

Міністерство освіти і науки України
Донбаська державна машинобудівна академія (ДДМА)

АКТУАЛЬНІ ПИТАННЯ БІООРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ

Методичні вказівки
до лабораторних робіт та самостійної роботи
для студентів спеціальності 102 «Хімія»
денної форми навчання

Затверджено
на засіданні
методичної ради
Протокол № від

Краматорськ
ДДМА
2019

УДК 543 + 544

Актуальні питання біоорганічної хімії: методичні вказівки до лабораторних робіт та самостійної роботи для студентів спеціальності 102 «Хімія» денної форми навчання / уклад. Г. О. Санталова. – Краматорськ : ДДМА, 2019. – 62 с.

Наведено опис лабораторних робіт з дисципліни «Актуальні питання біоорганічної хімії». Для кожної роботи надано вказівки щодо виконання роботи і оформлення звіту. Після кожної лабораторної роботи наведений перелік контрольних запитань обов'язкових до виконання. Після кожної теми – перелік тестових завдань. Методичні вказівки складено з метою зменшення непродуктивних витрат часу студента на підготовку до занять та сприяє більш раціональному плануванню часу.

Укладач

Г. О. Санталова, доц.

Відп. за випуск

А. П. Авдеєнко, проф.

ЗМІСТ

ВСТУП	
Лабораторна робота № 1 Будова та хімічні властивості моносахаридів та олігосахаридів	7
Лабораторна робота № 2 Ідентифікація вуглеводів	9
Лабораторна робота № 3 Хімія ліпідів	12
Лабораторна робота № 4 Визначення хімічних констант жирів	15
Лабораторна робота № 5 Визначення хімічних констант жирів	18
Лабораторна робота № 6 Якісні реакції білків і амінокислот	23
Лабораторна робота № 7 Реакції осадження білків	26
Лабораторна робота № 8 Фізико-хімічні властивості білків	28
Лабораторна робота № 9 Приготування розчинів білків	29
Лабораторна робота № 10 Фізико-хімічні властивості нуклеотидів	35
Лабораторна робота № 11 Дослідження рибонуклеопротеїдів	36
Лабораторна робота № 12 Виділення дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК)	37
Лабораторна робота № 13 Загальні властивості ферментів	39
Лабораторна робота № 14 Активність окремих ферментів.	42
Лабораторна робота № 15 Якісні реакції на вітаміни	54
Лабораторна робота № 16 Вітамін С та аскорбінова кислота	55
Лабораторна робота № 17 Методи якісного визначення жиро- та водорозчинних вітамінів	57
ЛІТЕРАТУРА	63

ВСТУП

Біоорганічна хімія – це фундаментальна наука, яка вивчає будову та біологічні функції найважливіших компонентів живої матерії, в першу чергу, біополімерів і низькомолекулярних біорегуляторів, приділяючи головну увагу з'ясуванню закономірностей взаємозв'язку між структурою сполук та їх біологічною дією.

Біоорганічна хімія – наука на стику хімії та біології, вона сприяє розкриттю принципів функціонування живих систем. Біоорганічна хімія має виражену практичну спрямованість, будучи теоретичною основою отримання нових цінних сполук для медицини, сільського господарства, хімічної, харчової та мікробіологічної промисловості. Коло інтересів біоорганічної хімії надзвичайно широкий – це і світ речовин, що виділяються з живої природи і грають важливу роль в життєдіяльності, і світ штучно одержуваних органічних сполук, що володіють біологічною активністю. Біоорганічна хімія охоплює хімію всіх речовин живої клітини, десятки і сотні тисяч з'єднань.

У курсі «Актуальні питання біоорганічної хімії» основна увага приділяється створенню системи знань та уявлень, що лежать в основі тих хімічних перетворень, які супроводжують найбільш важливі біологічні процеси у живій природі, а також закономірностей зміни фізико-хімічних властивостей речовин як функції зміни базових характеристик їх складу і будови. Особлива увага приділяється вивченню фундаментальних основ хімічних процесів, що проходять у результаті взаємодії речовин з об'єктами біосфери або в результаті процесів знешкодження токсикантів, що потрапили в навколишнє природне середовище в результаті дії антропогенних чинників.

Дисципліна є однією з важливих і базових у підготовці майбутнього спеціаліста біології. Знання з біоорганічної хімії будуть у подальшому використані при вивченні фундаментальних дисциплін природничого циклу.

Основна мета навчальної дисципліни “Актуальні питання біоорганічної хімії” – поглиблене засвоєння фундаментальних знань про якісний та кількісний склад, а також перетворення в життєвих процесах сполук, що утворюють живу матерію.

Структура методичних вказівок складена таким чином, що весь програмний матеріал поділений на розділи і кожний з них представлений лабораторними заняттями. У назві подано характер лабораторної роботи, яку

потрібно виконати протягом робочого часу. Мета заняття диференційовано відтворює рівень засвоєння навчального матеріалу в залежності від теми: а) скласти уявлення; б) познайомитися; в) навчитися. При підготовці до занять студентам необхідно керуватися поставленою метою. Перелік питань, які необхідно засвоїти, охоплюють весь об'єм матеріалу даної теми. Для допомоги засвоєння знань студентам подається блок інформації.

У кожному практичному занятті подається хід роботи та значення для досліджуваного показника. У кінці заняття наводяться тести для визначення кінцевого рівня знань та ситуаційні задачі. У заключній частині заняття представлені питання для контролю виконання лабораторної роботи.

ВИМОГИ ДО ОФОРМЛЕННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

Лабораторні роботи оформлюються в окремому зошиті з кількістю сторінок не менш 48. Зошит повинен бути підписано: назва предмету, П.І.Б студента та група.

Студенти повинні готуватися до проведення кожної лабораторної роботи: з початку лабораторної роботи студент повинен знати тему та мету лабораторної роботи;

засдалегідь ознайомитись з теоретичними відомостями та методами дослідження в лабораторній роботі; мати зошит, в який будуть заноситися дані, що отримано під час виконання лабораторної роботи.

Кожна лабораторна робота в зошиті повинна починатись з окремої сторінки у вигляді таблиці і містити такі основні елементи:

Лабораторна робота № _____

Тема: _____

Мета: _____

Завдання: _____

№ п/п	Хід досліду	Хімізм	Спостереження	Висновки

Після таблиці повинні бути письмово виконані контрольні запитання.

В графі хід роботи у короткій формі повинно бути законспектовано порядок виконання кожного завдання, наведено розрахунки, якщо потрібно – методи дослідження.

В графі хімізм – основні хімічні реакції.

В графі спостереження – основні спостереження (зміна забарвлення, випадіння осаду, підвищення температури розчину і т.ін.).

В графі висновок – студент повинен письмово зробити висновки, що до результатів, які отримано під час виконання завдання.

Кожна лабораторна робота після виконання захищається. До захисту приймаються тільки лабораторні роботи оформлені за вимогами, що було наведено вище.

Під час захисту студент повинен вільно володіти теоретичним матеріалом за тематикою лабораторної роботи, відповісти на контрольні (що наведено після кожної лабораторної роботи) та додаткові питання викладача.

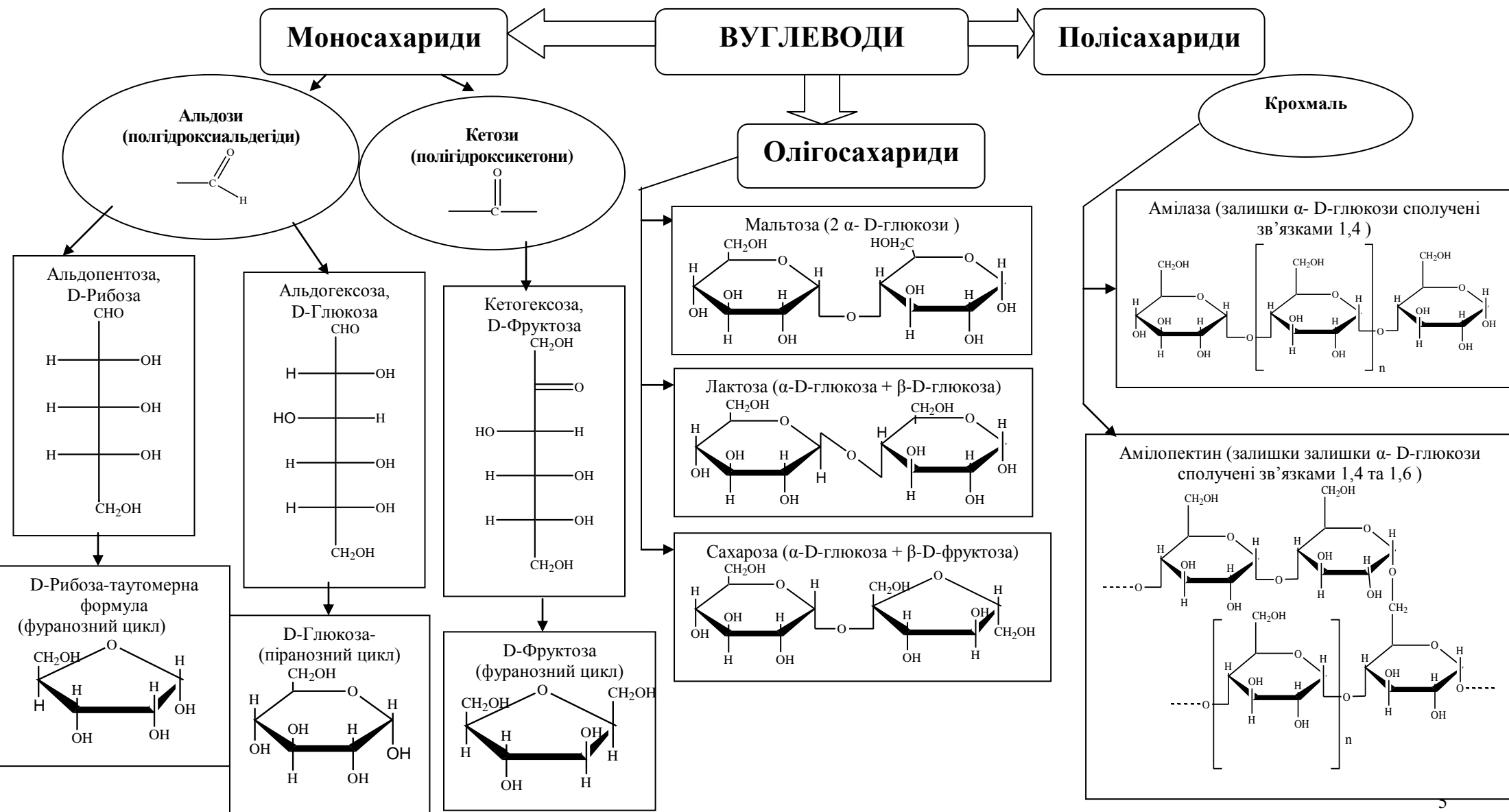
Критерії коли лабораторна робота не буде зархована :

- Якщо лабораторна робота здана несвоєчасно ;
- Якщо лабораторна робота виконана і оформлена не за правилами;
- Якщо в контрольних запитаннях не дано 60% правильних відповідей.

МОДУЛЬ №1

ЗМІСТОВНИЙ МОДУЛЬ №1 «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.

- Завдання:**
1. Провести якісні реакції на відновлюючі вуглеводи.
 2. Провести якісну реакцію на сахарозу.
 3. Провести реакцію Моліша
 4. Провести реакцію Барфуда
 5. Провести якісну реакцію на пентози

Теоретичні питання:

1. Основні вуглеводи, їх класифікація, вміст в тканинах та біологічна роль.
2. Моносахариди (альдози і кетози), 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.

Дослід 1. Якісні реакції на відновлюючі вуглеводи.

а) Проба Фелінга.

Принцип. Альдегідна група вуглеводів, що має здатність до редукції в лужному середовищі, при нагріванні окислюється купрум(II) гідроксидом (блакитного кольору), що, в свою чергу, утворюється з купрум(II) сульфату та натрій гідроксиду. При цьому купрум(II) гідроксид відновлюється до купрум(I) гідроксиду (жовтого кольору), останній при нагріванні розкладається на воду та купрум(I) оксид (червоного кольору). До складу реактиву Фелінга, крім купрум(II) сульфату та натрій гідроксиду, входить ще сегнетова сіль (NaK-тартрат), яка зв'язує надлишок іонів купруму; що перешкоджає утворенню осаду купрум(II) оксиду, що, в свою чергу, заважає відкриттю вуглеводів, що мають здатність відновлювати.

Хід роботи. В чотири пробірки для утворення реактиву Фелінга вносять по 5 крапель 7% розчину купрум(II) сульфату та лужного розчину сегнетової солі. В 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.

Принцип. Фруктоза та інші кетогексози дають вишнево-червоне забарвлення при нагріванні їх з реактивом Селіванова (хлоридна кислота та

резорцин). Забарвлення, що виникає, залежить від реакції резорцину з оксиметил-фурфуролом, що утворюється при нагріванні кетоз з кислотою.

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

в) Реакція Біаля на пентози.

Принцип. Пентози при кип'ятінні з кислотою відщеплюють воду, внаслідок чого утворюється фурфурол. Останній, взаємодіє з орцином і дає сполуку синьо-зеленого кольору.

Хід роботи: У дві пробірки вносять по 10 крапель реактиву Біаля (орцин, ферум(III) хлорид, хлоридна кислота та вода). Нагрівають вміст пробірок в кип'ячій бані 3 хвилини. Після цього в першу пробірку вносять 0,5 мл 1% розчину арабінози, а в другу – 0,5 мл 1% розчину глюкози. Вміст пробірок перемішують та нагрівають 5-6 хвилин на кип'ячій водяній бані. Спостерігають появу синьо-зеленого забарвлення в пробірці з арабінозою.

г) Гідроліз складних сахарів та відкриття продуктів їх гідролізу

Принцип: Полісахариди та деякі дисахариди (наприклад, сахароза) не містять вільної альдегідної групи і не дають позитивної реакції Фелінга або Троммера. Після гідролізу складних сахарів утворюються моносахариди, які володіють позитивними відновлюючими властивостями. Гідроліз складних сахарів проводять в кислому середовищі при нагріванні.

Хід роботи: В першу пробірку відмірюють 1 мл 1% розчину сахарози, а в другу – 1 мл 1% розчину крохмалю. В кожену пробірку доливають по 2-3 краплі концентрованої хлоридної кислоти та кип'ятять на водяній бані 5-10 хвилин. Після охолодження для нейтралізації надлишку хлоридної кислоти в кожену 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

Принцип. При додавання до розчину сахарози в лужному середовищі кобальту нітрату утворюється комплексна сполука фіолетового кольору. Реакція специфічна для сахарози.

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)

Принцип. Вуглеводи та їх похідні в присутності концентрованої сульфатної кислоти утворюють фурфурол, який з α -нафтолом дає фіолетове забарвлення.

