

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

Факультет агротехнологій

Кафедра ґрунтознавства та агрохімії

БІОЛОГІЧНА, ФІЗИЧНА І КОЛОЇДНА ХІМІЯ

методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт для
здобувачів вищої освіти ступеня «бакалавр» спеціальності 204
«ТВППТ» денної форми навчання

**МИКОЛАЇВ
2017**

УДК 577.1:544.77
Б63

Друкується за рішенням науково-методичної комісії агрономічного факультету Миколаївського національного аграрного університету від 27.04.2017 р., протокол № 8.

Укладач:

О. А. Бабич – асистент кафедри ґрунтознавства та агрохімії, Миколаївський національний аграрний університет.

Рецензенти:

О. І. Юлевич – кандидат технічних наук, доцент кафедри генетики, годівлі тварин та біотехнології, Миколаївський національний аграрний університет.

Г. М. Ющишина – кандидат хімічних наук, доцент кафедри хімії та біохімії, Миколаївський національний університет ім. В. О. Сухомлинського.

ВСТУП

Біохімія може бути визначена як хімія живих об'єктів (клітин і організмів). Живі об'єкти відрізняються від неживих своєю здатністю до метаболізму і відтворення (з передачею генетичної інформації). При цьому живі істоти являють собою складову частину природи і підкоряються всім основним її законам, таким як закон збереження маси та енергії, основним законам термодинаміки.

Живі об'єкти є відкритими системами, а це означає, що вони приймають участь в обміні речовин і енергії з довкіллям. Цей обмін здійснюється за допомогою субстратів (джерел вільної енергії) і надходженням зовні інформації, що приводить до зниження ентропії і підвищення рівня організації живих істот.

Біохімічні реакції перебігають порівняно з іншими у вузьких інтервалах фізичних і хімічних параметрів. Крім обмеження температури і тиску це стосується і концентрації (активності) іонів, рН середовища.

Біохімічні реакції можуть проходити при дотриманні визначених енергетичних обмежень. Більшу частину енергії живі системи отримують за рахунок окисно-відновних реакцій. Відбуваючись в організмі, ці реакції є або екзергонічними (перебігають спонтанно) або ендергонічними (потребують для здійснення зовнішніх джерел енергії).

Біохімічні реакції відбуваються зі швидкостями, що залежать від концентрації реагуючих молекул і констант швидкостей, характерних для даного типу реакцій. Ці швидкості можуть суттєво змінюватися за наявності каталізаторів (ферментів). Таким чином, біохімічні реакції в живих об'єктах контролюються різними шляхами.

У методичних розробках подано основні підходи щодо визначення головних біохімічних реакцій, що відбуваються в організмі при зміні зовнішніх фізико-хімічних параметрів.

При підготовці до занять здобувачам вищої освіти рекомендовано відпрацювати відповідний матеріал з підручника та лекційних занять, а потім відповісти на контрольні питання.

Після закінчення лабораторної роботи здобувач вищої освіти робить висновки з відповідними підрахунками, хімічними рівняннями, рисунками.

Лабораторні заняття з дисципліни «Біологічна, фізична і колоїдна хімія» проводяться відповідно до Європейської кредитно-

трансферної системи навчання студентів. Обсяг лабораторних занять з дисципліни – 48 годин, кредитів – 1,6.

ОЦІНЮВАННЯ ЗНАНЬ ЗДОБУВАЧІВ ВИЩОЇ ОСВІТИ З ДИСЦИПЛІНИ «БІОЛОГІЧНА, ФІЗИЧНА І КОЛОЇДНА ХІМІЯ»

Оцінювання лабораторної роботи студента складається з наступних етапів:

1. Перевірка теоретичних знань з теми лабораторної роботи (усно або письмово);
2. Виконання здобувачем вищої освіти лабораторних дослідів із послідовним фіксуванням результатів роботи (фотозйомка, замальовування, записи отриманих результатів до таблиць). Оформлення лабораторної роботи із використанням результатів отриманих на занятті з формулюванням повного висновку з теми;
3. Захист лабораторної роботи.

Кожен етап оцінюється за 5 бальною шкалою, виводиться середнє арифметичне із 3-х оцінок, яка і буде кінцевою для оцінювання знань з лабораторної роботи.

Модуль	Кількість ЛР в модулі	Загальна оцінка за ЛР	Кількість ЛР в модулі	Загальна оцінка за ЛР	Загальна сума балів	Дільник	15	МКР	Повна оцінка за модуль
I	4	20/12	4	20/12	40/24	2,66	15/9	5/3	20/12
II	10	50/30	4	20/12	70/42	4,66	15/9	5/3	20/12
III	10	50/30			50/30	3,33	15/9	5/3	20/12
Сума	24	120/72	8	40/24	160/98		45/27	15/9	60/36
Іспит									40/24
Оцінка									100/60

Курс складається з 3-х модулів із лабораторних і практичних робіт, за які здобувач вищої освіти може отримати максимум 5 і мінімум 3 бали (див. таблицю). Наприклад, здобувач вищої освіти за модуль 1 отримав 20 балів в сумі за лабораторні і 12 балів за практичні роботи. Загальна сума – 32 бали. Далі ця сума ділиться на спільний ДІЛЬНИК щоб перевести це значення в 15 бальну шкалу, в нашому випадку – $32 / 2,66(\text{I модуль}) = 12$ балів. Потім до цього значення додається результат модульної контрольної роботи №1, наприклад – 3 бали. Отже здобувач, в результаті отримує $12+3 = 15$ балів за I модуль. При завершенні курсу, якщо здобувач отримує не нижче 36 балів, студент складає іспит, за які отримує від 24 до 40 балів. Результат іспиту складається із набраними балами за практичний і лабораторний

курс і переходить в 100 бальну шкалу. Якщо здобувач вищої освіти отримує за лабораторний і практичний курс нижче 36 балів – він до іспиту не допускається і йде на повторний курс вивчення дисципліни. Якщо на іспиті здобувач отримує загальну оцінку нижче 60 балів – студент також йде на повторний курс вивчення дисципліни.

МОДУЛЬ I. ОСНОВИ ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1 ВПЛИВ РОЗЧИНІВ З РІЗНИМ ОСМОТИЧНИМ ТИСКОМ НА ЕРИТРОЦИТИ ТА РОСЛИННІ КЛІТИНИ

Дифузія в розчинах буває пряма і непряма. При непрямій дифузії частки розчиненої речовини та розчинника натрапляють на проникливу органічну перегородку, (наприклад, перегородку з колодію), і вільно проникають через неї. Але, якщо поміж чистим розчинником та розчином помістити напівпроникливу перепону, то через неї можуть проходити тільки молекули розчинника. Однобічна дифузія розчинника через напівпроникливу перегородку називається **осмосом**. Молекули розчинника при своєму русі, натрапляючи на напівпроникливу перепону, вільно проникають через неї, молекули розчиненої речовини перебувають у стані теплового руху, наштовхуються на напівпроникливу перегородку, ударяються об неї, утворюючи при цьому певний тиск. Такий тиск називається **осмотичним**. Осмотичний тиск складається з суми ударів, що припадають на певну площу напівпроникливої перепони за одиницю часу. Величина осмотичного тиску виражається в атмосферах або в міліметрах ртутного стовпчика.

Залежно від величини осмотичного тиску розчини поділяють на ізотонічні, гіпотонічні та гіпертонічні. В ізотонічних розчинах тваринні та рослинні клітини не підлягають фізичним змінам. У них проходить двобічний осмос розчинника, і клітини не підлягають ні набуханню, ні зморщуванню. В гіпотонічних розчинах розчинник осмотично всмоктується в клітини – відбувається ендосмос, який у рослинних клітинах викликає тургор, а у еритроцитів – гемоліз. Гемоліз є наслідком надмірного розтягування оболонок еритроцитів, через що зростає їх пористість і вміст еритроцитів переходить у навколишній розчин.

