

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ПОЛТАВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ В. Г. КОРОЛЕНКА

Факультет природничих наук та менеджменту

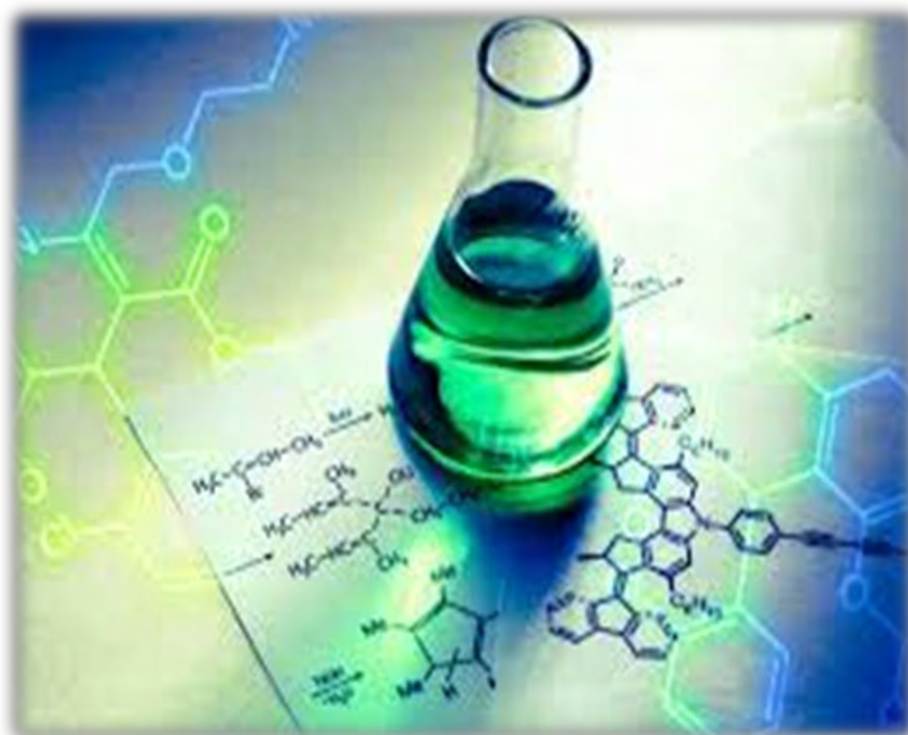
Кафедра хімії та методики викладання хімії

Навчальний посібник для проведення лабораторних занять та самостійної роботи з навчальної дисципліни

«Основи біоорганічної хімії»

підготовки здобувачів освітнього ступеня «бакалавр»

Галузь знань	10 Природничі науки
Спеціальність	102 Хімія
Освітня програма	«Хімія»



2023 рік

*Затверджено на засіданні Вченої ради Полтавського національного педагогічного університету імені В.Г. Короленка
(Протокол №14 від 30 червня 2023 року)*

Укладач:

старший викладач кафедри хімії та методики викладання хімії Полтавського національного педагогічного університету імені В. Г. Короленка Куленко Олена Анатоліївна

РЕЦЕНЗЕНТИ:

кандидат хімічних наук, доцент, професор кафедри біотехнології та хімії Полтавського державного аграрного університету Крикунова Валентина Юхимівна.

кандидат педагогічних наук, доцент, доцент кафедри хімії та методики викладання хімії Полтавського національного педагогічного університету імені В.Г. Короленка Стрижак Світлана Володимирівна.

Куленко О. А.

Основи біоорганічної хімії : навчальний посібник. – Полтава: ПНПУ імені В.Г. Короленка, 2023. – 73 с.

Навчальний посібник містить матеріал для підготовки до лабораторних занять та самостійної роботи здобувачів освіти спеціальності 102 Хімія: теоретичні питання для самостійної підготовки студентів, методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з основ біоорганічної хімії, завдання для самостійної роботи контрольні питання та список рекомендованої літератури для підготовки. Наведено опис лабораторних робіт з дисципліни «Основи біоорганічної хімії». Для кожної роботи надано короткі теоретичні відомості, вказівки щодо виконання лабораторних робіт та оформлення звіту. Навчальний посібник містить рекомендації щодо організації самостійної роботи студентів.

© Куленко О.А., 2023

© Полтавський національний педагогічний університет імені В.Г. Короленка, 2023

Тема 1. Вступ. Біоорганічна хімія як наука. Класифікація, номенклатура та ізомерія основних біоорганічних сполук.

Мета: Ознайомити студентів з класифікацією, номенклатурою та ізомерією основних біоорганічних сполук.

Теоретичні питання

1. Основні задачі біоорганічної хімії.
2. Методи дослідження біоорганічної хімії.
3. Історичний розвиток біоорганічної хімії та її сучасні проблеми.
4. Класифікація, номенклатура і ізомерія біоорганічних сполук.
5. Природа хімічного зв'язку.

Контрольні запитання

1. Описати основні методи дослідження біоорганічної хімії.
2. Пояснити природу хімічного зв'язку.
3. Розкрити основні задачі біоорганічної хімії.

Тема 2. Просторова будова органічних і біологічних молекул. Взаємний вплив атомів.

Мета: Ознайомити студентів з просторовою будовою органічних і біологічних молекул.

Теоретичні питання

1. Поняття гібридизації. ζ -Зв'язок: електронна і просторова будова молекул з sp^3 -гібридизованими атомами карбону.
2. Взаємне розташування замісників у відкритих ланцюгах.
3. Конформації. Замкнуті цикли.
4. «Бананові зв'язки». π -Зв'язок, електронна будова та основні характеристики.
5. Цис-транс- ізомерія.
6. Спряжені системи. Енергія спряження.
7. Ароматичність.
8. Електронні ефекти замісників в аліфатичних і ароматичних сполуках.

Контрольні запитання

1. Навести приклади цис-транс- ізомерії.
2. Вказати електронні ефекти замісників в аліфатичних і ароматичних сполуках.
3. π -Зв'язок, електронна будова та основні характеристики.

Тема 3. Реакційна здатність біоорганічних сполук. Насичені, ненасичені та ароматичні вуглеводні, спирти, феноли, аміни.

Мета: Ознайомити студентів з реакційною здатністю біоорганічних сполук, насиченими, ненасиченими та ароматичними вуглеводнями, спиртами, фенолами,

амінами.

Теоретичні питання

1. Гомолітичний і гетеролітичний розрив ковалентного зв'язку.
2. Вільні радикали. Електрофільні і нуклеофільні реагенти.
3. Реакційна здатність вуглеводнів (карбогідрогенів) і вуглеводневих (карбогідрогенових) радикалів: реакції радикального заміщення.
4. Пероксидне окиснення ліпідів; електрофільне приєднання до ненасичених сполук, вплив електронних ефектів замісників, кислотний каталіз; електрофільне заміщення в ароматичних сполуках.
5. Орієнтуюча дія замісника в бензеновому ядрі і гетероатомів у гетероциклах.
6. Гідроксилвмісні сполуки – спирти і феноли: кислотність; нуклеофільне заміщення; окиснення.
7. Аміни: основність; алкілування. Біологічне значення.

Контрольні запитання

1. Розкрити пероксидне окиснення ліпідів.
2. Аміни: основність; алкілування. Розкрити біологічне значення.
3. Указати електрофільні і нуклеофільні реагенти.

Тема 4. Реакційна здатність біоорганічних сполук. Альдегіди, кетони, карбонові кислоти.

Мета: Ознайомити студентів з реакційною здатністю біоорганічних сполук, альдегідами, кетонами, карбоновими кислотами.

Теоретичні питання

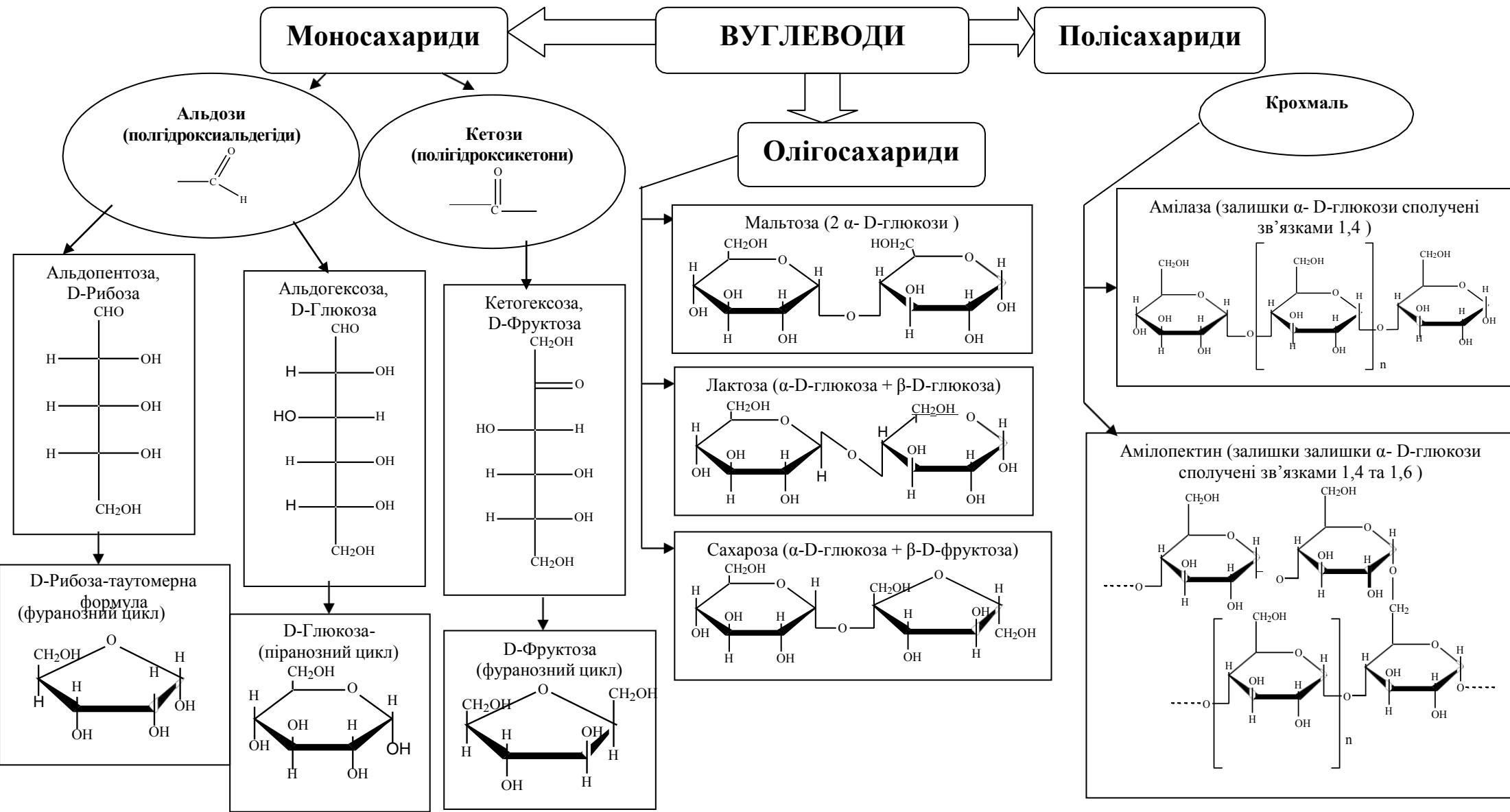
1. Загальна характеристика альдегідів і кетонів. Будова карбонільної групи.
2. Хімічні властивості альдегідів і кетонів.
3. Якісні реакції на виявлення альдегідної групи.
4. Медико-біологічне та фармацевтичне значення альдегідів і кетонів.
5. Класифікація карбонових кислот.
6. Електронна будова карбоксильної групи.
7. Реакції солеутворення.
8. Реакції нуклеофільного заміщення.
9. Декарбоксілювання кислот. Біологічне значення.

Контрольні запитання

1. Пояснити медико-біологічне та фармацевтичне значення альдегідів і кетонів.
2. Пояснити декарбоксілювання кислот. Біологічне значення.
3. Будова карбонільної групи.

Тема 5. «ВУГЛЕВОДИ»

ОПОРНІ СХЕМИ



Лабораторна робота №1.

Тема: Будова та хімічні властивості моносахаридів та олігосахаридів.

Мета: Ознайомити студентів з основними якісними реакціями на моно- та олігосахариди.

Теоретичні питання

1. Основні вуглеводи, їх класифікація, вміст в тканинах та біологічна роль.
2. Моносахариди (альдоза і кетоза), їх будова та біологічне значення.
3. Поняття про асиметричний атом вуглецю, належність цукрів до D- і L-ряду, явище мутаротації.
4. Похідні моносахаридів (гексуронові кислоти, спирти, аміноцукри, нейрамінова та сіалові кислоти).
5. Олігосахариди, які мають відновні властивості (мальтоза, лактоза, целобіоза) їх будова та біологічна роль.
6. Олігосахариди, які не мають відновних властивостей (сахароза, трегалоза), їх будова та біологічна роль. Явище інверсії.

Практична частина

Дослід 1. Якісні реакції на відновлюючі вуглеводи.

а) Проба Фелінга.

Хід роботи. У чотири пробірки вносять реактив Фелінга. У першу пробірку вносять 1 мл 1% розчину глюкози, в другу – 1мл 1% розчину мальтози, в третю 1 мл 1% розчину сахарози, а в четверту -1мл 1% розчину крохмалю. Нагрівають усі пробірки в кип'ячій водянній бані та спостерігають утворення цегельно-червоного осаду купрум(I) оксиду в пробірках, де були налиті розчини глюкози та мальтози.

б) Реакція Селіванова на кетози.

Хід роботи: В першу пробірку наливають 1 мл 1% розчину фруктози, в другу – 1 мл 1% розчину глюкози. В кожен пробірку вносять по 16 крапель реактиву Селіванова. Нагрівають на кип'ячій водянній бані. Спостерігають утворення вишнево-червоного забарвлення в пробірці з фруктозою.

в) Гідроліз складних сахарів та відкриття продуктів їх гідролізу

Хід роботи: У першу пробірку відмірюють 1 мл 1% розчину сахарози, а в другу –1 мл 1% розчину крохмалю. В кожен пробірку доливають по 2-3 краплі концентрованої хлоридної кислоти та кип'ятять на водянній бані 5-10 хвилин. Після охолодження для нейтралізації надлишку хлоридної кислоти в кожен пробірку вносять по 8 крапель 10% розчину натрій гідроксиду. Вміст першої пробірки ділять на дві частини. З однією частиною гідролізату проводять реакцію Фелінга, а з другою частиною - реакцію на крохмаль (прибавляють 2-3 краплі розчину йоду). Спостерігають позитивну реакцію Фелінга (червоний осад купрум(I) оксиду) та негативну реакцію на крохмаль (жовтий колір). У пробірці з гідролізованою сахарозою спостерігається позитивна реакція Фелінга.

Дослід 2. Реакція на сахарозу.

Хід роботи. До 2 мл розчину сахарози додають 1 мл натрій гідроксиду та

декілька крапель розчину кобальт нітрату. Спостерігають появу фіолетового забарвлення.

Дослід 3. Реакція з α -нафтолом (реакція Моліша)

Хід роботи. Наливають у три пробірки відповідно по 1 мл 1% розчину крохмалю, 3% розчину сахарози і 1% розчину глюкози. У кожен пробірку додають по 2-3 краплі розчину α -нафтолу та обережно по стінці пробірок нашаровують по 1мл. концентрованої сульфатної кислоти. Спостерігають утворення фіолетового забарвлення на межі між сульфатною кислотою та розчином цукрів. Позитивну реакцію з α -нафтолом дають моно-, оліго-, та полісахариди, тому реакцію Моліша використовують для їх виявлення в біологічних рідинах.

Контрольні запитання

1. Напишіть реакції гідролізу сахарози і мальтози, користуючись структурними формулами.
2. Якою буде реакція з реактивом Фелінга крохмалю і глікогену?
3. Яку реакцію слід запропонувати для того, щоб пересвідчитись в повному гідролізі крохмалю до глюкози?
4. Які полісахариди є найбільш важливими для життєдіяльності людини і тварин?
5. Важливу роль в обміні вуглеводів відіграють фосфорні ефіри глюкози. Напишіть в циклічній формі формули:
а) глюкозо-1-фосфату; б) глюкозо-6-фосфату.
6. Напишіть фрагмент (4-5 груп) молекул амілози, амілопектину.

Лабораторна робота № 2. **Тема: Властивості вуглеводів.**

Мета: Ознайомити студентів з основними властивостями вуглеводів.

Теоретичні питання

1. Крохмаль (амілоза та амілопектин), будова і біологічне значення.
2. Будова, властивості та розповсюдження глікогену, як резервного полісахариду.
3. Клітковина (целюлоза), будова, біологічна роль.
4. Глюкозамінглікани (гіалуронова, хондроїтинсірчана кислоти, гепарин), будова і біологічне значення.
5. Уявлення про будову та функції вуглеводної частини глікопротеїнів. Сіалові кислоти. Глікопротеїни плазматичної мембрани.
6. Застосування вуглеводів та їх похідних у фармації, як лікарських засобів (розчини глюкози, гепарин, серцеві глікозиди).

Практична частина

Дослід 1. Кількісне визначення активності α -амілази слини.

Принцип. Метод кількісного визначення активності α -амілази слини по Вольгемуту полягає в тому, що шляхом розведення знаходять найменшу

концентрацію ферменту, який повністю розщеплює всю кількість крохмалю, що добавлено. Потім проводять перерахунок на 1мл слини.

Хід роботи. В десяти пробірках проводять розведення слини в геометричній прогресії наступним чином: в усі пробірки доливають по 1 мл. води. В першу пробірку доливають 1 мл. слини, сумлінно перемішують і 1 мл рідини переносять в другу пробірку, з другої пробірки 1 мл рідини переносять в третю пробірку і т.д., а з десятої пробірки 1 мл рідини виливають. В результаті такого розведення отримують ряд пробірок, в яких міститься кількість слини, а відповідно і α -амілази, що зменшується. В кожену пробірку додають по 5 мл. 1% розчину крохмалю. Пробірки ставлять у термостат при температурі 38°C на 30 хвилин, потім охолоджують. В кожену пробірку доливають по декілька крапель розчину йоду (до появи забарвлення). При наявності в пробірці крохмалю виникає синє забарвлення (+), відсутність крохмалю в результаті його гідролізу амілазою характеризується відсутністю синього забарвлення (-). При частковому гідролізі крохмалю з'являються декстрини, які дають з йодом червоне (еритродекстрини), або жовте (флаводекстрини) забарвлення. Відмічають першу пробірку з червоним забарвленням, тобто ту, де крохмаль гідролізований частково. Встановлюють в ній розведення слини та вираховують, яку кількість крохмалю може розщепити 1мл. слини.

Таблиця 1

№ пробірок	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Розведення Слини	0,5	0,25	0,125	0,0625	0,0312	0,016	0,008	0,004	0,002	0,001
Реакція з йодом (+), (-)										

Приклад розрахунку. Припустимо, що червоне забарвлення відмічено у п'ятій пробірці. Розведення слини в ній – 0,0312мл. Складаємо пропорцію: 0,0312мл слини розщеплює 5мл крохмалю, а 1мл слини розщеплює X мл крохмалю:

$$X = \frac{5 \cdot 1}{0,0312} = 160$$

Отже, 1 мл слини за 30 хвилин при 38°C може розщепити 160 мл 1% розчину крохмалю до стадії еритродекстринів. Це буде амілолітична сила слини, що досліджується. Позначимо її літерою А, можемо написати, що $A = 160$ (38°C, 30 хвилин). В нормі амілазна активність слини дорівнює 160-312.

Дослід 2. Доказ наявності оксигруп в D-глюкозі та сахарозі.

В 2 пробірки внести по 1 краплі розчинів глюкози та сахарози, 6 крапель розчину NaOH та 1 краплю розчину CuSO_4 . Написати рівняння реакцій, описати зовнішній ефект, зробити висновки. Розчин залишити для наступного досліді.

Дослід 3. Проба Троммера на вуглеводний компонент

У пробірку внести 2 краплі гідролізату дріжджів, додати 6 крапель розчину NaOH та 2 краплі розчину CuSO_4 , нагріти. Описати зовнішній ефект, написати рівняння реакцій, зробити висновок.

Дослід 4. Відсутність відновних властивостей в сахарозі.

Розчин, отриманий в досліді 4 нагріти до кипіння. Описати зовнішній ефект та зробити висновки.

Дослід 5. Доказ гідролізу сахарози.

В пробірку внести 1 краплю розчину сахарози, 1 краплю розчину HCl, 6 крапель води і нагрівати 1 хв. Гідролізат розлити в дві пробірки. В першу пробірку додати 6 крапель розчину NaOH, 5 крапель води і 1 краплю розчину CuSO_4 , нагріти до кипіння. В другу пробірку додати кристал резорцину, 2 краплі HCl конц. і нагріти до кипіння. Описати зовнішній ефект, написати рівняння реакцій, зробити висновки.

Дослід 6. Кислотний гідроліз крохмалю (демонстрація).

В пробірку внести 1 краплю крохмального клейстеру, 2 краплі розчину H_2SO_4 і ставлять пробірку в кип'ячу водяну баню. Через 20 та 40 хвилин з однією краплею гідролізату виконайте якісну реакцію на крохмаль. Описати зовнішній ефект, написати схему постадійного гідролізу крохмалю, зробити висновки.

