

Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение
«Частинская средняя общеобразовательная школа»
Пермский край

**Изучение влияния продуктов питания,
содержащих консерванты, на активность
каталазы**

Выполнила:

Панькова Мария Александровна
ученица 11 класса

Руководитель:

Панькова Светлана Васильевна
учитель химии и биологии
МБОУ «Частинская средняя
общеобразовательная школа»

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	3
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	5
ГЛАВА 1 Ферменты.....	5
1.1. Ферменты: свойства ферментов, классификация ферментов, работа ферментов.....	5
1.2. Фермент каталаза	6
Глава 2 Пищевые добавки. Консерванты	7
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.....	9
ГЛАВА 3. Материалы и методы исследования.....	9
3.1. Объекты исследования.....	9
3.2. Изучение активности каталазы	11
3.2.1 Методика исследования: методика получение ферментной вытяжки каталазы из клубней картофеля, приготовление раствора исследуемого пищевого продукта, методика измерения активности каталазы.....	11
3.2.2. Изучение активности каталазы в присутствии пищевых продуктов, содержащих пищевые добавки, в том числе консерванты или без консервантов.....	12
3.2.2.1. Получение ферментной вытяжки каталазы из клубней картофеля.	12
3.2.2.2 Изучение активности каталазы в присутствии пищевых продуктов, содержащих пищевые добавки, в том числе консерванты или без консервантов.....	13
ГЛАВА 4 Статистическая обработка материалов	18
ВЫВОДЫ.....	21
ЛИТЕРАТУРА.....	22
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	23

ВВЕДЕНИЕ

Наиболее важными соединениями, которые входят в состав живых организмов, являются белки (протеиды). Белки служат основой всего живого на нашей планете. Эти органические вещества играют огромную биологическую роль, являясь тем основным веществом, из которого построены клетки животного организма. Белки участвуют в важнейших процессах живого организма – обмене веществ, размножении, росте организма, работе мышц, желез [1].

В основе всех жизненных процессов лежат тысячи химических реакций. Они идут в организме в мягких условиях без применения высокой температуры и давления. Вещества, которые окисляются в клетках человека и животных, сгорают быстро и эффективно, обогащая организм энергией и строительным материалом. Возможность быстрого переваривания продуктов в живом организме осуществляется благодаря присутствию в клетках особых биологических катализаторов – ферментов [10].

Эликсиры были для алхимиков средневековья теми магическими субстанциями, которые облагораживают, продлевают жизнь, способны излечить любую болезнь. Современная наука не только покончила с «волшебными напитками», но и начала изучение истинных действующих начал «эликсиров жизни», то есть ферментов [14]. Роль их в жизнедеятельности животных, растений и микроорганизмов огромна. Складываясь в единый ансамбль саморегулируемых биохимических процессов, ускоряемые ферментами реакции преобразования веществ составляют материальную и энергетическую основу непрерывного самообновления белковых тел – самой сущности жизни [9]. Во взаимодействии с ферментами становятся активными витамины, гормоны и микроэлементы. Они используются при лечении нарушений пищеварения, тромбозов, для заживления ран. В пищеварительных соках содержатся десятки ферментов: липазы, разлагающие жиры на глицерин и органические кислоты; протеазы... По мере того как пища проходит по желудочно-кишечному тракту, одни ферменты дробят сложные молекулы на мелкие кусочки, другие помещают эти «кирпичики» на клеточные «склады сырья», третьи строят из них вещества, необходимые организму [17].

Долгая жизнь, молодость человеческого тела, силы – с возрастом всё это ощущается всё меньше и меньше. Это происходит ещё и потому, что количество ферментов в нашем организме изменяется, вследствие этого идет нарушение важных для организма процессов [14]. Ферменты позволяют целенаправленно выделять вещества из смеси сотен различных соединений и определять их количество [7]. Ферменты влияют на скорость превращения различных веществ. Но и на ферменты влияют некоторые вещества, резко изменяя их активность. Вещества, которые повышают активность ферментов, активизируют их, называются активаторами, а угнетающие их – ингибиторами. Ингибиторы могут подействовать на

фермент необратимо. После их действия фермент уже никогда не может катализировать свою реакцию, так как его структура будет сильно изменена. Так действуют на фермент соли тяжелых металлов, кислоты, щелочи [7].

При производстве продуктов питания в настоящее время используются разнообразные пищевые добавки: красители, антиокислители, консерванты, стабилизаторы, ароматизаторы, эмульгаторы.

Гипотеза: *продукты питания, содержащие консерванты, могут угнетать активность каталазы.*

Объект исследования: *фермент каталаза.*

Предмет исследования: *ферментативная активность.*

Цель: *изучение влияния на активность каталазы продуктов питания, содержащих консерванты.*

Задачи:

1. Изучить по данным литературы материал о ферменте каталаза, пищевых добавках и консервантах, используемых в производстве продуктов питания,
2. Провести исследования активности каталазы в присутствии продуктов питания, содержащих пищевые добавки, в том числе консерванты, и продуктов питания без консервантов.
3. Обработать результаты статистически.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

ГЛАВА 1. Ферменты

1.1. Ферменты

Ферменты (от лат. fermentum - брожение, закваска), специфические белки, присутствующие во всех живых клетках и играющие роль биологических катализаторов.

Ферменты бывают простыми или сложными белками, в состав которых наряду с белковым компонентом (апоферментом) входит небелковая часть - кофермент. Белковая часть и небелковая в отдельности лишены ферментной активности. В белковой части ферменты содержат уникальные по своей структуре активные центры, которые взаимодействуют с молекулой субстрата с образованием фермент-субстратного комплекса, который распадается на фермент и продукт реакции [11,16,10]. Различают два типа катализаторов: считалось, что собственно ферменты неотделимы от клетки и вне ее не могут функционировать, т. е. они «организованы». А «неорганизованные» катализаторы, которые могут работать вне клетки, называли энзимами [10].