У гіпертонічних розчинах еритроцити та рослинні клітини підлягають екзосмосу, який призводить до зморщування клітин. Це явище дістало назву плазмолізу.

ХІД РОБОТИ:

1. У три пробірки наливають по 2 – 3 мл таких розчинів хлористого натрію: в пробірку № 1 – 10 процентний, в пробірку № 2 – 0,8 процентний, в пробірку № 3 – 0,1 процентний.

У кожен пробірку додають по 1 – 2 краплини цитратної крові.

Вміст кожної пробірки перемішують і відразу ж беруть скляною паличкою краплину вмісту з пробірки № 3 на предметне скло, накривають покривним склом і розглядають під мікроскопом при великому збільшенні. Коли дослід виконується швидко, то в полі зору мікроскопа можна побачити окремі еритроцити, які швидко збільшуються в об'ємі та поступово втрачають свої обриси в зв'язку з гемолізом.

Після спостереження за поведінкою еритроцитів у гіпотонічному розчині (0,1% процентний розчин хлористого натрію по відношенню до еритроцитів є гіпотонічним), спостерігають дію на еритроцити ізотонічного та гіпертонічного розчинів, для чого вміст пробірки № 1 та пробірки № 2 по краплині поміщують на предметне скло і розглядають під мікроскопом при великому збільшенні.

2. У три пробірки наливають по 2 – 3 мл розчинів хлористого натрію різної концентрації, як і в попередньому досліді. В кожен з пробірок поміщують по невеликому шматочку тонкої плівки цибулі, відпрепарованого препарувальною голкою. За 10 хвилин після розміщення плівок цибулі в розчинах з різним осмотичним тиском, їх витягують, поміщують на предметне скло, накривають покривним склом і розглядають під мікроскопом при великому збільшенні.

Розглянуті під мікроскопом зміни еритроцитів та рослинних клітин під впливом розчинів хлористого натрію з різною концентрацією, а отже і з різним осмотичним тиском, намалювати в зошиті, вказати характер змін.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Що таке осмос, осмотичний тиск?
2. Яким рівнянням описується осмос? Від чого він залежить?
3. Які розчини називають ізотонічними, гіпертонічними, гіпотонічними?
4. Яке значення має осмотичний тиск для життя?
5. Який осмотичний тиск має розчин, у 1 літрі якого вміщується 0,2 моль неелектроліту за 17⁰С?

6. Розрахувати осмотичний тиск розчину, що містить в 1 літрі 3,1 г аніліну $C_6H_5NH_2$. Температура розчину $21^{\circ}C$.

7. Визначити молекулярну масу манніту, якщо відомо, що осмотичний тиск розчину, що містить у 250 мл 9 г манніту дорівнює 4,5 атм за $0^{\circ}C$.

8. Розрахуйте за $17^{\circ}C$ осмотичний тиск 0,24 М розчину нітрату амонію.

9. Що таке онкотичний тиск розчинів?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №2 рН-МЕТРІЯ ПИТНИХ ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ

рН, Водневий показник — величина, що показує міру активності іонів водню (H^+) в розчині, тобто ступінь кислотності або лужності цього розчину. Для розведених розчинів можна користуватись терміном «концентрація» замість «активність» у цьому визначенні. рН нейтрального розчину становить 7, розчини із більшим значенням водневого показника є лужними, із меншими — кислими.

Загальну концепцію виміру кислотності розчину за допомогою рН сформулював С. П. Соренсен (Sørensen) в 1909 р.

рН обчислюється як від'ємний десятковий логарифм активності іонів H^+ (або, точніше, для водних розчинів — іонів гідроксонію $[H_3O^+]$) і є безрозмірною величиною:

$$pH = - \lg [H^+]$$

Отже для нейтральних розчинів значення рН рівне 7, для лужних — більше 7, для кислих — менше. Із значення рН можна розрахувати рОН[1]:

$$pOH = 14 - pH$$

При вищих температурах константа електролітичної дисоціації води підвищується, відповідно збільшується іонний добуток води K_w , тому нейтральною виявляється $pH < 7$ (що відповідає концентраціям, що збільшилися як H^+ , так і OH^-); при зниженні температури, навпаки, нейтральна рН зростає. Всі ці зміни відбуваються в інтервалі значень[2] K_w від $0,11 \cdot 10^{-14}$ ($0^\circ C$) до $55,0 \cdot 10^{-14}$ ($100^\circ C$), тобто залежно від температури рН нейтрального розчину змінюється від -



мал. 1. Сучасний рН-метр

7,48 до -6,13.

рН абсолютно чистої води мусить мати значення 7. Але насправді такого майже ніколи не трапляється — наприклад, при контакті із повітрям у воді розчиняється вуглекислий газ, з якого утворюється вугільна кислота H_2CO_3 , внаслідок цього рН води падає до 5,7—6.

pH більшості відомих розчинів коливається між значеннями 0 та 14. Відомі розчини із значенням pH меншим нуля та більшим 14, але у таких випадках замість pH, як характеристики кислотності розчину, зазвичай користуються концентрацією кислоти або лугу.

ХІД РОБОТИ

Визначення рівня pH питних продуктів визначають за допомогою pH-метру. pH-метр – це електронний вимірювальний прилад, який за допомогою H^+ -іон-селективного електроду. pH-метр представляє собою вольтметр, який за допомогою визначення різниці потенціалів між розчином і скляною мембраною електроду, перераховує значення ЕРС у відємне значення десяткового логарифму від концентрації іонів H^+ . pH метр побудований із іон селективного електроду(комбінований) і при необхідності – електродом порівняння (хлорсрібний електрод), і безпосередньо вимірювальним приладом, до якого приєднуються електроди.

Для виконання аналізу pH необхідно:

1. Витягнути іонселективний електрод з розчину, ретельно промити дистильованою водою, вставити в штатив;
2. Прокалібрувати pH-метр за допомогою буферних розчинів;
3. Занурити вимірювальний електрод у досліджуваній розчин, натиснути кнопку **Enter** на значенні **pH**, зачекати 1 хвилину, на екрані буде відображено значення pH
4. Промити ретельно електрод дистильованою водою, витерти фільтрувальним папером, повторити дослідження з іншим розчином;

Отримані результати занести до таблиці:

	Вид продукту	pH	pOH	$[H^+]$	$[OH^-]$

За отриманими значеннями pH, обчислити значення концентрацій водневих і гідроксильних іонів. Зробити висновок, щодо придатності вживання продуктів відносно рівня pH.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Дифузія та осмос.
2. Що таке йонний добуток води, як його обчислюють?

3. Що таке водневий і гідроксильний показники? Як вони пов'язані між собою?
4. Теорія сильних електролітів. Електролітична дисоціація.
5. Закони осмосу та закони Рауля для розчинів електролітів та неелектролітів. Біологічне значення цих законів.
6. Ізотонічний коефіцієнт Вант-Гоффа, його математичний вираз, значення. Кріоскопічна та ебуліоскопічна сталі.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3 БУФЕРНІ РОЗЧИНИ

Буферними розчинами називають розчини складені з суміші слабкої кислоти (або слабкої основи) та її солі. Наприклад, суміш оцтової кислоти і ацетату натрію ($\text{CH}_3\text{COOH} + \text{CH}_3\text{COONa}$), суміш гідроксиду амонію і хлориду амонію ($\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$).

pH буферної суміші під впливом сильної основи або сильної кислоти практично не змінюється. Не змінюється pH буферної суміші й при розведенні, тому що залежить від співвідношення концентрації солі та кислоти.

Кожний буферний розчин має певну **буферну ємність** – здатність розчину зберігати сталу величину pH при додаванні кислот або лугів. Вона визначається кількістю еквівалентних мас кислоти (або лугу), яку треба додавати, щоб величина pH 1 л буферного розчину змінилися на одиницю.