Хід роботи. Наливають у три пробірки відповідно по 1 мл 1% розчину крохмалю, 3% розчину сахарози і 1% розчину глюкози. У кожену 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.

Дослід 4. Реакція Барфуда.

Принцип. Всі моно - і дисахариди, які у своєму складі мають вільний напівацетальний гідроксил, здатні в лужному середовищі відновлювати метали (аргентум, купрум, бісмут тощо). Паралельно йде розрив вуглеводневого ланцюга вуглеводів та його полімеризація.

Хід роботи. У дві пробірки наливають по 1 мл глюкози і лактози. У кожну з них додають по 1 мл реактиву Барфуда та кип'ятять протягом 5 хвилин. Випадає осад червоного кольору. Спостерігають позитивну реакцію з глюкозою та негативну з лактозою. Ця реакція відрізняється від реакції Троммера тим, що в даних умовах дисахариди, які мають відновні властивості, практично не окиснюються.

Дослід 5. Реакція на пентози.

Принцип. Усі пентози під час кип'ятіння в кислому середовищі за присутності бензидину дають червоне забарвлення. Реакція залежить від дегідрування пентоз з утворенням фурфуролу. Останній дає червоне забарвлення з бензидином або зелене з орцином.

Хід роботи. У пробірку наливають 0,5 мл розчину бензидину в оцтовій кислоті і додають 1-2 краплі розчину арабінози. Пробірку кип'ятять 5хв. З'являється червоне забарвлення.

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.

Завдання:

1. Провести кількісне визначення активності α -амілази слини.

2. Провести реакцію доказу наявності оксигруп в D-глюкозі.
3. Провести пробу Троммеру на вуглеводневий компонент
4. Доказати відсутність відновних властивостей сахарози
5. Провести гідроліз сахарози
6. Провести кислотний гідроліз крохмалю

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).

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 слідуєчим 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 кожен пробірку додають по 5 мл. 1% розчину крохмалю. Пробірки ставлять у термостат при температурі 38°C на 30 хвилин, потім охолоджують. В кожен пробірку доливають по декілька крапель розчину йоду (до появи забарвлення). При наявності в пробірці крохмалю виникає синє забарвлення (+), відсутність крохмалю в результаті його гідролізу α -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 А = 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 CuSO₄. Написати рівняння реакцій, описати зовнішній ефект, зробити висновки. Розчин залишити для наступного досліді.

Дослід 3. Проба Троммера на вуглеводний компонент

В пробірку внести 2 краплі гідролізату дріжджів, додати 6 крапель розчину NaOH та 2 краплі розчину CuSO₄, 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 CuSO₄, 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 H₂SO₄ 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.

Лабораторна робота № 3

Тема: Ідентифікація вуглеводів

Мета: Навчитися розпізнавати цукри за допомогою якісних реакцій і відкриття продуктів гідролізу.

Завдання:

1. Ідентифікувати цукри за допомогою реакцій Селіванова, Фелінга; Барфедда; гідролізу; з йодом.
2. Ідентифікувати цукри за продуктами гідролізу.

Принцип. Реакція з фелінговою рідиною дозволяє відрізнити відновлюючі цукри від невідновлюючих. Реакція Селіванова дозволяє відрізнити кетози від альдоз. Реакція Барфедда позитивна з моносахаридами і дозволяє відрізнити відновлюючі дисахариди від моносахаридів. Крохмаль дає з йодом синє забарвлення, а глікоген – червоне. Дисахариди і полісахариди можна розрізнити за продуктами гідролізу. Так, сахароза не дає позитивної реакції з реактивом Фелінга, але після гідролізу продукти дають позитивні реакції з реактивом Фелінга і Селіванова. Продукти гідролізу крохмалю дають позитивну реакцію з реактивом Фелінга.

Хід роботи.

Таблиця 2

Проба/ № пробірки	1а	1б	1с
Реакція з фелінговою рідиною			
Реакція Селіванова			
Реакція з йодом			
Реакції гідролізату			
а) реакція з фелінговою рідиною			
б) реакція Селіванова			

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ
Модуль 1
Змістовний модуль №1 «Вуглеводи»

Варіант №1

1. До моносахаридів належить:
а) мальтоза, б) фруктоза;
в) лактоза; г) гепарин;
д) глікоген.

2. Глюкоза є:
а) кетогексозой; б) кетопентозой;
в) альдогексозой; г) альдопентозой;
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) гідроосмотическая і іонрегулюючая.

Варіант № 2

1. До моносахаридів належить:
а) гепарин; б) глюкоза;
в) сахароза; г) мальтоза;
д) глікоген.

2. Фруктоза є:
а) кетогексозой; б) кетопентозой;

в) альдогексозой; г) альдопентозой;
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 гетерополісахарідом 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:

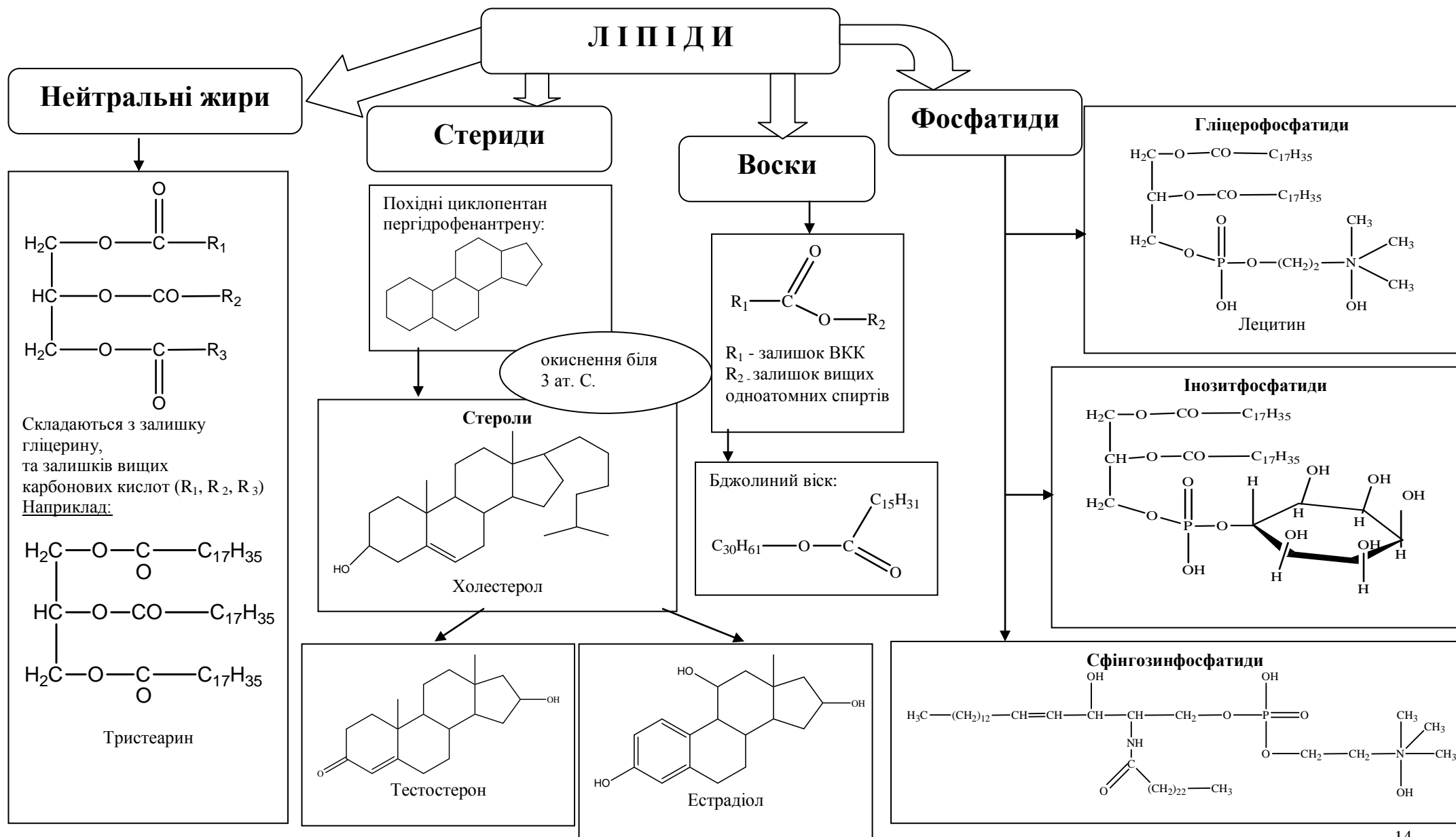
а) печінки; б) крові;
в) нирках; г) серце;
д) м'язах.

7. Біологічні функції моносахаридів:

а) енергетична; б) опорна;
в) пластична; г) структурна;
д) гідроосмотическая і іонрегулюючая.

МОДУЛЬ №1

ЗМІСТОВНИЙ МОДУЛЬ №2 «ЛІПІДИ»



Лабораторна робота № 4

Тема: Хімія ліпідів

Мета: Ознайомити студентів з основними хімічними перетвореннями ліпідів.

Завдання:

1. Провести емульгацію жирів;
2. Дослідити відношення жирів до розчину калій перманганату;
3. Провести гідроліз жирів;
4. Провести виділення вільних жирних кислот з мила;
5. Провести утворення нерозчинних солей кальцію ВЖК.

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.

Дослід 1. Емульгація жиру.

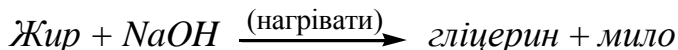
Принцип. Під дією жовчі, білка або соди жир розпадається на найдрібніші краплі, утворюючи емульсію. На межевій поверхні жирових крапель розміщуються частинки поверхнево-активних речовин (детергенти), які оточують краплі жиру і не дають їм зливатися.

Хід роботи. В 4 пробірки вносять по 2 краплі рослинної олії. В першу додають 2 краплі води, в другу - 8 крапель 10% натрій карбонату, в третю - 8 крапель жовчі, в четверту - 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 $0,5 \text{ см}^3$ і розчин KMnO_4 ($w = 2\%$) об'ємом 1 см^3 . 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 см^3 . 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 см^3 .

Дослід 4. Утворення жирної плями та її екстракція.

На фільтровальний папір нанести 3 окремі плями олії по одній краплі. До плями доторкнутися скляним капіляром з ефіром, до другої – з бензолом, 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 H_2SO_4 конц. Описати зовнішній ефект, написати рівняння реакцій. Зробити висновки. Розчин залишити для наступного дослідю.

Дослід 6. Утворення нерозчинних солей кальцію вищими жирними кислотами.

В пробірку внести 5 крапель розчину мила та 1 краплю розчину $CaCl_2$, 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 гідрування: а) олеодистеарину; б) диолеопальмітину; в) олеоліноленостеарину.

Лабораторна робота №5

Тема: Визначення хімічних констант жирів

Мета: Ознайомити студентів з методами визначення хімічних констант жирів.

Завдання:

1. Провести визначення йодного числа;
2. Провести визначення насиченості жирів.

Теоретичні питання:

1. Складні ліпіди: гліцерофосфоліпіди, сфінгофосфатиди, 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 торзійні; 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 №6

Тема: Визначення хімічних констант жирів.

Мета: Ознайомити студентів з методами визначення хімічних констант жирів.

Завдання:

1. Провести визначення кислотного числа жирів;
2. Провести визначення числа омилення.

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

Дослід 1. Визначення кислотного числа жирів

Принцип. Кислотне число характеризує кислотність жиру і вимірюється кількістю міліграмів гідроксиду калію, який необхідний для нейтралізації вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру.

Кислотне число разом з іншими фізико-хімічними показниками характеризує якість масла. Наприклад, якщо масло було отримано із зрілого насіння, то вільних жирних кислот в ньому мало, в маслі ж з незрілого насіння вміст вільних жирних кислот значно більший. При зберіганні масла спостерігається гідроліз гліцеридів, який призводить до накопичення вільних жирних кислот, тобто до зростання кислотності. Підвищена кислотність масла вказує на зниження його якості.

Метод визначення кислотного числа оснований на тому, що вільні жирні кислоти, які є в маслі, відтитрують 0,1 н. розчином КОН. Титрування краще проводити гідроксидом калію, а не гідроксидом натрію, оскільки калієве мило, що утворюється, краще розчиняється в умовах досліду.

Устаткування та реактиви. Ваги аналітичні; колба конічна на 50 або 100 мл; циліндри мірні на 10 або 25 мл; піпетка з однією міткою на 1 або 2 мл; бюретка з краном на 25 або 50 мл; суміш спирту з сірчанним ефіром (1:1); гідроксид калію (0,1 н.) в спирті (96%-ному); масло рослинне або жир тваринний.

Хід роботи. Наважку масла для визначення беруть на аналітичних терезах по різниці мас (як і в попередньому досліді). Для визначення кислотного числа наважку жиру (масла) в 2 – 3 г, зважену на аналітичних терезах, поміщають в конічну колбу місткістю 50 – 100 мл і розчиняють в 10 – 15 мл нейтральної суміші спирту і ефіру (1 : 1). Для нейтралізації до суміші спирту і ефіру (1:1) додають 3 – 4 краплі фенолфталеїну і потім по краплях 0,1 н. спиртовий розчин гідроксиду калію, до появи слабого рожевого забарвлення. Після розчинення жиру вносять 1 – 2 краплі розчину фенолфталеїну і титрують 0,1 н. спиртовим розчином гідроксиду калію до слабо-рожевого забарвлення. Забарвлення після збовтування не повинно зникати протягом 0,5 – 1 хвилин.

Кислотне число обчислюють за формулою:

$$\text{Кислотне число} = \frac{V \times T}{a}$$

де V – кількість (в мл) 0,1 н. розчину КОН, який був витрачений на титрування узяті наважки жиру; T – титр 0,1 н. розчину гідроксиду калію (в мг); a – наважка жиру (в г).