Свойства ферментов

Важнейшим свойством ферментов является преимущественное ускорение одной из нескольких теоретически возможных реакций. Это позволяет субстратам выбрать наиболее выгодные для организма цепочки превращений из целого ряда возможных путей. В зависимости от условий ферменты способны катализировать как прямую, так и обратную реакции.

Другое свойство ферментов – высокая чувствительность к изменениям температуры. Для большинства из них температура выше 70°C приводит к денатурации и потере активности. При температурах, близких к 0°C, скорость ферментативных реакций замедляется до минимума. Это свойство широко используется в различных отраслях народного хозяйства, особенно в сельском хозяйстве и медицине. Для большинства же ферментов температурный оптимум близок к 35–45 °С.

Одним из важнейших свойств белков-ферментов является их чувствительность к реакции среды, концентрации водородных ионов или гидроксид-ионов. Ферменты активны только в узком интервале кислотности или щелочности среды (рН).

Следующим важным свойством является специфичность действия фермента. Каталаза расщепляет только пероксид водорода, уреазы – только мочевины $\text{H}_2\text{N}-\text{CO}-\text{NH}_2$, то есть фермент катализирует превращение только одного субстрата, только его молекулу он «узнает». Такая специфичность считается абсолютной. Если фермент катализирует превращение нескольких субстратов, имеющих одинаковую функциональную группу, то такая специфичность называется групповой. Разновидностью специфичности является чувствительность фермента только к одному изомеру – стерео - химическая специфичность [10,12].

Классификация ферментов

Все ферменты разделены на шесть основных классов в соответствии со специфичностью их действия [9].

1. Оксидоредуктазы катализируют восстановительные и окислительные реакции.

2. Трансферазы осуществляют перенос той или иной химической группы от одного субстрата к другому.

3. Гидролазы катализируют гидролитическое расщепление химических связей субстратов.

4. Лиазы отщепляют химические группы с образованием двойных связей или, напротив, присоединяют определённые химические группы к двойным связям.

5. Изомеразы катализируют изменения в пределах молекулы субстрата.

6. Лигазы катализируют соединения молекул субстрата с использованием высокоэнергетических соединений

7. Синтетазы – ферменты, катализирующие реакции синтеза, например синтез пептидов из аминокислот [8,10,13].

Работа ферментов

Ферменты представляют собой большие молекулы, тогда как размеры молекул веществ (субстратов), реагирующих под влиянием ферментов, обычно в сотни и тысячи раз меньше. Такое соотношение размеров показывает, что фермент взаимодействует с субстратом каким-то небольшим участком своей поверхности – так называемым активным центром. Этот участок имеет определенную геометрическую форму, которая соответствует молекуле субстрата, как ключ замку. Когда «ключ вставляется в замок», образуется комплекс субстрата с ферментом. В таком комплексе молекула субстрата более реакционноспособна, чем в свободном состоянии. Энергия, которую необходимо затратить для осуществления химической реакции, понижается, и реакция проходит быстрее. Специфичность фермента определяется тем, насколько поверхность его активного центра соответствует поверхности субстрата [2]. Ферментативные реакции протекают с очень высокой скоростью, практически со 100%-ным выходом, без существенных затрат энергии и без образования побочных продуктов [3].

1.2. Фермент каталаза

Каталаза – это фермент, являющийся катализатором в реакции разложения перекиси водорода, при которой образуются вода и молекулярный кислород:

$H_2O_2 + H_2O_2 = O_2 + 2H_2O$. Биологическое значение каталазы заключается именно в разложении перекиси водорода, которая образуется в клетках при воздействии ряда флавопротеиновых оксидаз, чем обеспечивается действенная защита клеточных структур от разрушения, которое осуществляет перекись водорода [13,18]. Перекись водорода является сильным окислителем и в крови может вызывать гемолиз эритроцитов [20].

Этот фермент широко распространен в тканях животных и растений и в микроорганизмах. Содержание каталазы в печени и эритроцитах млекопитающих составляет 0,1–0,2%, в отдельных штаммах микроорганизмов – до 5% сухого веса. Фермент полностью отсутствует у некоторых анаэробных микроорганизмов. В растениях фермент присутствует в небольших количествах [19].

Каталаза, относящаяся к классу оксидоредуктаз, содержится в животных и растительных тканях и включает железо в составе геминовой простетической группы. Фермент проявляет высокую активность: одна молекула каталазы разлагает до 5 млн. молекул перекиси водорода в минуту при 0°C. Максимальная активность фермента обнаруживается в интервале от 0° до 10°C. Оптимальное значение рН действия лежит в пределах 6,0–8,0 единиц [5].

Активность каталазы ингибируется цианидом, фторидом, сульфидом, ацетатом. Каталаза быстро инактивируется в растворе при рН больше 10,0 и меньше 4,0 и в присутствии высоких концентраций мочевины или других вызывающих разрыв водородных связей агентов. Инактивация фермента связана с образованием каталитически неактивных субъединиц [19].

Глава 2. Пищевые добавки. Консерванты.

Пищевые добавки применяют пищевики всех стран мира. Термином «пищевые добавки» обозначают природные, идентичные природным или синтетические химические соединения, которые специально добавляют в пищевой продукт по ходу технологического процесса для достижения определенного эффекта [11].

Одни добавки способствуют сохранению продукта (консерванты), другие придают аромат (ароматизаторы), третьи нужную окраску (красители). Антиокислители защищают от окисления, стабилизаторы сохраняют заданную консистенцию [6]. На пищевых товарах такие добавки маркируются буквой Е и обозначаются трехзначным числом. (Приложение 1) [15].

Консерванты – это вещества, обладающие антисептическими свойствами. По методу воздействия консерванты подразделяются на те, что непосредственно воздействуют на бактерии, угнетая их жизнедеятельность, и те, что видоизменяют среду (вливают на кислотность, регулируют концентрацию кислорода и т.д.), благодаря чему также добиваются уничтожения микроорганизмов [21].