Контрольні запитання

1. Напишіть формули глюкопіранози та галактопіранози.
2. Вкажіть склад реактиву Троммера, з якою метою він використовується.
3. Які складні вуглеводи називають гомополісахаридами?
4. Які продукти утворюються при гідролізі крохмалю?
5. Написати структурну та конфірмаційну формули мальтози, дати хімічну назву, вказати тип зв'язку. Написати схему її гідролізу.
6. Написати будову лактози та схему її гідролізу. Які сполуки в реакції проявляють відновні властивості?
7. Написати будову дисахаридного фрагменту амілози, вказати тип зв'язку.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

Тема №1 «Вуглеводи».

Варіант №1

1. До моносахаридів належить:
а) мальтоза, б) фруктоза;

- в) лактоза; г) гепарин;
- д) глікоген.

2. Глюкоза є:

- а) кетогексозою; б) кетопентозою; в) альдогексозою; г) альдопентозою;
- д) дисахаридом.

3. До складу сахарози входять залишки:

- а) двох молекул глюкози; б) двох молекул фруктози;
- в) глюкози і фруктози; г) галактози і глюкози.

4. Фізіологічно важливим гомополісахаріди є:

- а) гіалуронова кислота, б) хондроїтінсульфат;
- в) глікоген; г) целюлоза.

5. Емпірична формула глікогену:

- а) $C_{12}H_{22}O_{11}$; б) $(C_6H_{12}O_6)_n$;
- в) $(C_6H_{10}O_5)_n$; г) $C_6H_{12}O_6$.

6. Вільна глюкоза в організмі людини в основному знаходиться в:

- а) печінки; б) крові;
- в) нирках; г) серце;
- д) м'язах.

7. Біологічні функції полісахаридів:

- а) енергетична; б) опорна;
- в) пластична; г) структурна;
- д) гідроосмотична і йонрегулююча

Варіант № 2

1. До моносахаридів належить:

- а) гепарин; б) глюкоза;
- в) сахароза; г) мальтоза;
- д) глікоген.

2. Фруктоза є:

- а) кетогексозою; б) кетопентозою; в) альдогексозою; г) альдопентозою;
- д) дисахаридом.

3. До складу лактози входять залишки:

- а) двох молекул глюкози; б) двох молекул фруктози;
- в) глюкози і фруктози; г) галактози і глюкози.

4. Фізіологічно важливим гетерополісахаридів є:

а) гіалуронова кислота; б) крохмаль;
в) глікоген; г) целюлоза.

5. Емпірична формула глюкози:

а) $C_{12}H_{22}O_{11}$; б) $C_6H_{12}O_6$;

в) $(C_6H_{10}O_5)_n$, г) $C_6H_{12}O_5$.

6. Основні запаси глікогену зосереджені в:

а) печінки; б) крові;

в) нирках; г) серце;

д) м'язах.

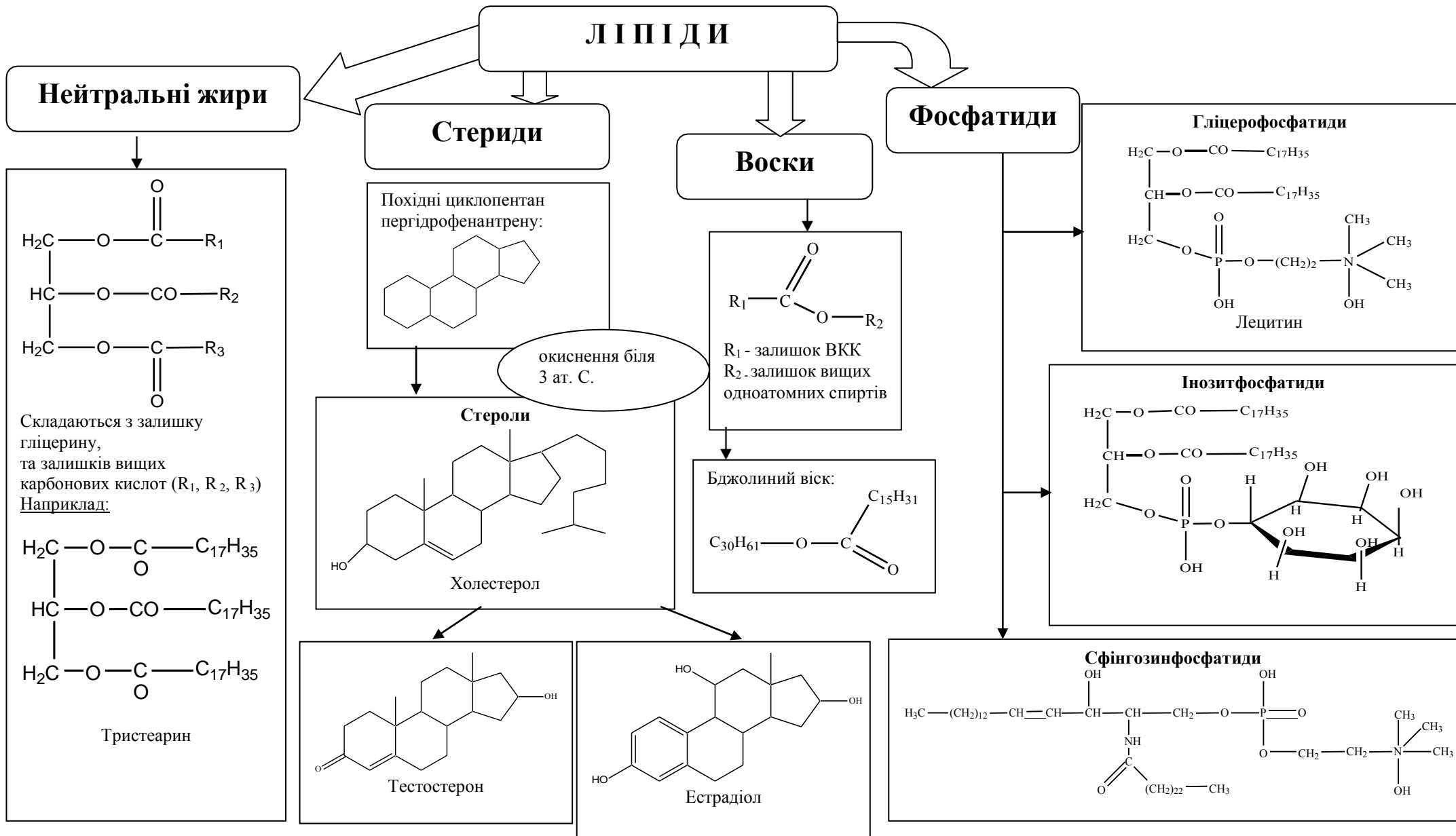
7. Біологічні функції моносахаридів:

а) енергетична; б) опорна;

в) пластична; г) структурна;

д) гідроосмотична і йонрегулююча.

Тема №6 «ЛІПІДИ»



Лабораторна робота № 3. Тема: Хімія ліпідів.

Мета: Ознайомити студентів з основними хімічними перетвореннями ліпідів.

Теоретичні питання

1. Загальна характеристика ліпідів. Їх хімічна структура, класифікація та біологічне значення.
2. Вищі жирні кислоти. Значення ненасичених жирних кислот як обов'язкового компоненту кардіо- та гепатопротекторних медикаментозних препаратів.
3. Характеристика ацилгліцеринів. Їх структура, біологічне значення. Воски.
4. Стериди. Холестерин. Хімічна характеристика, біологічна роль. Діагностичне значення змін вмісту холестерину в крові.

Практична частина

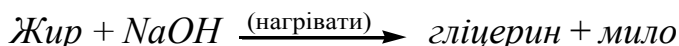
Дослід 1. Емульгація жиру.

Хід роботи. В 3 пробірки вносять по 2 краплі рослинної олії. В першу додають 2 краплі води, в другу - 8 крапель 10% натрій карбонату, в третю - 8 крапель розчину мила. При збовтуванні усіх пробірок жир емульгує. Найменш стійка емульсія - водна.

Дослід 2. Відношення до розчину калій перманганату.

В пробірку налити олію об'ємом 0,5 см³ і розчин KMnO₄ (w = 2%) об'ємом 1 см³. Енергійно струсити пробірку.

Дослід 3. Гідроліз.



У пробірку помістити твердий жир масою 1,5-2 г і додати спиртовий розчин NaOH (w = 15%) об'ємом 5 см³. Пробірку закрити пробкою з зворотнім повітряним холодильником і нагріти на водяній бані 15 хв. при постійному струшуванні.

Потім пробірку охолодити і додати гарячий насичений розчин NaCl об'ємом 6-7 см³.

Дослід 4. Утворення жирної плями та її екстракція.

На фільтрувальний папір нанести 3 окремі плями олії по одній краплі. До плями доторкнутися скляним капіляром з ефіром, до другої – з бенzenом, до третьої – з водою. Описати зовнішній ефект, зробити висновки.

Дослід 5. Виділення вільних жирних кислот з мила.

В пробірку внести 5 крапель концентрованого розчину мила та 1 краплю H₂SO₄ конц. Описати зовнішній ефект, написати рівняння реакцій. Зробити висновки. Розчин залишити для наступного дослідіду.

Дослід 6. Утворення нерозчинних солей кальцію вищими жирними кислотами.

У пробірку внести 5 крапель розчину мила та 1 краплю розчину CaCl₂, перемішати. Описати зовнішній ефект, написати рівняння реакції, зробити висновки.

Контрольні запитання:

1. Які з перелічених тригліцеридів будуть знебарвлювати бромну воду: триолеїн,

тристеарин, стеародилінолеїн?

2. Напишіть формули наступних тригліцеридів: а) тристеарину; б) трипальмитину; в) триолеїну.
3. Напишіть формули наступних змішаних тригліцеридів: а) диолеопальмітину; б) пальмітоолеостеарину; в) дилальмітостеарину.
4. Молекули нейтральних жирів можуть містити три різні жирні кислоти. Напишіть формули 2 таких тригліцеридів.
5. Під впливом каталізатору (Ni) залишки ненасичених кислот, що в складі жиру, приєднують водень. В результаті такої гідрогенізації рідкі жири стають твердими. Напишіть рівняння гідрювання: а) олеодистеарину; б) диолеопальмітину; в) олеоліноленостеарину.

Лабораторна робота №4.

Тема: Визначення хімічних констант жирів.

Мета: Ознайомити студентів з методами визначення хімічних констант жирів.

Теоретичні питання

1. Складні ліпіди: гліцерофосфоліпіди, сфінгофосфати, глікосфінголіпіди. Представники, будова, біологічна роль. Діагностичне значення вмісту загальних фосфоліпідів у сироватці крові.
2. Жовчні кислоти, їх парні сполуки. Будова, властивості, біологічна роль.
3. Будова та властивості біомембран. Їх функції, роль білкових та ліпідних компонентів.
4. Транспортні форми ліпідів крові. Хіломікрони, α - та β -ліпопротеїни, вільні жирні кислоти. Місце формування, склад та значення. Роль білків транспортних форм. Клінічне значення визначення фракцій ліпопротеїнів.
5. Трансмембранний транспорт речовин. Фармпрепарати – активатори та інгібітори трансмембранних переносників.
6. Мембранні рецептори, їх біологічне значення в нормі та при патології.

Дослід 1. Визначення йодного числа.

Принцип. Визначення основане на здатності ненасичених жирних кислот приєднувати йод по місцю подвійних зв'язків. Йодне число - це кількість йоду у грамах, що приєднується до 100г жиру. По йодному числу можна визначити вид жиру.

Хід роботи. Наважку жиру (0,1г) вносять у колбу на 500 мл, доливають 5 мл етанолу для розчинення жиру. Потім додають 10 мл спиртового розчину йоду ($C_n = 0,1$ моль) та 200 мл води, збовтують і залишають на 5 хвилин. Титрують надлишок йоду розчином натрій тіосульфату ($C_n = 0,1$ моль) в присутності крохмалю. Паралельно ставлять контроль, що не містить жиру. Розрахунок йодного числа (x) ведуть за формулою:

$$X = \frac{(A - B) \cdot 12,692 \cdot 100}{0,1 \cdot 1000}$$

A – об'єм тіосульфату, що пішов на титрування контролю; B – об'єм тіосульфату, що пішов на титрування досліджу; 12,692 - маса йоду, що відповідає

1мл 0,1N розчину тіосульфату, мг; 100 - перерахунок на 100г жиру; 0,1 - наважка жиру у грамах; 1000 – коефіцієнт перерахунку мг йоду у грами.

Таблиця 3

Фізичні та хімічні константи деяких ліпідів

Назва жиру	Показник заломлення	Йодне число
Жир людини	1,452—1,457	62,5—73,3
Вершкове масло	1,475—1,476	26—38
Соняшникова олія	1,475—1,476	118—120
Риб'ячий жир	1,475—1,485	150—175
Касторова олія	1,447—1,478	31—91

Дослід 2. Визначення насиченості жирів.

Принцип. Ненасиченість жиру залежить від присутності у його складі ненасичених жирних кислот. Ненасичені сполуки легко приєднують по два атоми галогену по місцю кожного подвійного зв'язку. За звичай ступінь ненасиченості визначають йодним числом. Йодне число вимірюється кількістю грамів йоду, яка приєднується до 100 г жиру.

Йодне число є одним з найважливіших хімічних показників для масел (жирів). Воно дозволяє судити про ступінь ненасиченості масла (жиру), про схильність його до висихання, згіркнення та інших змін, що відбуваються при зберіганні і переробці харчових і технічних масел.

З подвійними зв'язками, окрім йоду, реагують також і інші галогени – хлор і бром. Проте вони не тільки приєднуються по подвійних зв'язках, але і заміщають атоми водню в радикалі. Йод же реагує переважно з подвійними зв'язками.

Устаткування та реактиви. Ваги торсійні; мікробюретка; пробірки скляні хімічні; піпетка з однією міткою на 3 мл; хлороформ; йод (0,001 н.) у хлороформі; різні жири (коров'яче масло, свиняче сало, соняшникова олія, маргарин).

Хід роботи. Відважують у пробірки по 0,5 г різних жирів (свиняче сало, коров'яче масло, маргарин, соняшникова олія). Розчиняють кожний жир у 3 мл хлороформу і титрують з мікробюретки 0,001 н. розчином йоду в хлороформі до виразного рожевого забарвлення. Записують об'єм розчину йоду, що пішов на насичення кожного виду жиру. Розташовують досліджені жири по зменшенню ступеня насиченості.

Контрольні запитання

1. Напишіть рівняння реакції гідролізу тристеарину в лабораторії під впливом мінеральних кислот і в організмі.
2. Обґрунтувати фізіологічну роль ліпідів в життєдіяльності організму.
3. При окисненні жиру масою 1 г утворюється значно більше енергії, ніж при окисненні такої ж маси вуглеводів. Чому ж тоді спортсменам більш раціональною є вуглеводна дієта?
4. Які речовини і чому можуть бути емульгаторами?

5. Чим зумовлене емульгування жиру содою?

Лабораторна робота №5.

Тема: Визначення хімічних констант жирів.

Мета: Ознайомити студентів з методами визначення хімічних констант жирів.

Теоретичні питання

1. Фізичні константи жирів.
2. Коефіцієнт рефракції.
3. Хімічні константи жирів.
4. Число омилення.
5. Число Рейхарда-Мейса.
6. Йодне число.
7. Кислотне число.

Практична частина

Дослід 1. Визначення числа омилення.

Принцип. Числом омилення називається кількість міліграмів гідроксиду калію, який необхідний для нейтралізації як вільних, так і зв'язаних (у формі гліцеридів) жирних кислот, що містяться в 1 г масла.

Вміст вільних жирних кислот у маслі характеризується кислотним числом (див. вище), а вміст зв'язаних у вигляді ефірів кислот – ефірним числом, тобто кількістю міліграмів гідроксиду калію, який необхідний для нейтралізації жирних кислот, що утворюються при омиленні ефірних зв'язків в 1 г масла.

Експериментально ефірне число визначається по різниці між числом омилення та кислотним числом.

Устаткування та реактиви. Ваги аналітичні: водяна баня; колби конічні на 50 мл із зворотними холодильниками (2 шт.); піпетки з однією міткою на 1 мл; бюретки з краном на 25 або 50 мл (2 шт); гідроксид калію (0,5 н.) в спирті (90%-ному); соляна кислота (0,5 н, титрована); фенолфталеїн (1%-ний).

Хід роботи. В одну колбу місткістю 50 мл вносять 0,5 г жиру, відваженого на аналітичних терезах, а в іншу – 0,5 мл води. Потім в обидві колби додають з бюретки по 15 мл 0,5 н. спиртового розчину гідроксиду калію. Колби закривають пробками зі зворотними повітряними холодильниками (довжина 70 см) і нагрівають на киплячій водяній бані протягом 30 – 40 хвилин при періодичному струшуванні. Стежать, щоб рідина в колбі слабо кипіла і щоб верхня частина трубки не нагрівалася. Після закінчення омилення в кожну колбу додають по 15 – 20 мл води, по 3 – 4 краплі фенолфталеїну і титрують 0,5 н. розчином соляної кислоти до зникнення рожевого забарвлення (визначають кількість лугу, що не зв'язався). Виходячи з того, що 1 мл 0,5 н. розчину гідроксиду калію відповідає його масі у 28 мг, розрахунок числа омилення проводять за формулою:

$$\text{Число омилення} = \frac{(V_1 - V_2) \times 28}{a}$$

де V_1 – кількість (в мл) 0,5 н. розчину HCl, який був витрачений на титрування контролю (колба з водою); V_2 – кількість (в мл) 0,5 н. розчину HCl, який був витрачений на титрування досліду (колба з жиром); а – наважка жиру (в г).

Контрольні запитання

1. Опишіть основні фізичні константи жирів. На що вони впливають?
2. Основні методи визначення хімічних констант жирів?
3. Якою якісною реакцією можна виявити жовчні кислоти в біологічних рідинах?
4. Вказати вміст загальних фосфоліпідів у нормі та причини збільшення їх концентрації в сироватці крові?
5. На чому базується принцип методу визначення холестерину?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

Тема №6 «Ліпіди»

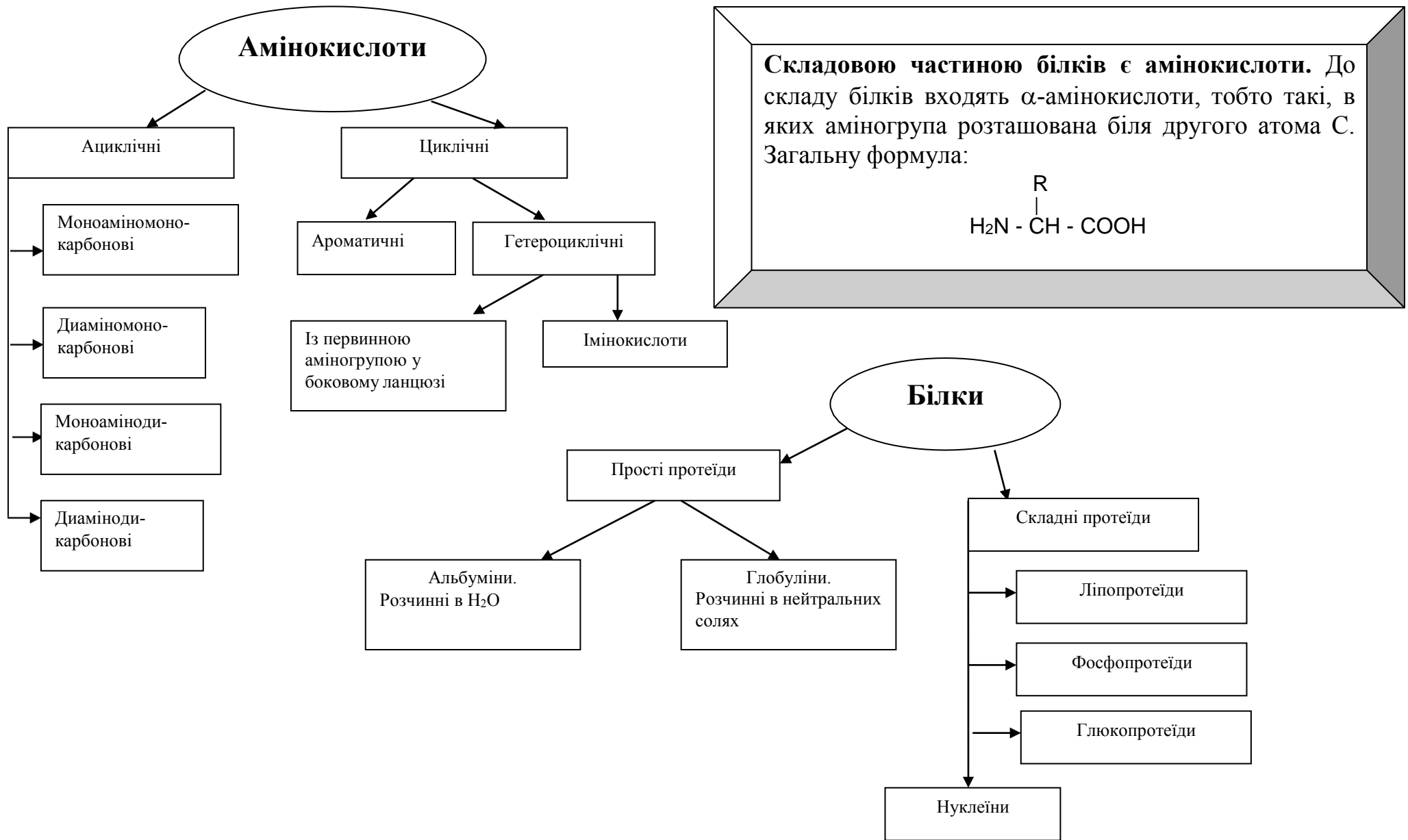
Варіант №1

1. Ліпіди розчиняються у всіх перерахованих нижче речовинах крім:
а) ефіру; б) води;
в) бензолу; г) хлороформу.
2. У структурному відношенні всі ліпіди є:
а) простими ефірами, б) вищими спиртами;
в) естерами; г) поліциклічними спиртами.
3. До структурних ліпідів відносяться всі перераховані нижче крім:
а) фосфоліпідів; б) гліколіпідів;
в) тригліцеридів; г) стеридами.
4. До складу тригліцеридів входять всі перераховані нижче елементи крім:
а) Н; б) О; в) S; г) С.
5. Головними ліпідами мембран є:
а) тригліцериди; б) гліколіпіди;
в) воски; г) фосфоліпіди.
6. Складні ефіри ВЖК і поліциклічних спиртів називаються:
а) воски; б) стеридами; в) стероли.
7. Найбільш поширені насичені ВЖК, що входять до складу ліпідів:
а) пальмітинова; б) оцтова;
в) стеаринова; г) мурашина.