ДОСЛІД 1

Приготування буферних розчинів

pH буферного розчину залежить від природи хімічних сполук, що входять у буферну систему і від співвідношення цих сполук у розчині. Внаслідок чого можна приготувати ряд буферних розчинів з різними, але відомими pH.

ХІД РОБОТИ:

Нумерують шість пробірок, наливають у них розчин оцтової кислоти та оцтовокислого натрію в таких співвідношеннях:

До приготовлених сумішей додають по 2 краплі універсального індикатору і за характером кольорів визначають pH кожної суміші. За наявності потенціометра pH визначають за допомогою приладу.

Розчин	№ пробірки					
	1	2	3	4	5	6
0,1 н розчин оцтової кислоти	9	8	5	3	2	1
0,1 н розчин оцтовокислого натрію	1	2	5	7	8	9
Значення pH, вичислене	3,7	4,0	4,6	5,0	5,2	5,6
Значення pH, знайдене в досліді						

Потім нумерують вісім пробірок, наливають у них 0,15 н розчини KH_2PO_4 та Na_2HPO_4 у співвідношенні:

Розчин	№ пробірки							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0,15 М розчин KH_2PO_4	9,5	9,0	8,0	7,0	6,0	5,0	4,0	3,0
0,15 М розчин Na_2HPO_4	0,5	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0
Значення рН, вчислене	5,59		6,24		6,64		6,93	
		5,9		6,47		6,8		7,17
Значення рН, знайдене в досліді								

Вміст кожної пробірки старанно розмішують. До приготовлених сумішей додають по 2 краплі універсального індикатору і за характером кольорів визначають рН кожної суміші.

ДОСЛІД 2

Властивості буферних розчинів

У колбочку відміряють 4 мл оцтової кислоти та 16 мл оцтовокислого натрію. Вміст колбочки старанно перемішують. Нумерують чотири пробірки. У пробірки № 1 та № 3 відміряють по 5 мл приготовленої буферної суміші, а в пробірки № 2 та № 4 по 5 мл дистильованої води. В пробірки № 1 та № 2 додають по 1 – 2 краплини фенолфталеїну та їх вміст титрують із бюретки лугом (0,1н NaOH), при цьому рахують краплі до появи малинового кольору. В пробірки № 3 і № 4 додають індикатор конго червоний і титрують кислотою (0,1н HCl) до появи синього кольору, підраховуючи краплини.

Пояснити, чому при зміні реакції в пробірку № 1 треба додати більш лугу, ніж у пробірку № 2, а в пробірку № 3 більше кислоти, ніж у пробірку № 4.

ДОСЛІД 3

Вплив розведення на рН буферного розчину та буферну сміність

Беруть три колбочки. В кожну з них відміряють по 5 мл оцтової кислоти і по 5 мл оцтовокислого натрію. Вміст колбочки № 1

залишають нерозведеним, вміст колбочки № 2 розводять у 2 рази, для чого до одержаної буферної суміші додають рівний об'єм води (10 мл), а вміст колбочки № 3 розбавляють у 4 рази, для чого до неї додають 30 мл води. Розчини в кожній колбочці перемішують та використовують для досліду.

1. Нумерують три пробірки і в них відміряють по 2 мл буферних розчинів: нерозведений, розведений удвічі та розведений у 4 рази. Потім до кожного з розчинів додають по дві краплини універсального індикатору і за кольором визначають реакцію середовища (рН) кожного буферного розчину.

Чи змінюється рН при розведенні буферного розчину?

2. Нумерують три пробірки і в них відповідно відміряють по 2 мл нерозведеного, розведеного вдвічі та розведеного в 4 рази буферних розчинів. У кожену пробірку додають по 2 – 3 краплі фенолфталеїну і титрують із бюретки лугом, підраховуючи краплі, до появи рожевого кольору.

Як впливає розведення на буферну ємність розчину?

ДОСЛІД 4

Буферна ємність біологічних рідин

За допомогою універсального індикатору спочатку в порцеляновій чашці приблизно визначають рН досліджуваних рідин, усі вони мають приблизно нейтральну реакцію ($\text{pH} \approx 7$).

Відміряють в окремі пробірки по 5 мл досліджуваних рідин, у кожену з них додають по 2 – 3 краплі фенолфталеїну і титрують із бюретки лугом, підраховуючи краплі, до появи малинового кольору. Результати записують у зошит. Аналогічно перевіряють буферну ємність за кислотою, використовуючи індикатор конго червоний. Титрують до появи синього кольору.

Яка досліджувана рідина має найбільшу буферну ємність? По відношенню до яких сполук (кислота або луг) виражена більша буферна ємність у перевірених біологічних рідин?

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Які розчини називають буферними?
2. Наведіть класифікацію буферних розчинів.
3. Який механізм буферної дії? (На прикладі ацетатного буфера).

4. Які відомі буферні системи організму? Назвіть буферні системи крові.

5. Як обчислюють рН буферних розчинів? Від чого він залежить?

6. Що таке буферна ємність? Від чого вона залежить? Як приготувати буферний розчин, щоб його буферна ємність була найбільшою?

7. Як впливає розведення на рН і ємність буферних розчинів?

8. Визначити рН ацетатного буфера, що складається з 100 мл 0,1 н CH_3COOH та 200 мл 0,2 н CH_3COONa , якщо $K(\text{CH}_3\text{COOH}) = 1,75 \cdot 10^{-5}$. Як зміниться рН цього буфера, якщо до нього додати 30 мл 0,2 н NaOH ?

9. Обчислити об'єм (мл) 0,1 М CH_3COONa і 0,1 М CH_3COOH , які треба змішати, щоб приготувати 3 л 0,1 М ацетатного буфера з рН = 5,24, $pK \text{CH}_3\text{COOH} = 4,76$.

10. До 100 мл крові для зміни рН від 7,36 до 7,0 треба додати 36 мл 0,05 н HCl . Обчислити буферну ємність крові за кислотою.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

ЗАСОБИ ДОБУВАННЯ ТА ВЛАСТИВОСТІ КОЛОЇДНИХ РОЗЧИНІВ

Колоїдні системи характеризуються розміром частинок дисперсної фази в межах від 1 до 100 нм. Ці системи називають золями, а для рідких середовищ – колоїдними розчинами. Залежно від дисперсійного середовища розрізняють: гідрозолі, аерозолі, тощо.

ДОСЛІД 1

Добування колоїдного розчину каніфолі, фенолфталеїну, сірки

Каніфоль та фенолфталеїн добре розчиняються у спирті і дуже погано розчиняються у воді. Вода ж у свою чергу добре розчиняє спирт – вихідний розчинник для каніфолі та фенолфталеїну. Якщо змішати спиртовий розчин каніфолі та фенолфталеїну з водою, то молекули цих сполук будуть конденсуватися між собою, утворюючи частки, відповідні розмірам часток золю.

ХІД РОБОТИ:

У дві пробірки наливають по 3 – 4 мл води і в одну з них додають 2 – 3 краплі спиртового розчину каніфолі, а в другу – спиртового розчину фенолфталеїну. У одержаних розчинів спостерігають явище опалесценції. Воно характерне тільки для колоїдних розчинів.

Завдання.

Намалювати схему утворення колоїдних частинок

ДОСЛІД 2

Одержання гідрозолу гідроксиду заліза

Хлористе залізо є сіль сильної кислоти та слабкої основи. Солі такого складу у воді підлягають гідролізу, внаслідок чого утворюються гідроксид металу та сильна кислота. Гідроксиди металів у воді практично не розчинні, в зв'язку з чим їх молекули конденсуються між собою в колоїдні частки, які адсорбують на своїй поверхні з розчину надлишок іонів електроліту і набувають агрегатної стійкості.

