin, soluție apoasă saturată;
3. fericianură de potasiu, soluție apoasă 10%
4. reactiv Mayer (complex de iodură mercurică și potasiu) : se dizolvă 1,35 g clorură mercurică în 60 ml apă distilată, la care se adaugă soluția de iodură de potasiu (5 g dizolvate în 10 ml apă distilată). Se completează cu apă distilată la 100 ml;
5. reactiv Esbach : se dizolvă 1 g acid picric, 2 g acid citric în apă distilată, cu care se completează până la volumul de 100 ml;
6. acid acetic, soluție apoasă 1%;
7. acid clorhidric, soluție apoasă 10%;
8. soluție proteică de analizat.

Modul de lucru

În cinci eprubete se introduc câte 2 ml soluție de analizat, apoi se adaugă :

- în eprubeta I - 1-2 ml acid acetic și 1-2 ml soluție de tanin. Se formează un precipitat alb.
- în eprubeta II - se acidulează soluția cu 1-2 ml acid acetic și se adaugă 1 ml acid picric. Apare un precipitat galben.
- în eprubeta III - după acidularea cu acid acetic, se adaugă 1 ml soluție de fericianură de potasiu. Se formează un precipitat roșu-cărămiziu.
- în eprubeta IV - 2 ml acid clorhidric și 1 ml reactiv Mayer. Apare un precipitat roșu-brun.

- în eprubeta V - 1 ml reactiv Esbach. Se formează un precipitat galben.

11. Determinarea azotului total și a proteinei brute din plante (metoda Kjeldahl)

Proteina brută reprezintă totalitatea substanțelor organice cu azot, din care fac parte proteinele și substanțele azotate neproteice (alcaloizi, pigmenți cu azot, lipide complexe, amide etc.)

Conținutul în proteină brută se calculează după conținutul în azot total organic din plantă.

Principiul metodei

Substanțele azotate organice, la fierbere cu acid sulfuric, se descompun în elementele componente : carbon, oxigen, hidrogen, azot, fosfor etc. Carbonul se elimină sub formă de CO_2 , hidrogenul și oxigenul sub formă de H_2O , iar azotul formează amoniacul. Acesta, în prezența acidului sulfuric, se transformă în sulfat de amoniu (mineralizarea azotului organic).

Sulfatul de amoniu rezultat se descompune ulterior, într-un mediu puternic alcalin, cu formarea amoniacului și a sulfatului alcalin. Amoniacul este separat prin distilare și captat într-un volum cunoscut și în exces de acid sulfuric de titru determinat. Excesul de acid se titrează la sfârșitul distilării cu o soluție de hidroxid de sodiu de titru și factor cunoscute.

Diferența dintre cantitatea inițială de acid sulfuric și excesul determinat la titrarea cu hidroxid de sodiu reprezintă cantitatea de acid sulfuric ce a fixat amoniacul sub formă de sulfat de amoniu. Se calculează cantitatea echivalentă de azot care se exprimă în procente, raportată la masa substanței de analizat uscate în prealabil la 105°C .

Se pot folosi mai multe amestecuri de catalizatori pentru etapa de mineralizare :

- a) mercur metalic - 0,7 g pentru 1g produs (3 picături) + K_2SO_4 -10 g
- b) amestec de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{K}_2\text{SO}_4$ în proporție de 1:10, aprox. 10-15 g/probă
- c) amestec de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{K}_2\text{SO}_4$ + seleniu în proporție de 4:16:1, cca 0,5 g/probă
- d) amestec b) + 10 ml peroxid de hidrogen 30%.

În afară de catalizatorii menționați, literatura de specialitate mai recomandă și oxidul de vanadiu, oxidul de mercur, oxidul de cupru etc.

Reactivi

1. acid sulfuric concentrat, $d=1,84$;
2. catalizator $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{K}_2\text{SO}_4$, cristale;
3. hidroxid de sodiu, soluție 30-40%;
4. acid sulfuric, soluție 0,1 n cu factor cunoscut;
5. hidroxid de sodiu, soluție 0,1 n cu factor cunoscut;
6. roșu de metil, soluție 0,02% (indicator).