Варіант №2

1. Ліпіди розчиняються в:
а) воді; б) розчинах солей;
в) ефірі; г) розчинах кислот.
2. Ліпіди складають від маси тіла людини:
а) 30-40%; б) 10-20%; в) 80-90%; г) 8-10%.
3. До складу ліпідів входять ВЖК:
а) з парним числом атомів вуглецю;
б) з непарним числом атомів вуглецю;
в) монокарбонові;
г) дикарбонові.
4. До резервним ліпідам відносяться:
а) фосфоліпіди; б) гліколіпіди;
в) тригліцериди; г) стеридами.
5. Складні ефіри ВЖК з гліцерином і поліциклічними спиртами складають групу:
а) складних ліпідів; б) простих ліпідів;
в) фосфатидів; г) діольних ліпідів.
6. Найбільш поширені ненасичені ВЖК, що входять до складу ліпідів:
а) акрилова, б) олеїнова;
в) пальмітинова; г) лінолева.
7. Природні жири, як правило, являють собою суміш:
а) моноацілгліцеридов;
б) діацілгліцеридов;
в) тріацілгліцеридов.

Тема №7 «БІЛКИ»



Лабораторна робота № 6.

Тема: Якісні реакції білків і амінокислот.

Мета: Набути вміння здійснювати основні якісні реакції на білки та амінокислоти.

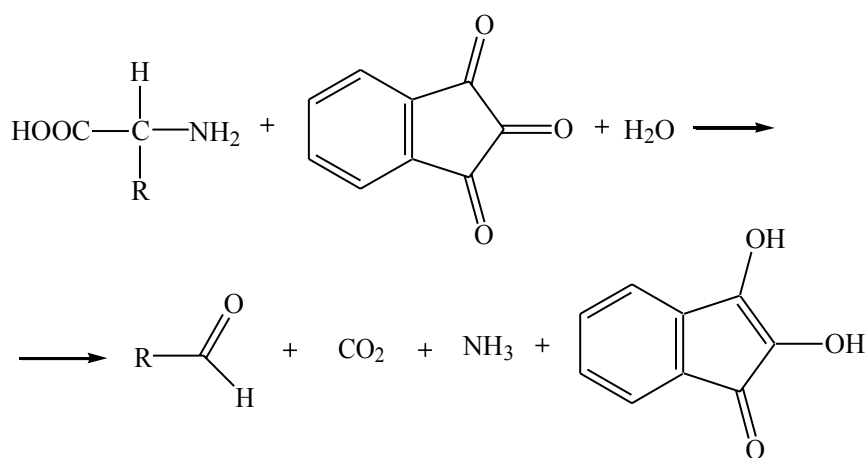
Теоретична частина

1. Білки: визначення, функції в організмі.
2. Амінокислоти, класифікація, властивості.
3. Структура та номенклатура.
4. Амінокислоти як лікарські засоби, механізм їх дії.
5. Замінні та незамінні амінокислоти.
6. Повноцінні та неповноцінні білки.

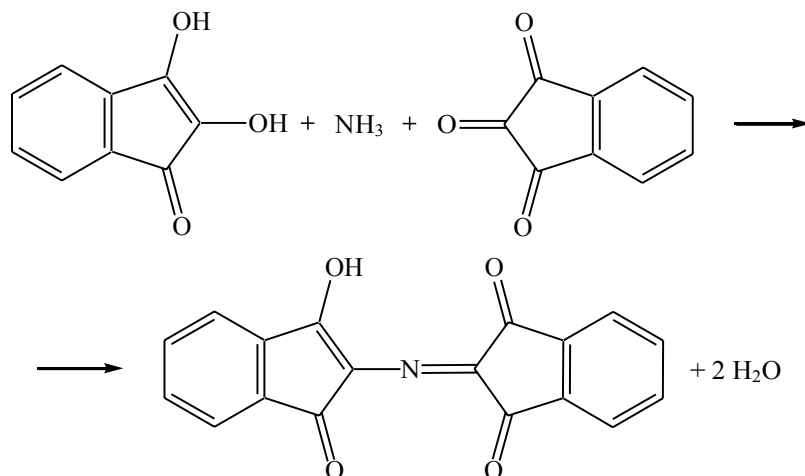
Практична частина

Дослід 1. Нінгідрінова реакція.

Принцип. Реакція дозволяє виявити α -амінокислоти. Внаслідок взаємодії α -амінокислоти з нінгідрином утворюється забарвлена комплексна сполука. При нагріванні (до 70°C) α -амінокислоти окиснюються нінгідрином і дезамінуються з утворенням амоніаку і декарбоксілюються з утворенням альдегіду і вуглекислого газу. Нінгідрин в цей час відновлюється:



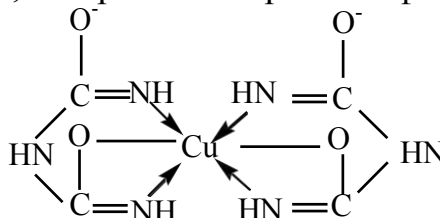
Відновлений нінгідрин конденсується з амоніаком і окисненим нінгідрином і утворює сполуку, яка має синє-фіолетове забарвлення:



Хід роботи. У пробірку внести розчин білка (5 краплин) і розчин нінгідрину (2 краплі). Вміст пробірки ретельно перемішати і гріти на водяній бані ($t = 70^\circ\text{C}$) п'ять хвилин.

Дослід 2. Біуретова реакція.

Принцип. Реакція дозволяє виявити наявність у сполучі пептидного зв'язку. При взаємодії пептидів і білків з купрум(II) гідроксидом у лужному середовищі виникає комплекс, забарвлений в рожево-фіолетовий колір:

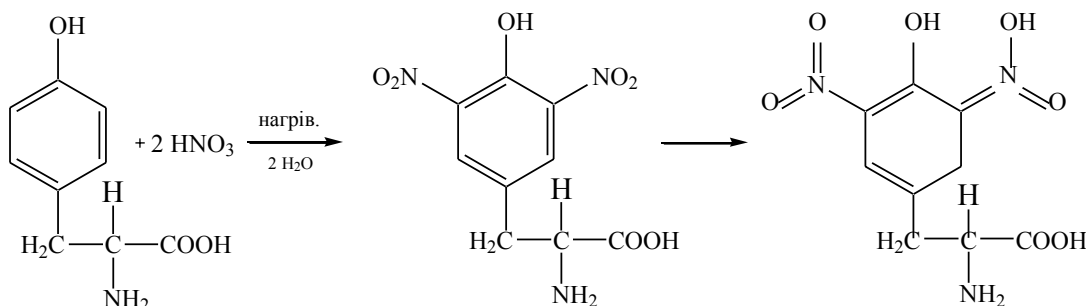


Ця реакція не є специфічною, бо подібний комплекс утворює і біурет.

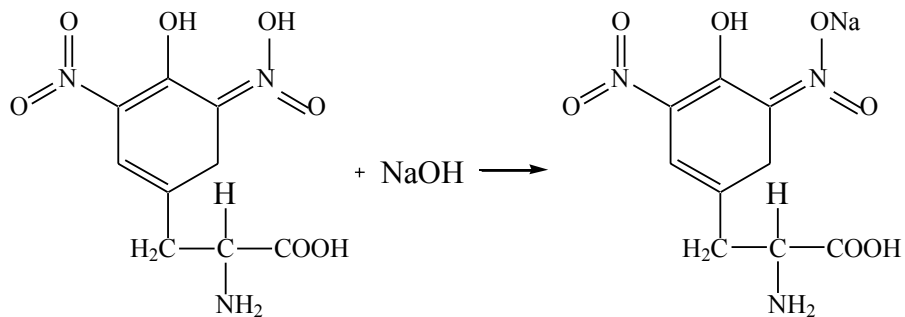
Хід роботи. У пробірку вмістити розчин білка об'ємом 3 см^3 і додати розчин натрій гідроксиду об'ємом 1 см^3 , розчин купрум сульфату (1-2 краплини). Суміш перемішати.

Дослід 3. Ксантапротейінова реакція.

Принцип. Реакція дозволяє виявити ароматичні амінокислоти, що містять бензенові кільця (тирозин, триптофан, фенілаланін). В ароматичних амінокислотах під дією нітратної кислоти відбувається нітрування бензенового кільця з утворенням нітросполуки жовтого кольору:



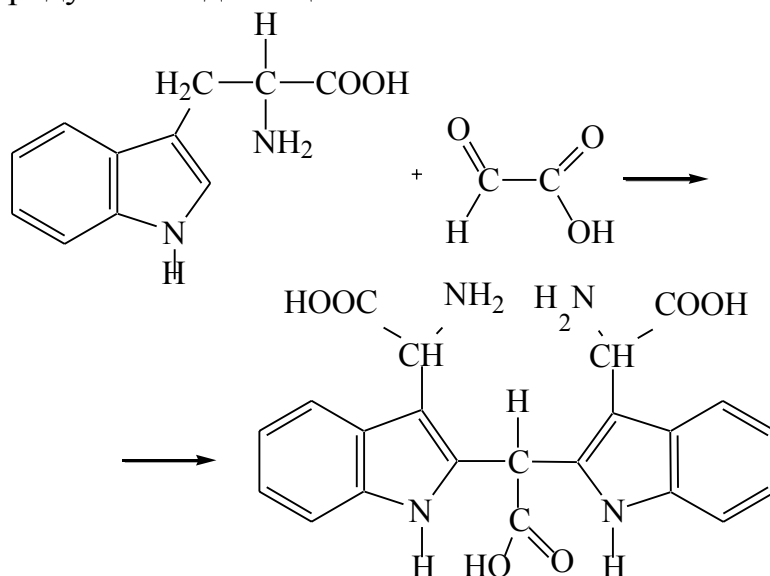
В реакції натрій гідроксиду з хіноїдною формою динітротирозину утворюється натрієва сіль помаранчевого забарвлення:



Хід роботи. В пробірку внести розчин білка об'ємом 3 см³ і розчин концентрованої нітратної кислоти об'ємом 1 см³. Суміш обережно нагріти до появи жовтого забарвлення. Після охолодження у пробірку додати розчин натрій гідроксиду до появи оранжевого забарвлення.

Дослід 4. Реакція Адамкевича.

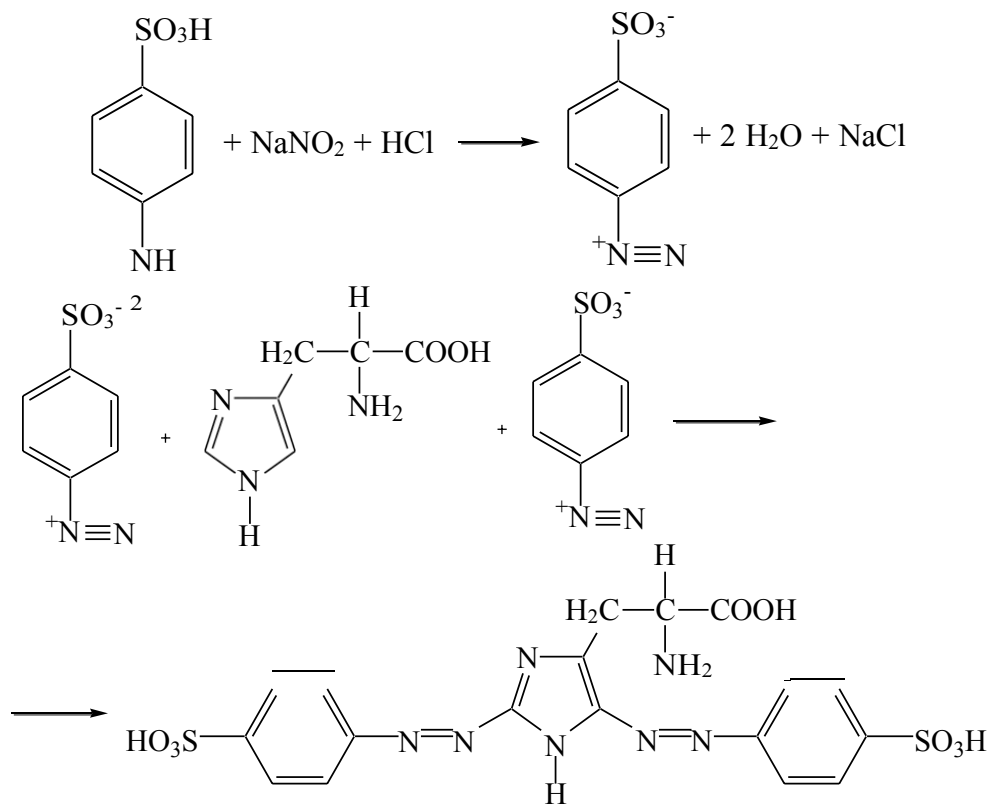
Принцип. Реакція на триптофан. Триптофан у кислому середовищі вступає в реакцію з гліоксиловою кислотою, утворюючи при цьому забарвлені у червоно-фіолетовий колір продукти конденсації:



Хід роботи. До нерозведеного білка об'ємом 0,5 см³ додати розчин льодяної оцтової кислоти (яка завжди містить домішки гліоксилової кислоти) об'ємом 0,5 см³. Утворену суміш спочатку нагріти, а потім охолодити і по стінці пробірці обережно, по краплинам, не перемішуючи рідини, додати розчин концентрованої сульфатної кислоти об'ємом 1 см³. На межі поділу двох фаз через 10 хвилин з'являється красно-фіолетове кільце. Реакцію можна прискорити шляхом нагрівання пробірки на водяній бані.

Дослід 5. Реакція Паулі.

Принцип. Реакція на гістидин і тирозин. При взаємодії сульфанилової кислоти в кислому середовищі з натрій нітритом утворюється діазобензенсульфонова кислота, яка в реакції з гістидином (тирозином) утворює комплексну сполуку вишнево-червоного кольору:



Хід роботи. До розчину сульфанілової кислоти об'ємом 1 см³ додати розчин натрій нітрату об'ємом 2 см³. Після перемішування до суміші додають розчин білка об'ємом 2 см³ і після ретельного перемішування – розчину натрій карбонату об'ємом 6 см³.

Контрольні запитання

1. Навести приклади кислих, нейтральних та ароматичних амінокислот.
2. Назвати особливості будови пептидного зв'язку.
3. Які продукти гідролізу дають біуретову реакцію?
4. Що доводить нінгідрінова реакція?
5. Значення кольорових реакцій на білки.

Лабораторна робота №7. Тема: Реакції осадження білків.

Мета: Ознайомити студентів з основними реакціями осадження білків.

Теоретична частина

1. Пептиди та білки, будова, номенклатура.
2. Рівні організації білкової молекули (первинна, вторинна, третинна, четвертинна).
3. Характеристика хімічних зв'язків, які зумовлюють утворення різних рівнів організації білків.
4. Руйнування білків.

Практична частина

Дослід 1. Осадження білків концентрованими мінеральними кислотами.

У три сухі пробірки наливають по 1–2 мл концентрованих азотної, сірчаної і соляної кислот. Потім, нахиливши кожну пробірку, обережно по стінці доливають у неї з піпетки по 0,5 мл досліджуваного розчину білка так, щоб він не змішувався з кислотою. У місці зіткнення двох рідин з'являється білий аморфний осад білка. При струшуванні осад, що випав при дії азотної кислоти, збільшується, а осад, що випав при дії соляної і сірчаної кислот, розчиняються в їхньому надлишку. Желатина не осаджується мінеральними кислотами. Концентровані мінеральні кислоти викликають необоротне осадження білків. Це пов'язано як з дегідратацією білкових молекул, так і з денатурацією білка.

Дослід 2. Осадження білків органічними кислотами.

У дві пробірки наливають по 2–3 мл розчину білка і додають в одну з них декілька крапель 5%-ного розчину трихлороцтової кислоти, в іншу – декілька крапель 20%-ного розчину сульфосаліцилової кислоти. В обох випадках спостерігається випадання осаду білка. Сульфосаліцилова і трихлороцтова кислоти є чутливими і специфічними реактивами на білок. Трихлороцтова кислота осаджує тільки білки і не осаджує продукти розпаду білка й амінокислоти, тому нею користуються для повного видалення білків з

біологічних рідин (наприклад, сироватки крові). У цих умовах продукти розпаду білків залишаються в розчині.

Дослід 3. Осадження білків солями важких металів.

У дві пробірки наливають 1–1,5 мл досліджуваного розчину білка і повільно, по краплях при струшуванні додають в одну з них розчин сульфату міді, а в іншу – розчин ацетату свинцю. Випадає пластівчастий осад внаслідок утворення малорозчинної солеподібної сполуки (із сіллю міді – блакитного кольору, із сіллю свинцю – білого кольору). При надлишку реактиву осад знову розчиняється. Солі важких металів викликають необоротне осадження білків, утворюючи з ними нерозчинні у воді сполуки.

Дослід 4. Осадження білків фенолом і формаліном.

У дві пробірки, що містять по 1–2 мл розчину білка, додають: у першу – рівний об'єм насиченого водного розчину фенолу, а в другу – рівний об'єм формаліну. В обох пробірках випадає осад білка. Від дії фенолу осад випадає швидше.

Дослід 5. Осадження білків спиртом.

У пробірку наливають 1–1,5 мл розчину білка і додають небагато кристалічного хлориду натрію. Доливають поступово туди ж 5–6 мл етилового спирту. Випадає пластівчастий осад білка внаслідок дегідратації білкових молекул при додаванні спирту.

Контрольні запитання

1. Які речовини використовують у лабораторній практиці у якості осаджувачів білків?
2. Чому білки не осаджуються у сильнокислому і сильнолужному середовищі?
3. Пояснити механізм дії осаджувачів.
4. Що таке адсорбційна пептизація?
5. Що відбувається при нагріванні білкового розчину?
6. Чому у слабкокислому середовищі білки осаджуються?

Лабораторна робота №8.

Тема: Фізико-хімічні властивості білків.

Мета: Ознайомити студентів з фізико-хімічними властивостями білків.

Теоретична частина

1. Значення основних фізико-хімічних властивостей білків;
2. Ізоелектрична точка: визначення, властивості білків в ІЕТ;
3. Денатурація, види, властивості денатурованих білків;
4. Амфотерність;
5. Висолювання білків та його значення;
6. Діаліз білків та його значення;
7. Електрофорез та заряд білкової молекули.

Дослід 1. Денатурація білків при нагріванні.

Принцип. Випадання білків в осад при нагріванні – звертання –

характерне майже для всіх білків (виключення складає желатина, яка не руйнується при нагріванні). Особливо легко і більш повно відбувається осадження білка в слабкокислому середовищі, поблизу від ізоелектричної точки. У нейтральному і сильнокислому середовищах осадження білків йде значно гірше, а в лужному середовищі зовсім не спостерігається. На відміну від осадження солями білків при нагріванні – денатурація білків – необоротна.

Хід роботи. У п'ять пробірок наливають по 2 мл розчину білка:

а) Нагрівають вміст першої пробірки. Осад білка утворюється ще до того, як рідина закипить;

б) Додають у другу пробірку одну краплю 1%-ного розчину оцтової кислоти і нагрівають. Пластівчастий осад білка випадає скоріше і повніше внаслідок того, що в результаті підкислення рН розчину наблизився до ізоелектричної точки білка.

в) Додають у третю пробірку близько 0,5 мл 10%-ного розчину оцтової кислоти і нагрівають. Осад білка не утворюється: навіть при кип'ятінні. г) Додають у четверту пробірку близько 0,5 мл 10%-ного розчину оцтової кислоти та декілька крапель насиченого розчину хлориду натрію і нагрівають. Утворюється осад білка. д) Додають у п'яту пробірку близько 0,5 мл розчину гідроксиду натрію і нагрівають. Осад білка не утворюється навіть при кип'ятінні.

Дослід 2. Визначення ізоелектричної точки (ІЕТ) білка

Принцип. Ізоелектрична точка білка (ІЕТ) – значення рН середовища, при якому білок не несе сумарного заряду, тобто число негативних зарядів зрівнюється з числом позитивних зарядів.

Хід роботи. У 8 пробірок вносять відповідні розчини (табл. 1). У кожену пробірку додають 0,5 мл. 96% етанолу. У тій пробірці де буде помічене максимальне помутніння рідини (візуально), рН розчину буде відповідати ІЕТ білка. Відмітьте ступінь помутніння знаками «-», «+», «++» в таблиці.

