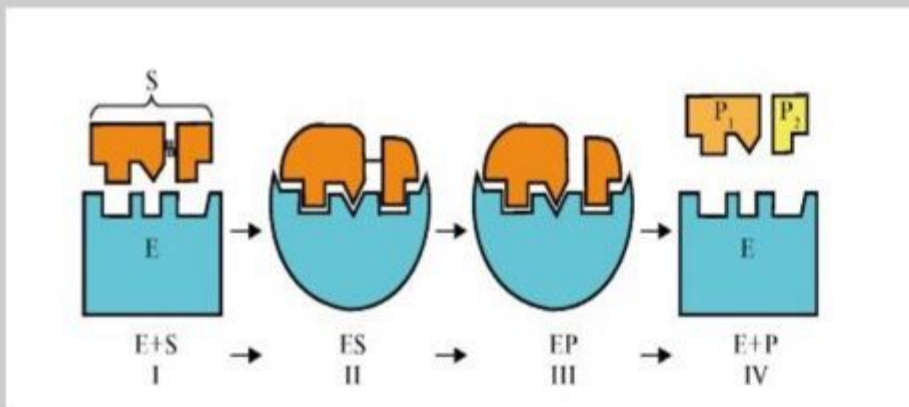


# Ферментотивные методы анализа

Выполнил студент: 16-ТПМ-13

•Миненко П.



**Ферментативный анализ** представляет собой один из основных аналитических инструментов в международной и отечественной практике научных исследований, современного производственного и сертификационного контроля качества пищевых продуктов.

Методологическую основу ферментативного анализа составляют:

природные биохимические механизмы процесса обмена веществ, отдельные реакции которого воспроизводятся с большой точностью в искусственных условиях с целью количественного определения субстратов в монопродуктах или продуктах со сложным составом.

*В качестве субстратов выступают соединения природного происхождения (например, сахара, органические кислоты и их соли, спирты и др.)*

Основными преимуществами применения ферментативных методов в научных исследованиях, при разработке новых пищевых технологий и биотехнологических процессов, а также при анализе качества продуктов питания и пищевого сырья являются:

- **Высокая специфичность и достоверность результатов.**
- **Точность.**
- **Высокая чувствительность метода.**
- **Уровень экономических затрат при внедрении и использовании.**
- **Простые способы подготовки проб, которые исключают потерю исследуемых компонентов.**

Также к преимуществам ферментативных методов анализа можно отнести **универсальность применения, высокую надежность и устойчивость к мешающим факторам, низкие затраты на проведение анализа (время, оборудование, расходуемые материалы), а также использование безопасных реактивов.**

*Таблица 1 – Виды специфичности ферментов*

Специфичность ферментов	Примеры
Абсолютная	Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа
Стерео	L-лактатдегидрогеназа D-лактатдегидрогеназа
Групповая	$\beta$ -фруктозидаза
Менее специфичные	Гексокиназа

Таблица 4 – Точность ферментативных методов

Ожидаемое вещество	Относительное стандартное отклонение IR (коэффициент вариации VK), %	Число определений (для серии – n, для отдельных определений – m)
Ацетальдегид	0,77 – 1,29	n=12
L-Аскорбиновая к-та	0,64 – 2,76 1,66 – 1,81	n=16 m=10
Лактоза	0,42 – 1,01	n=5
Холестерин	0,80 – 1,46	n=18
D-Глюкоза	0,38 – 1,57	n=5
D-Фруктоза	0,57 – 1,52	n=5

*Таблица 5 – Затраты времени на проведение ферментативного определения ряда соединений*

Определяемое вещество	Затраты времени, мин	
	На одно определение (включая подготовку пробы к анализу)	Непосредственно на анализ
Ацетальдегид	10-15	5-10
L-Яблочная кислота	15-20	5-10
L-Аскорбиновая кислота	30-40	10
Холестерин	70	5
Лимонная кислота	15	5
Уксусная кислота	20-25	5-10

В конце реакции (через определенный промежуток времени) повторно измеряют оптическую плотность тестовой системы. Из разницы оптических плотностей в начале и в конце реакции **по уравнению закона Ламберта — Бера** рассчитывают концентрацию  $C$  (г/л) искомого соединения:

$$C = V * M * W * \Delta E * F / \varepsilon * d * v * 100$$

$\Delta E$  — разница начальной и конечной оптических плотностей;

$V$  — общий объем реакционной смеси, мл;

$MW$  — молекулярная масса искомого соединения, г/моль;

$F$  — фактор разведения пробы;

$\varepsilon$  — молярный коэффициент экстинкции (например, кофермента НАДФ / НАД при  $\lambda = 340$  нм,  $\varepsilon = 6,3$  л/ммоль · см);

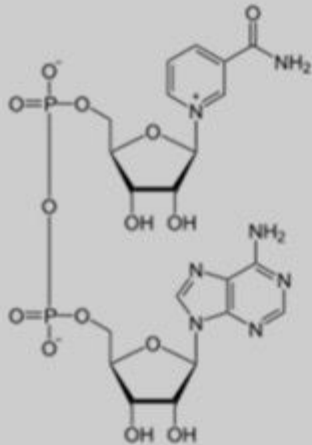
$d$  — толщина кюветы, см;

$v$  — объем пробы, добавляемый в кювету, мл.

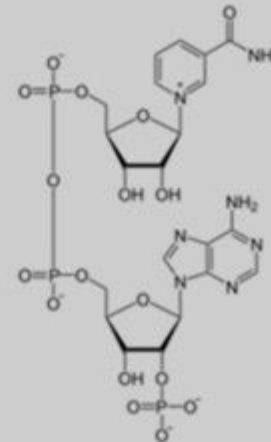


NADH(никотинамидадениндинуклеотид) - это **кофермент, присутствующий во всех живых клетках**. В обменных процессах он участвует в окислительно-восстановительных реакциях. (никотинамидадениндинуклеотидфосфат) имеет дополнительную фосфатную группу в положении 2' кольца рибозы и его химия схожа с химией NAD<sup>+</sup>/NADH.

NADH



NADPH



Количество восстановленных или окисленных коферментов **прямо пропорционально** количеству искомого соединения. Система конечных значений с фотометрическим измерением результата **настолько надежна, что служит в качестве стандарта для оценки других методик**.