Modul de lucru

A. Mineralizarea substanței de analizat

Materia primă este mărunțită cât mai fin posibil și omogenizată. Cantitatea luată în analiză este în funcție de conținutul în azot (cel mult 10 mg azot/probă).

Se cântăresc la balanța analitică - 0,1 g pentru semințe; - 1 g pentru ierburi uscate, fân, paie; - 4-6 g pentru materiale bogate în apă (fructe, tulpini succulente).

Substanța cântărită se trece într-un balon Kjeldahl de 100 ml, se adaugă 0,1-0,2 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (catalizator de mineralizare), 2-3 g de K_2SO_4 (are rolul de a ridica temperatura de fierbere a amestecului), și 5-6 ml acid sulfuric concentrat.

Balonul Kjeldahl se montează în poziție înclinată pe un stativ metalic, pe sită de azbest, sub nișă. La gura balonului se așează o pâlnie mică de sticlă ce are rolul de a împiedica pierderile prin stropire în timpul fierberii. Încălzirea se face la bec de gaz, la început cu flacără mică, când conținutul balonului devine negru și spumos. După încetarea spumării se mărește flacăra și începe degajarea unor vapori de dioxid de sulf. Se reglează flacăra astfel încât să aibă loc o fierbere liniștită și uniformă, timp de câteva ore, în funcție de natura și cantitatea materialului supus mineralizării.

Sfârșitul acestei etape este indicat de colorarea în verde a soluției din balon. Se recomandă să se continue încălzirea încă 1-2 ore, pentru mineralizarea completă a compușilor heterociclici cu azot, care sunt în general mai rezistenți la descompunere.

B. Distilarea amoniacului și captarea în acid sulfuric

Distilarea amoniacului din sulfatul de amoniu rezultat la mineralizare se poate efectua într-un aparat Parnas-Wagner (fig. 8) care este format din:

- balon generator de vapori (1)
- vas de siguranță (recipient intermediar) (2)

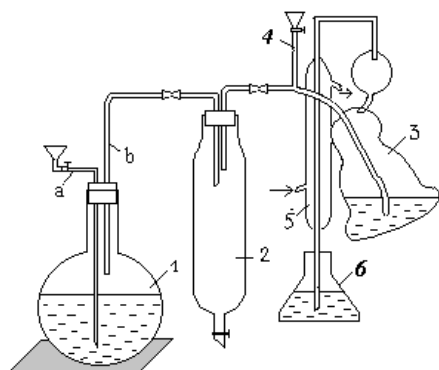


fig. 8 Aparat Parnas - Wagner

- vas de distilare (3) prevăzut cu o pâlnie cu robinet (4). Servește la spălarea aparatului după determinare.
- refrigerent ascendent (5). Între vasul de distilare și refrigerent se intercalează un separator de picături (deflegmator).

Generatorul de vapori are o capacitate de 1-2 litri, în care se introduce apă până la $\frac{2}{3}$ din volum. Este prevăzut cu două tuburi de sticlă (a,b).

Tubul (a) poate fi prevăzut în exterior cu o pâlnie cu robinet prin care se introduce apă; în timpul distilării, robinetul va închide tubul. Prin tubul (b) vaporii de apă din generator vor trece în vasul de distilare.

Încălzirea apei din generator se poate face electric sau la flacăra unui bec de gaz. Tubul refrigerentului se introduce într-un recipient de sticlă (6) care poate fi un balon Erlenmayer, pahar Berzelius etc., în care se găsește un volum măsurat exact de acid sulfuric 0,1 n de factor cunoscut și 3-4 picături de indicator roșu de metil (colorația soluției trebuie să se mențină roz tot timpul distilării, ceea ce înseamnă că acidul sulfuric este în exces). Capătul tubului refrigerentului trebuie să pătrundă în soluția de acid sulfuric.

Balonul Kjeldahl cu conținutul mineralizat se răcește, după care prin pâlnia de la gâtul său se introduc 5 ml apă distilată. Pâlnia se clătește pe ambele

părți cu puțină apă distilată, care se colectează tot în balon. Se agită soluția sau se încălzește ușor pentru solubilizarea rezidului, după care se transvazează în vasul de distilare, prin pâlnia cu robinet (4). Balonul Kjeldahl se spală de 2-3 ori cu câte 3 ml apă distilată, care se introduce tot în vasul de distilare. Se adaugă prin pâlnie 40-50 ml hidroxid de sodiu de concentrație 30-40% și câteva picături de fenolftaleină, până se observă culoarea roz-intens = mediu alcalin). În absența fenolftaleinei, se adaugă hidroxid de sodiu până se observă formarea unui precipitat albastru de hidroxid cupric.