Таблиця 4

Виготовлення розчинів з заданим рН

Реагент, мл	Номер пробірки							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Вода	8,4	7,75	8,75	8,5	8,0	7,0	5,0	1,0
0,01 н. CH ₃ COOH	0,6	1,25	-	-	-	-	-	-
0,1 н. CH ₃ COOH	-	-	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0
Розчин білка	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
рН	5,8	5,6	5,3	5,0	4,7	4,4	4,1	3,8
Ступінь помутніння								

Контрольні запитання:

1. За допомогою схем реакцій продемонструвати амфотерний характер α -амінокислот.
2. Навести 2 приклади і дати назви трипептидів.
3. Як зв'язуються між собою молекули білка? Напишіть три пептид зрізних

амінокислот. За допомогою якої реакції можна їх відкрити?

4. Напишіть амінокислоти які мають в складі бензольне кільце.
5. Напишіть амінокислоти які здатні утворювати дисульфідні зв'язки.
6. Додаткові зв'язки, які зберігають просторову конфігурацію молекул білка.

Лабораторна робота № 9.

Тема: Приготування розчинів білків.

Мета: Ознайомити студентів з основними хімічними методами добування білків.

Теоретична частина

1. Класифікація білків. Білки як лікарські препарати.
2. Методи виділення та очистки білків.
3. Змішані макромолекули (гетеромакромолекули), визначення, класифікація складних білків.
4. Гемопротейни, хімічна характеристика та біологічна роль гемоглобіну і його похідних, міоглобіну. Аномальні гемоглобіни.
5. Глікопротеїни та протеоглікани, загальна характеристика, біологічна роль.

Практична частина

Дослід 1. Приготування розчинів білків для проведення реакцій.

а) Нерозбавлений білок курячого яйця.

Відокремлюють білок трьох курячих яєць від жовтків. Вважаючи, що маса білка в одному яйці в середньому дорівнює 33 г, одержують близько 100 мл нерозбавленого розчину білків курячого яйця. Цей розчин містить 88% води, 1% вуглеводів і 0,5% мінеральних речовин; інше припадає на білок. Таким чином, отриманий нерозбавлений білок курячого яйця являє собою приблизно 10%-ний розчин білка.

б) Розведений розчин яєчного альбуміну.

Білок одного курячого яйця після відділення від жовтка добре збивають і потім змішують у колбі при струшуванні з десятикратним об'ємом дистильованої води. Розчин фільтрують через подвійний шар змоченої водою марлі чи шматок випраної полотнини, поміщених у лійку. Відфільтровують розчин яєчного альбуміну; в осаді залишається яєчний глобулін. З огляду на те, що концентрація альбуміну в білку курячого яйця складає близько 6%, отриманий розведений розчин яєчного альбуміну є приблизно 0,5%-ним.

в) Білки м'яса.

Поміщають у склянку 40–50 г пропущеного через м'ясорубку знежиреного м'яса, додають 80–100 мл 10%-ного розчину хлориду натрію і залишають суміш стояти 15–20 хв. при частому помішуванні. Відфільтровують через паперовий складчастий фільтр чи через подвійний шар марлі. У розчині міститься головним чином м'язовий альбумін і глобулін.

г) Білки молока.

До 50 мл свіжого молока додають рівний об'єм насиченого розчину сульфату амонію. При цьому випадають в осад глобуліни і казеїн.

Відфільтровують через складчастий паперовий фільтр розчин альбумінів.

д) Рослинний альбумін.

25 г. пшеничного борошна змішують з 100 мл дистильованої води і суміш струшують протягом 1 години. Розчин центрифугують і надосадову рідину фільтрують через складчастий фільтр. Відфільтрований прозорий розчин містить переважно альбуміни пшеничних зерен.

Дослід 2. Розділення альбумінів і глобулінів методом діалізу і висолювання.

а) Отримання сольової витяжки білка.

Принцип. Альбуміни і глобуліни є найбільш поширеними в природних об'єктах білками. За звичай вони зустрічаються разом, і відділення їх один від одного ґрунтується на різній їх розчинності у воді і різній здатності до висолювання мінеральними солями.

Альбуміни розчинні у воді і в концентрованих розчинах солей (осідають лише при більш ніж 50%-ному насиченні розчину сіллю), а глобуліни розчинні тільки в розчинах солей середньої концентрації (8 – 15%-них). У розчинах збільш високою і більш низкою концентрацією солі розчинність глобулінів зменшується.

Устаткування та реактиви. Ступка фарфорова; воронка скляна; стакан скляний лабораторний з носиком на 1 л; колодієвий мішечок для діалізу; марля; фільтри паперові; хлорид натрію (10%-ний); нітрат срібла (1%-ний); сульфат амонію; гідроксид натрію (10%-ний); сульфат міді (1%-ний); сульфат амонію (насич.); м'язова тканина.

Хід роботи. 10 г подрібненої (пропущеної через м'ясорубку) м'язової тканини розтирають при помішуванні в ступці протягом 10 – 15 хвилин з 40 – 50 мл 10%-ного розчину хлориду натрію. Утворюється однорідна напіврідка маса, яку фільтрують через подвійний шар марлі. Перші каламутні краплі фільтрату зливають знову на фільтр і повторно фільтрують до отримання фільтрату без зважених частинок. Фільтрування йде повільно. Одержують близько 15 – 20 мл прозорого опалесціюючого забарвленого в рожево-червоний колір розчину. В отриманій сольовій витяжці білка містяться глобуліни і альбуміни, які далі розділяють методом діалізу або висолювання.

б) Діаліз сольової витяжки м'язової тканини.

Принцип. Метод діалізу оснований на нездатності великих білкових частинок проникати крізь пори напівпроникних перетинки (штучні колоїдні і целофанові мембрани, природні тваринні і рослинні перетинки), тоді як інші молекули і іони легко проходять через них. Методом діалізу користуються для очищення розчинів високомолекулярних сполук від солей та інших речовин. Білковий розчин, очищений цим методом, називається діалізованим.

Устаткування та реактиви. Прилади, які використовуються для діалізу, називаються діалізаторами. Найпростішим діалізатором може бути мішечок целофану або колодію, поміщений в стакан з дистильованою водою. Для більш повного і швидкого здійснення діалізу вода в стакані повинна бути проточною або періодично замінюватися новою.

Хід роботи. Вирізають з целофану круг діаметром 9 – 12 см. Складають його у формі мішечка, вставляють в отвір скляну трубку (завдовжки 5 – 6 см і діаметром 0,5 – 0,8 см) так, щоб верхній кінець трубки виступав з мішечка на

2 – 3 см, а нижній був занурений всередину на $\frac{1}{3}$ мішечка. Мішечок туго зав'язують на трубці шнурком. До роботи діалізатор слід зберігати наповненим водою і зануреним за допомогою тримача для пробірок в стакан з водою. Мішечок повинен бути підвішений так, щоб він не торкався стінок і дна стакана. Перед роботою воду з діалізатора виливають.

За допомогою воронки з тонко відтягнутим кінцем вливають в діалізатор 10 мл (не більше половини об'єму мішечка) отриманого фільтрату сольової витяжки і занурюють мішечок в літровий стакан з дистильованою водою. Через 5 – 10 хвилин відбирають піпеткою деяку кількість води із стакана і переконуються в наявності там хлорид-іонів (реакція з розчином нітрату срібла) і у відсутності білка (біуретова або міллонова реакція на білки). Змінивши воду в стакані, якщо реакція на хлорид-іони яскраво була виражена, продовжують діаліз, час від часу перевіряючи реакцію на хлорид-іони і білок і міняючи воду через кожні 5 – 10 хвилин.

Через 1,5 – 2 години проба на хлорид-іони стає негативною або дуже слабкою. Це свідчить про завершення діалізу, тобто про майже повну дифузю солі з діалізатора в зовнішній розчинник. У мішечку до цього часу прозорий раніше фільтрат каламутніє, унаслідок випадання в осад глобулінів, нерозчинних в дистильованій воді.

Мішечок виймають із стакана і вміст його фільтрують через паперовий фільтр. На фільтрі залишаються глобуліни, у фільтрат переходять альбуміни. Проробляють біуретову реакцію і доводять наявність обох білків в осаді і фільтраті.

Для осадження альбумінів до фільтрату додають порошкоподібний сульфат амонію до насичення розчину. За таких умов альбуміни випадають в осад. Останній фільтрують через сухий паперовий фільтр. При повному насиченні сульфатом амонію в розчині не залишається білка в чому можна переконатися, провівши біуретову реакцію на білки з невеликою порцією фільтрату.

в) Висолювання м'язових білків.

Принцип. Розділення білків сольової витяжки здійснюють також методом висолювання, який оснований на здатності альбумінів і глобулінів осідати при різній концентрації солей.

Хід роботи. До сольової витяжки, отриманої з м'язової тканини, додають рівний об'єм насиченого розчину сульфату амонію. Випадає осад глобулінів. Розчин фільтрують і фільтрат насичують, додаючи сульфат амонію. Випадає осад альбумінів.

Контрольні запитання

1. Опишіть метод Едмана.
2. Розкажіть про синтез пептидів і білків із застосуванням захисту та активації функціональних груп.
3. Перші розшифровані та штучно синтезовані білки та пептиди: інсулін, вазопресин, окситоцин, їх склад будова та біологічна роль.
4. Гідролізат виділеного з молока білка дає позитивні реакції: біуретову, і з молібденовокислим амонієм. Який було виділено білок?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

Тема №7 «Білки»

Варіант №1

1. Білки - біополімери, мономерами яких є:
а) карбонові кислоти; б) β - амінокислоти;
в) аміни; г) α - амінокислоти.
2. Яка ділянка поліпептидного ланцюга вважається її початком?
а) С - кінець; б) N - кінець.
3. Які амінокислоти називають замінними?
а) Амінокислоти, не синтезуються в організмі, а поступають в нього з їжею;
б) амінокислоти, синтезовані в організмі в достатній кількості.
4. З наведених нижче назв вкажіть назви незамінних амінокислот:
а) гліцин; б) серин;
в) лейцин; г) валін.
5. Скільки пептидних зв'язків міститься в пентапептиді?
а) 3; б) 4 в) 6; г) 5.
6. Що являють собою структури білка?
а) Вторинна; б) четвертинна:
 - 1) структура, що складається з певного числа поліпептидних ланцюгів, що займають строго фіксоване положення відносно один одного;
 - 2) порядок чергування амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі;
 - 3) спосіб укладання поліпептидного ланцюга в впорядковану структуру;
 - 4) спосіб укладання поліпептидного ланцюга в просторі.
7. Напишіть повну назву тетрапептиду:
тре – арг – гли - гіс.

Варіант №2

1. Білки, розчинні у воді і розчинах деяких солей, називаються:
а) альбуміни; б) глобуліни.
2. У білках амінокислотні залишки зв'язані між собою:
а) складноефірним зв'язком;
б) водневими зв'язками;
в) пептидними зв'язками;
г) ангідридних зв'язками.

3. Які амінокислоти називають незамінними?

- а) Амінокислоти, не синтезуються в організмі, а поступають в нього з їжею;
- б) амінокислоти, синтезовані в організмі в достатній кількості.

4. З наведених нижче назв вкажіть назви замінних амінокислот:

- а) цистеїн; б) фенілаланін;
- в) метіонін; г) аланін.

5. Скільки пептидних зв'язків міститься в гексапептиді?

- а) 3; б) 4 в) 6; г) 5.

6. Що являють собою структури білка? а) Первинна; б) третинна:

- 1) структура, що складається з певного числа поліпептидних ланцюгів, що займають строго фіксоване положення відносно один одного;
- 2) порядок чергування амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі;
- 3) спосіб укладання поліпептидного ланцюга в впорядковану структуру;
- 4) спосіб укладання поліпептидного ланцюга в просторі.

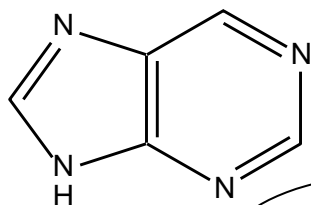
7. Напишіть повну назву тетрапептіда:

мет - іле - лиз - фен.

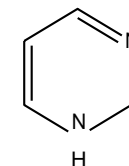
Тема №8 «НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ»

НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ

Пуринові основи



Піримідинові основи



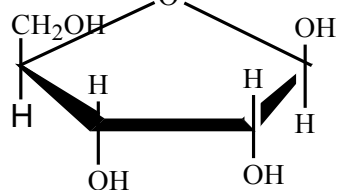
НУКЛЕОТИДИ

Пентози

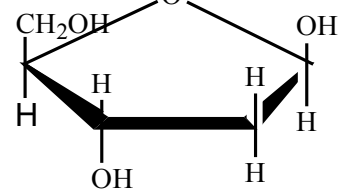
Нуклеозиди

Фосфорна кислота

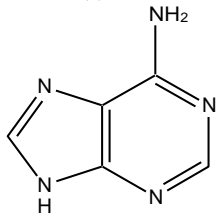
β-D-Рибоза



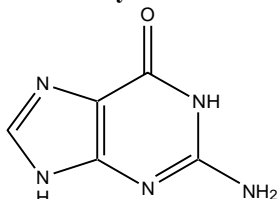
β-D-2-Дезоксирибоза



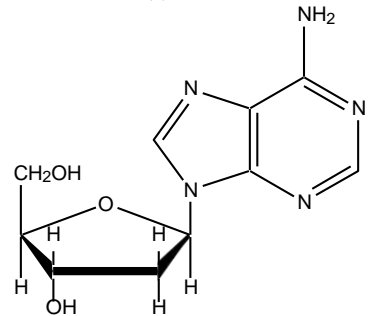
Аденін



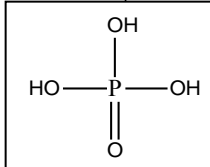
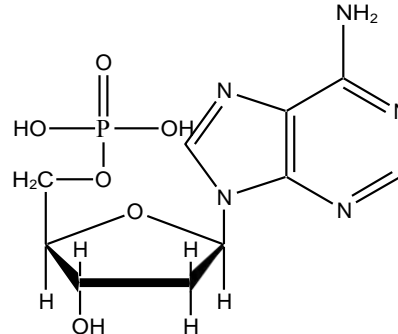
Гуанін



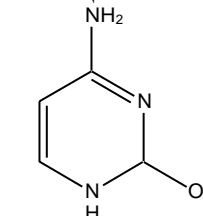
Аденозин



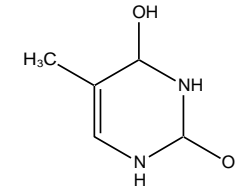
Аденозинова кислота, АТФ



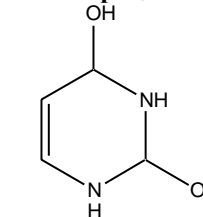
Цитозин



Тимін



Урацил



Лабораторна робота №10.

Тема: Фізико-хімічні властивості нуклеотидів.

Мета: Визначити структурні компоненти нуклеотидів.

Теоретична частина

1. Хімічний склад нуклеїнових кислот. Будова нуклеотидів.
2. Будова нуклеїнових кислот.
3. Хімічна будова і фізико-хімічні властивості пуринових і піримідинових основ.
4. Мінорні азотисті основи, їх будова та значення.
5. Нуклеотидний склад ДНК і РНК, хімічна будова нуклеотидів.
6. Будова полінуклеотидного ланцюга.
7. Нуклеопротеїни, характеристика білків і амінокислот нуклеопротеїнів.
8. Вільні нуклеотиди, їх біологічна роль, використання в фармації.
9. Нуклеїнові кислоти. Їх види, особливості хімічної будови і функцій.
10. Хімічні реакції нуклеїнових кислот.
11. Властивості нуклеїнових кислот.
12. Функції нуклеїнових кислот.

Практична частина

Дослід 1. Кислотний гідроліз нуклеїнових кислот.

Принцип. Для вивчення складу нуклеїнових кислот проводять кислотний гідроліз дріжджів в присутності сірчаної кислоти. При тривалому гідролізі нуклеїнові кислоти розпадаються на мононуклеотид, які в свою чергу гідролізуються на пуринові або піримідинові основи, пентозу і фосфорну кислоту.

Хід роботи. Поміщають 1 г пекарських дріжджів в круглодонну колбу на 100 мл, додають 20 мл. 10% розчину сірчаної кислоти і 20 мл. дистильованої води. Колбу закривають пробкою з довгою скляною трубкою і кип'ятять під тягою протягом години на азбестового сітці при слабкому нагріванні. Через годину після початку кипіння нагрівання рідини припиняють, дають їй охолонути, переносять в циліндр, доводять водою до початкового об'єму і фільтрують. З фільтратом проробляють якісні реакції на складові частини нуклеїнових кислот.

Дослід 2. Срібна проба на пуринові основи.

Нейтралізують 10 крапель гідролізату 1 краплею концентрованого аміаку і додають 5 крапель 1% розчину азотнокислого срібла. Через 3-5 хв випадає невеликий бурий осад срібних похідних пуринових підстав.

Дослід 3. Якісна реакція на пентозне угруповання.

Принцип. При взаємодії концентрованої сірчаної кислоти з гексоз або пентоз відбувається дегідратація їх: з пентоз утворюється фурфурол, а з гексоз - оксиметилфурфурол. Вони дають з тимолом або α -нафтолом в присутності концентрованої сірчаної кислоти продукти конденсації червоного кольору.

Хід роботи. До 10 крапель профільтрованого гідролізату додають 2-3 краплі 1% розчину тимолу, перемішують і по стінці пробірки обережно нашаровуються 20 крапель концентрованої сірчаної кислоти. При струшуванні

на дні пробірки утворюється червоне забарвлення внаслідок утворення продукту конденсації фурфуролу з тимолом.

Контрольні запитання

1. Якісні реакції на вуглеводний компонент та фосфатну кислоту.
2. Утворення N-глікозидного та складноефірного зв'язку.
3. Написати структурну формулу аденіну і вказати пірольний та піридиновий атоми нітрогену.
4. Написати рівняння реакції гідролізу цитидину.
5. Дати визначення поняттям: нуклеїнова кислота, нуклеотид, нуклеозид, структури нуклеїнових кислот, 3',5'-фосфодиефірний зв'язок, кето- енольна таутомерія азотистих основ, денатурація.
6. Що таке повний і неповний гідроліз нуклеопротейдів?
7. Назвіть продукти гідролізу нуклеопротейдів?

Лабораторна робота №11.

Тема: Дослідження рибонуклеопротейдів.

Мета: Ознайомити студентів з основними методами дослідження рибонуклеопротейдів.

Теоретична частина

1. Рибонуклеїнові кислоти (РНК).
2. РНК, особливості структурної організації різних видів РНК. Їх біологічне значення.
3. Транспортні рибонуклеїнові кислоти, їх значення.
4. Нуклеїнові кислоти: РНК та ДНК, склад, типи зв'язків між структурними компонентами.
5. Типи РНК та їх біологічна роль.

Практична частина

Дослід 1. Виділення рибонуклеопротейдів.

Дріжджі масою 5 г змішати у ступці з етером об'ємом 1 см³ і водою об'ємом 2 см³, додати 10-20 г дрібного піску і старанно розтерти протягом 15-20 хвилин, приливаючи у ступку порціями розчин NaOH ($w = 0,4\%$) об'ємом 25-30 см³. Осад профільтрувати або відцентрифугувати; фільтрат вилити у стакан і додавати по краплям розчин оцтової кислоти ($w = 10\%$) до припинення виділення осаду (приблизно 5-8 см³). Добутий осад нуклеопротейду відокремити центрифугуванням.

Дослід 2. Ідентифікація білків у складі нуклеопротейдів.

У пробірку внести гідролізат об'ємом 0,5 см³, нейтралізувати за індикаторним папірцем розчином NaOH ($w = 10\%$), додати розчин NaOH ($w = 10\%$): 2-3 краплі розчину купрум сульфату ($w = 10\%$). Перемішати.

Контрольні запитання

1. Нуклеїнові кислоти: визначення, склад, якісні реакції на складові частини.

2. Фосфо-, гліко-, ліпопротеїни, хімічна природа, біологічна роль, застосування в фармації.
3. Нуклеозиди: склад, будова, номенклатура, тип зв'язку.
4. Фосфорильовані похідні нуклеотидів, значення АДФ та АТФ. Участь нуклеотидів в будові коферментів.
5. Написати будову динуклеотидної ділянки РНК з послідовністю азотистих основ У- Г.
6. Нуклеотиди як складні мономерні одиниці нуклеїнових кислот: склад, будова, типи зв'язків.
7. Перелічіть правила Чергоффа.

Лабораторна робота №12.

Тема: Виділення дезоксирибонуклеопротейдів.

Мета: Навчитися виділяти дезоксирибонуклеопротейди з селезінки і проводити якісні реакції на продукти їх гідролізу.

Теоретична частина

1. Поняття про первинну структуру ДНК.
2. Специфічний склад ДНК, як основна систематична ознака.
3. Закономірності будови ДНК еукаріот і прокаріот.
4. Оперон. Будова, властивості, функції.
5. Вторинна і третинна структури ДНК.
6. Способи спіралізації ДНК.
7. Денатурація і ренатурація. Гібридизація ДНК.

Практична частина

Дослід 1. Виділення дезоксирибонуклеопротейдів з селезінки.

Принцип. Дезоксирибонуклеопротейди виділяють з тканин, багатих клітинними ядрами (щитовидна залоза, селезінка, сперматозоїди і т.д.). ДРНП розчиняються в розчинах солей середньої концентрації, наприклад в хлориді натрію (1М), з утворенням в'язких розчинів і знову осідають при розведенні останніх (до 0,15М) у вигляді волоконного нуклеопротейду.