На консерванты как пищевые добавки возложены две задачи:

- сохранение пищевого продукта, предотвращение его порчи – снижение экономических потерь;
- обеспечение безопасности пищевых продуктов путем недопущения или предотвращения развития в них микроорганизмов [11].

Сейчас широко используются:

Сорбиновая кислота (Е200). Сорбиновую кислоту применяют как в свободном виде, так и в виде калиевой (Е202), натриевой (Е201) и

кальциевой (E203) солей. Максимальное содержание этих консервантов составляет от 0 до 0,2%. Эти соединения используют в майонезах, сырах, мясопродуктах, маринованной, соленой и свежей рыбной продукции, овощных смесях, фруктовых напитках и кондитерских продуктах [11].

Бензойная кислота (E210). Применение: находит как сама бензойная кислота, так и ее натриевая (E211), калиевая (E212) и кальциевая (E213) соли. Бензойная кислота и ее соли давно разрешены в большинстве стран для консервирования многих пищевых продуктов. Предельно допустимая концентрация составляют от 0,15 до 0,25% [11].

Диоксид серы (E220). Диоксид серы, а также гидросульфиты натрия (E222) и кальция (E227), пиросульфиты натрия (E223) и калия (E224), сульфиты калия (E225) и кальция (E226) и гидросульфит калия (E228) разрешены практически во всех странах для консервирования многих продуктов питания (в основном растительных). Используемая концентрация для продуктов, непосредственно употребляемых в пищу, не превышает 100 мг/кг [11].

Муравьиная кислота (E236). Муравьиная кислота, формиаты натрия (E237) и кальция (E238) пока разрешены в некоторых европейских странах для консервирования отдельных видов пищевых продуктов, главным образом соков. Проект будущего законодательства Европейского сообщества не предусматривает их использования [11].

Уксусная кислота (E260). Уксусную кислоту и ацетат калия (E261i) применяют в качестве консервантов для майонезов, салатных заправок и маринованной рыбной продукции, в овощной продукции и выпечке. E260 имеет большое значение и как вкусовая добавка [11].

Молочная кислота (L-, D- и DL-) (E270). Молочная кислота принадлежит к самым старым из известных консервантов. Недавно было предложено использовать саму кислоту и ее соли как консерванты для мясных и колбасных изделий [11].

Пищевые добавки являются небезопасными для здоровья, некоторые являются аллергенами, другие вызывают заболевания желудочно-кишечного тракта, печени, почек, желудка. Есть добавки, вызывающие злокачественные опухоли, поэтому некоторые из них являются запрещенными к применению Роспотребнадзором Минздрава РФ:

- красители E₁₂₁, E₁₂₃, E₁₂₈, Красный 2G (red 2G), E₁₇₃;
- консерванты E₂₁₆, E₂₁₇, E₂₄₀;
- улучшители муки и хлеба E_{924a} и E_{924b}.

(Приложение 2) [11].

Если пищевые добавки способствуют заболеванию разных органов человека, возможно одной из причин этого является влияние пищевых добавок, в том числе и консервантов, на работу ферментов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ
ГЛАВА 3.МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
3.1.Объекты исследования

Для исследования активности каталазы в магазинах с. Частые купили продукты, содержащие различные пищевые добавки, в том числе консерванты и без консервантов. Данные состава продуктов приведены в таблице 1.

Таблица 1

Состав исследуемых продуктов питания

Название продукта	Состав продукта
Продукты с консервантами	
1. Шоко-Браун Шоколадный десерт	Кондитерская глазурь (сахар, заменитель масла какао (пальмовое масло, эмульгаторы E ₄₉₂ , соевый E ₃₂₂ , какао-порошок, соль, ароматизатор «Ванилин»), сахар, патока, мальтодекстрин, заменитель молочного жира, антиокислитель E ₃₀₆ , молоко сухое цельное, агент желирующий пектин, продукты яичные, соль, регуляторы кислотности E ₃₃₀ , консервант E202 , ароматизаторы: «масло-сливки», «Ванилин».
2.Зефир «Жизель» глазированный с ароматом ванили	Сахар, глазурь кондитерская (сахар, заменители какао-масла), какао-порошок, эмульгаторы (лецитин соевый, E ₄₇₆), соль, патока крахмальная, пюре яблочное (пюре яблочное, консерванты: сорбат калия, бензоат натрия), вода, агент желирующий пектин, белок яичный сухой, регуляторы кислотности лимонная кислота, ароматизатор «Ваниль», консервант сорбат калия .
3. ТираМиссО Итальянское суфле-конфетки	Сахар, кондитерская глазурь (сахар, заменитель масла какао), какао-порошок, соль, ароматизатор «Ванилин», патока, заменитель молочного жира, молоко сухое цельное, агент желирующий агар E ₄₀₆ , продукты яичные, краситель E _{159d} , соль, ароматизаторы «Кофе», «Ванилин», консервант E202 , регулятор кислотности E ₃₃₀ .
4. Дель суфле на сливочном масле	Сахар, патока, жир кондитерский (рафинированное дезодорированное растительное масло), цельное сгущенное молоко с сахаром, какао-продукты (какао-порошок, какао тертое) эквивалент мала какао (растительные масла - пальмовое и ши), сливочное масло (пастеризованные сливки) белок яичный, желирующий агент – агар, эмульгатор – соевый лецитин, консервант – сорбиновая кислота , ароматизаторы – ванилин, ванильный.
5.Райские облака Суфле три шоколада	Сахар, патока, жиры растительные, молоко цельное сгущенное с сахаром, какао-порошок, влагоудерживающий агент – сорбитовый сироп, какао тертое, масло сливочное, белок яичный сухой, комплексная пищевая добавка агар (агар, декстроза), консервант – сорбиновая кислота , эмульгаторы: лецитин соевый, E ₄₇₆ , ароматизаторы, комплексная пищевая добавка (альфа-Токоферол, сорбиновая кислота).
6. Печенье сдобное Шарлиз	Патока крахмальная, сахар – песок, вода питьевая, кондитерская глазурь (сахар, эквивалент масла какао (средняя фракция пальмового масла, стерин ши), регулятор кислотности – лимонная кислота E ₃₃₀), какао – порошок, какао тертое,

