**Лабораторна робота № 5. Технологія одержання білкових препаратів**

**Мета:** Засвоїти технологію одержання мікробних білкових препаратів, закріпити навички розділення білків та їх ідентифікації.

*Контрольні запитання:*

1. Наведіть фізіологічно активні пептиди, охарактеризуйте їх на окремому прикладі.
2. Наведіть характеристику продуцентів виробництва мікробних білкових препаратів в залежності від сировини.
3. З яких основних апаратів складається апаратурна схема виробництва білкових препаратів?
4. Практичне використання білкових препаратів

*Завдання 1.* Проаналізувати та засвоїтиосновні стадії технологічного процесу виробництва мікробних білкових препаратів.

Мікроорганізми - продуценти білка ( дріжджі роду Candіda, Trіchosporon, Pseudomonas, Mycobacterіum) - вирощують у ферментаторі 1, куди подають поживне середовище, солі, аміачну воду, повітря та чисту культуру мікроорганізму з посівного апарата. Готова культуральна рідина з біомасою з ферментатора насосом перекачується у флотатора 2, де відбувається поділ її на багату клітинною біомасою піну й відпрацьовану культуральну рідину. Із внутрішньої склянки флотатора дріжджова суспензія перекачується насосом 3 через газовіддільник 4 на сепаратори 5 І групи. Відпрацьована культуральна рідина із цієї групи сепараторів для зниження втрат біомаси відводиться на флотатори або ж зливається через очисні споруди в каналізацію, а дріжджова суспензія надходить самопливом у збірник 7, звідки водоструминним насосом 8 перекачується на сепаратори ІІ групи 6. У водоструминному насосі дріжджі відмиваються від залишків культуральної рідини. У технологічних схемах, де відсутні флотатори, рідина з ферментаторов надходить безпосередньо на сепаратори.

Концентрована суспензія білкової біомаси після ІІ групи сепараторів самопливом надходить у збірник 9, звідки насосом перекачується в плазмолізатор-нагрівач 10 безперервної дії. Із плазмолізатору суспензія перекачується в напірний бак 11, де якийсь час видержується перед надходженням на стадію розпарювання.

Розпарювання суспензії клітинної біомаси відбувається у двохкорпусній вакуум-випарній установці 12. Вторинна пара, що



утворюється при упарюванні суспензії в першому корпусі установки, відокремлюється від неї в випарювачі й, пройшовши пастку 13, надходить у нагрівальнукамеру, підігрівника другого корпуса випарний установки.

Упарений концентрат біомаси безупинно відбирається із другого корпуса й направляється насосом у збірник 14. Зі збірника дріжджовий концентрат насосом подається в розпилюючу сушарку 15.

Порошкоподібний сухий препарат, що утворився, передається пневмотранспортом у циклон 17 пакувального відділення й далі в бункер 18. Відпрацьований сушильний агент для вловлювання часток продукту, пропускається через сепараційну установку, що складається з ряду циклонів 16, а потім викидається в атмосферу через скрубер 19 *(от англ. scrub «скрести», «чистити») - прилад, для очистки [твердих](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%B2%D1%91%D1%80%D0%B4%D0%BE%D0%B5_%D1%82%D0%B5%D0%BB%D0%BE%22%20%5Co%20%22%D0%A2%D0%B2%D1%91%D1%80%D0%B4%D0%BE%D0%B5%20%D1%82%D0%B5%D0%BB%D0%BE) та [газоподібних](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B0%D0%B7%22%20%5Co%20%22%D0%93%D0%B0%D0%B7) средовищ від домішок в хіміко-технологичних процесах*), зрошуваний водою. Відділений від сушильного агента порошок сухого білкового препарату також пневмотранспортом подається в бункер, звідки готовий продукт надходить на впакування в спеціальну тару на складування.

*Завдання 2.**Провести якісні реакції виявлення білків у розчинах.*

* *Нінгідринова реакція.*

У результаті взаємодії білків з нінгідрином (трикетогідринден-гідратом) утворюється забарвлена комплексна сполука. Під час першої стадії реакції при нагріванні до 70°С білки окиснюються нінгідрином та підлягають окисному дезамінуванню з утворенням аміаку тадекарбоксилюванню з формуванням альдегіду й СО2, а нінгідрин відновлюється (1):



Відновлений нінгідрин на другій стадії реакції конденсується з аміаком і окисненим нінгідрином й утворює сполуку, яка, енолізуючись, переходить у забарвлену форму синьо-фіолетового кольору (2).