Устаткування та реактиви. Центрифуга; водяна баня; дерев'яні палички з насічками; циліндр мірний на 50 або 100 мл; високий стакан скляний лабораторний з носиком, на 500 мл; ступка (діаметр 110 мм); селезінка (або інший орган); пісок промитий і прожарений; соляна кислоті (1 н.); хлорид натрію (0,1 М і 2 М); гідроксид натрію (0,4%-ний); дифеніламін; рибоза (1%-на); фуксинсірчана кислота.

Хід роботи. В ступці розтирають 2 – 3 г селезінки з рівною кількістю піску, додають спочатку 5 мл охолодженого 2 М розчину хлориду натрію, а потім поступово малими порціями 50 мл охолодженого 1 М розчину хлориду натрію. Розтирання продовжують 10 – 15 хвилин у ступці, при постійному охолодженні льодом. Масу, що утворилася, переносять в центрифужні пробірки і центрифугують 15 хвилин. Змірявши об'єм отриманого центрифугата, вливають його в шестикратний об'єм води тонким струменем,

поволі розмішуючи рідину дерев'яною паличкою. Нуклеопротейд, що виділився у вигляді ниток намотується на дерев'яну паличку.

Якщо нитки ДРНП не утворилися, а виділився осад, то слід дати відстоятися осад, обережно злити з нього весь прозорий відстій, а залишок рідини піддати центрифугуванню. Осад після центрифугування досліджують на вміст в ньому ДНК.

Дослід 2. Реакція продуктів гідролізу з дифеніламіном.

Принцип. Дезоксирибонуклеїнову кислоту знаходять по її реакції з дифеніламіном, який з дезоксирибозою дає синє забарвлення. Рибонуклеїнова кислота (або рибоза), на відміну від ДНК, дає з цим реактивом зелене забарвлення.

Хід роботи. У пробірку переносять небагато осаду ДНК і розчиняють його в 1 – 2 мл 0,4%-ного розчину гідроксиду натрію. До розчину додають рівний об'єм розчину дифеніламіну і суміш нагрівають на киплячій водянній бані близько 10 – 15 хвилин. З'являється синє забарвлення розчину. В іншій пробірці нагрівають з дифеніламіном розчин рибози, до якого додано 1 – 2 мл 0,4%-ного розчину луку. Суміш забарвлюється в зелений колір.

Дослід 3. Реакція продуктів гідролізу з фуксинсірчаною кислотою.

Принцип. Дезоксирибонуклеїнова кислота після м'якого кислотного гідролізу при взаємодії з фуксинсірчаною кислотою забарвлюється у фіолетовий колір. У результаті кислотного гідролізу відбувається розпад глікозидних зв'язків з пуриновими основами. Утворюється апуринова ДНК з відкритою формою дезоксирибози, що містить вільну альдегідну групу. Відкрита форма 2-дезоксирибози вступає в реакцію з фуксинсірчаною кислотою по альдегідній групі. Глікозидні зв'язки рибози, що входять до складу рибонуклеїнової кислоти, не піддаються гідролізу в тих м'яких умовах, в яких він йде у дезоксирибонуклеїнової кислоти.

Хід роботи. У центрифужну пробірку беруть невелику кількість дезоксирибонуклеопротейда або дезоксирибонуклеїнової кислоти, додають 2 мл 1 н. розчину соляної кислоти, нагрітої до 60°C, і пробірку ставлять у водяну баню на 10 хвилин при 60°C. Після охолодження центрифугують, зливають кислоту і до осаду додають фуксинсірчану кислоту. Через деякий час з'являється фіолетове забарвлення осаду.

Контрольні запитання:

1. Подвійна спіраль ДНК, її особливості. Комплементарні основи.
2. Написати будову ділянки ДНК з послідовністю азотистих основ –ТГ
3. Написати будову цитидину, дезоксигуанозину, показати лактам-лактамну таутомерію.
4. Написати будову аденілової та тимідилової кислот, вказати типизв'язків.
5. Написати будову динуклеотидної ділянки ДНК з послідовністю азотистих основ А – Ц.
6. Які продукти гідролізу виявляються пробою Тромера?

Лабораторна робота №13.

Тема: Виділення дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК).

Мета: Навчитись виділяти ДНК з різних продуктів.

Теоретична частина

1. ДНК, особливості структурної організації молекули ДНК.
2. Біохімічні докази генетичної функції ДНК.
3. Біологічна роль ДНК.
4. Мутагени. Репарація пошкоджень ДНК.
5. Генетичний код, його роль.

Практична частина

Дослід 1. Виділення дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК).

Принцип. Як відомо, ДНК, є в кожній клітині, а значить, виділити її можна з будь-якої тканини – навіть з кісток тварин, луски риб або деревини, де клітин не так вже багато в порівнянні з об'ємом позаклітинної речовини. У насінні рослин відносний, вміст ДНК вищий, ніж у стеблі, а з молодих зростаючих пагонів її можна виділити істотно більше, ніж з такого ж за обсягом здерев'янілого стовбура.

Хід роботи. Рослинний матеріал, що містить багато ДНК (банан, зелений горошок, морква, та ін.) покладіть в міксер додайте 1/8 чайної ложки солі і 200 мл холодної води. Збивайте протягом 15 секунд. Процідіть суміш через фільтр. В отриману м'якоть додайте 1/6 від її кількості рідкого миючого засобу і добре розмішайте. Залиште на 5-10 хвилин. Нахиліть пробірку і повільно влийте в неї трохи етилового спирту, щоб він утворив шар поверх суміші. Лити слід доти, доки спирту та суміші не виявиться порівну. ДНК спливе наверх у вигляді пластивців. Дерев'яною паличкою (олівцем) виловите їх і розгляньте під мікроскопом.

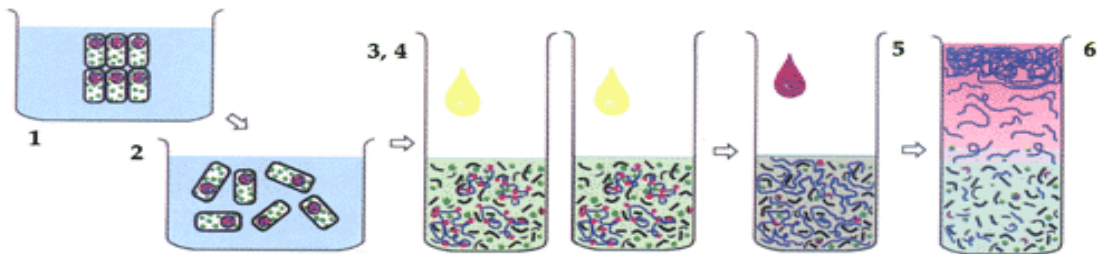


Рис. 1. Методика виділення ДНК
1 – 2. Етап подрібнення матеріалу;
3 – 4 – етап додавання миючого засобу;
5 – етап додавання спирту;
6 – виділення ДНК

Контрольні запитання:

1. Записати структурні формули:
а) уридин; б) тимідин; в) аденозин; г) цитидин; д) гуанозин; е) АМФ
ж) дГМФ; з) дЦМФ; и) УМФ.
2. Які нуклеїнові кислоти менш чутливі до денатурації:
а) А-Т пар > Г-Ц пар.
б) Г-Ц пар > А-Т пар.
3. У виділеному з кишкової палички розчині нуклеїнових кислот виявили аденін, гуанін, цитозин, фосфорну кислоту. Які реакції підтверджують, що

виділили ДНК?

4. У виділеній з селезінки речовині виявлені: дезоксирибоза, тимін, аденін, гуанін, цитозин, фосфорна кислота. Назвіть сполуку, яка виділена.

5. У гідролізаті дріжджів виявлені рибоза, аденін, гуанін, цитозин, урацил. До складу якої сполуки входять ці компоненти?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ
Тема 8 «Нуклеїнові кислоти»

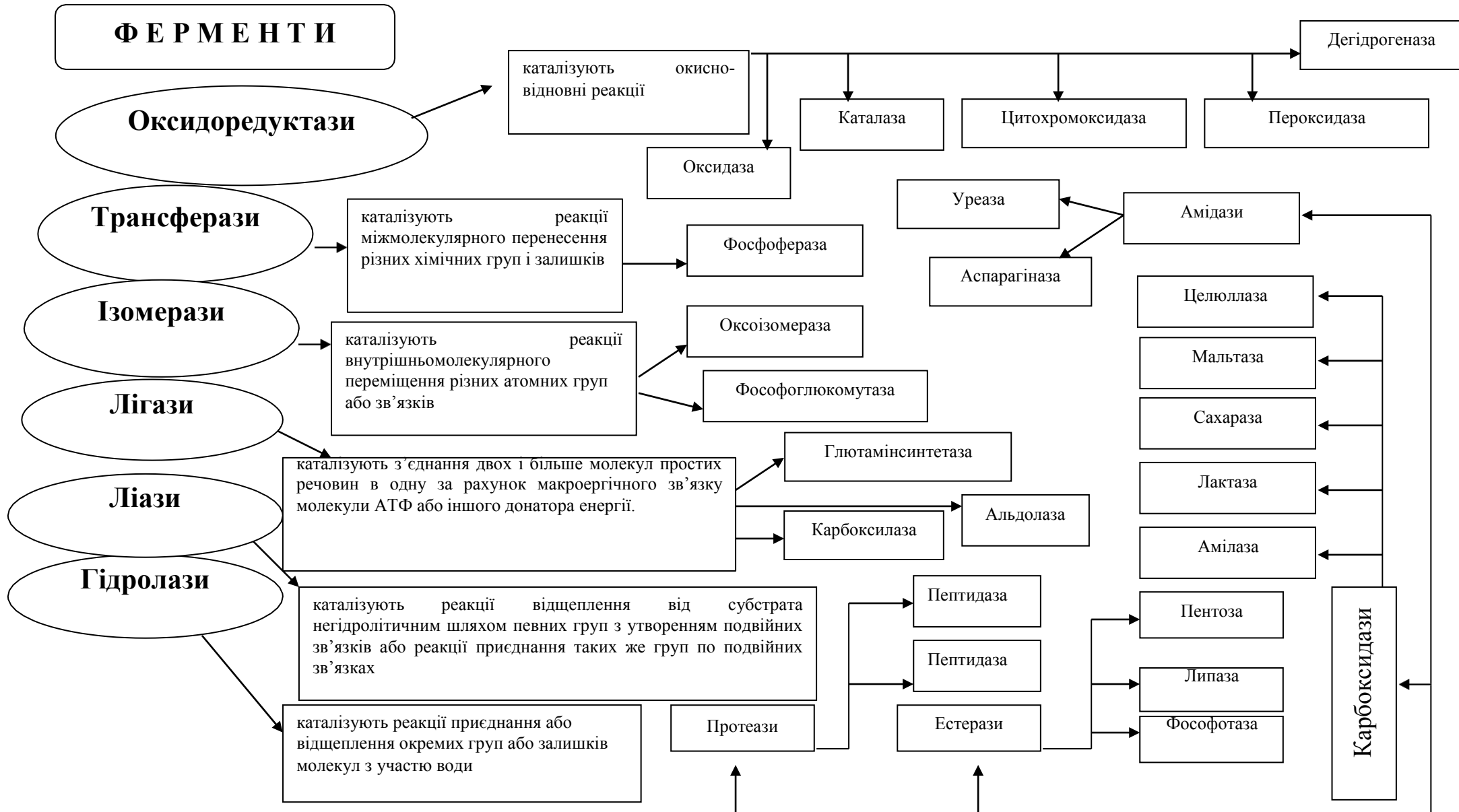
Варіант 1

№п/п	Умова	РНК	ДНК
1	Вказати основні характеристики РНК і ДНК.		
2	Молекулярна маса: 25 000 100 000 1 000 000		
3	Локалізація в клітині: ядро мітохондрії цитоплазма рибосома апарат Гольджі Функції: перенесення амінокислот перенесення інформації на РНК перенесення інформації на білок		

Варіант 2

№п/п	Умова	РНК	ДНК
1	Вказати основні характеристики структури ДНК і РНК.		
2	Ознаки: первинна вторинна третинна		
3	Один виток дезоксиполінуклеотидної біспіралі має 10 пар нуклеотидних залишків		
4	Односпірально		
5	Біспірально		
6	Віддаль між залишками сусідніх дезоксирибонуклеотидів складає 0,56 нм		
7	Крок спіралі рівний 0,34 нм		
8	Зовнішній діаметр біспірального дезоксиполірибонуклеотида 1 нм		
9	Спіраль антипаралельна		
10	Спіраль комплементарна		
10	Фосфодієфірний 3'-5' міжнуклеотидний зв'язок		

Тема №9 «ФЕРМЕНТИ»



Лабораторна робота №14.

Тема: Загальні властивості ферментів.

Мета: Ознайомити студентів з основними властивостями ферментів.

Теоретичні питання

1. Поняття про ферменти. Спільні та відмінні властивості між ферментами та неорганічними каталізаторами. Термолабільність ферментів. Специфічність дії ферментів.
2. Будова простих ферментів. Функціонально активні ділянки ферментативної молекули. Загальна характеристика коферментів. Їх природа, зв'язок з апоферментом та значення для ферментативного перетворення.
3. Рівні структурної організації ферментів. Мультиферментні комплекси, ферментативні ансамблі, поліфункціональні ферменти, їх переваги.
4. Препарати ферментів як лікарські засоби.

Практична частина

Дослід 1. Добування амілази з слини.

Устаткування та реактиви: водяна баня, пластинка порцелянова, лійка скляна, колба конічна на 100 мл: циліндр мірний з носиком на 50 мл; склянки лабораторні на 100 мл (2 шт.), клейстер крохмальний (1%-ний), йод (1%-ний) у йодиді калію (3%-ному), фелінгова рідина.

Хід роботи. Рот обполіскують 2–3 рази водою для видалення залишків їжі. Відміряють циліндром 50 мл дистильованої води й обполіскують нею рот протягом 3–5 хв. у кілька прийомів. Зібрану рідину (приблизно 50–60 мл) фільтрують через вату і фільтрат використовують для роботи.

Дослід 2. Гідроліз крохмалю під дією амілази слини.

У дві пробірки наливають по 5 мл крохмального клейстеру й в одну з них – 5 мл води, а в іншу – 5 мл розчину слини. Обидві пробірки зі скляними паличками, зануреними в них, одночасно поміщають у водяну баню при 40°C. Через 1 хв. від кожної суміші відбирають за допомогою скляної палички по краплі рідини і змішують їх окремо з краплею йоду, заздалегідь нанесеної на пластинку. Повторюють узяття проб через 2, 4, 6 і 8 хв. Забарвлення з йодом проб із пробірки, що містить слину, змінюється від синього до синьо-фіолетового, буро-червоного, червоного і, нарешті, жовтого.

До вмісту пробірки зі слиною додають 1–2 мл фелінгової рідини і суміш нагрівають до початку кипіння. Утворюється червоний осад оксиду міді (I) за рахунок відновлення гідроксиду міді (II) мальтозою і низькомолекулярними декстринами, що утворилися. Контрольна проба в тих же умовах не відновлює гідроксид міді (II) в оксид міді (I).

Дослід 3. Вплив температури на активність амілази слини

Устаткування та реактиви: водяна баня, термометр лабораторний, піпетки 1 мл, 2 мл, палички скляні, пластинка порцелянова, слина розведена (пригот. див. вище), крохмаль (1%-ний), йод (0,3%-ний) у йодиді калію (3%-ному), гідроксид натрію (10%-ний), сульфат міді (1%-ний).

Хід роботи. У чотири пронумеровані пробірки наливають по 2 мл 1%-

ного розчину крохмалю. Пробірку 1 поміщають у киплячу водяну баню, пробірку 2 – у водяну баню при 40°C, пробірку 3 залишають при кімнатній температурі і пробірку 4 поміщають у лід. Через 10 хв., коли вміст пробірок набуде заданої температури, в усі пробірки додають по 0,5 мл розведеної в 10 разів слини, перемішують за допомогою скляної палички і залишають у тих же умовах. Спостереження за ходом гідролізу крохмалю ведуть по реакції з йодом. Для цього наносять на порцелянову пластинку кілька крапель розчину йоду в йодиді калію і змішують їх із краплями суміші з кожної пробірки, беручи проби через 1, 2, 4, 6, 8, 10 і 12 хв. За зміною забарвлення крохмалю з йодом судять про ступінь гідролізу крохмалю в кожній пробірці. Результати спостережень заносять у таблицю, позначаючи буквою “с” (синє забарвлення) позитивну пробу з йодом на крохмаль, буквою “к” - позитивну пробу на декстрини (забарвлення червоних тонів) і буквою “ж” – негативну пробу (жовте забарвлення йоду). На підставі отриманих даних зробіть висновок про величину температурного оптимуму для амілази слини.

Таблиця 6

№ пробірки	t, °C	Реакція з йодом після закінчення часу (хв.)						
		1	2	4	6	8	10	12
1	100							
2	40							
3	15 – 20							
4	0							

Дослід 4. Вплив рН середовища на активність ферментів.

Устаткування та реактиви: водяна баня, термометр лабораторний, пластинка порцелянова, бюретки прямі з краном на 50 мл (2 шт.), піпетки з однією міткою на 1 мл (2 шт.), палички скляні (4 шт.), слина розведена, дигідрофосфат калію $1/15M$ і гідрофосфат натрію $1/15M$, крохмаль (0,5%-ний), йод (0,3%-ний) у йодиді калію (3%-ному).

Хід роботи. Серії розчинів з визначеними значеннями рН одержують, використовуючи фосфатний буфер. Дві бюретки заповнюють $1/15M$ розчином дигідрофосфату натрію і $1/15M$ розчином гідрофосфату калію. Розчини змішують у визначених співвідношеннях таким чином, що в кожній пробірці одержують по 5 мл буферної суміші з величинами рН: 5,59; 6,98; 7,38; 8,04. У кожен з чотирьох пробірок додають по 1 мл 0,5%-ного розчину крохмалю, 1 мл розведеної в 10 разів слини і ретельно перемішують вміст за допомогою скляної палички. Далі всі пробірки, не виймаючи з них скляних паличок, поміщають у водяну баню, нагріту до 40°C. Через 3–5 хв. із усіх пробірок паличками наносять на порцелянову пластинку по краплі суміші, поруч з попередньо вже нанесеними на неї краплями розчину йоду. Краплі з'єднують і, якщо спостерігається розходження у забарвленні з йодом у дослідних пробах, пробірки виймають з бані, охолоджують і додають у кожен по 3–4 краплі розчину йоду в йодиді калію. При відсутності помітного розходження у забарвленні проб з йодом на порцеляновій пластинці продовжують нагрівання

пробірок у водяній бані ще кілька хвилин, а потім знову випробують на пластинці проби на ступінь розщеплення крохмалю. Цю операцію повторюють доти, поки не відбудеться помітних зрушень у забарвленні проб з йодом.

Продовжують інкубацію всіх проб у присутності доданого йоду і для кожної з них відзначають час, коли зникне синє забарвлення (закінчення амілолітичного розщеплення). Отримані результати виражають графічно: по осі абсцис наносять значення рН дослідів, а по осі ордината – час розщеплення крохмалю при відповідних значеннях рН. З'єднуючи крапки лінією, одержують криву, яка характеризує залежність активності ферменту від значення рН середовища.

Контрольні запитання

1. Навести приклади абсолютної та відносної специфічності ферментів.
2. Яку дію мають на ферменти солі важких металів і концентровані мінеральні кислоти?
3. Скласти схему дегідрування молочної кислоти в присутності ферментів класу оксидоредуктаз (лактатдегідрогенази).
4. Ферменти гексокінази каталізують перенос фосфатної групи:
 $АТФ + \text{глюкоза} \rightarrow АДФ + \text{глюкозо-6-фосфат}$. Скласти схему реакцій.
5. Фермент уреаза гідролізує сечовину, утворюючи CO_2 і NH_3 . Скласти схему реакції.

Лабораторна робота № 15.

Тема: Активність окремих ферментів.

Мета: Ознайомити студентів з активністю окремих ферментів.

Теоретична частина:

1. Сучасні уявлення про механізм дії ферментів та кінетику ферментативних реакцій.
2. Залежність швидкості ферментативної реакції від температури, рН середовища, концентрації субстрату і ферменту. Константа Міхаеліса.
3. Множинні форми ферментів (ізоферменти). Їх структурні і функціональні особливості. Клінічне значення визначення ізоферментів лактатдегідрогенази.
4. Вплив іонізуючого випромінювання і різних екологічних факторів на будову і функціонування ферментів.
5. Клініко-діагностичне значення визначення активності ферментів.

Практична частина

Дослід 1. Специфічність дії сахарози.

Принцип. Сахароза каталізує розщеплення крохмалю з утворенням глюкози і фруктози. Дію сахарози можна знайти по появі в інкубаційному середовищі вільної глюкози, яка дає позитивну реакцію Троммера внаслідок наявності в молекулі глюкози вільного полуацетального альдегіду. Сахароза не

володіє відновними властивостями.

Устаткування та реактиви: 1%-вий розчин крохмалю; 1%-вий розчин сахарози; 10%-вий розчин NaOH; 1%-вий розчин CuSO₄, реактив Люголя; дистильована вода.

Хід роботи. Готують 2 інкубаційні проби, як вказано в таблиці, використовуючи як субстрат для сахарози 2 речовини – крохмаль і сахарозу. Проби витримують в термостаті 15 хв. при 37⁰ С. Потім з другою пробою виконують 2 реакції: Троммера і реакція з йодом. З першою пробою виконують реакцію Троммера.