	эмульгатор лецитин соевый E ₃₂₂ , эмульгатор E ₄₇₆ , ароматизатор «Ванилин», мука пшеничная хлебопекарная высшего сорта, продукты яичные сухие,: меланж, крахмал кукурузный, масло подсолнечное, желирующий агент: пектин, эмульгаторы E ₄₇₁ , консервант сорбат калия E₂₀₂ , загуститель глицерин, сок апельсина, разрыхлители: карбонат аммония и гидрокарбонат аммония, гидрокарбонат натрия, ароматизатор пищевой апельсин, соль поваленная, краситель натуральный «Каротин».
7.Зефир «Белорозовый»	Сахар – песок, пюре яблочное (пюре яблочное, консервант – сорбиновая кислота), патока крахмальная, Вода питьевая, Желеобразователь – пектин яблочный, белок яичный сухой, регулятор кислотности кислота молочная, ароматизатор «Ванилин», «Клубника», краситель пищевой «Кармин».
8. Напиток безалкогольный сильногазированный низкокалорийный Pepsi Wild Cherry	Вода, краситель E _{150d} , подсластители E ₉₅₀ , E ₉₅₁ , ароматизатор, регулятор кислотности E ₃₃₀ , консервант E₂₀₂ , кофеин
9. Напиток безалкогольный среднегазированный БУРАТИНО	Артезианская вода, регулятор кислотности лимонная кислота, подсластители (цикламат натрия, аспартам, натриевая соль сахарина), ароматизатор, краситель E _{150d} , консервант бензоат натрия
10.FRESH Lime напиток с кусочками лайма	Подготовленная вода, сахар, сок лайма с мякотью концентрированный замороженный, лимонная кислота E ₃₃₀ (регулятор кислотности), комплексная пищевая добавка, ароматизатор «мята», консерванты: сорбат калия E₂₀₂, бензоат натрия E₂₂₁
Продукты без консервантов	
1. Зефир ванильный	Сахар, патока, пюре яблочное, желирующий агент пектин, белок сухой яичный, кислота молочная (регулятор кислотности), влагоудерживающий агент лактат натрия, ароматизатор натуральный «Ваниль».
2.Пастила с кусочками мармеладом	Сахар, вода, патока, пюре яблочное, желирующий агент агар, регуляторы кислотности: лимонная кислота, молочная кислота, белок яичный сухой, красители: кармины, медные комплексы хлорофиллинов, ароматизатор «Ваниль»
3. Печенье Юбилей золотых полей	Мука пшеничная в/с, сахар, растительные масла, вода питьевая, продукт яичный сухой (меланж), соль поваренная, разрыхлители гидрокарбонат натрия (пищевая сода), карбонат аммония, молоко сухое обезжиренное, ароматизатор «Концентрированное молоко», регулятор кислотности лимонная кислота E ₃₃₀ , антиокислитель E ₃₀₆ .
4.Сок ЯБЛОКО	Яблочное пюре, яблочный сок, сахар, регулятор кислотности лимонная кислота, вода.
5.Шоколадные конфеты Родные просторы	Сахар, какао тертое, вафельная крошка с какао, какао-порошок, продукты яичные, соль, разрыхлитель (гидрокарбонат натрия), сыворотка молочная сухая, эквивалент масла какао (масла пальмовое, ши), какао-порошок с пониженным содержанием жира, фундук жареный тертый, молочный жир, эмульгатор (соевый лецитин, E ₄₇₆), ароматизатор (фундук).

3.2. Изучение активности каталазы

Активность каталазы измеряется манометрическим методом, который основан на измерении объема кислорода, выделившегося при воздействии фермента на субстрат.

3.2.1 Методика исследования

Методика получение ферментной вытяжки каталазы из клубней картофеля

Приготовить навеску 1г очищенного клубня картофеля и тщательно растереть в охлажденной льдом ступке, добавить 0,3г мела и 5-10 мл дистиллированной охлажденной воды. Затем полученный гомогенат ткани разбавить охлажденной дистиллированной водой из расчета 30-50 мл на 1г картофеля. Полученный раствор (ферментную вытяжку) после отстаивания слить для отделения от растительных остатков, измерить объем в мерной посуде и хранить в стеклянном стаканчике или колбе на холоде [5].

Приготовление раствора исследуемого пищевого продукта

Пищевой продукт растворить в 50 мл дистиллированной воды (рис. 1).



Рис. 1. Приготовление раствора исследуемого пищевого продукта

Методика измерения активности каталазы

Для определения активности каталазы пользуются прибором, который состоит из каталазника 1, бюретки 5 на 50 мл и стеклянной груши 4 или воронки, соединенных каучуковыми трубками и стеклянным тройником 2. Каучуковая трубка на свободном конце тройника снабжена зажимом 3. В штативе закреплена бюретка и стеклянная груша 4. Их заполняют дистиллированной водой до половины объема (рис. 2,3).