Дослід 2. 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 кожену

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 досліджу (колба з жиром); a – 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

Модуль №1

Змістовний модуль №2 «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:

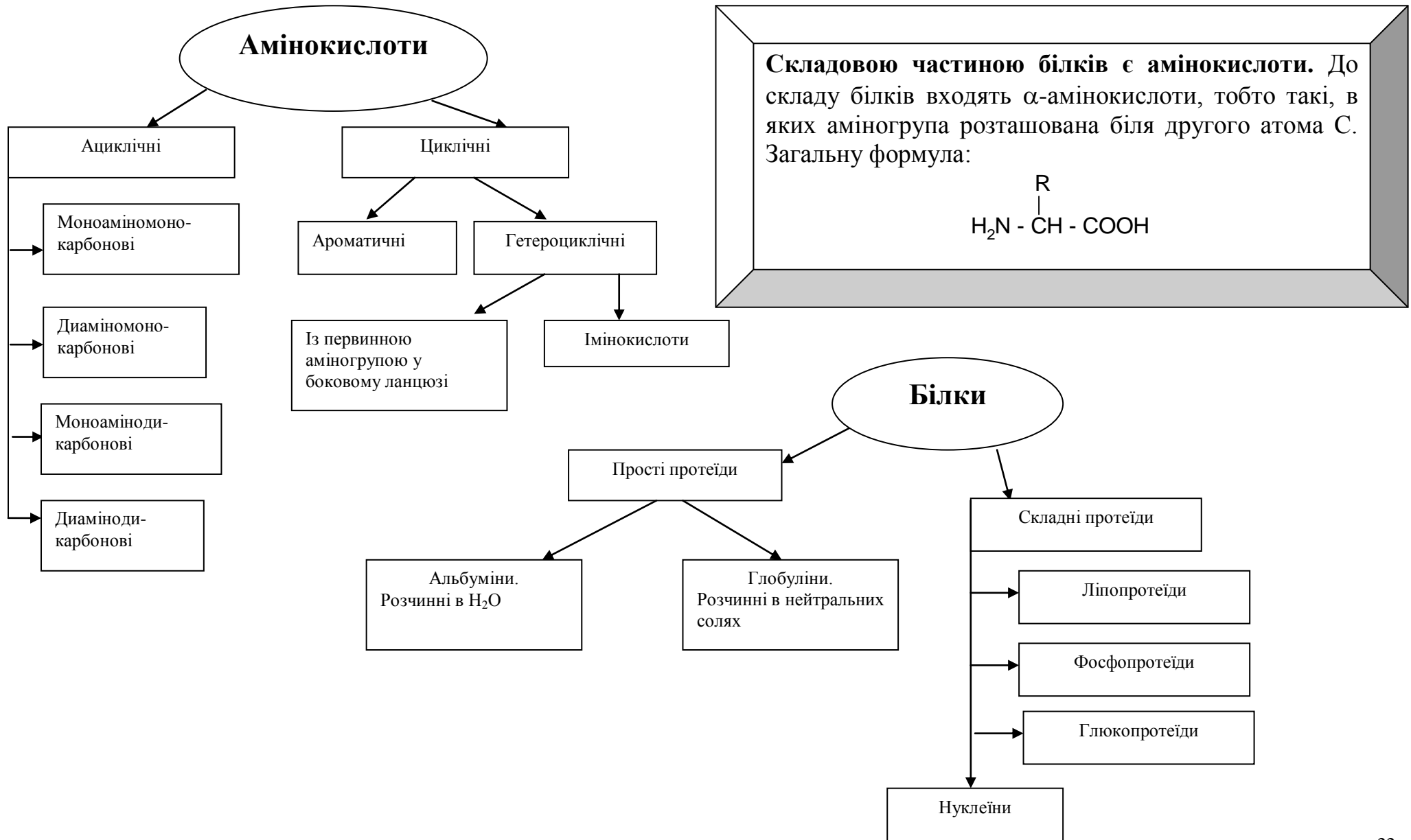
а) моноацілгліцеридов;

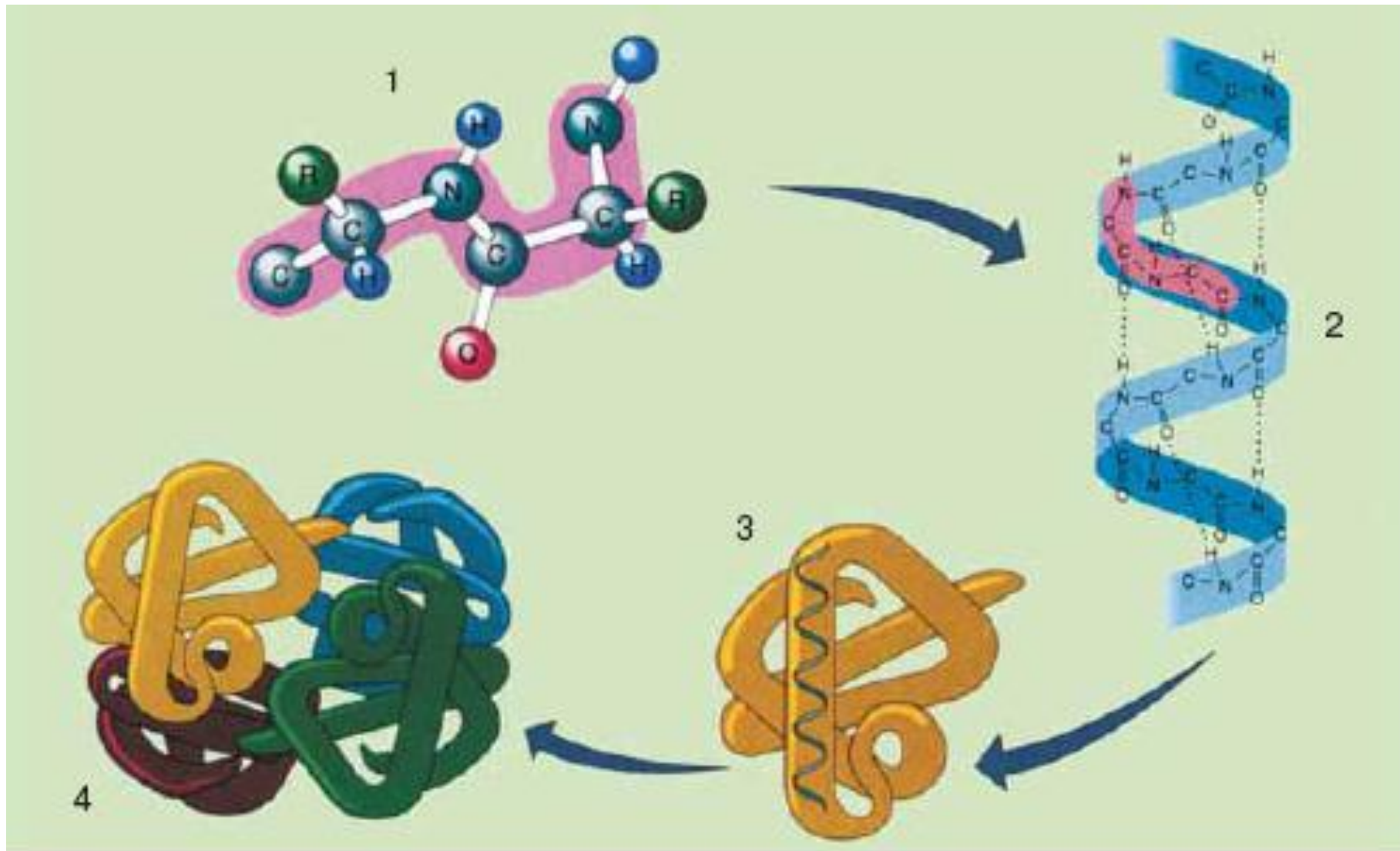
б) діацілгліцеридов;

в) тріацілгліцеридов.

МОДУЛЬ №1

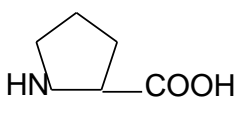
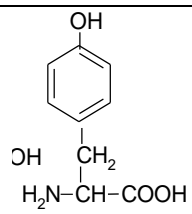
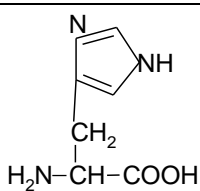
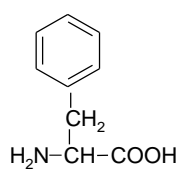
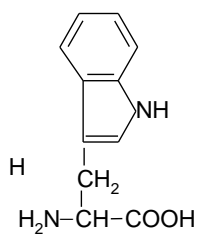
ЗМІСТОВНИЙ МОДУЛЬ №3 «БІЛКИ»





Рівні просторової організації білкових молекул: 1 – первинний; 2 – вторинний; 3 – третинний; 4 – четвертинний

Амінокислоти

	Замінні		Незамінні		Напівзамінні
Аланін	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Треонін	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}-\text{OH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Аргінін	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{NH} \\ \\ \text{NH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$
Пролін		Метіонін	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Тирозин	
Гліцин	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Валін	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \\ \diagdown \quad / \\ \text{CH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Гістидин	
Серин	$\begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	лейцин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \quad \text{CH}_3 \\ \diagdown \quad / \\ \text{CH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$		
Цистеїн	$\begin{array}{c} \text{CH}_2-\text{SH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Ізолейцин	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}_3 \\ \diagdown \quad / \\ \text{CH} \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$		
Аспаргін	$\begin{array}{c} \text{CONH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Лізин	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ (\text{CH}_2)_4 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$		
Глутамін	$\begin{array}{c} \text{CONH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Фенілаланін			
Аспарагінова кислота	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$	Триптофан			
Глутамінова кислота	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \end{array}$				

Лабораторна робота № 7

Тема: Якісні реакції білків і амінокислот.

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

Завдання:

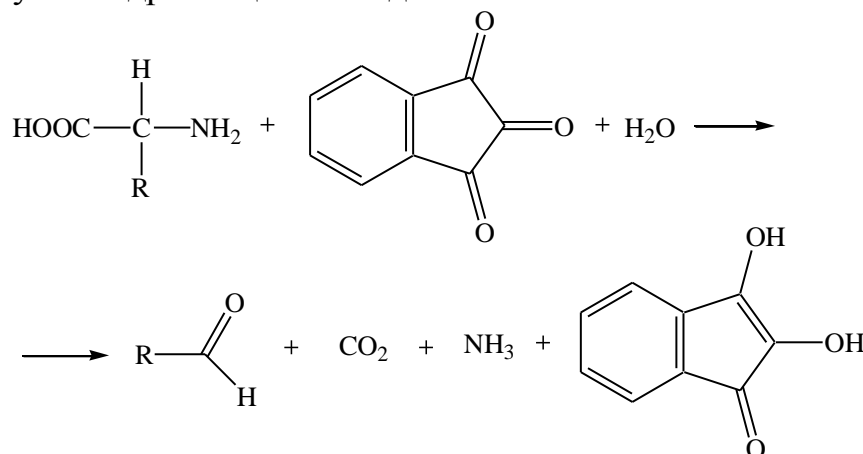
1. Провести нінгідринову реакцію;
2. Провести біуретову реакцію;
3. Провести ксантопротеїнову реакцію;
4. Провести реакцію Адамкевича;
5. Провести реакцію Паулі.

Теоретична частина:

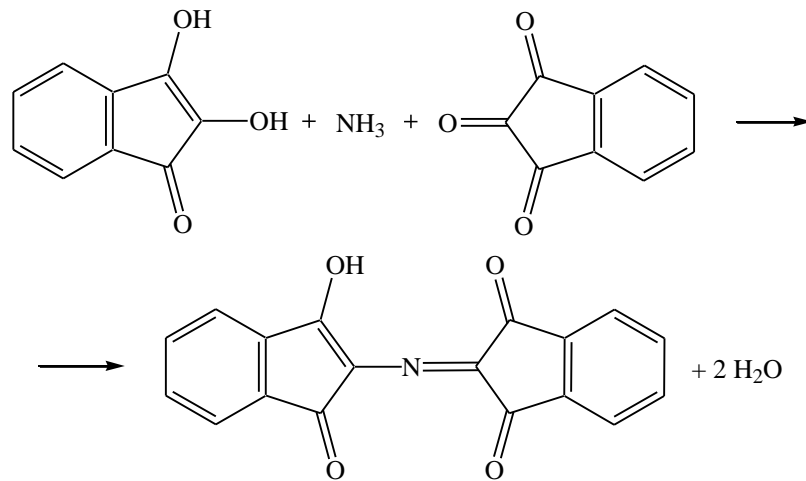
1. Білки: визначення, функції в організмі.
2. Амінокислоти, класифікація, властивості.
3. Структура та номенклатура.
4. Амінокислоти як лікарські засоби, механізм їх дії.
5. Замінні та незамінні амінокислоти.
6. Повноцінні та неповноцінні білки.

Дослід 1. Нінгідринова 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:



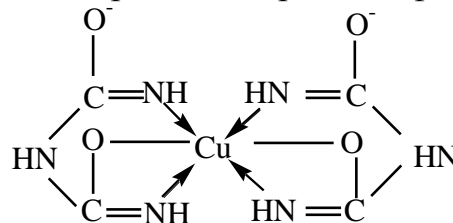
Відновлений нінгідрин конденсується з амоніаком і окисненим нінгідрином і утворює сполуку, яка має синє-фіолетове забарвлення.



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:

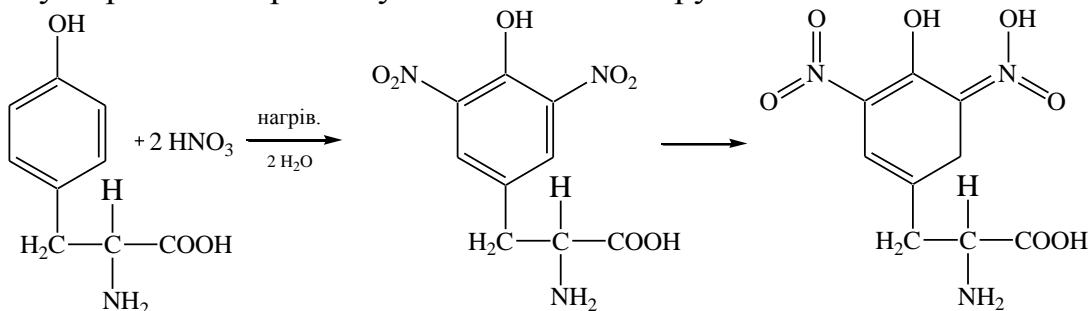


Ця реакція не є специфічною, бо подібний комплекс утворює і біурет.

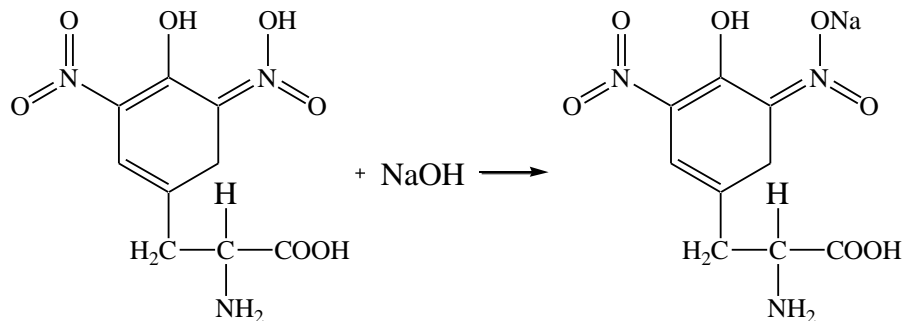
Хід роботи. У пробірку вмістити розчин білка об'ємом 3 см³ і додати розчин натрій гідроксиду об'ємом 1 см³, розчин купрум сульфату (1-2 краплини). Суміш перемішати.