ХІД РОБОТИ:

Наливають у дві пробірки по 3 – 4 мл води. Одну з пробірок нагрівають до кипіння, при цьому додають кілька крапель

концентрованого розчину хлориду заліза (III), після чого припиняють нагрівання пробірки. Окремо додають хлорид заліза (III) і в пробірку з холодною водою. Спостереження записують у зошит. Отриманий гідрозоль гідроксиду заліза залишають для наступного визначення знака заряду колоїдних часток (дослід 7).

Завдання.

Написати хімічну реакцію гідролізу хлориду феруму (III);

Намалювати схему будови колоїдних частинок гідрозолю гідроксиду заліза (III);

ДОСЛІД 3

Добування гідрозолю сірки

За взаємодії тіосульфату натрію із сірчаною кислотою відбувається виділення вільної сірки, що конденсується в колоїдні частки, які стабілізовані у розчині адсорбованими на них аніонами сірчаної кислоти.

ХІД РОБОТИ:

Наливають у склянку 3 – 4 мл розчину тіосульфату натрію і додають до нього 1 – 2 краплі сірчаної кислоти. Через кілька хвилин розчин змінює свій зовнішній вигляд – він набуває характерного для колоїдних розчинів явища опалесценції.

Завдання.

Написати хімічну реакцію взаємодії тіосульфату натрію із розчином сірчаної кислоти;

Охарактеризувати явище опалесценції

ДОСЛІД 4

Добування гідрозолю берлінської блакиті

При взаємодії жовтої кров'яної солі $K_4[Fe(CN)_6]$ із хлоридом заліза (III) утворюється нова сполука - берлінська блакить $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$. Берлінська блакить конденсується у колоїдні частки, що стабілізуються в розчині адсорбованими на них молекулами жовтої кров'яної солі.

ХІД РОБОТИ:

Наливають у пробірку 5 – 6 мл розчину жовтої кров'яної солі і додають 1 - 2 краплі розчину хлористого заліза. Утворюється золь берлінської блакиті синього кольору. Добутий золь залишають для визначення знаку заряду колоїдних часток (дослід 7).

Завдання.

Написати хімічну реакцію утворення гідрозолу берлінської блакиті;

Написати формулу міцели гідрозолу берлінської блакиті

ДОСЛІД 5

Коагуляція гідрозоля гідроксиду заліза (III)

Процес збільшення часток дисперсної фази золю називають коагуляцією.

Коагуляція може відбуватися внаслідок різних факторів: введення електролітів, неелектролітів, зниження температури, кип'ятіння, дії сонячного випромінювання, перемішування розчину, тощо.

ХІД РОБОТИ:

У три колбочки наливають по 5 мл свіжовиготовленого гідрозолу гідроксиду заліза (III). Вміст першої колби титрують із бюретки розчином хлористого натрію (5мл) до помутніння розчину, визначаючи об'єм NaCl, у другій колбі колоїдний розчин титрують сірчаноокислим натрієм (0,01н) і в третій колбі розчин титрують $K_4[Fe(CN)_6]_3$ (0,001н). Результати титрування записують у зошит і обчислюють поріг коагуляції за формулою:

$$C = N_{\text{ел}} \cdot V_{\text{ел}} \cdot 1000 / (V_3 + V_{\text{ел}}), \text{ ммоль/л,}$$

де $N_{\text{ел}}$ - нормальність електроліту (моль/л),

$V_{\text{ел}}$ - об'єм електроліту, що пішов на титрування (мл),

V_3 - об'єм золю (мл).

ДОСЛІД 6

Коагуляція мінерального та органічного колоїду амоній сульфатом

У дві пробірки наливають по 5 мл гідрозолу гідроксиду заліза (III) та золю білка. Вміст кожної пробірки титрують із бюретки концентрованим розчином сульфату амонію. В процесі титрування встановлюють, що для коагуляції органічного колоїду потрібно значно більше електроліту, ніж для коагуляції мінерального колоїду.

Якщо після коагуляції колоїдів у кожну із пробірок додати по 5 – 10 мл H_2O , то в пробірці з білком зкоагульований колоїд переходить у розчинний стан, і розчин знову стає прозорим.

Додавання такої ж кількості води до зкоагульованого мінерального колоїду не приводить до його розчинення – розчин залишається мутним. Таким чином, осадження мінеральних колоїдів сульфатом амонію – є незворотний процес, тоді як осадження органічного колоїду – зворотний процес. Пояснити чому.

ДОСЛІД 7

Визначення знаку заряду колоїду

Колоїдні частки практично нерозчинних солей, сірчанних сполук, гідроксидів металів у воді мають властивість адсорбувати на своїй поверхні іони переважно одного знака. Наприклад, колоїдні частки гідроксиду заліза (III) - $((\text{Fe}(\text{OH})_3)_m$, де m – кількість молекул $\text{Fe}(\text{OH})_3$, яка утворює колоїдну частку, адсорбують на своїй поверхні переважно іони Fe^{3+} . Колоїдні частки сульфату миш'яку (As_2S_3) адсорбують на своїй поверхні переважно іони HS^- . Таким чином, на поверхні з'єднаних молекул As_2S_3 утворюється подвійний електричний шар: на поверхні частинок – адсорбовані аніони HS^- , у зовнішньому оточенні – іони водню, що присутні у розчині.

Внаслідок того, що колоїдні частки однойменно заряджені, вони відштовхуються, і колоїдні розчини є стійкими.

Для того, щоб визначити знак заряду колоїдних часток, можна провести простий дослід. Поверхня фільтрувального паперу у воді має негативний заряд. Якщо до води додати електрично заряджений колоїд і в цей же розчин занурити смугу фільтрувального паперу, то вода буде підійматися по капілярах паперу і тягнути за собою колоїдні частки, що мають однаковий заряд з папером. Якщо колоїдні частки мають заряд протилежний заряду поверхні капілярів фільтрувального паперу, то вони адсорбуються стінкою капіляра і не зможуть підніматися по капілярах разом з водою. Цей дослід добре спостерігати у разі забарвлених колоїдів.

ХІД РОБОТИ:

У хімічні склянки наливають невеличку кількість досліджуваних колоїдів (кожний окремо). На скляній паличці фіксують смугу фільтрувального паперу, вільний кінець якого занурюють на 2 – 3 мм в досліджуваний колоїдний розчин.

Підрахунок результатів досліді проводять через 20 – 30 хвилин.

Пояснити свої спостереження.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Які розчини називають колоїдними?
2. Що таке дисперсна фаза та дисперсійне середовище?
3. Які відомі засоби добування колоїдних розчинів?
4. Яку будову має колоїдна частка? Де виникає електричний потенціал?
5. Що таке коагуляція та седиментація колоїдних часток?
6. Які причини коагуляції колоїдних розчинів? Види коагуляції.
7. Від чого залежить стійкість колоїдних часток?
8. Які види стійкості колоїдних часток відомі?
9. Чим відрізняються гідрофільні колоїди від гідрофобних?
10. Що таке поріг коагуляції? Правило Шульце-Гарді.

МОДУЛЬ II. БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5 ВИВЧЕННЯ ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГЛЮКОЗИ

Глюкоза – альдегідо-багатоатомний спирт, який відноситься до класу альдогексоз, є одним із найпоширеніших моносахаридів у живій природі. За рахунок наявності гідроксильних груп, глюкоза проявляє усі хімічні властивості багатоатомних спиртів (взаємодія із лужними металами, із нерозчинними гідроксидами, розчинами лугів і т. д.). За рахунок альдегідної групи, глюкоза здатна до реакцій нуклеофільного приєднання, нуклеофільного заміщення карбонільної групи C=O, реакцій окиснення, тощо). Молекула глюкози у водному розчині існує переважно в циклічній формі ($\alpha(\beta)$ -D-глюкопіраноза або $\alpha(\beta)$ -D-глюкофураноза).