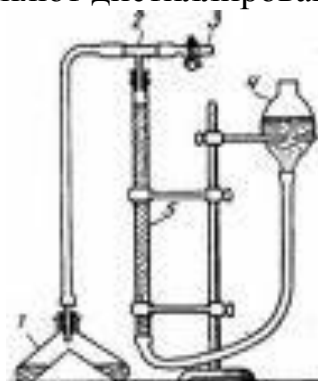


Рис. 2. Прибор для определения активности каталазы

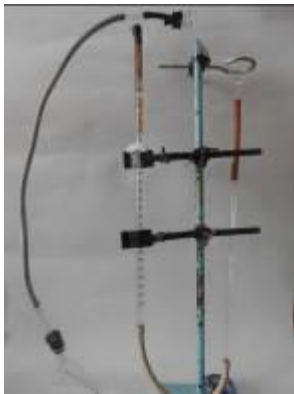


Рис. 3. Прибор для определения активности каталазы

В одно колено каталазника поместить 3 мл ферментной вытяжки, а в другое 3 мл раствора перекиси водорода (субстрата). Присоединить каталазник к прибору, установить нулевую точку жидкости в бюретке. Быстро слить и перемешать растворы в одном из колен каталазника и через определенное время (через каждую минуту или 5 мин) отмечать объем кислорода, который выделяется в процессе ферментативной реакции. Активность фермента выразить в объеме кислорода (мл), выделившегося за 1 мин (5 мин), в расчете на 1г сырой растительной ткани по формуле:

$$A = \frac{\text{Объем O}_2 * \text{общий объем ферментативной вытяжки (мл)}}{\text{Время (мин)} * \text{объем ферментативной пробы (3мл)}}$$

Добавить в одно из колен каталазника 1мл того или иного ингибитора непосредственно перед перемешиванием перечисленных выше растворов (опытные пробы).

Ферментативную активность нужно сравнивать с контрольными пробами, в которые вместо растворов солей-ингибиторов добавляется 1 мл дистиллированной воды, чтобы общие объемы проб контроля и опыта были одинаковыми [5].

3.2.2. Изучение активности каталазы в присутствии пищевых продуктов, содержащих пищевые добавки, в том числе консерванты или без консервантов

3.2.2.1. Получение ферментной вытяжки каталазы из клубней картофеля

Взвешивала 1г очищенного клубня картофеля (рис.4).



Рис. 4. Взвешивание клубня картофеля

Тщательно растирала навеску в охлажденной снегом ступке (рис. 5).



Рис. 5. Измельчение навески клубня картофеля

Добавляла 0,3г мела и 10 мл дистиллированной охлажденной воды (рис. 6,7).



Рис. 6. Взвешивание мела



Рис. 7. Добавление дистиллированной воды

Затем полученный гомогенат ткани разбавляла 50мл охлажденной дистиллированной воды. Полученный раствор (ферментную вытяжку) после отстаивания сливала для отделения от растительных остатков, измеряла объём и хранила в стеклянном стаканчике в снегу (рис. 8,9).



Рис. 8. Измерение объема ферментной вытяжки



Рис. 9. Хранение в снегу ферментной вытяжки каталазы

3.2.2.2. Изучение активности каталазы в присутствии пищевых продуктов, содержащих пищевые добавки, в том числе консерванты или без консервантов

Для исследования собрала прибор. В одно колено каталазника пипеткой наливала 3 мл ферментной вытяжки (рис.10).



Рис. 10. Отбор ферментативной вытяжки каталазы из клубней картофеля
В другое колено каталазника наливала 3 мл раствора перекиси водорода (субстрата) (рис. 11).



Рис. 11. Отбор перекиси водорода для исследований
Добавляла в контрольный 1мл дистиллированной воды, а в опытные растворы продуктов питания с консервантами или без консервантов (рис. 12).



Рис. 12. Добавление к перекиси водорода раствора пищевого продукта
Присоединяла каталазник к прибору, устанавливала нулевую точку жидкости в бюретке. Быстро сливала и перемешивала растворы в одном из колен каталазника. Через каждые 5 мин в течение 20 мин отмечала объем кислорода, который выделяется в процессе ферментативной реакции (рис. 13, 14, 15).



Рис. 13. Подготовленный к исследованию каталазник



Рис.14. Присоединение каталазника к прибору

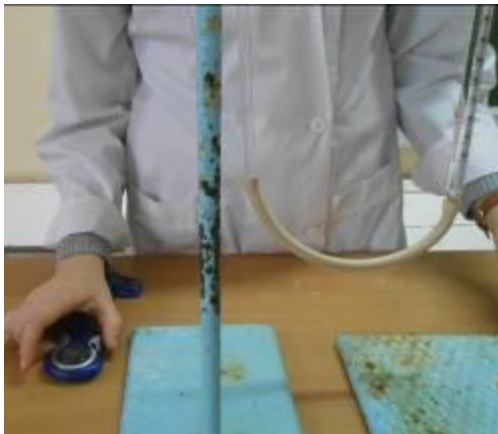


Рис. 15. Регистрация данных



Активность фермента рассчитала по формуле:

$$A = \frac{\text{Объем } O_2 * \text{общий объем ферментной вытяжки (мл)}}{\text{Время (мин) * объем ферментной пробы (3мл)}}$$

Исследована активность каталазы в присутствии 10 продуктов питания с консервантами и 5 продуктов без консервантов. Данные приведены в таблицах 1, 2.