Дослід 3. Ксантапротейнова 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:



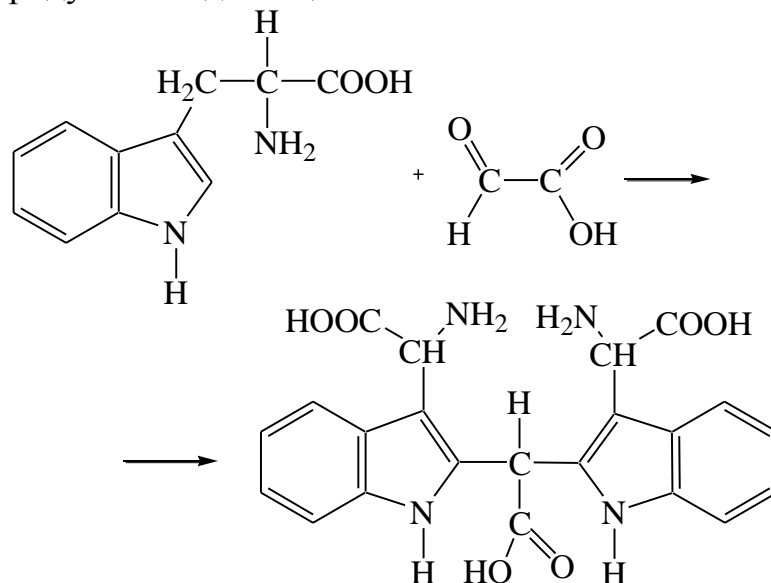
В реакції натрій гідроксиду з хіноїдною формою динітротирозину утворюється натрієва сіль помаранчевого забарвлення:



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.

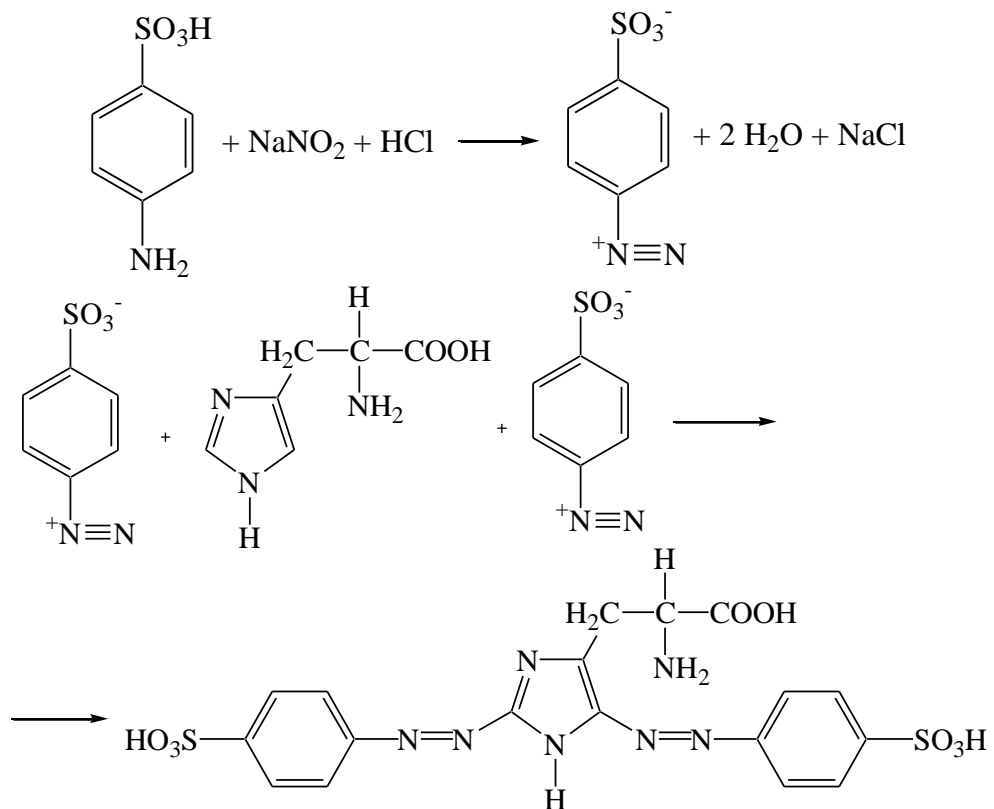
Принцип. Реакція на триптофан. Триптофан у кислому середовищі вступає в реакцію з гліоксиловою кислотою, утворюючи при цьому забарвлені у червоно-фіолетовий колір продукти конденсації:



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 нітрити 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 №8

Тема: Реакції осадження білків.

Мета: Ознайомити студентів з основними реакціями осадження білків.

Завдання:

1. Провести осадження білків концентрованими мінеральними кислотами;
2. Провести осадження білків органічними кислотами;
3. Провести осадження білків солями важких металів;
4. Провести осадження білків фенолом і формаліном;
5. Провести осадження білків спиртом.

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

Дослід 1. Осадження білків концентрованими мінеральними кислотами.

У три сухі пробірки наливають по 1–2 мл концентрованих азотної, сірчаної і соляної кислот. Потім, нахиливши кожен 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 слабокислому середовищі білки осаджуються?

Лабораторна робота №9

Тема: Фізико-хімічні властивості білків.

Мета: Ознайомити студентів з фізико-хімічними властивостями білків.

Завдання:

1. Провести реакції денатурації білка;
2. Здійснити визначення ізоелектричної точки білка.

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 слабокислому 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. В 8 пробірок вносять відповідні розчини (табл. 1). В кожену пробірку додають 0,5 мл. 96% етанолу. В тій пробірці де буде помічене максимальне помутніння рідини (візуально), рН розчину буде відповідати ІЕТ білка. Відмітьте ступінь мутнення 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
Розв'язок 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 з різних 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 № 10

Тема: Приготування розчинів білків.

Мета: Ознайомити студентів з основними хімічними методами добування білків.

Завдання:

1. Приготувати розчини білків
2. Провести розділення альбумінів і глобулінів

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.

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). В розчинах з

більш 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 опалесціючого 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. Вирізують 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

слабою. Це свідчить про завершення діалізу, тобто про майже повну дифузію 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

Модуль №1

Змістовний модуль №3 «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 замісними?

- 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:

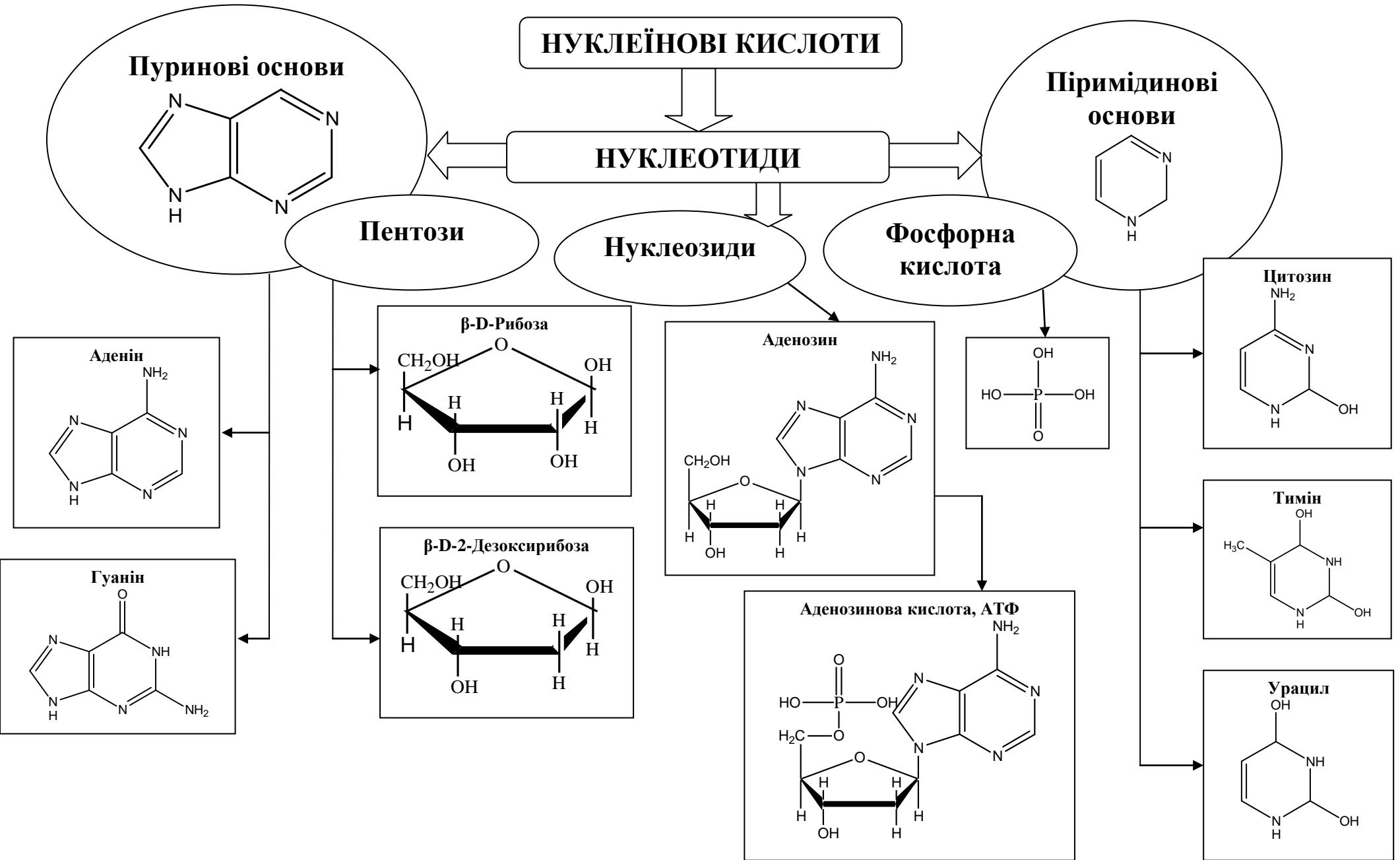
- 1) структура, що складається з певного числа поліпептидних ланцюгів, що займають строго фіксоване положення відносно один одного;
- 2) порядок чергування амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі;
- 3) спосіб укладання поліпептидного ланцюга в впорядковану структуру;
- 4) спосіб укладання поліпептидного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

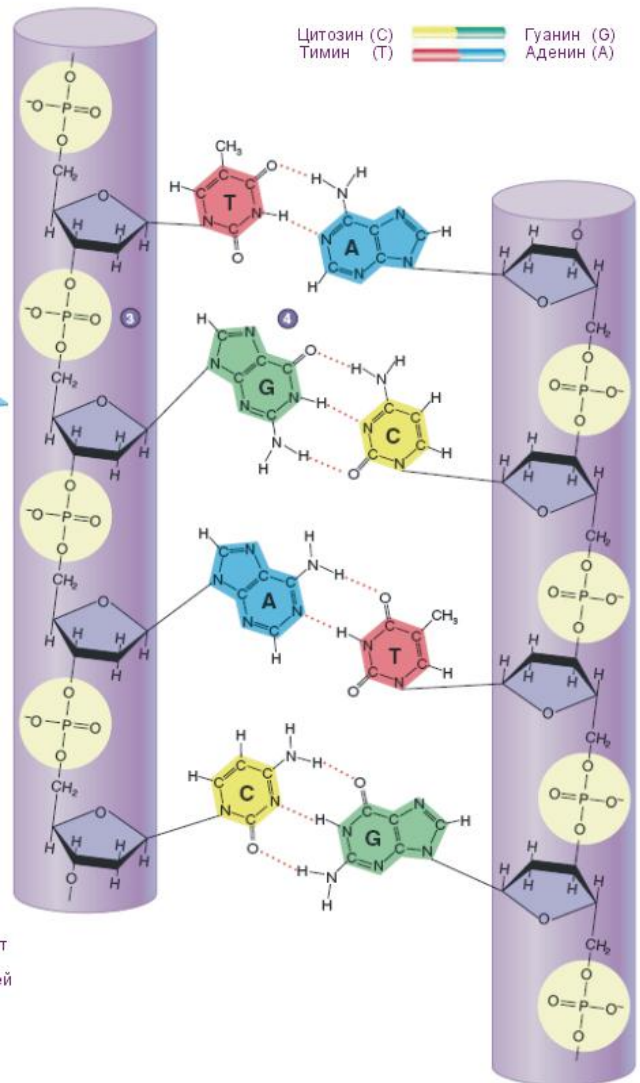
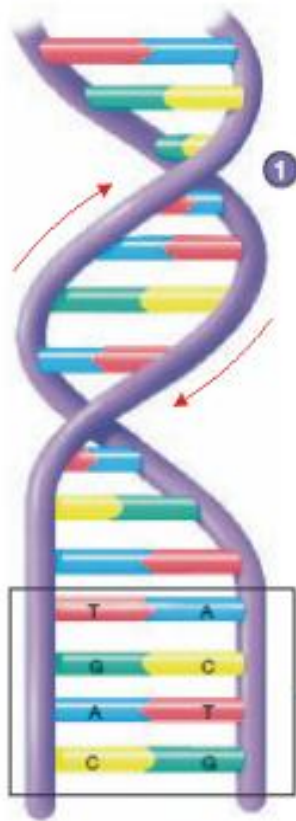
7. Напишіть повну назву тетрапептіда:

мет - іле - лиз - фен.

МОДУЛЬ №2

ЗМІСТОВНИЙ МОДУЛЬ №1 «НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ»





1. Молекула ДНК складається з нуклеотидів, які сполучені послідовно в два ланцюги. Кожний з цих ланцюгів має форму спіралі. Спіралі антипаралельні (тобто напрямлені в протилежні напрямки)
2. Ланцюги випрямлені і збільшені.

3. Між молекулами дезоксирибози кожного ланцюга розміщені фосфатні групи. Вони взаємодіють з молекулами дезоксирибози за рахунок ковалентних зв'язків.
4. Перпендикулярно на кожній спіралі розміщені пуринові і піримідинові основи. Пуринові основи одного ланцюга взаємодіють з піримідинами іншого ланцюга за рахунок водневих зв'язків. Таким чином за послідовністю нуклеотидів ланцюги комплементарні один одному.

Лабораторна робота №11

Тема: Фізико-хімічні властивості нуклеотидів

Мета: визначити структурні компоненти нуклеотидів.

Завдання:

1. Провести кислотний гідроліз нуклеотидів;
2. Визначити склад нуклеотидів за допомогою якісних реакцій.

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. Нуклеопротейни, характеристика білків і амінокислот нуклеопротейнів.
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.

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 Моліш на пентозном угрупованні.

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.

Дослід 4. Молібденова проба на фосфорну кислоту.

До 3-5 крапель гідролізату доливають 20 крапель молібденового реактиву і кип'ячать кілька хвилин. Рідина забарвлюється в лимонно-жовтий колір. При охолодженні утворюється жовтий кристалічний осад комплексної сполуки фосфорно-молібденовокислого амонію.