Хімічні властивості глюкози забезпечують утворення біологічно важливих речовин в організмі людини і тварин, такі як глюкозо аміни, N-ацетилглюкозоамін тощо, які є мономерами важливих гетерополісахаридів, що формують основу твердої сполучної тканин кісток, сухожиль.

ХІД РОБОТИ:

ДОСЛІД 1

Взаємодія глюкози із гідроксидом міді (реакція Троммера)

В пробірку наливають 2 мл 1 – 5% розчину гідроксиду натрію, до пробірки додають декілька крапель 1 – 10 % розчину сульфату купруму. *(Написати спостереження, хімічну реакцію даного процесу)*. До пробірки додають 2 мл 5 – 10% розчин глюкози, ретельно перемішують *(Написати спостереження, хімічну реакцію даного процесу)*. Потім пробірку нагрівають на водяній бані або над полум'ям спиртівки *(Написати спостереження, хімічну реакцію даного процесу)*. Зробити висновки щодо проходження цієї реакції, визначити тип хімічної реакції.

ДОСЛІД 2

Взаємодія глюкози із аміачним розчином оксиду аргентуму(I) (реакція «срібного дзеркала»)

До 1 мл 1 – 5% розчину нітрату срібла додають декілька крапель 1 – 5% розчину гідроксиду натрію або калію *(Написати*

спостереження, хімічну реакцію даного процесу). До пробірки з утвореним осадом додати розчин аміаку до повного його розчинення (*Написати спостереження, хімічну реакцію даного процесу*). Додати 1 – 2 мл 1 – 10% розчину глюкози і нагріти на водяній бані при температурі 60 – 100 С. (*Написати спостереження, хімічну реакцію даного процесу*). Зробити висновок щодо особливостей проходження цієї реакції, визначити тип хімічної реакції. На яку функціональну групу є якісною дана реакція?

ДОСЛІД 3

Взаємодія глюкози із реактивом Фелінга

Реактив Фелінга представляє собою тартрат міді в лужному середовищі. У пробірці змішують 2 мл розчину Фелінг 1 і 2 мл розчину Фелінг 2 (*Написати спостереження, хімічну реакцію даного процесу*). До розчину додають 1 – 2 мл 1 – 10% розчину глюкози і нагрівають на водяній бані при температурі 70 – 100 С (*Написати спостереження, хімічну реакцію даного процесу*).

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Циклічні і нециклічні структурні формули глюкози;
2. Основні біохімічно важливі сполуки глюкози;
3. Функція глюкози у живих організмах;
4. Реакції окиснення глюкози;
5. Реакції нуклеофільного приєднання глюкози;
6. Реакції нуклеофільного заміщення глюкози;
7. Якісні реакції на –ОН групи молекули глюкози;

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6 ВИЗНАЧЕННЯ ГЛЮКОЗИ В БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ ОРТОТОЛУЇДИНОВИМ МЕТОДОМ

Принцип методу базується на властивості глюкози при нагріванні взаємодіяти із розчином ортотолуїдину в оцтовій кислоті дає зелений колір. Інтенсивність забарвлення вимірюють фотокolorиметрично за допомогою ФЕК (фотоелектроcolorиметр). Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна до концентрації глюкози в розчині. Даний метод використовують в лабораторії для визначення концентрації глюкози в крові та біологічних рідинах.

ХІД РОБОТИ

1. Приготування калібрувального графіку:

З розчину глюкози з концентрацією 200 мг/л методом поступового розбавлення готують розчини із концентрацією 150, 100, 75, 50 і 25 мг/л об'ємом 10 мл. З проби відбираємо 1 мл і додаємо 7 мл розчину ортотолуїдинового реактиву і ставимо на водяну баню на 10 хв. Потім охолоджуємо пробірки і визначаємо оптичну густину розчинів на ФЕК. За отриманими результатами будуємо калібрувальний графік залежності оптичної густини і концентрації глюкози.

2. Визначення рівня глюкози в біологічних рідинах

Для досліду беруть такі біологічні рідини – слина, кров, сеча. 1 мл досліджуваної рідини відбирають у пробірку, до неї додають 7 мл ортотолуїдинового реактиву, ставлять на водяну баню на 10 хв, потім охолоджують і визначають оптичну густину розчинів. За калібрувальним графіком визначають концентрацію глюкози в біологічних рідинах. Результати заносять до таблиці:

Біологічна рідина	Оптична густина, D	Концентрація глюкози, мг/л
Кров		
Сеча		
Слина		

За отриманими результатами зробити висновок щодо різниці рівня глюкози у біологічних рідинах, вказати основні причини різниці,

порівняти отримані результати із нормами і зробити висновок про наявність чи відсутність патологічних змін отриманих результатів.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Основні методи кількісного визначення глюкози в крові;
2. Дати характеристику процесу гліколізу, його основні функції;
3. Дати характеристику процесу глюконеогенезу, його основна функція;
4. Охарактеризувати аеробне окиснення глюкози, його зв'язок із процесом окислювального фосфорилування;
5. Пентозофосфатний шлях перетворення глюкози, особливості, основні функції;
6. Що таке калібрувальний графік? Принцип побудови калібрувального графіку та спосіб визначення концентрації речовини за калібрувальним графіком;

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7

ВИЗНАЧЕННЯ ЙОДНОГО ТА КИСЛОТНОГО ЧИСЛА РОСЛИННИХ ЖИРІВ

Найбільш поширеними з усіх ліпідів і кількісно значимими в тваринному організмі є жири.

Терміном "жири" позначають суміш різних гліцеридів у тому вигляді, в якому вони трапляються в природі.

Жири або гліцериди – це складні ефіри триатомного спирту гліцерину ($\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$) і різних вищих жирних кислот. Частіше за все до складу жирів входять насичені кислоти – пальмітинова ($\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$) та стеаринова ($\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COOH}$), а з ненасичених – олеїнова ($\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOH}$), лінолева ($\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH}$) та ліноленова ($\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$).

Разом з простими гліцеридами, що мають у своїй молекулі три однакові кислоти, трапляються ще змішані гліцериди, до складу яких входять різні жирні кислоти. Природні жири (нейтральні) являються змішаними тригліцеридами. Жири, що стоять на повітрі та світлі, гіркнуть – окислюються та розщеплюються на летючі жирні кислоти, кетони та альдегіди, які мають неприємний запах та смак.

Жири, багаті ненасиченими кислотами, як і самі ненасичені кислоти, можуть приєднувати галогени, водень (гідрогенізуватися) та кисень (утворювати оксикислоти).

ДОСЛІД 1

Визначення йодного числа жирів

ХІД РОБОТИ

Йодне число жирів показує, скільки грамів іон-йоду може бути зв'язано в 100 г жиру. Для цього відважують в конічну колбу 0,1 г олії, розчиняють у 10 г хлороформу і доливають (точно) 25 мл 0,1н спиртового розчину йоду. Закривають пробкою, ретельно перемішують і залишають стояти у темному місці на 2 години.

Після цього йод, який не використали на реакцію, титрують 0,1 н розчином тіосульфату спочатку до слабо жовтого кольору, а потім за наявності 0,5- 1% розчину крохмалю до знебарвлення розчину.

РОЗРАХУНОК, 1 мл 0,1 н розчину тіосульфату еквівалентний 1 мл 0,1 н розчину йоду (0,01270 г йоду). Знаючи скільки мілілітрів

розчину йоду (а) – налито у колбу і скільки 0,1 н розчину тіосульфату (б) – піде на титрування залишків йоду (зворотне титрування), визначають кількість мілілітрів 0,1 н розчину йоду (а–б), зв'язаних жиром. Перемножуючи різницю на 0,0127, отримують кількість йоду у грамах, зв'язаного тягарцем (с) жиру. Звідси йодне число:

$$X = (a-b) \cdot 0,0127 \cdot 100 / c$$

ДОСЛІД 2

Визначення кислотного числа жирів

ХІД РОБОТИ:

Кислотне число жирів визначають за допомогою титрування лугом. 1 мл олії розчиняють у 10 мл суміші ефіру та спирту і за наявності фенолфталеїну титрують 0,1 н розчином КОН. На 1 мл олії йде деяка кількість лугу, що вказує на існування в ньому вільних жирних кислот.