Таблица 1

Активность каталазы в присутствии кондитерских продуктов питания

	Проба	5мин V(O ₂)мл	10мин V(O ₂)мл	15мин V(O ₂)мл	20мин V(O ₂ мл)	A мл/мин
Контроль	1	1,7	2,6	3,4	4,0	3,67
	2	1,6	2,7	3,7	4,1	3,76
	3	1,5	2,6	3,5	3,8	3,48
	Среднее	1,60	2,63	3,53	3,97	3,64
Продукты с консервантами						
1. Шоко-Браун Шоколадный десерт	1	0,5	1,0	1,2	1,5	1,38
	2	0,5	1,1	1,2	1,4	1,28
	3	0,4	1,0	1,1	1,6	1,47
	Среднее	0,47	1,03	1,67	1,50	1,38
2. Зефир «Жизель» глазированный с ароматом ванили	1	0,8	1,3	1,5	1,9	1,40
	2	0,5	1,0	1,1	1,4	1,28
	3	0,6	1,3	1,4	1,7	1,56
	Среднее	0,63	1,2	1,33	1,67	1,53
3. ТираМиссо Итальянское суфле- конфетки	1	0,3	0,8	1,0	1,2	1,10
	2	0,3	0,9	1,2	1,4	1,28
	3	0,3	0,8	1,1	1,4	1,28
	Среднее	0,3	0,83	1,10	1,33	1,22
4. Дель суфле на сливочном масле	1	0,2	0,7	1,1	1,5	1,38
	2	0,4	0,9	1,2	1,6	1,47
	3	0,2	0,4	0,9	1,5	1,38
	Среднее	0,27	0,67	1,07	1,53	1,40
5. Райские облака Суфле три шоколада	1	0,2	0,7	1,1	1,4	1,28
	2	0,4	0,8	1,3	1,5	1,38
	3	0,1	0,5	1,0	1,2	1,10
	Среднее	0,23	0,67	1,13	1,37	1,26
6. Печенье сдобное Шарлиз	1	0,3	0,6	1,1	1,4	1,28
	2	0,5	0,7	1,3	1,6	1,46
	3	0,5	0,7	1,3	1,7	1,56
	Среднее	0,43	0,67	1,23	1,57	1,44
7. Зефир «Бело- розовый»	1	0,3	0,6	0,8	1,0	0,92
	2	0,3	0,5	0,8	1,1	1,01
	3	0,5	0,8	1,1	1,3	1,19
	Среднее	0,37	0,63	0,90	1,13	1,04
8. Напиток безалкогольный сильногазированный низкокалорийный Pepsi Wild Cherry	1	0,4	0,7	0,9	1,2	1,10
	2	0,2	0,5	0,8	1,0	0,92
	3	0,2	0,5	0,7	1,1	1,01
	Среднее	0,27	0,57	0,8	1,10	1,01
9. Напиток безалкогольный среднегазированный БУРАТИНО	1	0,5	0,9	1,2	1,5	1,38
	2	0,6	0,8	1,4	1,7	1,56
	3	0,5	1,0	1,8	2,1	1,93
	Среднее	0,53	0,90	1,47	1,77	1,62
10. FRESH Lime напиток кусочками лайма	1	0,4	0,5	0,7	1,0	0,92
	2	0,2	0,5	0,6	0,9	0,83
	3	0,4	0,6	0,8	1,1	1,01
	Среднее	0,33	0,53	0,70	1,00	0,92

<i>Продукты без консервантов</i>						
<i>1. Зефир ванильный</i>	1	1,2	2,0	2,4	2,8	2,57
	2	1,5	2,3	2,7	3,1	2,84
	3	1,5	2,4	2,9	3,1	2,84
	Среднее	1,40	2,23	2,67	3,00	2,75
<i>2. Пастила с кусочками мармеладом</i>	1	0,6	1,3	2,2	2,7	2,48
	2	0,9	1,5	2,5	2,9	2,66
	3	0,8	1,5	2,0	2,8	2,57
	Среднее	0,77	1,43	2,23	2,80	2,57
<i>3. Печенье Юбилей золотых полей</i>	1	1,5	2,3	2,8	3,1	2,84
	2	1,5	2,4	2,7	3,0	2,75
	3	1,7	2,8	3,0	3,3	3,03
	Среднее	1,57	2,5	2,83	3,13	2,87
<i>4. Сок ЯБЛОКО</i>	1	0,8	1,3	1,9	2,5	2,29
	2	1,0	1,6	2,0	2,8	2,57
	3	1,1	1,6	2,0	3,2	2,93
	Среднее	0,97	1,50	1,97	2,83	2,59
<i>5. Шоколадные конфеты Родные просторы</i>	1	1,0	1,9	2,8	3,2	2,93
	2	1,1	2,1	3,0	3,4	3,12
	3	1,0	2,0	2,8	3,3	3,03
	среднее	1,03	2,00	2,87	3,3	3,03

Таблица 2

Влияние на активность каталазы кондитерских продуктов питания

Кондитерские продукты	20мин V(O₂ мл)	A мл/мин	Изменение активности каталазы
Контроль	3,97	3,64	
Продукты с консервантами			
<i>1. Шоко-Браун Шоколадный десерт</i>	1,50	1,38	Снижение активности на 62%
<i>2. Зефир «Жизель» глазированный с ароматом ванили</i>	1,67	1,53	Снижение активности на 58%
<i>3. ТираМиссо Итальянское суфле-конфетки</i>	1,33	1,22	Снижение активности на 66,5%
<i>4. Дель суфле на сливочном масле</i>	1,53	1,40	Снижение активности на 62%
<i>5. Райские облака Суфле три шоколада</i>	1,37	1,26	Снижение активности на 65%
<i>6. Печенье сдобное Шарлиз</i>	1,57	1,44	Снижение активности на 60%
<i>7. Зефир «Бело-розовый»</i>	1,13	1,04	Снижение активности на 71%
<i>8. Напиток безалкогольный сильногазированный низкокалорийный</i>	1,10	1,01	Снижение активности на 72%

<i>Pepsi Wild Cherry</i>			
9. Напиток безалкогольный среднегазированный БУРАТИНО	1,77	1,62	Снижение активности на 55%
10. FRESH Lime напиток с кусочками лайма	1,00	0,92	Снижение активности на 75%
Продукты без консервантов			
1. Зефир ванильный	3,00	2,75	Снижение активности на 24%
2. Пастила с кусочками мармеладом	2,80	2,57	Снижение активности на 29%
3. Печенье Юбилей золотых полей	3,13	2,87	Снижение активности на 21%
4. Сок ЯБЛОКО	2,83	2,59	Снижение активности на 28%
5. Шоколадные конфеты Родные просторы	3,3	3,03	Снижение активности на 17%

Проведенные исследования показали:

- не очень сильно подавляют активность каталазы продукты, не содержащие консервантов: **шоколадные конфеты Родные просторы на 17%, печенье Юбилей золотых полей на 21%, зефир ванильный на 24%, сок ЯБЛОКО на 28%, пастила с кусочками мармеладом на 29%;**