Se închide tubul (a) al generatorului de vapori. Vaporii de apă trec din generator prin tubul (b) în vasul de distilare și antrenează amoniacul care se degajă și este captat în soluția de acid sulfuric din recipientul (6).

Distilarea durează 20-30 minute, iar verificarea se face astfel: se scoate tubul refrigerentului din paharul cu acid sulfuric, se clătește cu puțină apă distilată care se colectează tot în pahar, iar următoarea picătură de distilat se lasă să cadă pe o hârtie de turnesol. Dacă hârtia nu devine albastră, distilarea este terminată. O altă modalitate de a încerca sfârșitul distilării este reacția cu reactivul Nessler, specifică pentru amoniac (trebuie să fie negativă).

La sfârșitul distilării se titrează conținutul recipientului (6) - excesul de acid sulfuric - cu o soluție de hidroxid de sodiu 0,1 n până la virarea culorii indicatorului de la roz la galben.

Calculul rezultatelor

$$\% N_{\text{total}} = \frac{(V \times F - V_1 \times F_1 \times 0,014 \times 100)}{G},$$

în care:

0,0014 = cantitatea în grame de azot care corespunde la 1 ml de acid sulfuric 0,1 n;

V = volumul de acid sulfuric 0,1 n luat pentru captarea amoniacului;

F = factorul soluției de acid sulfuric;

V₁ = volumul de hidroxid de sodiu care a neutralizat acidul sulfuric rămas în exces;

F₁ = factorul soluției de hidroxid de sodiu;

G = cantitatea în grame de substanță uscată luată în analiză.

Cantitatea de azot total se exprimă în grame la 100 grame substanță uscată (%).

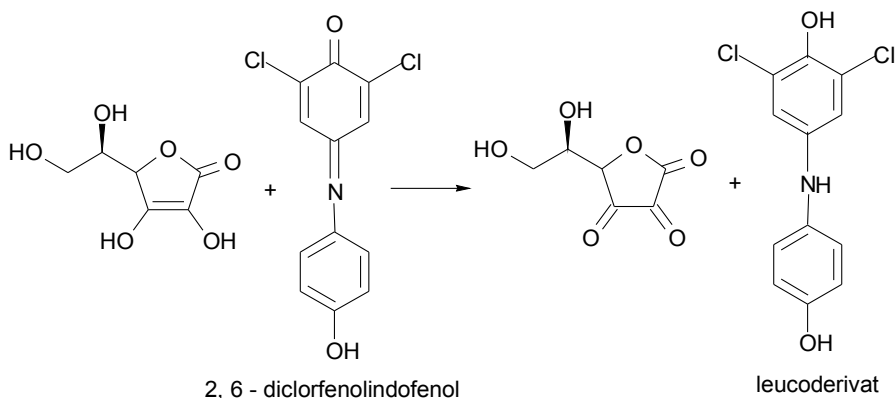
Conținutul în proteină brută se determină astfel;

$$\% \text{ Proteină brută} = \% N_{\text{total}} \times 6,25$$

12. Dozarea acidului ascorbic prin titrare cu 2, 6 - diclorfenolindofenol

Principiul metodei

Acidul ascorbic are proprietatea de a reduce 2, 6 - diclorfenolindofenolul (reactiv Tillmans) în leucoderivatul corespunzător:



Dozarea acidului ascorbic în plante

Reactivi

1. soluții de extracție: acid oxalic, soluție 2% sau soluție de acid metafosforic și acid acetic preparată astfel: într-un balon cotat de 500 ml se introduc 15 g acid metafosforic, 40 ml acid acetic glacial și 200 ml apă. Se agită până la dizolvare, după care se aduce conținutul balonului la semn, cu apă distilată. Soluția se filtrează prin hârtie de filtru cu porozitate mare, într-o butelie de sticlă care se închide cu dop rodat și se păstrează la temperatura de 0 - 5° C. Soluția poate fi utilizată timp de 7 - 10 zile de la preparare;