Контрольні запитання:

1. Якісні реакції на вуглеводний компонент та фосфатну кислоту.
2. Утворення N-глікозидного та складноєфірного 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, кетоенольна таутомерія азотистих основ, денатурація.
6. Що таке повний і неповний гідроліз нуклеопротейдів?
7. Назвіть продукти гідролізу нуклеопротейдів?

Лабораторна робота №12

Тема: Дослідження рибонуклеопротейдів.

Мета: Ознайомити студентів з основними методами дослідження рибонуклеопротейдів.

Завдання:

1. Виділити рибонуклеопротейд;
2. Виявити білок за допомогою біуретової реакції;
3. Виявити рибозу за допомогою орцинового реактиву;
4. Виявити фосфатну кислоту молібденовим реактивом.

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.

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 cm^3 . Осад профільтрувати або відцентрифугувати; фільтрат вилити у стакан і додавати по краплям розчин оцтової кислоти ($w = 10\%$) до припинення виділення осаду (приблизно 5-8 cm^3). Добутий осад нуклеопротейіду відокремити центрифугуванням.

Дослід 2. Ідентифікація білків у складі нуклеопротейідів.

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

Дослід 3. Ідентифікація рибози у складі нуклеопротейідів.

До орцинового реактиву об'ємом 1 cm^3 додати гідролізат об'ємом 0,5 cm^3 і концентровану хлоридну кислоту об'ємом 1 cm^3 . Суміш нагріти і спостерігати зелене забарвлення.

Дослід 4. Ідентифікація фосфорної кислоти.

До гідролізату об'ємом 2 cm^3 додати молібденовий реактив об'ємом 2 cm^3 . Суміш прокип'ятити і спостерігати лимонно-жовтий колір.

Контрольні запитання:

1. Нуклеїнові кислоти: визначення, склад, якісні реакції на складові частини.
2. Фосфо-, гліко-, ліпопротейіни, 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 с послідовністю азотистих основ У- Г.
6. Нуклеотиди як складні мономерні одиниці нуклеїнових кислот: склад, будова, типи зв'язків.
7. Перелічіть правила Чергоффа.

Лабораторна робота №13

Тема: Виділення дезоксирибонуклеопротейідів (ДРНП)

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

Завдання:

1. Навчитися виділяти дезоксирибонуклеопротейіди;
2. Провести реакцію дезоксирибонуклеїнової кислоти з дифеніламіном;
3. Провести реакцію дезоксирибонуклеїнової кислоти з фуксинсірчаною кислотою.

Теоретична частина

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

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 центрифутата, 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 осадку, 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 водній 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 входить 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 дезоксирибонуклеопротеїда 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 типи зв'язків.
5. Написати будову динуклеотидної ділянки ДНК з послідовністю азотистих основ А – Ц.
6. Які продукти гідролізу виявляються пробою Тромера?

Лабораторна робота №14

Тема: Виділення дезоксирибонуклеїнової кислоти (ДНК).

Мета: навчитись виділяти ДНК з різних продуктів

Завдання:

1. Освоїти метод виділення ниток дезоксирибонуклеїнової кислоти з простих 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.

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.

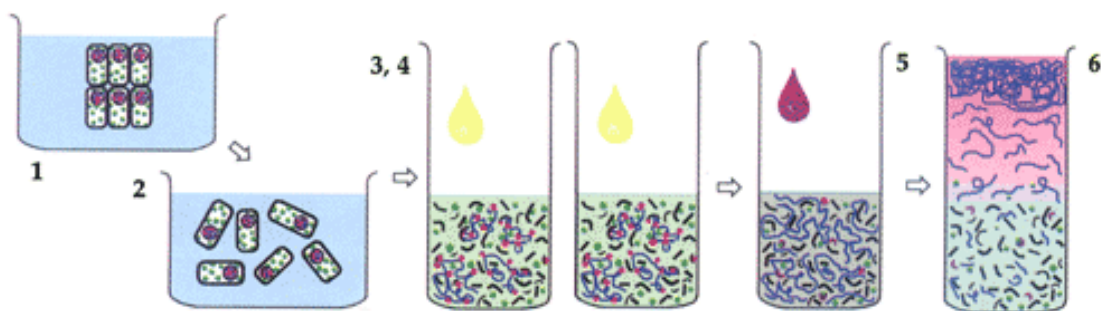


Рис. 1. Методика виділення ДНК
 1 – 2. Етап подрібнення матеріалу;
 3 – 4 – етап додавання миючого засобу;
 5 – етап додавання спирту;
 6 – виділення ДНК

Контрольні запитання:

- Записати структурні формули:
 а) уридин; б) тимідин; в) аденозін; г) цитидін; д) гуанозін; е) АМФ
 ж) дГМФ; з) дЦМФ; и) УМФ.
- Які нуклеїнові кислоти менш чутливі до денатурації:
 а) А-Т пар > Г-Ц пар.
 б) Г-Ц пар > А-Т пар.
- У виділеному з кишкової палички розчині нуклеїнових кислот виявили аденін, гуанін, цитозин, фосфорну кислоту. Які реакції підтверджують, що виділили ДНК?
- У виділеній з селезінки речовині виявлені: дезоксирибоза, тимін, аденін, гуанін, цитозин, фосфорна кислота. Назвіть сполуку, яка виділена.
- У гідролізаті дріжджів виявлені рибоза, аденін, гуанін, цитозин, урацил. До складу якої сполуки входять ці компоненти?

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ
Модуль №2
Змістовний модуль №1 «Нуклеїнові кислоти»

Варіант 1

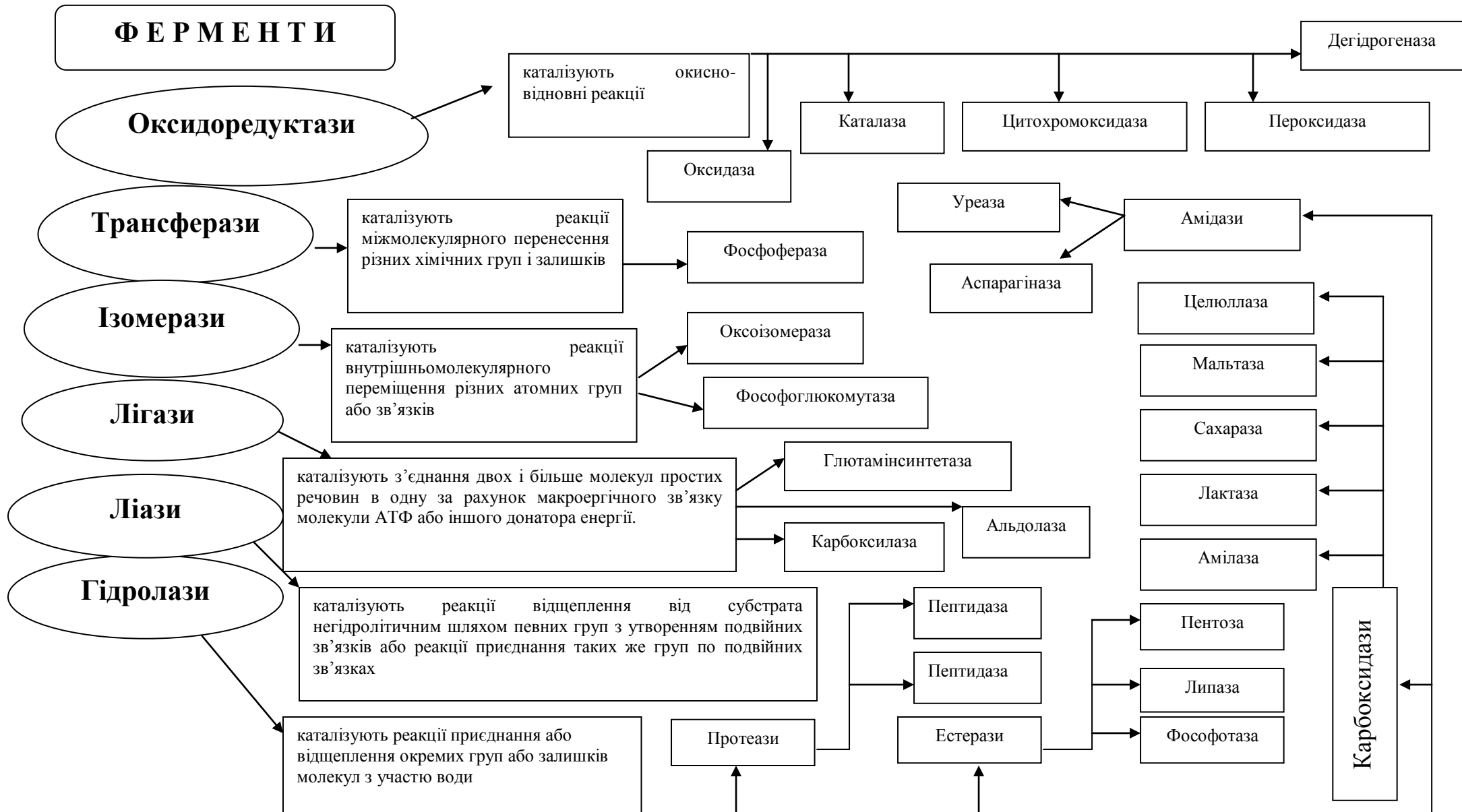
№п/п	Умова	РНК	ДНК
1	Вказати основні характеристики РНК і ДНК.		
2	Молекулярна маса: 25 000 100 000 1 000 000		
3	Локалізація в клітині: ядро мітохондрії цитоплазма рибосома апарат Гольджі Функції: перенесення амінокислот перенесення інформації на РНК перенесення інформації на білок		

Варіант 2

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

МОДУЛЬ №2

ЗМІСТОВНИЙ МОДУЛЬ №2 «ФЕРМЕНТИ»



Лабораторна робота №15

Тема: Загальні властивості ферментів.

Мета: Ознайомити студентів з основними властивостями ферментів.

Завдання:

1. Добути амілазу слини;
2. Здійснити гідроліз крохмалю під дією амілази слини;
3. Оцінити вплив температури на активність амілази;
4. Оцінити вплив рН середовища на активність 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.

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 кожну 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:
 $АТФ + глюкоза \rightarrow АДФ + глюкозо-6-фосфат$. Скласти схему реакцій.
5. Фермент уреаза гідролізує сечовину, утворюючи CO_2 і NH_3 . Скласти схему реакції.

Лабораторна робота № 16

Тема: Активність окремих ферментів.

Мета: Ознайомити студентів з активністю окремих ферментів.

Завдання:

1. Оцінити специфічність дії сахарози;
2. Провести кількісне визначення активності каталази в крові;
3. Оцінити вплив прозерину на гідроліз ацетилхоліну холінестеразою;
4. Оцінити дію ферменту пепсину;
5. Оцінити дію ферменту ліпази;
6. Провести кількісне визначення активності пептидаз панкреатину.

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.

Дослід 1. Специфічність дії сахарози.

Принцип. Сахароза каналізує 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 крохмалу; 1%-вий розчин сахарози; 10%-вий розчин NaOH; 1%-вий розчин CuSO₄, реактив Люголя; дистильована вода.

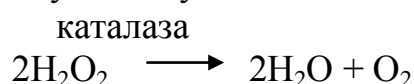
Хід роботи. Готують 2 інкубаційні проби, як вказано в таблиці, використовуючи як субстрат для сахарози 2 речовини – крохмал і сахарозу. Проби витримують в термостаті 15 хв. при 37⁰ С. Потім з другою пробю виконують 2 реакції: Троммера і реакція з йодом. З першою пробю виконують реакцію Троммера.

Таблиця 7

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

Дослід 2. Кількісне визначення активності каталази в крові.

Принцип. Каталаза – фермент класу оксидоредуктаз, який каталізує розщеплення гідрогену пероксиду на воду і кисень:



Метод базується на визначенні кількості гідрогену пероксиду, перетвореного ферментом за певний проміжок часу. Гідроген пероксиду розкладається каталазою, а його надлишок відтитровують за присутності сульфатної кислоти:



Устаткування та реактиви: розведена 1:1000 кров, дистильована вода, 1% розчин H₂O₂, 10% розчин сульфатної кислоти, 0,1 н розчин КмнО₄, колбочки, піпетки, бюретка.

Хід роботи. Розведену кров 1:1000 наливають по 1 мл у дві колбочки, додають по 7 мл дистильованої воли, в дослідну пробу додають 2 мл 1% H_2O_2 , а в контрольну – 5 мл 10% розчину сульфатної кислоти. Дія каталази в кислому середовищі припиняється (у контрольній пробі), так як вона діє при рН 7,4. Колбочки залишають на 30 хв. при кімнатній температурі. Потім до дослідної проби додають 5 мл 10% розчину H_2SO_4 , а в контрольну – 2 мл 1% р-ну H_2O_2 . Вміст колбочок титрують 0,1н р-ном KMnO_4 до рожевого забарвлення.

Каталазне число (Кч) розраховують за формулою:

$$\text{Кч} = (\text{A} - \text{B}) \times 1,7$$

A – кількість мл 0,1 н р-ну KMnO_4 , яка пішла на титрування контрольної проби;

B – кількість в мл 0,1 н р-ну KMnO_4 , яка пішла на титрування дослідної проби.

У нормі каталазне число становить 10-15 одиниць.

Примітка. 1 г-екв H_2O_2 дорівнює 17 г-а, а в 1 мл 0,1 н розчину міститься 1,7 мг H_2O_2 . Оскільки 1мл 0,1н розчину KMnO_4 еквівалентний 1мл 0,1н H_2O_2 . Перемножуючи 1,7 на різницю між кількістю мілілітрів 0,1 н розчину KMnO_4 , що пішла на титрування контрольної та дослідної проб, отримують кількість міліграмів H_2O_2 , яка розкладається 1 мкл досліджуваної крові, тобто каталазне число.

Дослід 3. Відкриття дії ферменту пепсину.

Принцип. Протеолітичну активність пепсину можна спостерігати, додавши до його підкисленого розчину невелику кількість фібрину. Фібрин, нерозчинний у воді, під дією пепсину гідролізується до розчинених пептидів, що підтверджується біуретовою реакцією.

Хід роботи. У три пробірки наливають по 1 мл 0,2% розчину пепсину в 0,2% розчині хлоридної кислоти. В другу пробірку додають 10% розчин натрій карбонату до лужної реакції середовища на лакмус, а вміст третьої пробірки кип'ятять 1-2 хвилини, потім охолоджують. У кожену пробірку додають маленький шматочок фібрину (величиною з просяне зернятко), пробірки ставлять у термостат на 30 хвилин при температурі 38о-40°С. Після цього відзначають зміни, які пройшли з фібрином (його розчинення). Потім проводять з вмістом кожної пробірки біуретову реакцію, попередньо підлуживши вміст першої пробірки. Відзначають результати.

Дослід 4. Відкриття дії ферменту ліпази.