Таблиця 7

№ проби	Сахароза (мл)	Крохмаль (мл)	Сахароза (мл)	Реакція Троммера (+;-)	Реакція з йодом (+;-)
1	1	1			
2	1		1		

Дослід 2. Відкриття дії ферменту ліпази.

Принцип. Ліпазу можна виявити, додавши розчин ферменту до молока, підлуженого розчином натрій карбонату до блідо-рожевого кольору по фенолфталеїну. У присутності ліпази проходить гідролітичне розщеплення жиру молока на гліцерин та жирні кислоти, реакція середовища зсувається у кислоту сторону, і рожеве забарвлення зникає.

Хід роботи. У дві пробірки наливають по 10 крапель молока. У першу пробірку додають 5 крапель витяжки з підшлункової залози або 3% розчин панкреатину, що містить ліпазу. В другу пробірку додають таку ж кількість води. В обидві пробірки вносять по одній краплі 1% розчину фенолфталеїну і краплями 1% розчин натрій карбонату до появи блідо-рожевого забарвлення (не можна добавляти надлишок розчину натрій карбонату). Пробірки ставлять у термостат при температурі 38⁰С на 30 хвилин. Спостерігають зміну забарвлення.

Контрольні запитання:

1. Фермент амінопептидаза гідролізує ди- і трипептиди, відщеплюючи N-кінцевий залишок. Скласти формулу будь-якого трипептиду і реакцію його гідролізу.
2. Скласти схему реакції гідролізу крохмалю.
3. Фермент фосфофруктокіназа каталізує перетворення:
 $\text{Фруктозо-1-фосфат} + \text{АТФ} \rightarrow \text{фруктозо-1,6-дифосфат} + \text{АДФ}$.
Скласти схему реакції.
4. Яку реакцію каталізує амілаза слини?
5. Які продукти утворюються в результаті дії амілази слини на крохмаль?
6. Як впливає температура та рН середовища на активність ферментів?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

Тема №9 «Ферменти»

Варіант № 1

№ п/п	Умова	Варіанти відповідей
	Вкажіть складові частини наступних молекул:	А. Нуклеотиди Б. Апофермент В. Жирні кислоти Г. Активний центр Д. Моносахариди Е. Кофермент Є. Стероїди Ж. Алостеричний центр
1	Білки	
2	Вуглеводи	
3	Ліпіди	
4	Ферменти	
5	Гормони	
6	Нуклеїнові кислоти	

2. Спільними властивостями ферментів і неорганічних каталізаторів є:

- А. Термолабільність
- В. Каталіз лише термодинамічно можливих реакцій
- С. Специфічність дії
- Д. Залежність від кількості субстрату
- Е. Залежність від ефектора

3. Ферменти - це:

- а) каталізатори вуглеводної природи;
- б) каталізатори білкової природи;
- в) каталізатори неорганічної природи;
- г) каталізатори ліпідної природи.

4. Як називається небілкова частина складного ферменту, що відповідає за каталіз?

- а) Кофермент; б) апофермент.

5. До якого класу належать ферменти, що каталізують реакції переносу функціональних груп і молекулярних залишків з однієї молекули на іншу?

- а) Гідролази; б) трансферази;
- в) оксидоредуктази; г) ізомерази.

6. Як називається центр ферменту, в якому відбувається приєднання субстрату?

- а) Каталітичний; б) аллостерічний;
- в) субстратної; г) активний.

7. Ферменти, що каталізують розщеплення хімічних зв'язків без приєднання води, відносяться до класу:

- а) трансфераз, б) лігази;
- в) ЛіАЗ; г) гідролаз;
- д) ізомераз.

8. До якого класу відноситься фермент алкогольдегідрогеназа з індексом КФ 1.1.1.1?

- а) Гідролази; б) трансферази;
- в) ізомерази; г) оксидоредуктаз.

9. Вкажіть відповідність номера і назви класу ферментів:

назва класу: номер класу:

- а) лігази; 1) 4;
- б) ліази; 2) 5;
- в) ізомерази; 3) 6.

Варіант № 2

№ п/п	Умова	Варіанти відповідей
1	Дайте порівняльну характеристику нативних та денатурованих ферментів	А. Електрофоретична рухливість Б. Не здатність до діалізу В. Здатність до висолювання Г. Білкова природа Д. Збільшена кількість функціональних груп Е. Збільшення розчинності Є. Зменшення розчинності Ж. Не змінюють положення рівноваги З. Здатність кристалізуватися И. Висока в'язкість
2	Нативні Денатуровані	

2. Абсолютна специфічність властива ферментам:

- А. Сахаразі, уреазі
- Б. Амілазі
- С. Пепсину, трипсину
- Д. Алкогольдегідрогеназі
- Е. Фосфатазі

3. Холоферментом називають:

- а) надмолекулярних комплексів;
- б) простий фермент;
- в) складний фермент;
- г) фермент - субстратної комплекс.

4. Як називається білкова частина складного ферменту?

- а) Кофермент; б) апофермент.

5. До якого класу належать ферменти, що каталізують окислювально-відновні процеси?

а) Гідролази; б) трансферази;
в) оксидоредуктаз; г) ізомерази.

6. Як називається центр ферменту, який відповідає за каталіз?

а) Каталітичний; б) аллостерічний;
в) субстратної; г) активний.

7. Ферменти, що каталізують синтез біологічних молекул за участю АТФ, відносяться до класу:

а) трансфераз, б) лігази;
в) ЛіАЗ; г) гідролаз;
д) ізомераз.

8. До якого класу відноситься фермент амілаза з індексом КФ 3.2.1.1?

а) Гідролази; б) трансферази;
в) ізомерази; г) оксидоредуктаз.

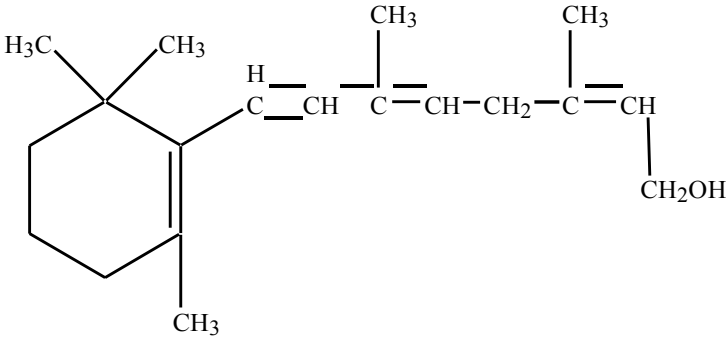
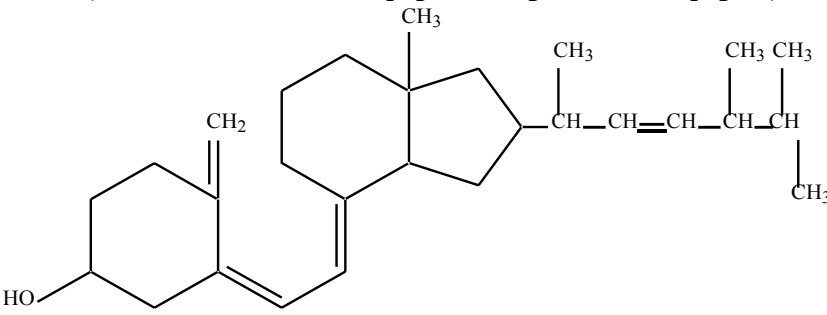
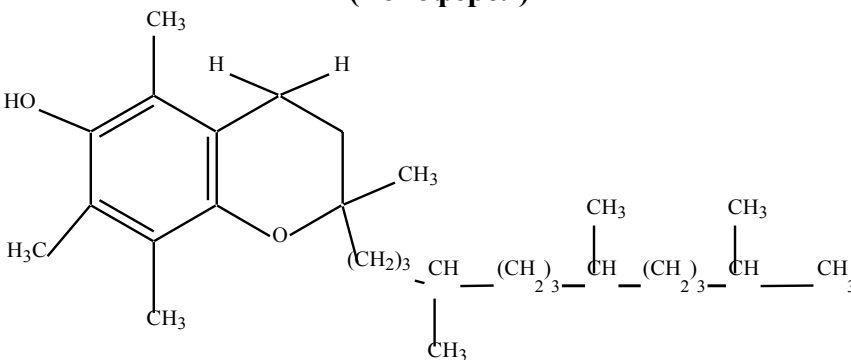
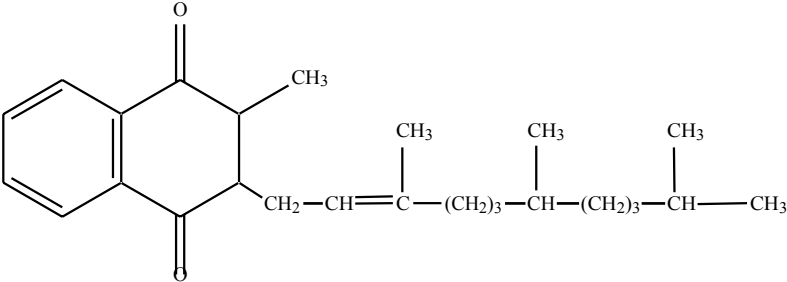
9. Вкажіть відповідність номера і назви класу ферментів:

назву класу: номер класу:

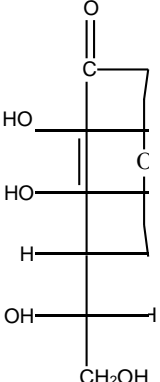
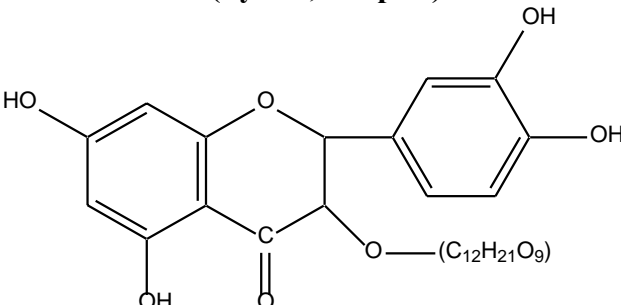
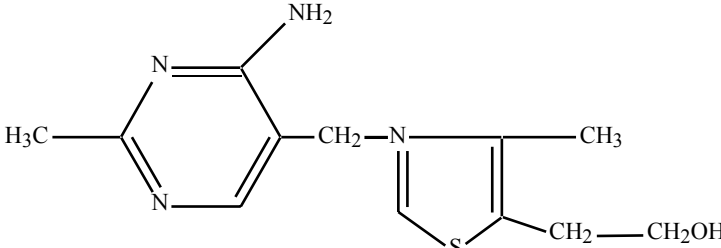
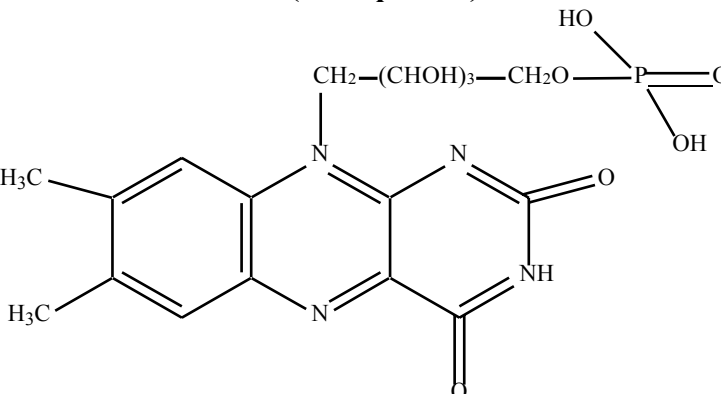
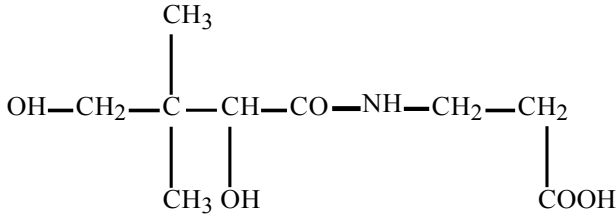
а) трансферази; 1) 1;
б) гідролази; 2) 2;
в) оксидоредуктаз; 3) 3

Тема №10 ВІТАМІНИ

Жиророзчинні вітаміни

Назва, хімічна формула	Фізіологічна дія	Ознаки авітамінозу
<p style="text-align: center;">A (A₁, A₂ - ретинол та дегідроретинол)</p> 	<p>Стимулює процеси росту, запобігає розвитку ксерофтальмії</p>	<p>Сухість шкіри та слизових оболонок, пригнічення процесів росту та імунних реакцій</p>
<p style="text-align: center;">D (D₂, D₃ - холекальциферол та ергокальциферол)</p> 	<p>Регулює фосфорно-кальцієвий обмін</p>	<p>Підвищена дратівливість, остеомалія, гіпотонія м'язів</p>
<p style="text-align: center;">E (Токоферол)</p> 	<p>Забезпечує нормальний перебіг вагітності</p>	<p>Схильність до раннього переривання вагітності</p>
<p style="text-align: center;">K (K₁, K₂ Філохінони)</p> 	<p>Забезпечує процес зсідання крові</p>	<p>Геморагічний діатез</p>
<p style="text-align: center;">F (Полієнові вищі жирні кислоти) Суміш ненасичених ВКК (лінолева, ліноленова, арахідонова)</p>	<p>Стимулює ріст та розвиток організму</p>	<p>Сповільнення росту, некрози, гематурії</p>

Водорозчинні вітаміни

Назва, хімічна формула	Фізіологічна дія	Ознаки авітамінозу
<p style="text-align: center;">С (Аскорбінова кислота)</p> 	<p>Посилює еритропоез, фагоцитарну активність лейкоцитів, стимулює обмін речовин</p>	<p>Ламкість та підвищення проникності капілярів, точкові крововиливи, ураження ясен, цинга</p>
<p style="text-align: center;">Р (Рутин, цитрин)</p> 	<p>Виявляє протизапальну та протиалергічну дію</p>	<p>Геморагії, патехії, гіперкератоз, пігментації, ерітема кистей рук</p>
<p style="text-align: center;">В₁ (Тіамін)</p> 	<p>Стимулює процеси обміну вуглеводів</p>	<p>Психічна та фізична втома, біль у м'язах, парестезії</p>
<p style="text-align: center;">В₂ (Рибофлавін)</p> 	<p>Стимулює енергетичні процеси</p>	<p>Ангулярний стоматит, глосит, себорейна екзема</p>
<p style="text-align: center;">В₃ (Пантотенова кислота)</p> 	<p>Забезпечує синтез біологічно активних сполук</p>	<p>Дерматити, депігментація волосся, затримка росту</p>

Водорозчинні вітаміни

Назва, хімічна формула	Фізіологічна дія	Ознаки авітамінозу
<p style="text-align: center;">В₅ (PP – нікотинова кислота)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <chem>OC(=O)c1cccnc1</chem> </div> <div style="text-align: center;"> <chem>NC(=O)c1cccnc1</chem> </div> </div>	<p>Стимулює обмін речовин, енергетичні процеси</p>	<p>Хвороба трьох Д (дерматит, діарея, деменція)</p>
<p style="text-align: center;">В₆ (Піридоксин)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <chem>Cc1c(O)c(C=O)c(COP(=O)(O)O)c1</chem> </div> <div style="text-align: center;"> <chem>Cc1c(O)c(CN)cc(COP(=O)(O)O)c1</chem> </div> </div>	<p>Стимулює білковий обмін та кровотворні процеси</p>	<p>Епілептоформні судоми, хейлоз, глосит, симетричний дерматит</p>
<p style="text-align: center;">В₁₂ (Ціанкобаламін)</p> <p>Це єдиний металовмісний вітамін, до складу якого входить кобальт. Молекула вітаміну В₁₂ складається з двох частин – кобальтвмісної, коринопорфіриноподібної, або хромофорної, і нуклеотидної. В центрі хромофорної частини знаходиться атом кобальту, одна валентність якого насичена ціаногрупою, а друга – сполучена з атомом азоту пірольного ядра.</p>	<p>Посилює кровотворні процеси</p>	<p>Перніціозна анемія, ахлоргідрія, діарея</p>
<p style="text-align: center;">В_С (В₁₀, В₁₁ – фолієва кислота)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <chem>Nc1nc(O)c2nc(CNCC3=CC=CC=C3C(=O)NC(C(=O)O)C)nc2n1</chem> </div> <div style="text-align: center;"> <chem>OC(=O)CC(C(=O)O)C</chem> </div> </div>	<p>Стимулює еритропоез, забезпечує синтез холіну</p>	<p>Макроцитарна мегабластична анемія</p>
<p style="text-align: center;">Н (Біотин)</p> <div style="text-align: center;"> <chem>OC(=O)CCCCC1CNC(=O)NC1S</chem> </div>	<p>Стимулює білковий та ліпідний обмін</p>	<p>Себорейний дерматит, м'язова слабкість, атрофія сосочків язика</p>

Лабораторна робота №16.

Тема: Якісні реакції на вітаміни.

Мета: Ознайомити студентів з основними якісними реакціями на вітаміни.

Теоретичні питання

1. Вітаміни як незамінні біологічно-активні речовини для організму людини.
2. Історія відкриття вітамінів.
3. Розвиток вітамінології в Україні.
4. Класифікація та номенклатура вітамінів.
5. Причини екзо-, та ендогенних гіпоавітамінозів.

Практична частина

Дослід 1. Реакція на вітамін А.

В пробірку вносять 2 краплі розчину вітаміну А та доливають 2 краплі концентрованої сульфатної кислоти. З'являється фіолетове забарвлення, що переходить в буре.

Дослід 2. Реакція на вітамін В₁.

До 3 крапель 5% розчину вітаміну В₁ (тіаміну) доливають 10 крапель 10% розчину натрій гідроксиду та 2 краплі 5% розчину калій гексациано(III)ферату. З'являється жовте забарвлення в результаті окислення тіаміну в тіохром, яке при опромінюванні ультрафіолетовими променями дає синю флуоресценцію.

Дослід 3. Реакція на вітамін В₂.

Принцип. Реакція заснована на властивості вітаміну В₂ легко відновлюватися. Розчин вітаміну В₂, що володіє жовтим забарвленням, при відновленні набуває спочатку рожевого кольору за рахунок утворення родофлавіну, а потім знебарвлюється.

Хід роботи. В пробірку наливають 10 крапель розчину вітаміну В₂, потім доливають 5 крапель концентрованої хлоридної кислоти і опускають зернину металевого цинку. Починається утворення пухирців водню. Рідина поступово рожевіє, а потім знебарвлюється.

Дослід 4. Реакція на вітамін В₆.

Принцип. Вітамін В₆ з ферум(III)хлоридом утворює сполуку типу ферум феноляту, яка забарвлена в червоний колір.

Хід роботи. До 5 крапель 1% розчину вітаміну В₆ доливають 1 краплю 1% розчину ферум(III)хлориду. З'являється червоне забарвлення.

Дослід 5. Реакція на вітамін РР.

В пробірку вносять 8 крапель розчину вітаміну РР, доливають 2 краплі 5% розчину кристалогідрату купрум(II) сульфату(CuSO₄*5H₂O) і нагрівають на кип'ячій водяній бані. З'являється синій осад мідної солі нікотинової кислоти.

Контрольні запитання

1. Яким методом користуються для кількісного визначення вітаміну А? У якому матеріалі?

2. Для виявлення якого вітаміну користуються реакцією з ферумхлоридом?
3. Чим зумовлене червоне забарвлення під час ідентифікації вітаміну К₃?
4. Для виявлення якого вітаміну служить ферихлоридна проба? Чим зумовлене червоне забарвлення?
5. За допомогою якої реакції можна ідентифікувати вітамін РР ?

Лабораторна робота № 17.

Тема: Вітамін С та аскорбінова кислота.

Мета: Ознайомити студентів із способами кількісного визначення вітаміну С.

Теоретичні питання

1. Будова і властивості вітаміну А, біологічна роль, основні джерела, добова потреба.
2. Будова та властивості вітаміну D, біологічна роль, основні джерела, добова потреба.
3. Антигеморагічні вітаміни, їх будова і властивості, добова потреба та роль у біологічних процесах, основні джерела вітамінів.
4. Будова та властивості вітаміну Е, його біологічна роль, добова потреба, основні джерела поступлення в організм.
5. Механізм дії жиророзчинних вітамінів, їх зв'язок з обміном ліпідів.
6. Вітаміни С і Р, їх будова, джерела, добова потреба. Функціональний зв'язок між ними. Прояви недостатності. Активні форми вітаміну С.

Практична частина

Дослід 1. Приготування екстракту з рослинного матеріалу.

Нарізають досліджуваний матеріал (картопля, морква) дрібними шматочками. 10 г матеріалу переносять у ступку і ретельно розтирають з невеликою кількістю кварцового піску, додаючи маленькими порціями 4%-ний розчин метафосфornoї кислоти до одержання рідкої кашки. Суміш кількісно переносять у мірну колбу на 100 мл. Ступку і маточку ретельно обмивають 4%-ним розчином метафосфornoї кислоти, зливають у ту ж мірну колбу, стежачи за тим, щоб були витрачені всі 50 мл метафосфornoї кислоти (кінцева концентрація її повинна бути 2%; у випадку відсутності метафосфornoї кислоти її заміняють 5%-ним розчином соляної кислоти з кінцевою її концентрацією в 2,5%.) Після цього вміст мірної колби доводять до мітки дистильованою водою, добре перемішують і фільтрують через складчастий фільтр чи центрифугують. Отриманий екстракт повинен бути зовсім прозорим.