2. colorant indofenolic (2, 6 - diclorfenolindofenol) soluție: într-un balon cotat de 200 ml se introduc 50 mg sare disodică de 2, 6 - diclorfenolindofenol și 150 ml apă caldă (50 - 60° C) în care s-au dizolvat în prealabil 42 mg carbonat acid de sodiu (NaHCO₃). Se agită pentru dizolvare, se completează conținutul balonului la semn, cu apă distilată și se filtrează cu hârtie de filtru cu porozitate mare.

Soluția se păstrează într-un flacon de sticlă brună, la temperatura de 0 - 5° C, timp de max. 15 zile.

Etalonarea soluției de colorant indofenolic se face astfel: se iau, cu pipeta, 5 ml din soluția etalon de acid ascorbic (concentrație 1 mg/ml), se introduc într-un vas Erlenmeyer de 50 ml, se adaugă 5 ml soluție de extracție și se titrează repede cu soluție de colorant indofenolic până la apariția colorației roz deschis, care persistă 5 secunde.

Se repetă această operație și se înregistrează volumul soluției de colorant utilizat de fiecare dată, cu o precizie de 0,1 ml. Se calculează volumul mediu de soluție folosit la titrare.

Se efectuează o probă martor, înlocuindu-se cei 5 ml soluție etalon de acid ascorbic cu 5 ml soluție de extracție, procedându-se ca mai sus.

Se scade volumul soluției de colorant obținut la titrarea probei martor din volumul mediu al soluției de colorant utilizat la etalonarea colorantului.

Concentrația soluției de colorant indofenolic se exprimă în miligrame acid ascorbic la 1 ml soluție de 2, 6 - diclorfenolindofenol și este dată de formula $C = C_1/V$, în care:

C_1 - cantitatea de acid ascorbic aflată în 5 ml soluție etalon, în miligrame;

V - volumul soluției de 2, 6 - diclorfenolindofenol folosit la titrare, în mililitri (din care s-a scăzut volumul folosit la titrarea probei martor);

3. acid ascorbic, soluție etalon:

se cântăresc, cu precizie de 0,1 mg, 50 mg acid ascorbic, păstrat în prealabil într-un exicator, se transvazează cantitativ într-un balon cotat de 50 ml și se aduce la semn conținutul balonului cu soluție de extracție. Soluția conține 1 mg acid

ascorbic într-un mililitru. Soluția nu este stabilă și se prepară în momentul utilizării;

4. sulfat de cupru, soluție 1%;
5. albastru de metilen, soluție 0,05%;
6. indigocarmin, soluție 0,05%;
7. acid clorhidric, diluat 1 : 3.

Modul de lucru

Verificarea prezenței substanțelor interferente:

Dacă se presupune că în probă sunt prezente substanțe interferente ca fier, cupru, reductoni, compuși cu sulf, se procedează astfel: se adaugă două picături de albastru de metilen, soluție 0,05% în 10 ml amestec, conținând volume egale din soluția probei pentru analiză și din soluția de extracție și se agită pentru omogenizare. Dispariția colorației în 5 - 10 secunde indică prezența substanțelor interferente.

Staniul nu poate fi pus în evidență în modul descris mai sus, și în acest caz se procedează astfel: se adaugă 5 picături de indigocarmin, soluție 0,05% la 10 ml soluție pentru analiză, la care s-au adăugat 10 ml acid clorhidric diluat 1 : 3 și se omogenizează. Dispariția colorației în 5 - 10 secunde indică prezența staniului sau a altei substanțe interferente.

Extracția

În cazul produselor solide, semisolide și cu conținut solid-lichid, din proba pentru analiză, pregătită ca mai sus se cântăresc cu o precizie de 0,1 mg, 10 - 100 g (m_0) (în raport invers cu conținutul aproximativ de vitamină C a produsului respectiv), se introduc într-un mojar, în care se adaugă soluție de extracție, în așa fel încât, volumul soluției de extracție adăugat, în ml, să fie cuprins între 1 : 1 și 1 : 5 ori masa probei în grame și se mojarăază cât se poate de repede. Se trece cantitativ în balon cotat de 100 - 250 ml.