- сильно подавляют активность каталазы продукты, содержащие консерванты: **напиток безалкогольный среднегазированный БУРАТИНО на 55%, зефир «Жизель» глазированный с ароматом ванили на 58%, печенье сдобное Шарлиз на 60%, шоко-браун шоколадный десерт на 62%, дель суфле на сливочном масле на 62%, райские облака суфле три шоколада на 65%, тираМиссо итальянское суфле-конфетки на 66,5%;**

- очень сильно подавляют активность каталазы продукты, содержащие консерванты: **зефир «Бело-розовый» на 71%, напиток безалкогольный сильногазированный низкокалорийный Pepsi Wild Cherry на 72%, FRESH Lime напиток с кусочками лайма на 75%.**

ГЛАВА 4. Статистическая обработка материалов

С каждым продуктом питания и в контроле проводили три повторности и получили три показателя. Эти показатели обработали статистически, получили среднее арифметическое (i стандартное отклонение от среднего арифметического) $x \pm m$

Среднее арифметическое считали по формуле:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i = \frac{\sum x_i}{n}$$

Для определения «ошибки» среднего арифметического (m) определяли дисперсию (S^2) и среднее квадратичное отклонение (S). Дисперсию считали по формуле:

$$S^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$$

«Ошибку» среднего арифметического определяли по формуле:

$$m = \frac{S}{\sqrt{n}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n \times (n-1)}}$$

[4]. Данные приведены в таблице 3.

Таблица 3

Статистическая обработка результатов определения активности каталазы в присутствии кондитерских продуктов питания, содержащих пищевые добавки

	Проба	A мл/мин	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	$A \pm m$ мл/мин	m %
Контроль	1	3,67	0,03	0,0009	3,64 ± 0,08	2,2
	2	3,76	0,12	0,0144		
	3	3,48	-0,16	0,0256		
	n=3	$\bar{x} = 3,64$		0,0409		
Продукты с консервантами						
1. Шоко-Браун Шоколадный десерт	1	1,38	0,00	0,0000	1,38 ± 0,06	4,3
	2	1,28	-0,10	0,0100		
	3	1,47	0,09	0,0081		
	n=3	$\bar{x} = 1,38$		0,0181		
2. Зефир «Жизель» глазированный с ароматом ванили	1	1,40	-0,13	0,0169	1,53 ± 0,12	7,8
	2	1,28	-0,25	0,0625		
	3	1,56	0,03	0,0009		
	n=3	$\bar{x} = 1,53$		0,0803		
3. ТираМиссо Итальянское суфле- конфетки	1	1,10	-0,12	0,0144	1,22 ± 0,06	4,9
	2	1,28	0,06	0,0036		
	3	1,28	0,06	0,0036		
	n=3	$\bar{x} = 1,22$		0,0216		
4. Дель суфле на сливочном масле	1	1,38	-0,02	0,0004	1,40 ± 0,03	2,1
	2	1,47	0,07	0,0049		
	3	1,38	-0,02	0,0004		
	n=3	$\bar{x} = 1,40$		0,0057		
5. Райские облака Суфле три	1	1,28	0,02	0,0004	1,26 ± 0,08	6,3
	2	1,38	0,12	0,0144		

шоколада	3	1,10	-0,16	0,0256		
	n=3	$\bar{x} = 1,26$		0,0404		
6. Печенье сдобное Шарлиз	1	1,28	-0,16	0,0256	1,44±0,08	5,6
	2	1,46	0,02	0,0004		
	3	1,56	0,12	0,0144		
	n=3	$\bar{x} = 1,44$		0,0404		
7. Зефир «Белорозовый»	1	0,92	-0,12	0,0144	1,04±0,08	7,7
	2	1,01	-0,03	0,0009		
	3	1,19	0,15	0,0225		
	n=3	$\bar{x} = 1,04$		0,0378		
8. Напиток безалкогольный сильногазированный низкокалорийный Pepsi Wild Cherry	1	1,10	0,09	0,0081	1,01±0,05	5,0
	2	0,92	-0,09	0,0081		
	3	1,01	0,00	0,0000		
	n=3	$\bar{x} = 1,01$		0,0162		
9. Напиток безалкогольный среднегазированный БУРАТИНО	1	1,38	-0,24	0,0576	1,62±0,16	9,9
	2	1,56	-0,06	0,0036		
	3	1,93	0,31	0,0961		
	n=3	$\bar{x} = 1,62$		0,1573		
10. FRESH Lime напиток с кусочками лайма	1	0,92	0,00	0,0000	0,92±0,05	5,4
	2	0,83	-0,09	0,0081		
	3	1,01	0,09	0,0081		
	n=3	$\bar{x} = 0,92$		0,0162		
Продукты без консервантов						
1. Зефир ванильный	1	2,57	-0,18	0,0324	2,75±0,09	3,3
	2	2,84	0,09	0,0081		
	3	2,84	0,09	0,0081		
	n=3	$\bar{x} = 2,75$		0,0486		
2. Пастила с кусочками мармеладом	1	2,48	-0,09	0,0081	2,57±0,05	1,9
	2	2,66	0,09	0,0081		
	3	2,57	0,00	0,0000		
	n=3	$\bar{x} = 2,57$		0,0162		
3. Печенье Юбилей золотых полей	1	2,84	-0,03	0,0009	2,87±0,08	2,8
	2	2,75	-0,12	0,0144		
	3	3,03	0,16	0,0256		
	n=3	$\bar{x} = 2,87$		0,0409		
4. Сок ЯБЛОКО	1	2,29	-0,30	0,0900	2,59±0,18	6,9
	2	2,57	-0,02	0,0004		
	3	2,93	0,34	0,1156		
	n=3	$\bar{x} = 2,59$		0,2060		
5. Шоколадные конфеты Родные просторы	1	2,93	-0,10	0,0100	3,03±0,05	1,7
	2	3,12	0,09	0,0081		
	3	3,03	0,00	0,0000		
	n=3	$\bar{x} = 3,03$		0,0181		

Статистическая обработка результатов исследований показала, ошибка составляет от 1,7% до 9,9%, следовательно, активность каталазы в присутствии продуктов питания, содержащих консерванты и без консервантов, определена достаточно точно.