Принцип. Ліпазу можна виявити, додавши розчин ферменту до молока, підлуженого розчином натрій карбонату до блідо-рожевого кольору по фенолфталеїну. В присутності ліпази проходить гідролітичне розщеплення жиру молока на гліцерин та жирні кислоти, реакція середовища зсувається у кислу 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 38°С на 30 хвилин. Спостерігають зміну забарвлення.

Дослід 5. Кількісне визначення активності пептидаз панкреатину

Принцип. Метод ґрунтується на здатності пептидаз гідролізувати пептидні зв'язки, що призводить до зростання кількості вільних аміно- та карбоксильних груп. Після блокування аміногруп формаліном карбоксильні групи підвищують кислотність середовища, приріст якого визначають шляхом титрування лугом за методом Зеренсена в присутності індикатора фенолфталеїну.

Хід роботи. У дві пробірки додають по 5мл 6% розчину казеїну і по 2мл фосфатного буфера з рН 7,6. В одну з пробірок додають 0,5г панкреатину, старанно перемішують і ставлять в термостат при температурі 37° С разом з контрольною пробіркою. Через 30 хв. пробірки виймають з бані, охолоджують. Їх вміст переливають у колбочки для титрування. Додають у кожную по 2-3 краплі фенолфталеїну і підлужують з піпетки 0,2М розчином натрій гідроксиду до утворення слабкорожевого забарвлення (рН 8,3).

За такої рН кількість аміногруп у розчині дорівнює кількості карбоксильних груп. Далі в обидві колбочки додають по 5 мл формолової суміші (рН 8,3).

Формалін зв'язує аміногрупи, а карбоксильні групи зсувають значення рН розчину до кислих значень. Розчин знебарвлюється. Обидві проби титрують з бюретки 0,02М розчином натрію гідроксиду до утворення слабкорожевого забарвлення (рН 8,3) і додають ще декілька крапель 0,02М розчину натрій гідроксиду до утворення яскраво-червоного кольору (рН 9.1.).

Розрахунок. Вираховують різницю між даними титрування досліджуваного і контрольного розчинів. Активність пептидаз виражають в умовних одиницях. Одна умовна одиниця відповідає 1 мл 0,02М розчину натрій гідроксиду, використаного на титрування дослідної проби.

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:
Фруктозо-1-фосфат + АТФ → фруктозо-1,6-дифосфат + 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

Модуль №2

Змістовний модуль №2 «Ферменти»

Варіант № 1

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

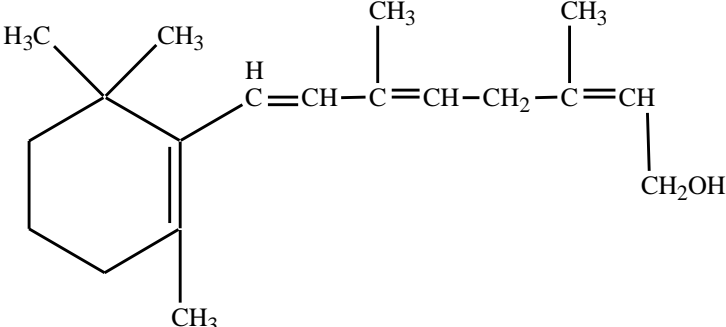
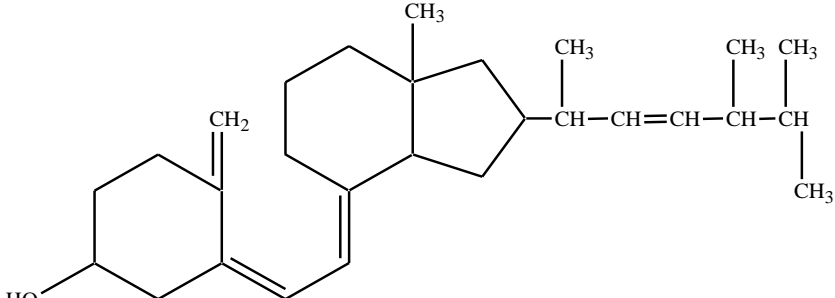
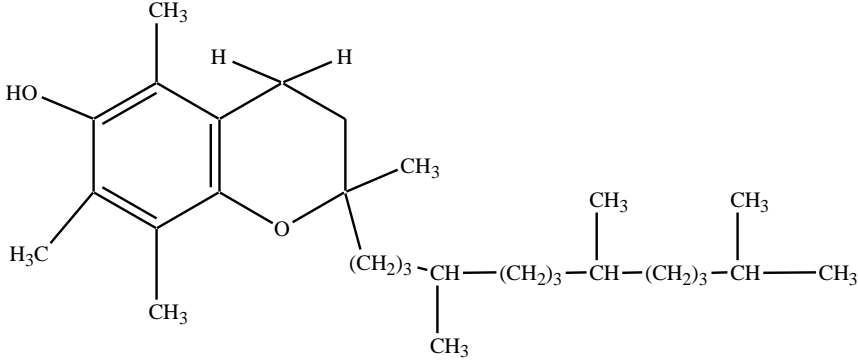
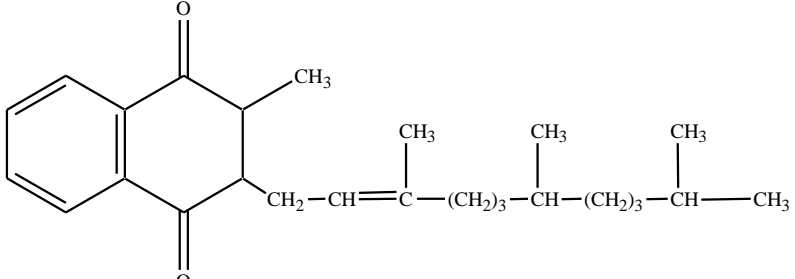
назву класу: номер класу:

а) трансферази; 1) 1;

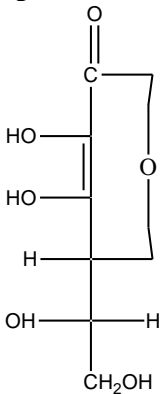
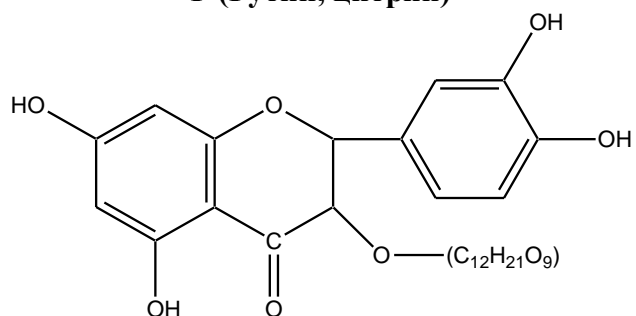
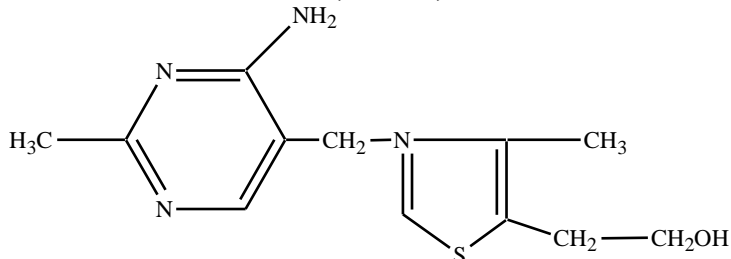
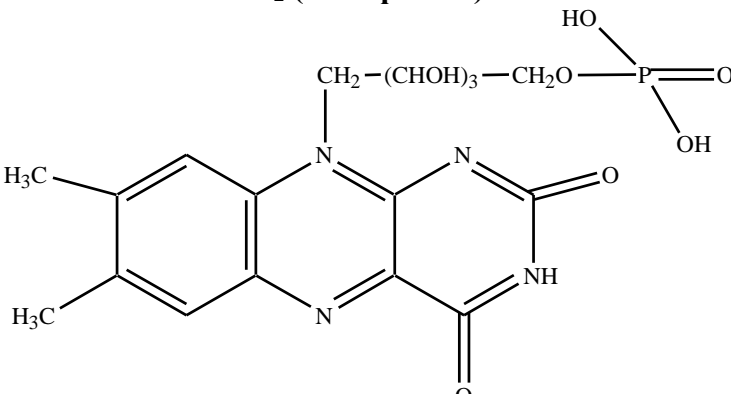
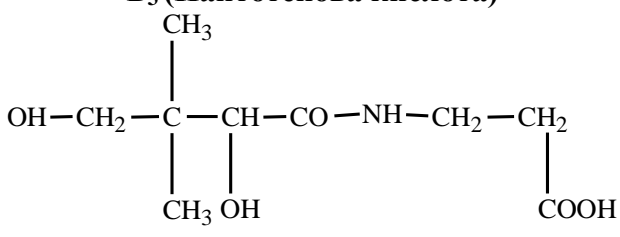
б) гідролази; 2) 2;

в) оксидоредуктаз; 3) 3

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;">B₅ (PP – нікотинова кислота)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <chem>NC(=O)c1cccnc1</chem> </div> <div style="text-align: center;"> <chem>OC(=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;">B₆ (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)c1N</chem> </div> <div style="text-align: center;"> <chem>Cc1c(O)c(CN)cc(COP(=O)(O)O)c1N</chem> </div> </div>	<p>Стимулює білковий обмін та кровотворні процеси</p>	<p>Епілептоформні судоми, хейлоз, глосит, симетричний дерматит</p>
<p style="text-align: center;">B₁₂ (Ціанкобаламін)</p> <p>Це єдиний металовмісний вітамін, до складу якого входить кобальт. Молекула вітаміну B₁₂ 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;">B₉ (B₁₀, B₁₁ – фолієва кислота)</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <chem>Nc1nc2c(ncn2C)nc(O)c1</chem> </div> <div style="text-align: center;"> <chem>OC(=O)CCNC(=O)c1ccc(NCC2=NC=NC=C2)cc1</chem> </div> </div>	<p>Стимулює еритропоез, забезпечує синтез холіну</p>	<p>Макроцитарна мегабластична анемія</p>
<p style="text-align: center;">H (Біотин)</p> <div style="text-align: center;"> <chem>CCCCCCCC(=O)NC1CCNC1S</chem> </div>	<p>Стимулює білковий та ліпідний обмін</p>	<p>Себорейний дерматит, м'язова слабкість, атрофія сосочків язика</p>

Лабораторна робота №17

Тема: Якісні реакції на вітаміни.

Мета: Ознайомити студентів з основними якісними реакціями на вітаміни.

Завдання:

1. Здійснити основні якісні реакції на вітаміни А, В₁, В₂, В₆, РР.

Теоретичні відомості

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

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 феруму хлоридом?
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 № 18

Тема: Вітамін С та аскорбінова кислота.

Мета: Ознайомити студентів із способами кількісного визначення вітаміну С.

Завдання:

1. Навчитися готувати екстракт з рослинного матеріалу;
2. Навчитися визначати вміст вітаміну С в екстракті;
3. Здійснити кількісне визначення вітаміну С.

Теоретичні відомості

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.

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 метафосфорної кислоти до одержання рідкої кашки. Суміш кількісно переносять у мірну колбу на 100 мл. Ступку і маточку ретельно обмивають 4%-ним розчином метафосфорної кислоти, зливають у ту ж мірну колбу, стежачи за тим, щоб були витрачені всі 50 мл метафосфорної кислоти (кінцева концентрація її повинна бути 2%; у випадку відсутності метафосфорної кислоти її замінюють 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.), піпетки 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), пероксид 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 №19

Тема: Методи якісного визначення жиророзчинних та водорозчинних вітамінів

Мета: Ознайомити студентів з методами якісного визначення вітамінів.

Завдання:

1. Здійснити реакцію на виявлення вітаміну Е;
2. Здійснити реакцію на виявлення вікасолу (вітаміну К);
3. Здійснити реакцію на виявлення вітаміну С двома способами.

Теоретичні відомості

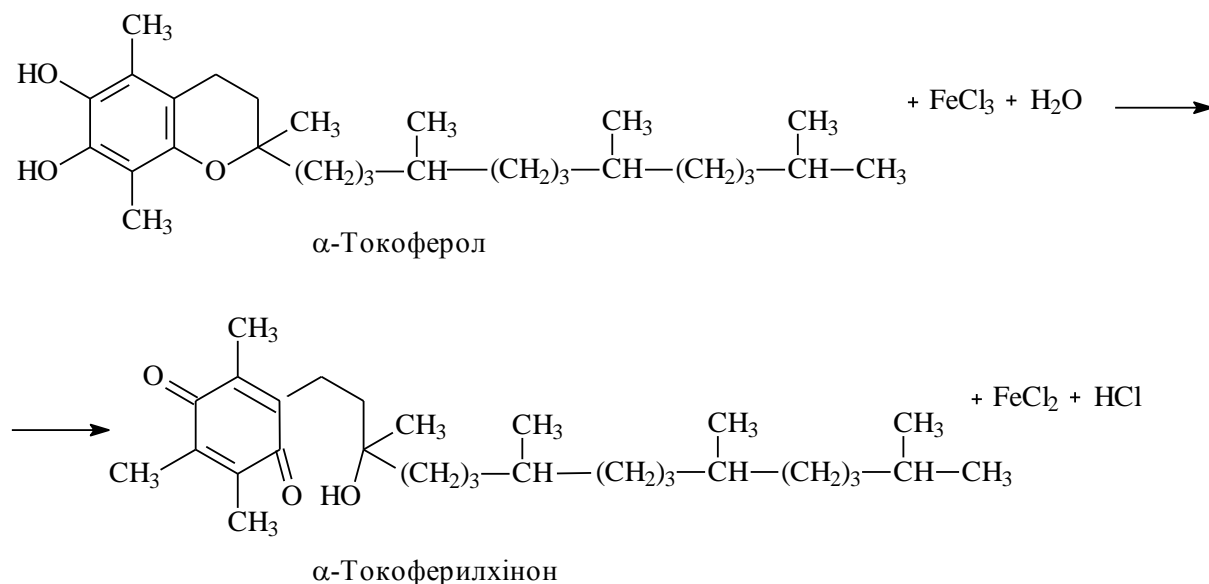
1. Вітаміноподібні жиророзчинні речовини, їх біологічне значення.
2. Жиророзчинні вітаміни як фармацевтичні препарати.
3. Будова і властивості вітамінів B_1 та біотину. Їх участь в обміні речовин, джерела, добова потреба, антивітаміни.
4. Будова, властивості вітамінів РР та пантотенової кислоти. Їх участь 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.

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

Принцип. Спиртовий розчин α -токоферолу окиснюється феруму хлоридом до токоферилхінону червоного кольору.

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

Хід роботи. В 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 2. Реакція з цистеїном на вікасол.