Кількість міліграмів КОН, яке піде на нейтралізацію вільних жирних кислот в 1,0 г жиру, називається кислотним числом. При прогрікуванні жирів кислотне число збільшується.

Таку ж реакцію проводять з прогрікною олією.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

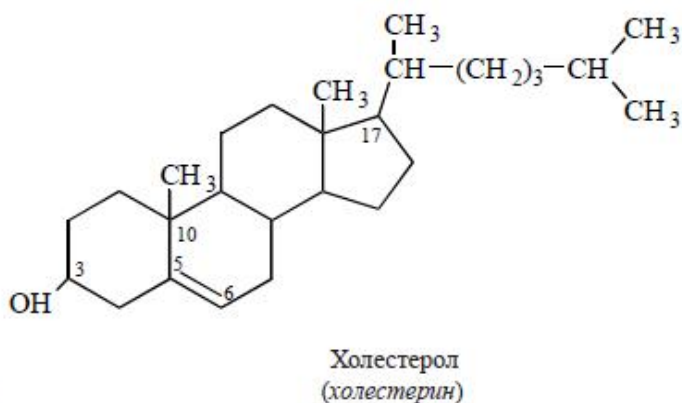
1. Дати класифікацію ліпідів, навести приклади.
2. Яку будову мають тригліцериди? Їх синтез та розщеплення.
3. Чому жири бувають тверді та рідкі?
4. Як проходить перетравлення ліпідів у шлунково-кишковому тракті?
5. Як проходить всмоктування та транспортування ліпідів?
6. Механізм окислення жирів.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 8

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ХОЛЕСТЕРИН І ЛЕЦИТИН

Холестерин – ліпід, який відноситься до класу стероїдів, має важливе біологічне значення для організму людини і тварин. У значних кількостях міститься в нервовій та жировій тканинах, печінці

тощо. У хребетних тварин і людини — біохімічний попередник стероїдних гормонів, жовчних кислот, ліпопротеїнів (сполук, у формі яких ліпіди транспортуються по організму) та вітаміну D. Надлишок холестеролу в організмі людини призводить до утворення жовчних каменів, відкладенню



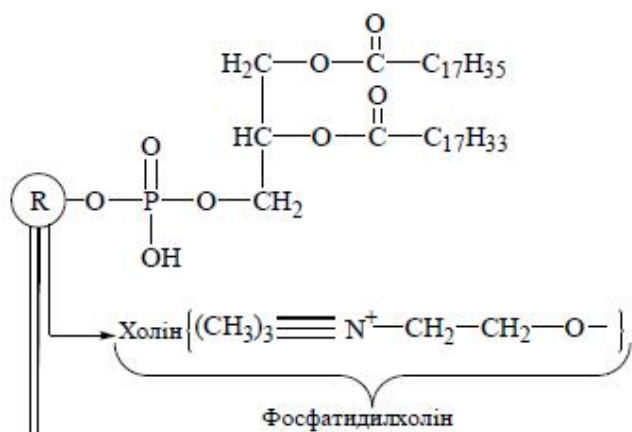
холестеролу в стінках судин, порушень обміну речовин.

Біосинтез холестеролу відбувається в цитозолі та мітохондріях клітин. Цей процес має важливе значення в організмі людини, оскільки холестерол виконує низку життєво необхідних функцій: холестерол є попередником в біосинтезі стероїдних гормонів, жовчних кислот, ліпопротеїнів та вітаміну D.

В організмі холестерол підлягає біотрансформації, численним метаболічним перетворенням. Цей процес забезпечує синтез стероїдних сполук та забезпечує умови для екскреції надлишків стеролу. Першим етапом біотрансформації холестеролу є утворення його етерів з вищими карбоновими кислотами.

Лецитини – клас ліпідів, який відноситься до класу фосфоліпідів.

Представляє собою собою похідні трьохатомного спирту гліцерину, дві гідроксильні групи яких естерифіковані із залишками ненасичених жирних кислот, третя – із залишком фосфорної кислоти, який сполучений із залишком холіну.



Лецитин є одним із представників основних

фосфоліпідів клітинних мембран. Фосфатидилхоліновий залишок

надає молекулі фосфоліпиду заряджену ділянку, яка проявляє гідрофільні властивості, залишки молекул ненасичених жирних кислот мають гідрофобні властивості завдяки високій неполярності. В результаті формується фосфоліпідний бішар, який є основою усіх біологічних мембран.

Лецитин широко поширений в продуктах тваринного походження, особливо у таких продуктах як яйця, молоко, тощо.

ХІД РОБОТИ

ДОСЛІД 1

Якісна реакція на холестерин

1 г досліджуваного матеріалу (будь який представник тваринного жиру або рослинної олії) розчиняють 3 мл хлороформу, ретельно перемішуючи до повного розчинення. При не повному розчиненні збільшують дозу хлороформу, або розчин профільтровують через паперовий фільтр. До 1 мл фільтрату додають обережно по стінкам пробірки 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. При наявності холестерину, утворюється сульфохолестерин червоного кольору. По інтенсивності червоного кольору можна зробити висновок про відносну кількість холестерину в досліджуваному зразку.

Завдання. Дослідити мінімум 3 представники жирів і зробити висновок про вміст у них холестерину

ДОСЛІД 2

Якісна реакція на лецитин

До 1 мл отриманого фільтрату отриманого в попередньому досліді, додаємо 1 мл насиченого розчину солі Кадмію(+2). При наявності лецитину утворюється червоний осад. По рівню отриманого осаду робимо висновок про кількість лецитину в досліджуваних жирах.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Функції холестерину в організмі людини і тварин;
2. Біосинтез холестерину;
3. Перетворення холестерину в організмі холестерину;
4. Формування в організмі ліпопротеїнів різної щільності, роль холестерину в даному процесі;
5. Якісні реакції на холестерин;

6. Фосфоліпіди, особливості їх будови та функції;
7. Лецитин, його будова та біологічні функції. Добова норма лецитину та основні продукти харчування;
8. Роль лецитину у формуванні біологічних мембран;

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 9 ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ

Білки – це високомолекулярні речовини, що побудовані з залишків амінокислот.

Білки мають велику молекулярну масу, чим особливо відрізняються серед інших органічних сполук. Велика молекулярна маса білків пояснює виражений колоїдний характер їх водних розчинів. Водні розчини білків дають навіть у молекулярно-дисперсному стані колоїдні розчини. Це означає, що діаметр білкових часток у розчині більше 0,001 мк.

Білки, як високомолекулярні колоїдні сполуки, мають гідрофільні властивості, бо вони мають велику спорідненість з водою, а такі сполуки легко розчиняються в ній.

Білки, як колоїди, мають усі властивості останніх. Розчини білків опалесцирують, у них спостерігаються явище Фарадея - Тиндаля, броунівський рух, вони не проходять через ультрафільтри, мають низький осмотичний тиск та ін.

Важливою властивістю білків є їх розчинність у воді, водно-сольових розчинах і в водних розчинах полярних розчинників (спирт).

Процес розчинення білків щільно пов'язаний з гідратацією їх макромолекул, і будь-який фактор, що порушує цю гідратацію, буде в той же час знижувати розчинність білків у воді та сприяти випаданню їх в осад.