Выводы

1. По данным литературных источников ферменты влияют на скорость превращения различных веществ. Каталаза является катализатором в реакции разложения перекиси водорода. В этом и заключается биологическое значение этого фермента. Максимальная активность фермента обнаруживается в интервале от 0 ° до 10 °С. Оптимальное значение рН действия лежит в пределах 6,0-8,0 единиц. Но и на ферменты влияют некоторые вещества, резко изменяя их активность.

При производстве продуктов питания в настоящее время используются разнообразные пищевые добавки: красители, антиокислители, консерванты, стабилизаторы, красители. Пищевые добавки являются небезопасными для здоровья, некоторые являются аллергенами, другие вызывают заболевания.

2. Продукты без консервантов не очень сильно подавляют активность каталазы: в пределах от 17% (шоколадные конфеты «Родные просторы») до 29% (пастила с кусочками мармелада).

Продукты, содержащие консерванты, можно разделить на две группы:

- снижают активность каталазы в пределах от 55% (напиток безалкогольный среднегазированный БУРАТИНО) до 66,5% (тираМиссО итальянское суфле-конфетки);

- очень сильное подавление активности каталазы вызывают продукты: зефир «Бело-розовый» на 71%, напиток безалкогольный сильногазированный низкокалорийный Pepsi Wild Cherry на 72%, FRESH Lime напиток с кусочками лайма на 75%.

3. Статистическая обработка результатов исследований показала, что ошибка составляет от 1,7% до 9,9%, следовательно, активность каталазы в присутствии продуктов питания, содержащих консерванты и без консервантов, определена достаточно точно.

Таким образом, гипотеза подтверждается, продукты питания, содержащие консерванты, сильно подавляют активность каталазы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Артеменко А.И. Удивительный мир органической химии.- М.: Издательство «Дрофа», 2008г.
2. Бергельсон Л.Д. Мембраны, молекулы, клетки.- М.: Издательство «Наука», 1982г
3. Ватлина Л.П., Е.В.Александрова. Простые способы обнаружения ферментов.//Химия в школе.-2011.-№9
4. Вопросы рационального использования и сырьевая база лекарственных растений России: Учебное пособие по фармакогнозии/ В.Ф.Левина, Г.А.Иванова, А.В.Хлебников; Под ред. Г.И.Олешко.- Пермь.-2006г
5. Высоцкая М.В. Экология. Элективные курсы. Издательство «Учитель», 2008г
6. Габриелян О.С. Химия-11 класс. Профильный уровень.– М.: Издательство «Дрофа», 2008г.
7. Галактионов С. «Биологически активные». – М.: Издательство «Молодая гвардия», 1988г
8. Генкель П.А. Физиология растений: Учеб. Пособие по факультатив. Курс для IX Кл.- М.: Издательство «Просвещение», 1985г
9. Книга для чтения по органической химии. Составитель П.Ф. Буцкус. - М.: Издательств «Просвещение», 1985г
10. Комаров О.С., Терентьев А.А. Химия белка. - М.: Издательство «Просвещение», 1984г
11. Кролевец А.А. Консерванты в пищевой промышленности.//Химия в школе.-2007.-№1
12. Петунин О.В. Перекрестки химии и биологии в средней школе.//Химия в школе.-2005.-№7
13. Реймерс Н.Ф. «Основные биологические понятия и термины». – М.: Издательство «Просвещение», 1988г.
14. Реннеберг Р. «Эликсиры жизни». – М.: Издательство «Мир», 1987г.
15. Русецкая П. Пища, которую мы едим.//Химия в школе.-2008.-№5.
16. Химия/ ред группа: М.Александрова, И. Леенсон, С. Мирнова.- М.: Издательство «Мир энциклопедий», 2006г
17. Храмов В.А., Савин Г.А., Папичев Е.В. «Мезим для желудка необходим»?//Химия в школе.-2008.-№6.
18. <http://nmedicine.net/ferment-katalaza-i-ego-svoystva> (дата обращения 10.10.18)
19. <http://xn--90aw5c.xn--c1avg/index.php>(дата обращения 10.10.18)
20. <http://microelementy.odn.org.ua/28.htm> (дата обращения 15.09.18)
21. <http://firsthealth.ru/pravilnoe-pitanie/vred-pishhevux-konservantov.html>(дата обращения 25.10.18)

Коды пищевых добавок

Код пищевой добавки.	Назначение
100-182	Красители (усиливают или восстанавливают цвет продукта)
200-299	Консерванты (повышают срок хранения продуктов, защищают их от микробов, грибков, бактериофагов. Химически стерилизующие добавки при созревании вин, дезинфектанты)
300-399	Антиокислители (защищают от окисления, например, от прогоркания жиров и изменения цвета)
400-499	Стабилизаторы (сохраняют заданную консистенцию), загустители (повышают вязкость)
500-599	Эмульгаторы (создают однородную смесь несмешиваемых продуктов, например воды и масла)
600-699	Усилители вкуса и аромата
900-999	Пеногасители (предупреждают или снижают образование пены)

Физиологическое действие пищевых добавок

Код пищевой добавки (Е)	Физиологическое действие
103, 105, 111,121 (краситель цитрусовый красный 2), 123 (красный амарант), 125,126,130,152,240 (консервант формальдегид)	Запрещённые добавки
102, 110, 120,124,127	Опасные добавки
102,103,105,121,123,125,126,130,131,142,152,210, 211 (бензоат натрия),213-217, 240, 330 (лимонная кислота), 447	Вызывают злокачественные опухоли
221-226, 320-322, 338-341, 407, 450, 461-466	Вызывают заболевания желудочно-кишечного тракта
230,231,232,239,311-331	Аллергены
171-173, 320-322	Вызывают болезни печени и почек
230-232	Вредные для кожи
338-341,407,450,461-466	Вызывают расстройство желудка
320,321	Повышают содержание холестерина