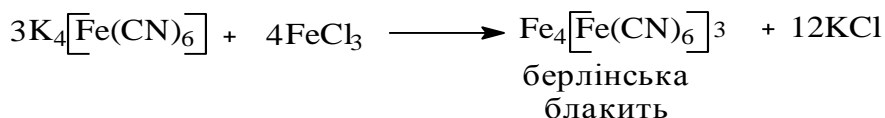
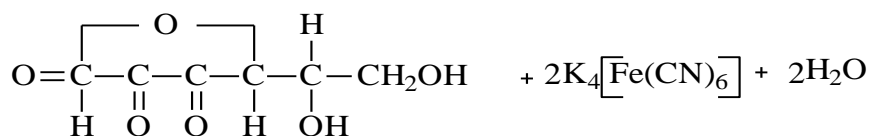
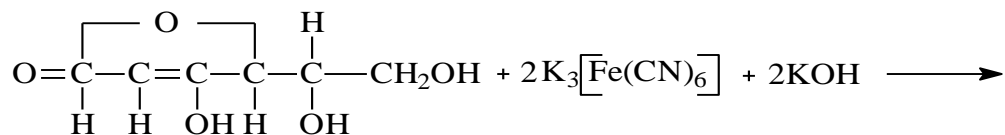
Принцип. Розчин вікасолу в лужному середовищі у присутності цистеїну забарвлюється в лимонно – жовтий колір.

Устаткування та реактиви: 0,05% розчин вікасолу, 0,025% розчин цистеїну (зберігають у холодильнику), 20% розчин їдкого натрію, пробірки, піпетки.

Хід роботи. У пробірку наливають 5-10 крапель 0,05% спиртового розчину вікасолу і додають 5-10 крапель 0,025% розчину цистеїну і 2,5 мл розчину їдкого натрію. Спостерігають розвиток лимонно-жовтого кольору.

Дослід 3. Відновлення калію фериціаніду аскорбіновою кислотою.

Принцип. Аскорбінова кислота відновлює $K_3Fe(CN)_6$ до $K_4Fe(CN)_6$. Остання, реагуючи з $FeCl_3$, утворює берлінську блакить – сполуку синього кольору.



Устаткування та реактиви: 5% розчин $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, 1% FeCl_3 , 1% витяжка з шипшини, дистильована вода, пробірки.

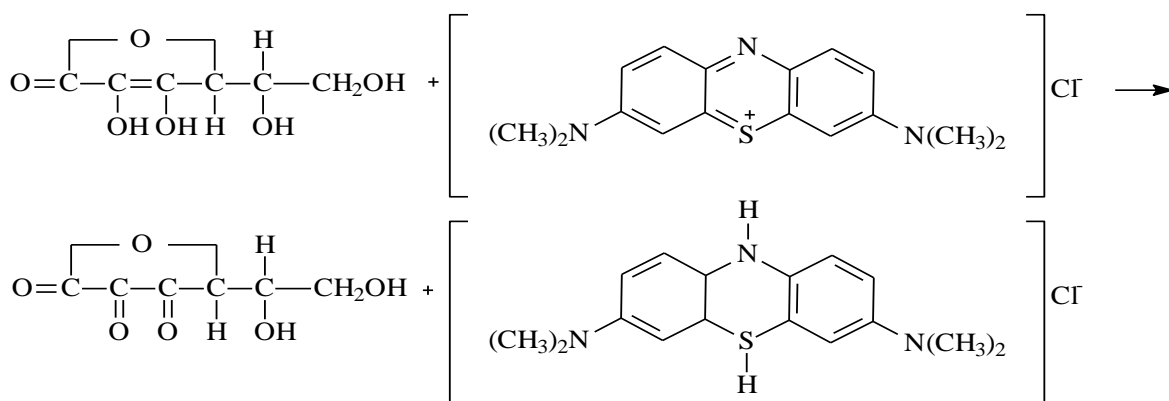
Хід роботи. У дві пробірки додають по одній краплі 5% розчину калію фериціаніду і 1% розчину феруму хлориду. В одну з пробірок до зелено-бурої рідини, яка утворилася, додають 5-10 крапель 1% витяжки з шипшини, в другу – 5-10 крапель дистильованої води. Рідина в першій пробірці забарвлюється в зелено-синій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

Модуль 2

Змістовний модуль 2 «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) злоякісне 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 виникав 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
<p>Вказати найбільш характерні ознаки наступних гіповітамінозів</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Вітамін РР 2. Вітамін В₂ 3. Вітамін В₃ 4. Вітамін С 5. Вітамін В₁₂ 6. Вітамін В₆ 7. Вітамін Н 	<ol style="list-style-type: none"> А. Дерматит Б. Тахікардія В. Порушення ЦНС Г. Діарея Д. Втрата апетиту Е. Анемія Є. Алопеція Ж. Глосит, гінгівіт З. Кровоточивість ясен, судин. И. Атрофія м'язів

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 гідроксилування?

- 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. Заболевання 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?

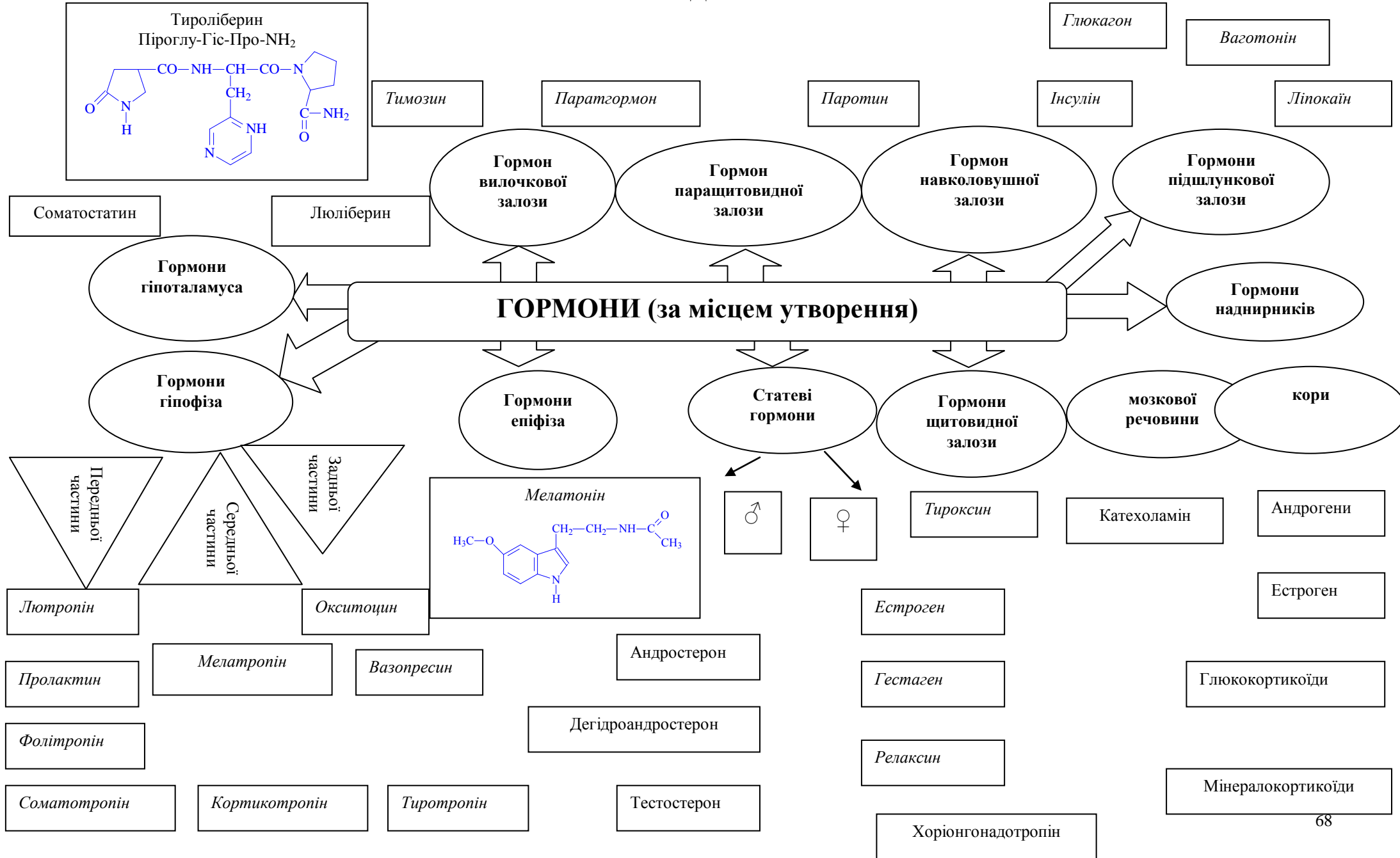
11.

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. Остеомаляція 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 ?

- A. Реакція з нітратною кислотою
- B. Реакція з феруму хлоридом
- C. Реакція з дихлорфенол-індофенолом
- D. Реакція із феруму сульфатом
- E. Біуретова реакція

МОДУЛЬ №2
ЗМІСТОВНИЙ МОДУЛЬ №3 «ГОРМОНИ»



Лабораторна робота №20

Тема: Реакції на гормони виконавці

Мета: Ознайомити студентів з основними реакціями на гормони виконавці.

Завдання:

1. Провести реакції на адреналін;
2. Провести якісну реакцію на тироксин (відкриття йоду в гідролізаті тиреоїдину).

Теоретичні відомості

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.

Дослід 1. Реакція з ферум(III)хлоридом.

Принцип. Характерна для пірокатехінового ядра, що входить до складу адреналіну.

Хід роботи. В пробірку вносять 4 краплі розчину адреналіну і 1 краплю 1% розчину ферум(III)хлориду. Виникає зелене забарвлення.

Дослід 2. Діазореакція на адреналін.

Принцип. Адреналін легко окиснюється на повітрі з утворенням адренохрому, який дає забарвлення з феруму хлоридом та червоне – з діазореактивом.

Хід роботи. В пробірку вливають 3 краплі 1% розчину сульфанілової кислоти, 3 краплі 10% розчину натрію нітрату, 5 крапель 0,1%-го розчину адреналіну і 3 краплі 10% розчину натрію карбонату. Рідина забарвлюється в червоний колір.

Дослід 3. 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.



2. I_2 + крохмаль = синє забарвлення

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 №21

Тема: Якісні реакції на гормон підшлункової залози

Мета: Ознайомити студентів з основними якісними реакціями на інсулін

Завдання:

1. Здійснити біуретову реакцію на інсулін
2. Здійснити реакцію Фоля
3. Здійснити реакцію Мілона

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.

Дослід 1. Біуретова реакція.

Принцип. Інсулін є простим білком і дає характерні кольорові реакції на білок.

Хід роботи. До 5 крапель розчину інсуліну додають 5 крапель 5%-го розчину натрію гідроксиду і 1 краплю 1% розчину купруму 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 сульфідіду.

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 №22

Тема: Якісні реакції на стероїдні гормони.

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

Завдання:

1. Здійснити реакцію на фенольну групу естролю;
2. Здійснити реакцію на 17-кетогрупу естролю і на 17-кетостероїди, які містяться в сечі.

Теоретична частина

1. Гормони гіпоталамусу і шишковидної залози. Ліберини та статини гіпоталамусу.
2. Стероїдні гормони: номенклатура, класифікація. Схема генезу стероїдних гормонів з холестеролу.
3. Стероїдні гормони кори наднирників (C₂₁-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 (C₁₈-стероїди), прогестерон (C₂₁-стероїди); фізіологічні та біохімічні ефекти; зв'язок з фазами менструального циклу; регуляція синтезу та секреції.
8. Чоловічі статеві гормони (андрогени) - тестостерон, дигідротестостерон (C₁₉-стероїди); фізіологічні та біохімічні ефекти, регуляція синтезу та секреції.

Дослід 1. Реакція на фенольну групу естрогену.

Принцип. При взаємодії естрогену та сірчаної кислоти утворюється з'єднання солом'яно-жовтого кольору, яка при нагріванні стає помаранчевим.

Хід роботи. Для приготування спиртового розчину фолікуліну (естрогену) вміст 5 ампул 0,1%-го олійного розчину фолікуліну для ін'єкцій виливають у ділильну лійку, що містить 50 мл. етанолу. Воронку встряхують і після розшарування фаз нижній масляний шар відкидають, а для дослідження використовують верхній – спиртовий розчин. У суху пробірку вносять 5 крапель спиртового розчину фолікуліну і поміщають її на 5 хв. у киплячу водяну баню (для випаровування спирту). Додають у пробірку 1 мл. концентрованої сірчаної кислоти і знову ставлять її на 5-10 хв. у киплячу водяну баню. Спостерігають за зміною забарвлення вмісту пробірки.

Дослід 2. Реакція на 17-кетогрупу естрогену 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 отримувал 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
Модуль 2
Змістовний модуль 3 «Гормони»

Варіант №1

№ п/п	Умова	Варіанти відповідей
1. 2. 3. 4.	Вказати характерні порушення при дисфункції щитовидної та паращитовидної залоз:	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 нервових клітин И. Самовільні переломи кісток І. Кальцифікація судин. Ї. 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