Зменшення гідратації колоїдних часток білка легко досягається додаванням до їх розчинів водозабірних засобів. До таких дегідратуючих речовин відносять спирт, ацетон, розчини нейтральних солей лужних металів та ін. Ці речовини осаджують білки без явища денатурації, а солі важких металів, навпаки, осаджують білки з денатурацією, сутність якої зводиться до втрати білками гідрофільних та набуття гідрофобних властивостей.

Як відомо, при певних умовах гідрофобний денатурований колоїд може стійко зберігатися у вигляді золю. Причиною такої стійкості є великий заряд, що перешкоджає зближенню і зіткненню колоїдних часток, усуваючи тим самим можливість утворення більш крупних агрегатів, які можуть випадати в осад. Зняття заряду з частки або зменшення його до критичної величини неминуче призводить до

зниження стійкості золю та створює передумови для коагуляції та осадження замулених часток.

Реакції осадження білків можна поділити на дві групи: 1 - без явища денатурації (солями нейтральних лужних металів), 2 - з денатурацією (солями важких металів, підвищеною температурою, сильними мінеральними та органічними кислотами, алкалоїдами).

ДОСЛІД 1

Реакції осадження білків без денатурації

При цих реакціях білки не підлягають глибоким змінам і утворені ними осад (гель) знову можуть бути розчинені у висхідному розчиннику (переведені в золь). Макромолекули білків при цьому зберігають свої первинні властивості та не підлягають істотним змінам (денатурації).

Зворотне осадження білків досягається додаванням до водних розчинів нейтральних солей лужних металів. До цих солей відносять такі сполуки: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4Cl , Na_2SO_4 , NaCl , KCl . Механізм дії цих солей на колоїдну частку веде до адсорбції на останній іонів з протилежним зарядом і, таким чином, білкова частка стає електронейтральною (йде знімання заряду), внаслідок чого знижується її стійкість у розчині. Крім цього, солі лужних металів, розчиняючись, зв'язують велику кількість води, що при достатньо великих концентраціях веде до дегідратації колоїдних часток і позбавляє останні другого фактора стійкості – гідратаційної оболонки. Білки при цьому випадають в осад. Цей метод осадження білків (або осадження іонами солей лужних металів) має назву висолювання. Осад білків (гель), що утворені висолюванням, можуть бути знову розчинені, якщо зменшити концентрацію солей діалізом або розведенням водою. Висолювання білків, таким чином, є зворотним процесом.

ХІД РОБОТИ:

У пробірку наливають 2 – 3 мл сироватки крові або розведеного яєчного білка. Додають рівний об'єм насиченого розчину сульфату амонію, збовтують. У осад випадають білки – глобуліни.

До розчину з осадом білків додають рівний об'єм дистильованої води, добре перемішують і спостерігають поступове зникнення осаду білків.

У дві пробірки наливають по 2 – 3 мл сироватки крові або розчиненого яєчного білка.

У першу пробірку додають до повного насичення кристали NaCl, а в другу - MgSO₄. За 2 хвилини в обох пробірках з'являється осад глобулінів.

ДОСЛІД 2

Осадження білків іонами важких металів

Під впливом іонів солей важких металів (свинцю, міді, срібла, ртуті, та ін.) білки зі стану золю безповоротно коагулюють у гель. Іони солей важких металів з білками утворюють міцні комплексні сполуки. Крім цього, важкі метали знімають електричний заряд і глибоко змінюють вторинну та третинну будову макромолекул білка.

При осадженні білків солями важких металів потрібні слабкі концентрації та невелика кількість їх порівняно до солей нейтральних і лужних металів.

При надлишку оцтовокислого свинцю, сірчаноокислої міді спостерігається розчинність утвореного ними осаду. Таке явище можна пояснити адсорбцією надлишку іонів металу та перезарядженням білкового комплексу, внаслідок чого в розчин переходить комплекс зміненого білка з металом. Таке явище спостерігається й при додаванні достатньої кількості хлориду натрію, який спричиняє розчинення осаду ртутної сполуки білка.

Осади білків, утворені при дії солей важких металів не розчиняються в первинному розчиннику (воді) або в слабких розчинах солей навіть після вилучення солей діалізом або розведення водою.

ХІД РОБОТИ:

У три пробірки наливають по 1 – 2 мл розчину білка. Додають краплями у першу розчин ацетату свинцю, а в другу – сульфату міді, в третю – нітрату срібла. В пробірках утворюється осад білків.

У пробірки з осадами від оцтовокислого свинцю та сірчаноокислої міді додають надлишок цих солей. Спостерігають при цьому розчинення осадів.

ДОСЛІД 3

Осадження білків мінеральними кислотам

Концентровані мінеральні кислоти (крім фосфорної) спричиняють зворотне осадження білків із розчину. Це осадження пояснюється явищем дегідратації колоїдних часток білка, зняттям заряду, утворенням солей з білка та кислот. Надлишок мінеральних

кислот (за винятком азотної) розчиняє осад білків, що випадає при їх додаванні.

ХІД РОБОТИ:

У три пробірки обережно наливають по 1 мл кислот: у першу – соляну, в другу – сірчану, в третю – азотну. В ці пробірки обережно нашаровують на кислоту приблизно по 1 мл розчину білка. На межі двох рідин спостерігається поява осаду білків у вигляді невеликого білого кола.

Кожну пробірку обережно збовтують. Спостерігають розчинення осаду в першій та другій пробірках, де є надлишок соляної та сірчаної кислот, а в третій пробірці осад не зникає при збовтуванні, оскільки за надлишку азотної кислоти він не розчиняється.

ДОСЛІД 4

Осадження білків кип'ятінням

Більшість білків при нагріванні зсідуються, перетворюючись безповоротно на гель. Для різних білків температура їх коагуляції неоднакова. Деякі білки коагулюють при температурі 50 – 55⁰С, а інші можуть витримувати нетривале кип'ятіння.

Механізм температурної коагуляції та денатурації білків пов'язаний з перебудовою структури макромолекул білка, зокрема колоїдної частки білка під впливом підвищеної температури, вони з гідрофільних робляться гідрофобними. Іде глибока та незворотна зміна третинної та вторинної будови молекул білка – вони вивертаються "навиворіт".

Температурна денатурація білків проходить повільно і прискорюється з підвищенням температури. Швидкість коагуляції залежить від присутності в розчині іонів солей та іонів водню. Особливо швидко і повно осаджуються білки при нагріванні в ізоелектричній точці, при такому рН, коли колоїдні частки залишають свій електричний заряд і робляться нестійкими в розчині.

У дуже кислих розчинах білкові частки перезаряджаються внаслідок їх амфотерних властивостей та несуть позитивний заряд, що збільшує їх стійкість.

Аналогічно поведуть себе білкові міцели в дуже сильних лугах. У лужних розчинах стабільність білкового колоїду зумовлена негативним зарядом колоїдних часток.

Таким чином, у дуже кислих та лужних розчинах білки не випадають в осад при нагріванні. За додавання до кислих розчинів білків нейтральних солей можлива коагуляція.

ХІД РОБОТИ:

Наливають у п'ять пробірок по 2мл розчину білка. Нагрівають в першій пробірці та спостерігають поступове випадіння білку в осад.

В другу пробірку додають одну краплю 1% ацетатної кислоти та нагрівають. Осад білка випадає швидше і повніше, оскільки білок в цьому випадку знаходиться в ізоелектричній точці.

В третю пробірку додають 0,5 мл 10% оцтової кислоти та нагрівають. Осад білка не утворюється навіть при кип'ятінні.

В четверту пробірку додають 0,5 мл 10% оцтової кислоти та три чотири краплі насиченого розчину хлориду натрію та нагрівають. Осад білка утворюється швидше. В п'яту пробірку додають 0,5 мл 10% розчину гідроксиду натрію та нагрівають. Осад білка не утворюється навіть при кип'ятінні.

Поясніть причину у висновку.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ.