Дослід 2. Визначення вмісту аскорбінової кислоти в екстракті.

У дві конічні колби на 50 мл беруть піпеткою по 10 мл отриманого екстракту рослинного матеріалу. В одній із проб руйнують вітамін С кип'ятінням у присутності декількох крапель пероксиду водню. Вміст колб титрують розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу. При наявності в екстракті

вітаміну С розчин знебарвлюється, а при подальшому додаванні індикатора забарвлюється в рожевий колір, тому що вся аскорбінова кислота в пробі вже окислена і фарба більше не відновлюється. У пробі, де вітамін С був зруйнований, від додавання декількох крапель індикатора з'являється рожеве забарвлення. Результати титрування записують і повторюють роботу з новою порцією того ж екстракту. На підставі середньої величини титрування, отриманої з 2–3 визначень, обчислюють кількість вітаміну С за формулою:

$$C = 100 \times \frac{V_1 \times V \times T}{a \times V_2}$$

де С – вміст аскорбінової кислоти (у мг%); Т – титр 2,6-дихлорфеноліндофенолу в міліграмах аскорбінової кислоти; V – об'єм екстракту (у мл); а – маса досліджуваного матеріалу (у г); V₁ – витрачений об'єм реагенту при титруванні (у мл); V₂ – об'єм титруемого розчину (у мл).

В результаті знаходять кількість вітаміну С в міліграмах на 100 г досліджуваного продукту. За даним методом визначають тільки відновлену форму аскорбінової кислоти.

Дослід 3. Кількісне визначення вітаміну С.

Принцип. Кількісне визначення вітаміну С в досліджуваному матеріалі здійснюють за допомогою 2,6-дихлорфеноліндофенолу, використовуючи його титрований розчин. По кількості реактиву, витраченого на окислення вітаміну С, визначають вміст останнього в аналізованому матеріалі.

Устаткування та реактиви: бюретки прямі з краном на 5 мл (2 шт.), пінетки з однією міткою на 2, 5 і 20 мл, колби конічні на 50 і 100 мл, склянки скляні лабораторні на 100 мл (4 шт.), колби мірні на 100 мл (2 шт.), циліндр вимірювальний з носиком на 250 мл, ступка порцелянова з зовнішнім діаметром 110 мм, скло годинникове, пісок кварцовий, картопля, морква, томатний сік, шипшина, соляна кислота (5%-на), 2,6-дихлорфеноліндофенол (0,001 н.), метафосфорна кислота (2%-на і 4%-на), аскорбінова кислота (0,1%-на), йодат калію (0,001 н.), йодид калію, крохмаль (1%-ний), йодид калію (5%-ний), перексид водню (3%-ний).

Хід роботи. Визначення титру розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу. Встановлення титру приблизно 0,001 н. розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу проводять по аскорбіновій кислоті в день роботи. Беруть 2 мл 0,1%-ного розчину аскорбінової кислоти і розчиняють у 50 мл 2%-ного розчину метафосфорної кислоти (чи сірчаної кислоти); 5 мл цього розчину титрують 2,6-дихлорфеноліндофенолом до появи рожевого забарвлення. Відзначають витрачений на титрування об'єм реагенту. Негайно ж після цього такий же об'єм розчину аскорбінової кислоти титрують з іншої мікробюретки титрованим розчином йодату калію (0,001 н.). До розчину аскорбінової кислоти перед титруванням додають кілька кристалів (не більш 0,1 г) йодиду калію і 5 крапель 1%-ного розчину крохмалю. Титрування ведуть обережно до появи ледь помітного синього забарвлення і відзначають витрачений на титрування об'єм йодату калію. Оскільки, в першому і в другому випадку були відтитровані однакові об'єми аскорбінової кислоти, то, кількості витрачених йодату калію і реагенту еквівалентні один одному. Оскільки, 1 мл 0,001 н. розчину йодату калію еквівалентний 0,088 мг

аскорбінової кислоти, то титр розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу (у міліграмах аскорбінової кислоти) дорівнює:

$$T = 0,088 \times \frac{V_2}{V_1}$$

де V_1 і V_2 – об'єми розчинів 2,6-дихлорфеноліндофенолу та йодату калію, відповідно витрачені на титрування рівних об'ємів розчину аскорбінової кислоти.

Контрольні запитання

1. На яких властивостях вітаміну С ґрунтується його визначення?
2. Яким методом користуються для кількісного визначення вітаміну С?
3. Яка кількість цього вітаміну виводиться за добу з сечею у здорової людини?
4. Якою реакцією можна ідентифікувати наявність вітаміну С?

Лабораторна робота №18.

Тема: Методи якісного визначення жиророзчинних вітамінів.

Мета: Ознайомити студентів з методами якісного визначення вітамінів.

Теоретичні питання

1. Вітаміноподібні жиророзчинні речовини, їх біологічне значення.
2. Жиророзчинні вітаміни як фармацевтичні препарати.
3. Будова і властивості вітамінів B_1 та біотину. Їх участь в обміні речовин, джерела, добова потреба, антивітаміни.
4. Будова, властивості вітамінів РР та пантотенової кислоти. Їх участь в обміні речовин, основні джерела, добова потреба. Роль КоА в обмінних процесах.
5. Будова, властивості вітамінів B_2 та B_6 , їх участь в обміні речовин, основні джерела, добова потреба.
6. Вітаміноподібні водорозчинні речовини (параамінобензойна кислота, метилметионілсульфоній) їх біологічні функції.
7. Вітаміни. Механізм дії та застосування їх як фармацевтичних препаратів.
8. Антивітаміни. Механізм дії та застосування їх як фармацевтичних препаратів.

Практична частина

Дослід 1. Реакція з феруму хлоридом на виявлення вітаміну Е.

Устаткування та реактиви: токоферол (0,1% спиртовий розчин), 1% розчин феруму хлориду, пробірки.

Хід роботи. У суху пробірку вливають 4-5 крапель 0,1% спиртового розчину токоферолу, додають 0,5 мл 1% феруму хлориду, інтенсивно перемішують, гріють на відкритому вогні до зміни кольору. Вміст пробірки

набуває червоного забарвлення.

Дослід 3. Відновлення калію ферум ціаніду аскорбіною кислотою.

Устаткування та реактиви: 5% розчин $K_3Fe(CN)_6$, 1% $FeCl_3$, 1% витяжка з шипшини, дистильована вода, пробірки.

Хід роботи. У дві пробірки додають по одній краплі 5% розчину калію фериціаніду і 1% розчину феруму хлориду. В одну з пробірок до зелено-бурої рідини, яка утворилася, додають 5-10 крапель 1% витяжки з шипшини, в другу

– 5-10 крапель дистильованої води. Рідина в першій пробірці забарвлюється в зелено-синій колір і випадає синій осад берлінської блакиті. Внаслідок обережного нашаровування дистильованої води осад на дні пробірки стає виразнішим. У другій пробірці зелено-бура рідина забарвлення не змінює.

Дослід 4. Відновлення метиленового синього аскорбіною кислотою.

Принцип. Аскорбінова кислота здатна відновлювати метиленовий синій, який переходить при цьому у безколірну лейкосполуку.

Устаткування та реактиви: 0,01% розчин метиленового синього, 10% розчин Na_2CO_3 , 1% витяжка з шипшини, дистильована вода, пробірки.

Хід роботи. У дві пробірки додають по одній краплі 0,01% розчину метиленового синього і 10% розчину Na_2CO_3 . В першу пробірку додають 5 крапель 1% витяжки з шипшини, в другу - стільки ж дистильованої води. Пробірки одночасно нагрівають. У пробірці з витяжкою з шипшини рідина знебарвлюється.

Контрольні запитання

1. Вітаміни А і D можна одночасно вживати в кількості, достатній для підтримання їх нормального рівня протягом кількох тижнів, вітаміни групи В необхідно вживати значно частіше. Чому?
2. У хворого з сечею виділяється підвищена кількість піровиноградної кислоти. Про недостатність яких вітамінів в організмі це свідчить ?
3. У пацієнтки спостерігається порушення перебігу вагітності, існує загроза викиду плоду. Дефіцит якого вітаміну може спостерігатися та якою якісною реакцією це можна виявити?
4. У хворого з частими кровотечами у внутрішні органи і слизові оболонки у складі колагенових волокон виявили пролін і лізин. Відсутність якого вітаміну приводить до порушення їх гідроксилування?
5. Опишіть переваги застосування синтетичних аналогів вітаміну К у практичній медицині.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

Тема №10 «Вітаміни»

Варіант №1

1. Вітаміни є:
 - а) джерелом енергії
 - б) будівельним матеріалом для організму,

- в) складовою частиною багатьох ферментів і деяких фізіологічно активних речовин
2. До жиророзчинних вітамінів відносяться:
 - а) вітаміни А, Д, Е, С, б) вітаміни Д і групи В, в) вітаміни А, Д, Е, К
 3. При відсутності в їжі вітаміну А розвивається:
 - а) захворювання бери-бери, б) куряча сліпота, уповільнення росту молодого організму, ураження шкіри, в) злякисне недокрив'я
 4. До водорозчинних належать вітаміни:
 - а) А і групи В, б) А, С, Д, в) С і групи В
 5. Який вітамін необхідно включити в раціон хворого рахітом? а) А б) Д в) У 12
 6. Недолік якого вітаміну викликає захворювання бери-бери?
 7. Який авітаміноз частіше інших виникає у мореплавців?
 8. При недоліку якого вітаміну розвивається рахіт?
 9. Томати, морква, апельсини і петрушка містять вітамін ...
 10. Який вітамін руйнує тютюновий дим?
 - 11.

Умова	Варіанти відповідей
Вказати найбільш характерні ознаки наступних гіповітамінозів	А. Дерматит Б. Тахікардія В. Порушення ЦНС Г. Діарея Д. Втрата апетиту Е. Анемія Є. Алопеція Ж. Глосит, гінгівіт З. Кровоточивість ясен, ламкість судин. И. Атрофія м'язів
1. Вітамін РР	
2. Вітамін В ₂	
3. Вітамін В ₃	
4. Вітамін С	
5. Вітамін В ₁₂	
6. Вітамін В ₆	
7. Вітамін Н	

12. У хворого з частими кровотечами у внутрішні органи і слизові оболонки у складі колагенових волокон виявили пролін і лізин. Відсутність якого вітаміну приводить до порушення їх гідроксилювання?

- А. Вітамін С
- В. Вітамін Е
- С. Вітамін К
- Д. Вітамін А
- Е. Вітамін Д

Варіант №2

1. Розвиток рахіту у дітей відбувається від нестачі в їжі вітаміну: а) Д, б) В₁, в) Е
2. Заболювання цингу виникає через відсутність в їжі вітаміну: а) К, б) С, в) В₁₂
3. Відсутність вітаміни К викликає:
 - а) переродження м'язової тканини,

б) порушення згортання крові, рясні кровотечі, в) порушення кровотворення

4. Вітаміни:

а) утворюються в організмі людини, б) надходять лише з їжею,

в) в основному надходять з їжею, а деякі можуть синтезуватися в організмі людини

5. Біологічно активні речовини, що діють на організм в мізерно малих кількостях:

а) білки

б) вітаміни

в) мінеральні речовини

6. Якого вітаміну багато в риб'ячому жирі?

7. При відсутності якого вітаміну виникає цинга?

8. Недолік якого вітаміну викликає курячу сліпоту?

9. Недолік якого вітаміну викликає сухість шкіри?

10. Який вітамін необхідний для згортання крові?

11.

Умова	Варіанти відповідей
Вказати найхарактерніші ознаки гіпервітамінозів: 1. Вітамін А 2. Вітамін Д	А. Кальцифікація внутрішніх органів Б. Гіперкератоз В. Диспепсичні явища Г. Алопеція Д. Гіперкальциемія Е. Запалення очей Є. Геморагічний синдром Ж. Остеомаліяція З. Атрофія м'язів И. Сутінкова сліпота

12. У пацієнтки спостерігається порушення перебігу вагітності, існує загроза викиду плоду. Дефіцит якого вітаміну може спостерігатися та якою якісною реакцією це можна виявити ?

- А. Реакція з нітратною кислотою
- В. Реакція з феруму хлоридом
- С. Реакція з дихлорфенол-індофенолом
- Д. Реакція із феруму сульфатом
- Е. Біуретова реакція

Лабораторна робота №19.
Тема: Реакції на гормони-виконавці.

Мета: Ознайомити студентів з основними реакціями на гормони-виконавці.

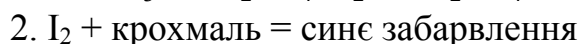
Теоретичні питання

1. Класифікація гормонів.
2. Транспортування гормонів кров'ю.
3. Фактори, що впливають на виділення та характер дії гормонів.
4. Механізми дії гормонів похідних амінокислот і пептидів.
5. Біохімічні основи гормональної регуляції процесів травлення: гормони ГЕП (гастро-ентеро-панкреатичної) системи тракту
6. Будова і біосинтез тироксину. Зміни в обміні речовин при гіпер- і гіпотиреозі.

Практична частина

Дослід 1. Якісна реакція на тироксин (відкриття йоду в гідролізаті тиреоїдину).

Принцип. При руйнуванні тироксину утворюється калій йодит, із якого йод легко витісняється калій йодатом. Йод, що виділився, дає синє забарвлення з крохмалем.



I-етап. Лужний гідроліз тиреоїдину

Хід роботи. В ступці старанно розтирають 5 таблеток тиреоїдину (препарат щитовидної залози). Розтерту масу пересипають у колбочку, доливають 5 мл 10% розчину натрій гідроксиду і 5 мл дистильованої води. Колбочку поміщають на азбестову сітку та кип'ятять 15 хвилин.

II-етап. Відкриття йоду в отриманому гідролізаті.

Хід роботи. До 24 крапель охолодженого гідролізату тиреоїдину доливають 10% розчин сульфатної кислоти до появи кислої реакції на лакмусовому папері (1-2 краплі). Після підкислення доливають 3 краплі 2% розчину калій йодату (непотрібно додавати надлишок KIO_3) і одну краплю 1% розчину крохмалю. Йод, що виділяється, дає синє забарвлення з крохмалем.

Контрольні запитання

1. Які якісні реакції на адреналін ви знаєте? Чим відрізняються ці реакції?
2. Чим пояснити виникнення синього забарвлення розчину у якісній реакції на тироксин?
3. Кількість адреналіну в мозковому шарі наднирників людини складає 0,08 % від маси наднирників. Яка кількість адреналіну в наднирниках, якщо відомо, що кількість норадреналіну у наднирниках складає 0,008 % (0,8 мг)?
4. 33-річна пацієнтка скерована до Консультації Тиреоїдної Патології сімейним лікарем. Протягом 6 місяців відчувала неспокій, швидку втому, підвищену чутливість до тепла, втрату ваги тіла при збереженому апетиті, серцебиття та підвищену пітливість. При обстеженні встановлено: пульс 130 уд/хв, теплі і вологі долоні, тремтіння, сповільнене закриття повік і екзофтальм, а також м'який, збільшений зоб. Результати тестування: тироксин – 260 нмоль/л (норма 50 – 150).

Лабораторна робота №20.

Тема: Якісні реакції на гормон підшлункової залози.

Мета: Ознайомити студентів з основними якісними реакціями на інсулін.

Теоретична частина

1. Регуляція фосфорно-кальцієвого обміну паратгормоном і кальцитоніном.
2. Гіперпаратиреоїдизм і гіпопаратиреоїдизм.
3. Гормони підшлункової залози.
4. Хімічна природа, утворення та механізм дії інсуліну та глюкагону.
5. Діабет; інсулінозалежний та інсулінонезалежний. Інсулін – фармпрепарат.

Практична частина

Дослід 1. Біуретова реакція.

Хід роботи. До 5 крапель розчину інсуліну додають 5 крапель 5%-горозчину натрію гідроксиду і 1 каплю 1% розчину купрум сульфату. Рідина забарвлюється в фіолетовий колір.

Дослід 2. Реакція Фоля.

Хід роботи. До 5 крапель розчину інсуліну додають 5 крапель реактиву Фоля і кип'ятять. Через 1-2 хв. після стояння утворюється бурий або чорний осад плюмбуму сульфід.

Дослід 3. Реакція Мілона.

Хід роботи До 5 крапель розчину інсуліну додають 1-2 мл реактиву Мілона і обережно нагрівають. Утворюється червоний осад.

Контрольні запитання

1. Що лежить в основі зміни забарвлення реакційної суміші у біуретовій реакції, реакціях Фоля та Мілона?
2. Час життя більшості гормонів у крові порівняно невеликий. Так, якщо ввести тварині радіоактивно мічений інсулін, то половина введеного гормону інактивується у крові протягом 30 хв. Чому важлива відносно швидка інактивація циркулюючих гормонів? Як може підтримуватися постійний рівень гормону в крові за нормальних умов, якщо врахувати його швидку інактивацію? Якими шляхами організм здійснює швидкі зміни концентрації циркулюючих гормонів в організмі?
3. Людина знаходиться в стресовій ситуації. Як такий стан вплине на функцію ендокринних залоз?

Лабораторна робота №21.

Тема: Якісні реакції на стероїдні гормони.

Мета: Ознайомити студентів з основними якісними реакціями на статеві гормони.

Теоретична частина

1. Гормони гіпоталамусу і шишковидної залози. Ліберини та статини гіпоталамуса.
2. Стероїдні гормони: номенклатура, класифікація. Схема генезу стероїдних гормонів з холестеролу.
3. Стероїдні гормони кори наднирників (C_{21} -стероїди) - кортизол, кортикостерон, альдостерон.
4. Фізіологічні та біохімічні ефекти кортикостероїдів.
5. Глюкокортикоїди; роль кортизолу в регуляції гліюконеогенезу; протизапальні властивості глюкокортикоїдів.
6. Стероїдні гормони статевих залоз.
7. Жіночі статеві гормони: естрогени - естрадіол, естрон (C_{18} -стероїди), прогестерон (C_{21} -стероїди); фізіологічні та біохімічні ефекти; зв'язок з фазами менструального циклу; регуляція синтезу та секреції.
8. Чоловічі статеві гормони (андрогени) - тестостерон, дигідротестостерон (C_{19} -стероїди); фізіологічні та біохімічні ефекти, регуляція синтезу та секреції.

Практична частина

Дослід 1. Реакція на 17-кетогрупу естрогу і на 17-кетостероїди, які містяться в сечі.

Принцип. В основі методу визначення 17-кетостероїдів лежить їх здатність утворювати з м-динітробензолу в лужному середовищі продукти конденсації вишнево-червоного кольору. Інтенсивність забарвлення пропорційна кількості в сечі 17-кетостероїдів.

Хід роботи. В одну пробірку вносять 5 крапель спиртового розчину фолікуліну, а в іншу - 5 крапель сечі і додають в них по 5 крапель 30%-го розчину NaOH і 2%-го розчину м-динітробензолу в етанолі. Перемішують, струшують і спостерігають за появою характерного забарвлення.

Контрольні запитання

1. З якою функціональною групою взаємодіє динітробензол?
2. Хворий довгий час отримував кортикостероїдні гормони, а потім різко припинив їх приймати. Які зміни в обміні речовин можливі?
3. При захворюванні жінок на рак молочної залози, одним із засобів лікування є усунення яєчників. Крім цього додатково вводять чоловічі статеві гормони. Поясніть біохімічні основи такого лікування.
4. При ураженні наднирників розвивається характерна пігментація шкіри, м'язова слабкість, різке порушення водно-сольового обміну, обмін білків і вуглеводів. Чим це пояснити?
5. Вазопресин і окситоцин знаходяться в задній долі гіпофізу. Вкажіть, де вони синтезуються і як потрапляють в задню долю гіпофізу?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

Тема №11 «Гормони»

Варіант №1

№ п/п	Умова	Варіанти відповідей
1. 2. 3. 4.	Вказати характерні порушення при дисфункції щитовидної та паращитовидної залоз: Гіпотиреоз Гіпертиреоз Гіпопаратиреоз Гіперпаратиреоз	А. Розумова і фізична відсталість Б. Зниження температури тіла В. Зниження основного обміну Г. підвищення основного обміну Д. Слизовий набряк (мікседема) Е. Тахікардія Є. Екзофтальм Ж. Зниження концентрації кальцію в крові З. Підвищення збудливості нервової клітини И. Самовільні переломи кісток Кальцифікація судин. І. Від'ємний азотний баланс

Синтез гормонів в організмі людини здійснюється різними органами. Вкажіть, як транспортуються в крові йодовмісні гормони ?