În cazul produselor lichide pregătite conform metodei descrise se iau cu pipeta 10 - 100 ml (V), se introduc într-un balon cotat de 100 - 250 ml (V_3), în care în prealabil s-a introdus o soluție de extracție, menținând raportul de 1 : 1 - 1 : 5.

Soluția obținută se filtrează, aruncând primii mililitri de filtrat.

Titrare

Într-un vas Erlenmeyer de 50 ml se introduc 5 - 10 ml (V_4) din extractul acid al probei și se titrează repede cu soluție de colorant indofenolic (V_0), agitând continuu, până la apariția colorației roz, care persistă minimum 5 secunde. Se efectuează două determinări paralele din aceeași probă.

În același mod se face și proba martor, în care proba de analizat a fost înlocuită cu același volum de soluție de extracție, și se titrează cu o soluție de colorant (V_1).

În cazul în care proba supusă analizei conține reductoni se procedează astfel: într-un vas Erlenmeyer de 50 ml se introduce cu pipeta același volum de extract acid al probei (V_4), la care se adaugă 1 ml de soluție de sulfat de cupru. Se omogenizează amestecul și se încălzește pe o baie de apă adusă la fierbere, timp de 10 minute. După răcire, proba se titrează cu o soluție de colorant indofenolic.

Calculul rezultatelor

Conținutul de acid ascorbic, exprimat în miligrame la 100 g produs, se calculează cu formula:

$$\text{Vit.C} = \frac{V_0 - (V_1 + V_2) \times V_3 \times C}{V_4 \times m_0} \times 100 \text{ (mg/100g)}$$

în care:

m_0 = masa probei luate pentru determinare (grame);

C = cantitatea de acid ascorbic corespunzătoare unui ml soluție de colorant indofenolic (miligrame);

V_0 = volumul soluției de colorant indofenolic folosit pentru titrarea probei (ml);

V_1 = volumul soluției de colorant indofenolic folosit pentru titrarea probei martor (ml);

V_2 = volumul soluției de colorant indofenolic folosit pentru titrarea reductonilor (ml);

V_3 = volumul la care a fost adusă proba luată pentru analiză (ml);

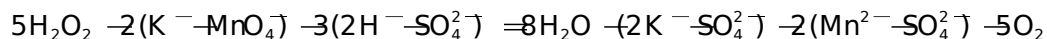
V_4 = volumul extractului acid al probei luate pentru analiză (ml).

13. Determinarea activității catalazei prin titrare permanganometrică

Principiul metodei

În analiză se ia o cantitate în exces de apă oxigenată, exces care se determină prin titrare cu permanganat de potasiu.

Ecuția după care are loc titrarea este următoarea:



Reactivi

1. apă oxigenată, soluție 1% proaspăt preparată din perhidrol și apă;
2. acid sulfuric, soluție 10%;
3. permanganat de potasiu, soluție 0,1 n;
4. extract vegetal cu catalază.

Modul de lucru

Se pipetează în două pahare Berzelius câte 20 ml extract de catalază. Una din probe se fierbe pentru inactivarea enzimei. După răcirea acesteia, în ambele probe se introduc câte 10 ml apă distilată și 3 ml apă oxigenată. Se lasă în repaus la temperatura camerei, timp de 30 minute. Se adaugă câte 5 ml acid sulfuric 10 % și se titrează cu soluția 0,1 n de permanganat de potasiu până la virajul colorației în roz pal. Se notează volumele de permanganat de potasiu utilizate la titrarea celor două probe: martor și cu catalază.

Calculul rezultatelor

Activitatea catalazei se exprimă în mg apă oxigenată descompusă în 30 minute.

V = ml permanganat de potasiu 0,1 n titrat la proba martor;

V_1 = ml permanganat de potasiu 0,1 n titrat la proba cu catalază;

f = factorul soluției de permanganat de potasiu.

1 ml KMnO_4 0,1 n, este echivalent cu 1 ml soluție H_2O_2 0,1 n.

1 ml soluție H_2O_2 conține 1,7 mg H_2O_2 .