*Матеріали та реактиви.* Водний 1%-й розчин альбуміну, 0,1%-й розчин нінгідрину в 95%-му розчині ацетону*.*

*Обладнання.* Скляні палички, пробірки, крапельниці, водяна баня, термометр лабораторний, годинник, штатив для пробірок.

*Хід роботи.* У пробірку вносять п’ять крапель розчину альбуміну та дві краплі розчину нінгідрину. Вміст пробірки перемішують на водяній бані за температури 70°С протягом 5 хв. У пробірці з ’являється синьо-фіолетове забарвлення за рахунок утворення дикетогідриндилідену-дикетогідринаміну (ДІДА) – продукту конденсації нінгідрину з білком.

* *Біуретова реакція.*

Білки (поліпептиди) в лужному розчині за наявності сульфату міді (ІІ) утворюють комплексні сполуки міді, забарвлені в рожево- фіолетовий колір, інтенсивність якого залежить від кількості пептидних зв’язків у молекулі білка.

*Матеріали та реактиви*. Біологічна рідина або розбавлений 1%-й розчин яєчного білка, 1%-й розчин сірчанокислої міді, 10%-й розчин їдкого натру.

*Обладнання.* Скляні палички, штатив із пробірками, піпетки, крапельниці *Хід роботи.* До 1 мл біологічної рідини (або до 3-х мл розбавленого 1%-го розчину яєчного білка) додають 1 мл 10%-го розчину їдкого натру і 2 краплини 1%-го розчину сірчанокислої міді та перемішують.



У присутності білків та пептидів (починаючи з трипептидів) з’являється рожево-фіолетове забарвлення.

 Записують у зошит рівняння реакції, спостереження і роблять висновок.

*Завдання 3.**Засвоїти методи розділення білків на прикладі фракційного осадження білків методом висолювання*

 Молекули білків є гідрофільними колоїдами. Білкові розчини, як і інші колоїдні системи, характеризуються порівняною нестійкістю – під впливом різних факторів вони легко можуть випадати в осад.Стійкість білкових розчинів залежить від наявності електричного заряду і гідратної оболонки на поверхні білкових молекул. Відповідно, при знятті гідратної оболонки (дегідратації) та при втраті заряду білки легко коагулюють і випадають у осад. Оборотне осадження білків концентрованими розчинами нейтральних солей (сульфатом амонію, хлоридом натрію) називають *висолюванням.*

При додаванні до розчинів білків солей лужних і лужноземельних металів аніони (SO42−) і катіони солі (Na+, NH4+) взаємодіють із позитивно і негативно зарядженими групами у радикалах амінокислот, через що щезає заряд і взаємовідштовхування молекул. Одночасно різко зменшується гідратна оболонка навколо білка. Як наслідок, білкові молекули злипаються і випадають в осад.

Різні білки різняться за амінокислотним складом, розміром і зарядом – тому можна підібрати такі концентрації солі, які осадять менш стійкі білки, поки інші ще будуть у розчині. Першими розчиняються білки із меншим зарядом (треба менше солі, щоб нейтралізувати їх заряд).

Процес висолювання є оберненим – після видалення солі (діаліз, розведення) білок знову набуває природних властивостей.

 Фракціонування білків методом висолювання використовують для одержання нативних білків з біологічних рідин.

*Матеріали та реактиви*. Розчин суміші білку, насичений розчин сульфату амонію.

*Обладнання.* Лійки, фільтри, пробірки, піпетки, пальник або водяна баня.

*Хід роботи.* У пробірку вливають 2-3 мл розчину білку, додають рівний об’єм насиченого розчину сульфату амонію, перемішують. В осад випадають глобуліни (50%-ве насичення розчину), які мають відносно велику молекулярну масу і невеликий заряд. Осад відфільтровують. До осаду на фільтрі додають невелику кількість води, в отриманому розчині містяться глобуліни, наявність яких виявляють шляхом кип’ятіння, спостерігаючи утворення осаду. Фільтрат з розчином альбумінів розливають у 2 пробірки. У першу додають кристалічний сульфат амонію до повного насичення (100%-ве насичення розчину). В осад випадають альбуміни. Вміст другої пробірки кип’ятять, спостерігають утворення осаду білків альбумінів.

Оформити висновок.