- А. У вільному стані
В. Зв'язані з альбуміном
С. Зв'язані з α - глобулінами
Д. Зв'язані з β - глобулінами
Е. Зв'язані з χ - глобулінами

Варіант №2

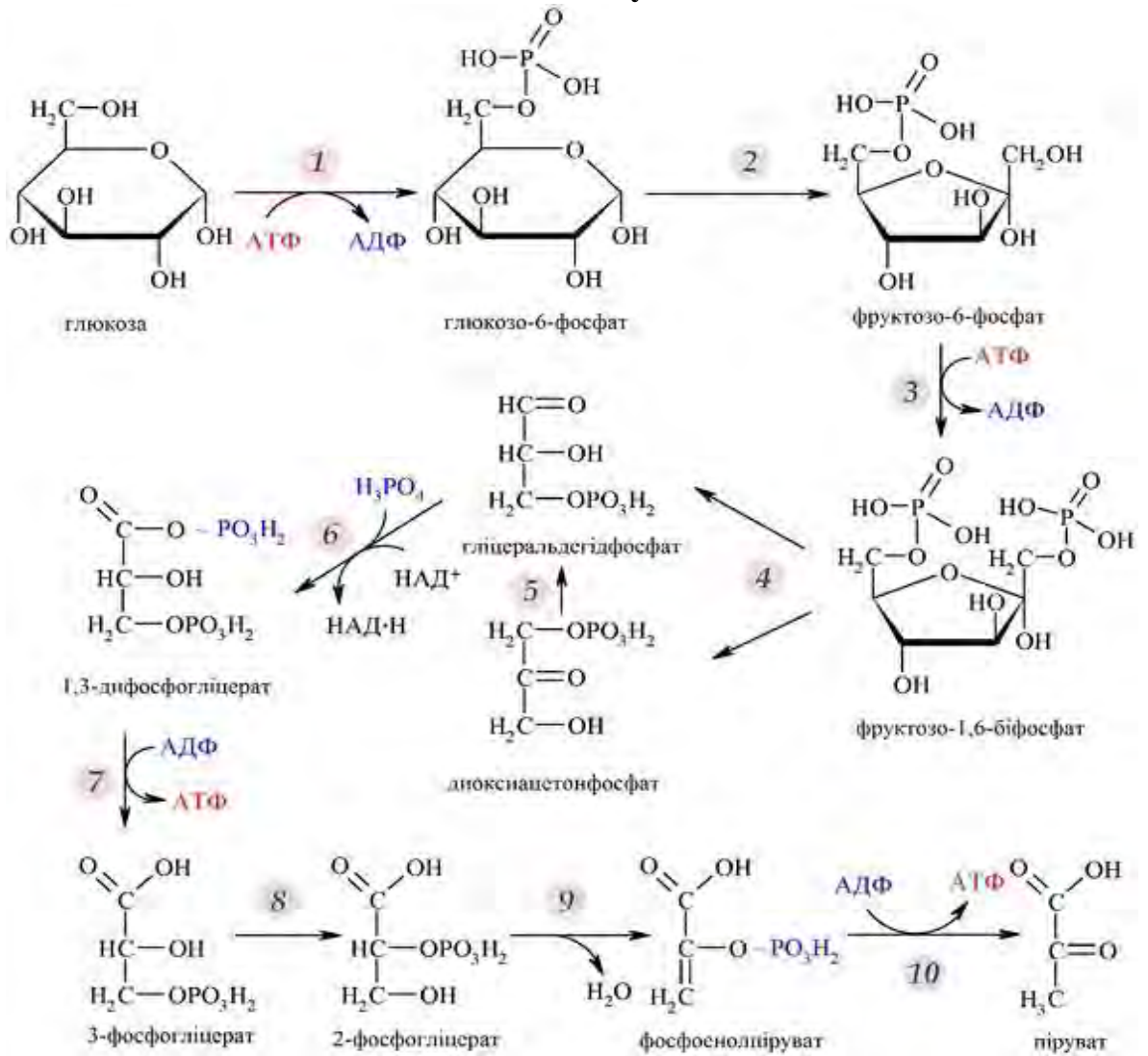
№ п/п	Умова	Варіанти відповідей
1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10.	Вказати класифікацію перелічених гормонів: Фолікулостимулюючий Інсулін АКТГ Пролактин Адреналін Кальцитонін Окситоцин Тироксин Тестостерон Прогестерон	А. Похідні амінокислот Б. Пептиди В. Прості білки Г. Складні білки Д. Стероїди

Синтез гормонів в організмі людини здійснюється різними шляхами. Вкажіть чим регулюється виділення інсуліну ?

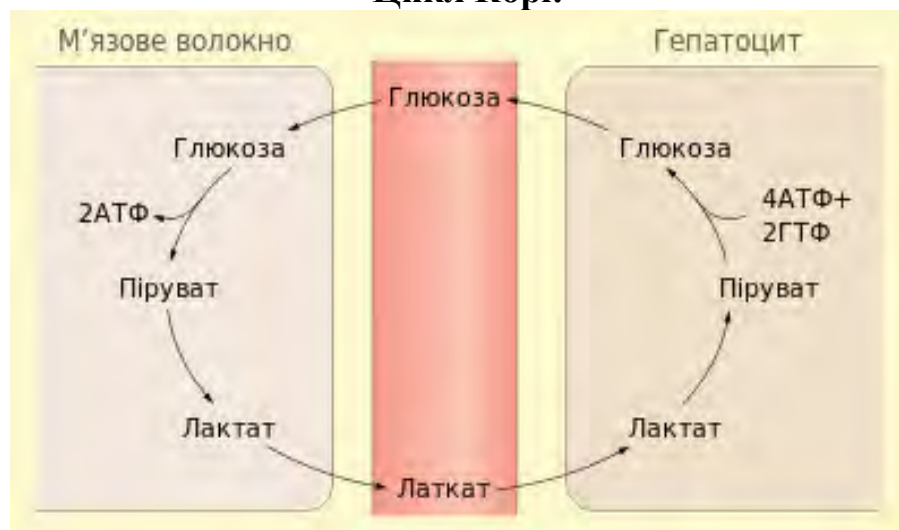
- А. Соматоліберин
В. Соматотропний гормон
С. Глюкагон
Д. Соматостатин
Е. ЦНС

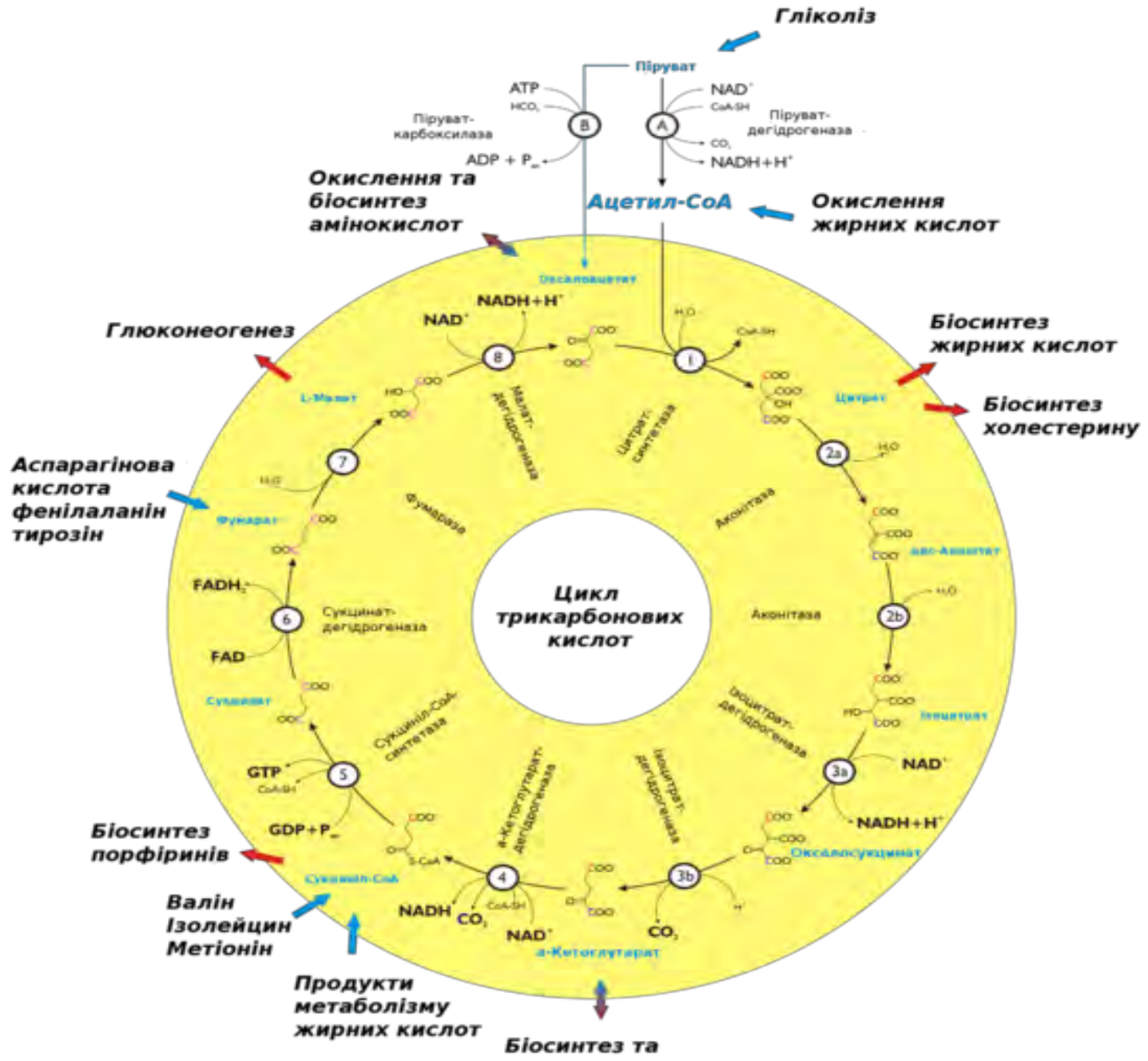
Тема №12 «ОБМІН РЕЧОВИН І ЕНЕРГІЇ»

Схема гліколізу:



Цикл Корі:





T

Лабораторна робота №22.

Тема: Визначення молочної кислоти реактивом Уффельмана.

Мета: Визначити наявність молочної кислоти у м'язах на якісному рівні.

Теоретична частина

1. Найважливіші шляхи перетворення глюкози в тканинах. Роль глюкозо-6-фосфату у внутрішньоклітинному метаболізмі глюкози.
2. Який процес називається гліколізом.
3. Реакції гліколізу, пов'язані зі споживанням АТФ; реакції гліколізу, пов'язані з синтезом АТФ.
4. Спосіб субстратного фосфорилування, і його значення.
5. Доля відновленого НАД, що утворився при окисленні гліцеральдегід-3-фосфату.
6. Який процес називається глікогенолізу. Порівняйте енергетичний ефект процесів: глікогенолізу і гліколізу.
7. Глюкозо-лактатний цикл (цикл Корі). Глюкозо-аланінової цикл. Значення при тривалій фізичній роботі і голодуванні.
8. Регуляторні ферменти гліколізу та глюконеогенезу, їх аллостеричні фактори і гормони, що впливають на ці процеси.

Практична частина

Дослід 1. Визначення молочної кислоти реактивом Уффельмана.

Принцип: Комплексний ферум фенолят фіолетового кольору у присутності молочної кислоти перетворюється у ферум лактат жовтувато-зеленого кольору.

Хід роботи. М'язи масою 2-3 г її розтерти з водою об'ємом 5-6 см³ у фарфоровій ступці. Отриману м'язову масу профільтрувати через подвійний шар марлі. Отриманий фільтрат прокип'ятити на протязі 1 хвилини, охолодити, профільтрувати крізь паперовий фільтр. У три пробірки налити розчин фенолу ($w = 1\%$) об'ємом 5 см³ і у кожен з них додати по краплям розчин ферум хлориду до появи інтенсивного фіолетового забарвлення (реактив Уффельмана). Потім в одну пробірку прилити розчин молочної кислоти ($w = 0,5\%$) об'ємом 1 см³, у другу – отриманий фільтрат, у третю – воду об'ємом 1 см³. Вміст пробірок перемішати.

Контрольні запитання

1. Напишіть рівняння утворення в процесі розпаду вуглеводів:
 - а) глюкозо-6-фосфату;
 - б) фруктозо-1,6-дифосфату; в) лактату.
2. На якому етапі перетворення в циклі Кребса синтезується: а) ГТФ; б) НАДН + Н⁺; в) фумарова кислота; г) аконітова кислота; д) янтарна кислота.
3. Яка головна функція:
 - а) гліколізу;
 - б) глікогенолізу;

- в) циклу трикарбонних кислот;
- г) пентозофосфатного циклу?
- 4. Які ферменти беруть участь у розпаді крохмалю до глюкози?
- 5. Вкажіть енергетичний ефект анаеробних і аеробних шляхів перетворення глюкози.
- 6. Дайте визначення поняттям: аеробний і анаеробний шляхи перетворення глюкози, гліколіз, глікогеноліз, бродіння, цикл Кребса, цикл Кельвіна, глюконеогенез, НДФ-цукри, спиртове, бродіння, α, β, γ -амілази, амілолітичні ферменти, фосфороліз, апотомічний і дихотомічний шляхи окиснення.

Лабораторна робота №23.

Тема: Визначення сечовини в біологічних рідинах.

Мета: Навчитися визначати вміст сечовини в сироватці крові.

Теоретична частина

1. Шляхи знешкодження аміаку в організмі.
2. Орнітиновий цикл синтезу сечовини, його зв'язок з іншими метаболічними шляхами. Діагностичне значення визначення вмісту сечовини в крові і сечі.
3. Специфічні шляхи обміну амінокислот та їх порушення.
4. Розпад пуринових нуклеотидів до кінцевих продуктів. Утворення сечової кислоти.
5. Утворення кінцевих продуктів розпаду піримідинових нуклеотидів.

Дослід 1. Визначення сечовини в сироватці крові.

Принцип: Сечовина утворює з діацетилмонооксимом, у присутності іонів Fe^{3+} і тіосемікарбазиду, комплекс червоного кольору, за інтенсивністю забарвлення якого і визначають її концентрацію.

Хід роботи. У пробірку відміряти послідовно (відповідно з таблицею) розчини діацетилмонооксиму, біологічної рідини або фізіологічний розчин та розчин тіосемікарбазиду. Для зменшення похибки аналізу рекомендується дотримуватися обумовленого порядку змішування розчинів. Пробірки закрити алюмінієвою фольгою, суміш перемішати і одночасно вмістити у киплячу водяну баню на 10 хвилин. Потім пробірки швидко охолодити у холодній воді. Колориметрувати у кюветі з товщиною стінки 1 см проти холостої проби.

Час між фотометруванням калібрування проби та останньої проби не повинен перевищувати 10 хвилин.

Після змішування всіх компонентів реакційної суміші не рекомендується витримувати зразки до початку кип'ятіння більше 20 хвилин.

Концентрацію сечовини розраховують за формулою:

$$C(\text{сечовини}) = \frac{E_{\text{оп.}}}{A_{\text{кал.}}} \cdot 8,32 \text{ (ммоль/л)}, \text{ де}$$

C – концентрація сечовини, ммоль/л;

$E_{\text{оп.}}$ – оптична густина експериментальної проби;

$E_{\text{кал.}}$ – оптична густина калібровочної проби;

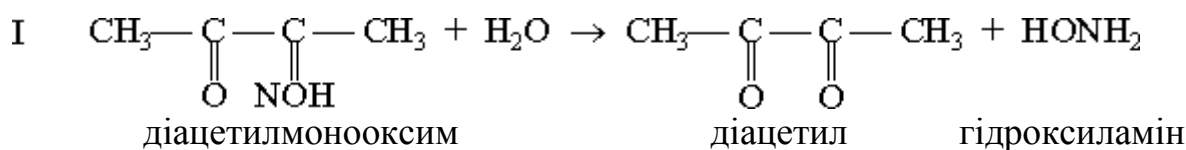
НОРМА: кров – 2,5-8,3 ммоль/л; сеча – 330-580 ммоль/л.

Таблиця 7

Рідина і розчини	Проби		
	експериментальна	калібрувальна	холоста
Розчин діацетилмонооксиму	1,00 см ³	1,00 см ³	1,00 см ³
Біологічна рідина	0,01 см ³	–	–
Калібрувальний розчин сечовини	–	0,01 см ³	–
Фізіологічний розчин	–	–	0,01 см ³
Розчин тіосемікарбазиду	1,00 см ³	1,00 см ³	1,00 см ³

Дослід 2. Визначення вмісту сечовини в сироватці крові та сечі за реакцією з діацетилмонооксिमом.

Принцип. Сечовина в кислому середовищі при наявності тіосемікарбазиду і солей заліза утворює з діацетилмонооксिमом комплексну сполуку червоного кольору, оптична густина якої при зеленому світлофільтрі (500-560 нм) пропорційна концентрації сечовини.



Хід роботи. Зразки: сироватка (плазма) крові ліпемічна або гемолізована цільна кров. Хід визначення проводять за наступною схемою:

Таблиця 8

	Контрольна проба, Мл	Стандартна проба, мл (D _c)	Дослідна проба мл (D _d)
H ₂ O	1,0	0,8	0,8
Розчин ТХАК	1,0	1,0	1,0
Досліджуваний зразок	-	-	0,2
Стандартний розчин сечовини	-	0,2	-
Перемішати і центрифугувати 10 хвилин при 3000 об/хв			
Надосадова рідина	0,5	0,5	0,5
Кольоровий розчин	5,0	5,0	5,0

Вміст пробірок ретельно перемішують, отвір закривають алюмінієвою фольгою і пробірки ставлять у киплячу водяну баню точно на 20 хвилин. Потім пробірки швидко охолоджують холодною водою і вимірюють оптичну густину стандартної та дослідної проб при зеленому світлофільтрі (500-560 нм) проти контрольної проби в кюветі товщиною 1,0 см. Забарвлення є стійким протягом 15 хвилин.

Розрахунок вмісту сечовини проводять за формулою:

$$C = \frac{D_d}{D_c} \times 7,0$$

де: C – вміст сечовини в дослідній пробі,

ммоль/л; D_d – оптична густина дослідної проби;

D_c – оптична густина стандартної проби;

7,0 – вміст сечовини у стандартному розчині, ммоль/л

Пояснити отриманий результат. Зробити висновок. Звернути увагу на наступне, якщо вміст сечовини в пробі перевищує 17 ммоль/л, пробу необхідно розвести дистильованою водою і аналіз провести повторно. Результат необхідно помножити на розведення.

Контрольні запитання

1. Яким методом можна визначити рівень сечової кислоти в сечі?
2. Який вміст сечової кислоти у крові і сечі здорової дорослої людини?
3. Яка концентрація сечової кислоти в крові здорової людини?
4. Навести приклади перетворення амінокислот: по аміногрупі; по карбоксильній групі; по заміснику.
5. Написати структурні формули первинних амінокислот.
6. Записати схеми перетворень, що відбуваються на стадії рекогніції.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Біохімія: Тестовий контроль знань: Навч. пос. / Кучеренко М.Є., Пащенко О.Ю. та ін. – К.: Либідь, 1995. – 344с.
2. Боєчко Ф.Ф. Біологічна хімія: Навч. пос. 2-ге видання, перероб. і доповн. – К.: Вища школа., 1995. – 536 с.
3. Кучеренко М.Є. Біохімія. Програмований контроль знань із застосуванням ЕОМ. – К.: Либідь, 1993. – 203 с.
4. Мехед О. Б., Яковенко Б. В., Третяк О. П. Біоорганічна хімія: Навчальний посібник. – Чернігів: Чернігівський національний педагогічний університет імені Т. Г. Шевченка, 2013. – 208 с.
5. Біоорганічна хімія. Практикум : навч. посіб. / Л. І. Остапченко, І. В. Компанець, О. В. Скопенко та ін. – К. : ВПЦ "Київський університет", 2019. – 400 с.
6. Губський Ю. І. Біоорганічна хімія : підручник / Ю. І. Губський. – 3-тє вид., стер. – Вінниця : Нова Книга, 2019. – 416 с.
7. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 книгах. Книга 1. Біоорганічна хімія: підручник / Б.С. Зіменковський, В.А. Музиченко, І.В. Ніженковська та ін. — 3-є видання. 2022. – Всеукраїнське спеціалізоване видавництво «Медицина». – 272 с.
8. Біохімія: Тестовий контроль знань: Навч. пос. / Кучеренко М.Є., Пащенко О.Ю. та ін. – К.: Либідь, 1995. – 344с.
9. Боєчко Ф.Ф. Біологічна хімія: Навч. пос. 2-ге видання, перероб. і доповн. – К.: Вища школа., 1995. – 536с.
10. Кучеренко М.Є., та ін. Біохімія. Програмований контроль знань із застосуванням ЕОМ. – К.: Либідь, 1993. – 203с.
11. Губський, Ю. І. Біологічна хімія : Підруч. для студ. / Ю. І. Губський. – К. – Т. : Укрмедкнига, 2000. – 508 с.
12. Копильчук, Г. П. Біохімія : Навч. посіб. для студ. біологічних спец. вищих навч. закл. / Г. П. Копильчук, О. М. Волошук, М. М. Марченко ; Чернівецький нац. ун- т ім. Ю. Федьковича. – Чернівці : Рута, 2004. – 224 с.
13. Практикум з біологічної хімії : навч. посіб. / за ред. Жегунова Г. Ф.; Харків. держ. зооветеринарна академія. – Х. : "Бурун і К", 2014. – 304 с.

Додаткова:

1. Кононський О.І. Біохімія тварин. – К.: Вища школа, 1994. – 439с.
2. Кучеренко М.Є. Біохімія нуклеїнових кислот. – К.: Вища школа, 1976. –328 с.
3. Ленінджер А. Основи біохімії: В 3т. – М.: Мир, 1985. – Т. 1 – 3.
4. Сопін Є.Ф., Виноградова Р.П. Основи біохімічних методів дослідження. –К.: Вища школа, 1975. – 244 с.
5. Зіменковський Б.С., Музиченко В.А. Біоорганічна хімія. – Львів: Кварт. – 2009. – 402 с.
6. Миронович Л.М. Біоорганічна хімія: Скорочений курс: Навчальний посібник. – Київ: Каравела, 2008. – 184 с.
7. Мардашко О.А., Миронович Л.М., Стапанова Г.Ф. Біологічна і біоорганічна хімія: Навчальний посібник. – Київ: Каравела, 2008. – 244 с.