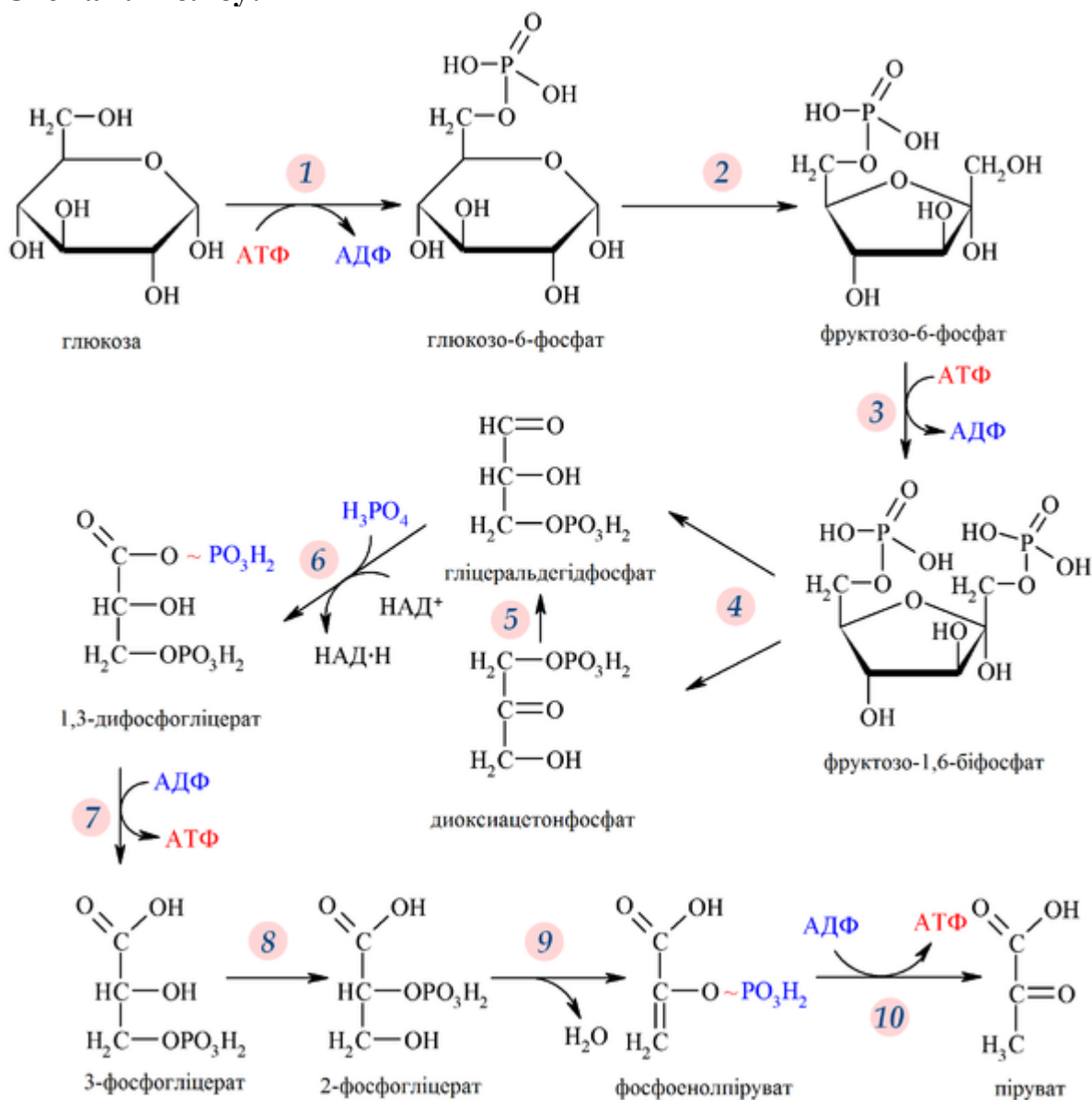
№ п/п	Умова	Варіанти відповідей
1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10.	Вказати класифікацію перелічених гормонів:	А. Похідні амінокислот Б. Пептиди В. Прості білки Г. Складні білки Д. Стероїди

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

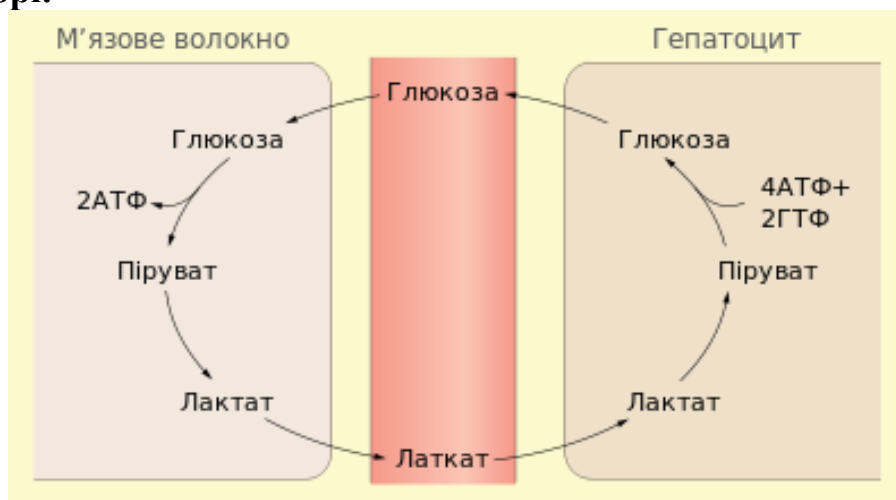
- А. Соматоліберин
 В. Соматотропний гормон
 С. Глюкагон
 Д. Соматостатин
 Е. ЦНС

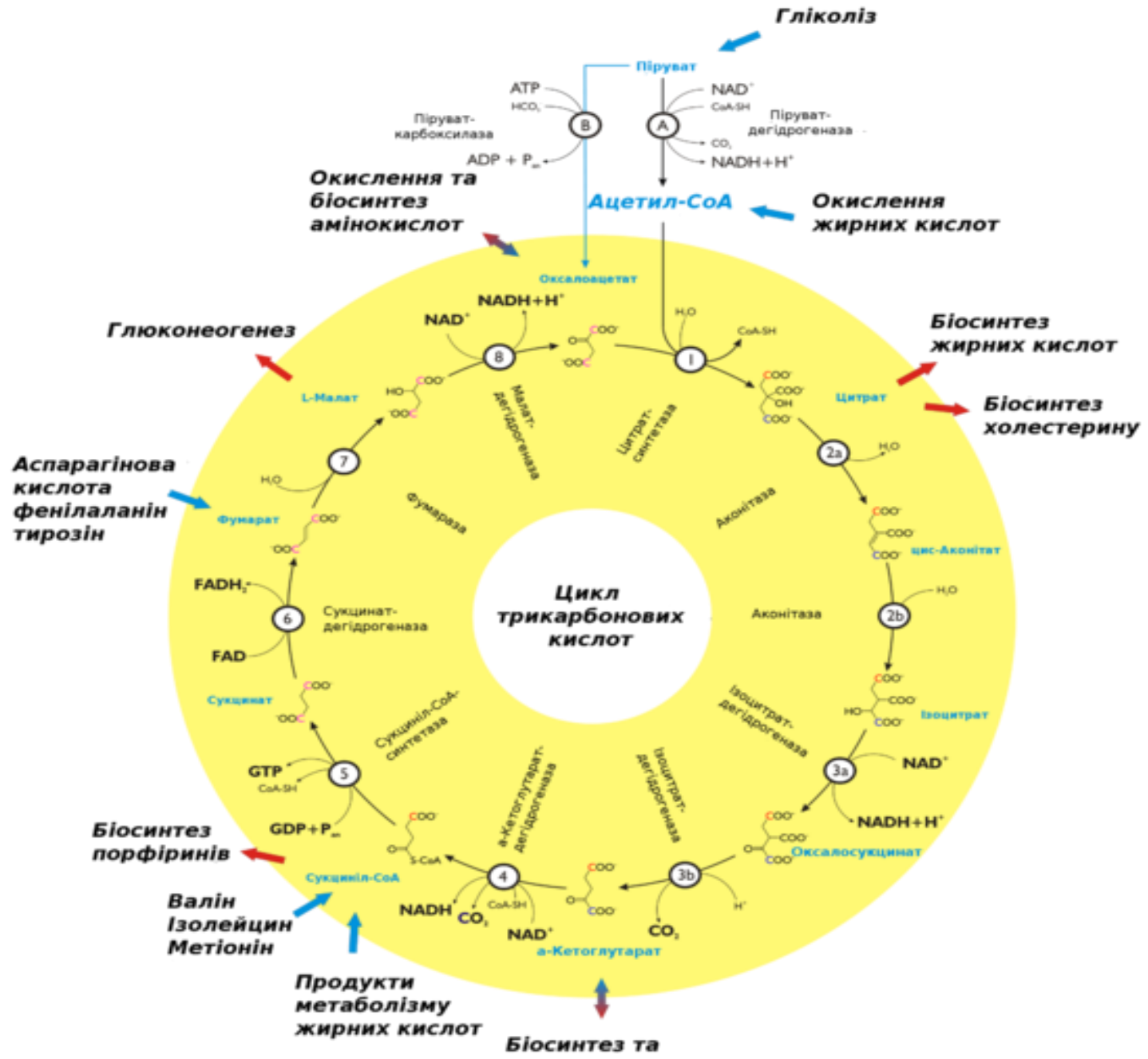
Модуль 2 Змістовний модуль 4 «Обмін речовин і енергії»

Схема гліколізу:



Цикл Корі:





T

Лабораторна робота №23

Тема: Визначення молочної кислоти реактивом Уффельмана.

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

Завдання:

1. Здійснити реакцію визначення молочної кислоти у м'язах.

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 ефектори і гормони, що впливають на ці процеси.

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 кожна 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, амیلотичні ферменти, фосфороліз, апотомічний і дихотомічний шляхи окиснення.

Лабораторна робота №24

Тема: Визначення сечовини в біологічних рідинах.

Мета: Навчитися визначати вміст сечовини в сироватці крові.

Завдання:

1. Освоїти принцип визначення вмісту сечовини в сироватці крові.

Теоретична частина

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

Дослід 1. Визначення сечовини в сироватці крові.

Принцип: Сечовина утворює з діацетилмонооксимом, у присутності іонів Fe^{3+} і тіосемикарбазиду, 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 тіосемикарбазиду. 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:

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 густина 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 перемножити 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.

ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Біохімія: Тестовий контроль знань: Навч. пос. / Кучеренко М.Є., Пащенко О.Ю. та ін. – К.: Либідь, 1995. – 344с.
2. Босчко Ф.Ф. Біологічна хімія: Навч. пос. 2-ге видання, перероб. і доповн. – К.: Вища школа., 1995. – 536с.
3. Кучеренко М.Є., та ін. Біохімія. Програмований контроль знань із застосуванням ЕОМ. – К.: Либідь, 1993. – 203с.
4. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. – М.: Просвещение. 1987. – 815с.
5. Основы биохимии / Под ред. А.А. Анисимова. – М.: Высш. школа, 1986. – 547с.
6. Тейлор Г. Основы органической химии для студентов нехимических специальностей: пер. с англ. – М.: Мир. – 1989. – 384с.
7. Филиппович Ю.Б. и др. Практикум по общей биохимии. – М.: Просвещение, 1982. – 318с.
8. Филиппович Ю.Б. Основы биохимии. – М.: Высш. школа, 1985. – 503с.
9. Филиппович Ю.Б., Севастьянова Г.А., Щеголева Л.И. Упражнения и задачи по биологической химии. – М.: Просвещение, 1986. – 151с.

Додаткова:

1. Афонский С.И. Биохимия животных. – М.: Высшая школа, 1970. – 612 с.
2. Ашмарин И.П. Молекулярная биология. – Ленинград: Медицина, 1974. – 360 с.
3. Биохимия гормонов и гормональной регуляции / Под ред. Н.А. Юдаева. – М.: Наука, 1976. – 360 с.
4. Бреслер С.Е. Молекулярная биология. – Ленинград: Наука, 1973. – 578 с.
5. Венкстерн Т.Б. Первичная структура транспортных рибонуклеиновых кислот. – М.: Наука, 1970. – 180 с.
6. Витамины. Под общей редакцией М.И. Смирнова. – М.: Знание, 1984.
7. Гофман Э. Динамическая биохимия / Пер. с нем. А.И. Арчакова.. – М.: Медицина, 1971. – 310 с.
8. Диксон М., Уэбб Э. Ферменты. – М.: Мир, 1985. – Т. 1, 2, 3.
9. Добрынина В.И. Биологическая химия. – М.: Медицина, 1976. – 504 с.
10. Дудкин М.С. Введение в химию углеводов. – Киев: Вища школа, 1976. – 176 с.
11. Дэвидсон Дж. Биохимия нуклеиновых кислот. – М.: Мир, 1976. – 412 с.
12. Дэгли С., Никольсон Д. Метаболические пути. – М.: Мир, 1973. – 312 с.
13. Жеребцов П.И., Солнцев А.И., Вракин В.Ф. Обмен и биосинтез белков. – М.: Колос, 1968. – 160 с.
14. Збарский Б.И., Иванов И.И., Мардашев С.Р. Биологическая химия. – Л.: Медицина, 1972. – 584 с.
15. Ингрэм В. Биосинтез макромолекул. – М.: Мир, 1968. – 274 с.
16. Клегг П., Клегг А. Гормоны, клетки, организм. – М.: Мир, 1971. – 280 с.
17. Клотц И. Вода. Горизонты биохимии. – М.: Мир, 1964. – 456 с.

18. Коломийцева М.Г., Габович Р.Д. Микроэлементы в медицине. – М.: Медицина, 1970. – 288 с.
19. Кононський О.І. Біохімія тварин. – К.: Вища школа, 1994. – 439с.
20. Корнберг А. Синтез ДНК. – М.: Мир, 1977. – 360 с.
21. Кретович В.Л. Основы биохимии растений. – М.: Высшая школа, 1973. – 464 с.
22. Кучеренко М.Є. Біохімія нуклеїнових кислот. – К.: Вища школа, 1976. – 328 с.
23. Кучеренко Н.Е., Войницкий В.М. Биоэнергетика. – К.: Вища школа, 1982. – 269с.
24. Ларский Э.Г. Методы зонального электрофореза. – М.: Медицина, 1971. – 112 с.
25. Ленінджер А. Основы біохімії: В 3т. – М.: Мир, 1985. – Т. 1 – 3.
26. Малер Г., Кордес Ю. Основы биологической химии. – М.: Мир, 1970. – 568с.
27. Марри Р., Греннер Д., Мейес П., Родуэлл В. Биохимия человека: в 2 томах (пер. с англ.). – М.: Мир, 1993. – 799с.
28. Меньшиков В.В. Методические указания по применению унифицированных клинических лабораторных методов исследований. – М.: Медицина, 1973. – 180 с.
29. Молекулярная биология клетки: в 5 т. / Альбертс Б., Хорст А., Моррей М. и др. – М.: Мир, 1986. – Т. 1 – 5.
30. Молекулярные основы биосинтеза белков. – М.: Наука, 1989.
31. Певзнер Л. Основы биоэнергетики. – М.: Мир, 1990.
32. Савронь Е.С. Биохимия животных. – М.: Высшая школа, 1966. – 504 с.
33. Современные методы в биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.
34. Сопін Є.Ф., Виноградова Р.П. Основы біохімічних методів дослідження. – К.: Вища школа, 1975. – 244 с.
35. Справочник биохимика (Досон Р., Эллиот Д., Эллиот У., Джонс К.) / Пер. с англ. – М.: Мир, 1991. – 544с.
36. Степаненко Б.Н. Современные проблемы биохимии углеводов. – М.: Наука, 1979. – 55 с.
37. Строев В. Основы биохимии. – М.: Медицина, 1986. – С. 4 – 9.
38. Тютюнников Б.Н. Химия жиров. – М.: Пищ. пром-сть, 1966. – 632 с.
39. Уильямс Б., Уилсон К. Методы практической биохимии. – М.: Мир, 1978. – 270 с.
40. Фердман Д.Л. Биохимия. – М.: Высшая школа, 1966. – 644 с.
41. Чернявина И.А. Физиология и биохимия микроэлементов. – М.: Высшая школа, 1970. – 312 с.
42. Шамин А.Н. Химический синтез белка. – М.: Наука, 1969. – 116 с.
43. Шапвиль Ф., Энни А.Л. Биосинтез белка. – М.: Мир, 1977. – 316 с.
44. Шульц Г., Ширмер Т. Принципы структурной организации белков. – М.: Мир, 1980.