Activitatea catalazei = $(V - V_1) \times f \times 1,7 = \text{mg } \text{H}_2\text{O}_2$ descompusă în timp de 30 minute.

BIBLIOGRAFIE

1. Artenie, V. – 1991, Biochimie, Ed. Universității Al. I. Cuza, Iași
2. Bodea, C., Fărcășanu, V., Nicoară, Elena, Slusanschi, H. – 1964-1968, Tratat de biochimie vegetală, Editura Academiei R.S.R., București, vol. I – V
3. Dumitru, I.F. – 1980, Biochimie, Ed. Didactică și Pedagogică, București
4. Ivas, Elena – 1993, Biochimie animală, centrul de multiplicare UAMV, Iași
5. Lehninger, A.L. – 1987, Biochimie, vol. I, Ed. Tehnică, București
6. Neamțu, G. – 1993, Biochimie vegetală, Ed. Didactică și Pedagogică, R.A., București
7. Neamțu, G. – 1997, Biochimie alimentară, Ed. Ceres, București
8. Popescu, O. – 1992, Biochimie, centrul de multiplicare UAMV, Iași
9. Savu, Maria – 1994, Biochimie vegetală, curs – uz intern, UAMV, Iași
10. Savu, Maria, Afusoae, Iulia, Nechita, Antoanela, Trofin, Alina, Marcu, I. – 2000, Biochimie vegetală, Lucrări practice, Iași

CUPRINS

MODUL I

Introducere

1. Glucide	2
1.1. Considerații generale	2
1.2. Oze (monoglucide, monozaharide)	2
1.3. Diholozide (dizaharide)	8
1.4. Poliozide (poliglucide)	9
Test de autoevaluare	10
Rezumat capitol 1	11
2. Lipide	12
2.1. Considerații generale	12
2.2. Constituenții chimici din structura lipidelor	12
2.3. Lipide simple	13
2.4. Lipide complexe	15
Test de autoevaluare	16
Rezumat capitol 2	16
3. Protide	17
3.1. Considerații generale	17
3.2. Aminoacizi	17

3.3. Peptide	21
3.4. Proteine	22
3.5. Heteroproteine	25
Test de autoevaluare	27
Rezumat capitol 3	27
Teme de verificare pentru modulul I	28

MODUL II

4. Acizi nucleici	29
4.1. Caracterizare generală	29
4.2. Componentele mononucleotidelor	29
4.3. Nucleotide	30
4.4. Polinucleotide (acizi nucleici)	31
Test de autoevaluare	32
Rezumat capitol 4	33
5. Vitamine	34
5.1. Definiție și clasificare	34
5.2. Vitamine liposolubile	34
5.3. Vitamine hidrosolubile	35
Test de autoevaluare	38
Rezumat capitol 5	38
6. Enzime	39
6.1. Considerații generale	39
6.2. Natura și structura chimică a enzimelor	39
6.3. Specificitatea enzimelor	40
6.4. Factorii care influențează viteza reacțiilor enzimatic	40
6.5. Nomenclatura și clasificarea enzimelor	41
6.6. Prezentarea principalelor clase de enzime	42
Test de autoevaluare	45
Rezumat capitol 6	46
Teme de verificare pentru modulul II	47

MODUL III

7. Metabolism	48
7.1. Considerații generale	48
7.2. Procese generale în anabolism	48
7.3. Procese generale în catabolism	49
7.4. Metabolismul intermediar al glucidelor	52

MODUL IV – Lucrări practice

1. Acizii organici din plante. Forme de aciditate	57
2. Oze (monoglucide)	58
3. Oligozide	62
4. Dozarea glucidelor reducătoare prin metoda iodometrică	65
5. Determinarea polarimetrică a amidonului prin metoda Ewers – Grossfeld	66
6. Analiza calitativă a gliceridelor	67
7. Determinarea indicilor ce caracterizează lipidele	68
8. Reacții calitative pentru aminoacizi	72
9. Metoda Sorensen de dozare a aminoacizilor	74
10. Analiza calitativă a proteinelor	75
11. Dozarea azotului total și a proteinei brute	81

12. Dozarea acidului ascorbic (vitaminei C)	84
13. Determinarea activității catalazei	86
Bibliografie	88
Cuprins	89