1. Що таке білки? Склад білків.
2. Сучасні уявлення про структуру білків.
3. Фізико-хімічні властивості білків.
4. Чим денатурація білків відрізняється від висолювання?
5. Механізм коагуляції білка.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 10 КОЛЬОРОВІ РЕАКЦІЇ НА БІЛКИ

Білки –це біологічні полімери, мономерами яких є амінокислоти. Амінокислоти сполучаються одним із одним за рахунок пептидних звязків, які утворюються в результаті реакції поліконденсації між карбоксильною групою однієї амінокислоти і аміногрупою іншої. Поліпептидний ланцюг, в залежності від складу амінокислот, набуває різних типів конформацій – первинна, вторинна, третинна і четвертинна. Кількість амінокислот, які формують білки, дорівнює 20 і додаткові 2, які є похідними основних амінокислот. Амінокислоти класифікують на ароматичні, кислі, основні, аліфатичні в залежності від типу вуглеводневого радикалу і відношення кількості аміногруп і карбоксильних груп у молекулі амінокислоти. Хімічні властивості білків також буде залежити від амінокислотного складу, вступаючи в певні якісні реакції.

Біуретова реакція (взаємодія білку із гідроксидом міді в лужному середовищі) вказує на наявність пептидних звязків у сполучі. За рахунок таутомерних перетворень, пептидний звязок ізомеризується, утворюючи вільну –ОН групу, і білок проявляє себе як багатоатомний спирт, взаємодіючи із нерозчинним $\text{Cu}(\text{OH})_2$, утворюючи біуретовий комплекс темно-синього кольору.

Ксантопротеїнова реакція (взаємодія білку із концентрованою азотною кислотою) є якісною на ароматичні амінокислоти (тирозину, фенілаланіну) у складі білка. Реакція базується на заміщенні атомів Н у бензольному циклі ароматичних амінокислот, що утворює осад білку жовтого кольору.

Реакція Фоля – якісна реакція на вміст у білку залишків сірковмісних амінокислот (метіоніну, цистеїну, цистину). Баується на взаємодії солей свинцю із атомами сірки сірковмісних амінокислот. В результаті утворюється чорний осад сульфїду свинцю.

ХІД РОБОТИ:

ДОСЛІД 1

Біуретова реакція на білок

До пробірки додають 1 мл 5-10% розчину гідроксиду натрію і декілька краплин насиченого розчину сульфату міді. Утворюється осад блакитно-синього кольору (реакція 1). До утвореного осаду додають 3

мл 10% розчину яєчного білку. Відбувається розчинення осаду і утворення темно-синього комплексу – біурету (реакція 2.).

Написати хімічні реакції даного досліду. Зробити висновок про умови проходження реакції.

ДОСЛІД 2

Ксантопротейнова реакція на білок

До 2 мл 10% розчину яєчного білку додаємо 1 – 2 мл концентрованої нітратної кислоти. Йде утворення жовтого осаду білку (реакція 3). До утвореного жовтого осаду додаємо концентрований розчин аміаку. Жовтий колір осаду повинен змінитись на оранжевий (реакція 4).

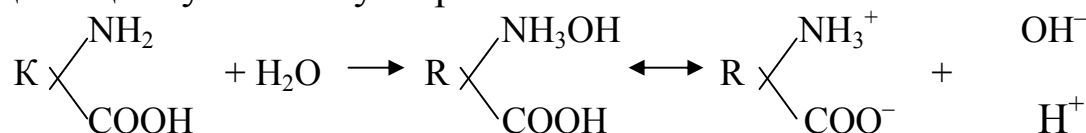
Написати хімічні реакції даного досліду. Зробити висновок про умови проходження реакції.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 11 ВИЗНАЧЕННЯ ІЗОЕЛЕКТРИЧНОЇ ТОЧКИ БІЛКІВ

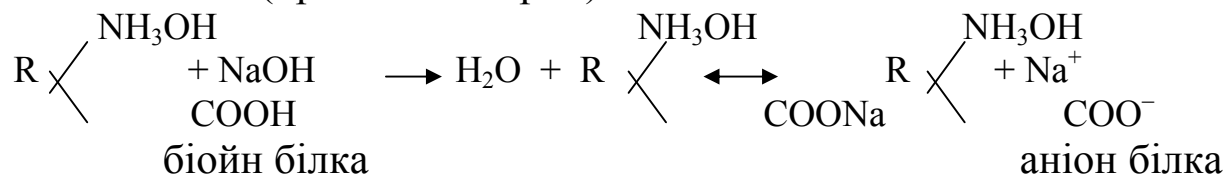
Білки – за хімічними властивостями є амфотерними сполуками, бо їх молекули мають вільні карбоксильні та амінні групи. Кислотні властивості білків зумовлені за рахунок кінцевих карбоксильних груп та дикарбонових амінокислот. Кисле середовище допомагає утворювати фенольні гідроксили в складі тирозину та сульфгідрильні групи сірковмісних амінокислот.

Лужні властивості білків пов'язані з амінними, імінними та гуаніновими групами діамінокислот.

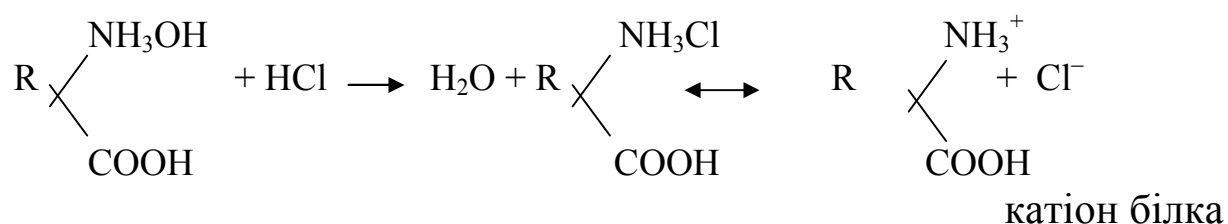
Належність одночасно кислих та лужних груп в білках у водному середовищі обумовлює утворення бііонів:



У лужному середовищі білки відіграють роль аніону. Втративши протон з групи – NH₃⁺, наприклад, при дії їдкого натру, утворюється натрова сіль білка (протеїнат натрію):



У кислому середовищі білок відіграє роль катіону: наприклад, з соляною кислотою утворюється хлоридна сіль (протеїн-хлорид):



Отже, головним фактором поведінки білка в розчині є концентрація іонів водню. В кислому середовищі зменшується дисоціація карбоксильних груп і білок переходить в аніон. При визначеному значенні рН (для кожного білка неоднакове) дисоціація карбоксильних груп білка стає рівною лужній: кількість позитивних зарядів білкової молекули зрівнюється з кількістю негативних і в цілому заряд білкової частки рівняється нулю. Білок, позбавлений електричного заряду, знаходиться в ізоелектричному стані і в електричному полі не буде переміщуватися ні до аноду, ні до катоду, а

pH розчину, за якого білок перебуває в ізоелектричному стані, називається ізоелектричною точкою білка, або ізопунктом білка (ІЕТ).

Розчини білка в ізопункті проявляють найменшу стійкість, оскільки як стабілізуючий фактор залишається тільки гідратаційна оболонка.

У більшості білків ізоелектрична точка близька до нейтральної реакції середовища, але дещо зміщена в кислий бік, що пояснюється перевагою кислих властивостей над лужними, тому в нейтральному розчині вони поводять себе як слабкі кислоти.

Невелика кількість білків (гістони, протаміни) мають більше амінних груп, вони багатші діамінокислотами. В нейтральному середовищі вони поводять себе як слабкі основи; їх ізоелектрична точка знаходиться у слабо лужному середовищі.

ХІД РОБОТИ:

Готують серію буферних розчинів:

Вміст пробірок збовтують.

У пробірку № 4 додають з піпетки повільно (при помішуванні) стільки спирту, щоб через деякий час залишилася ледве помітна каламуть. Для цього потрібно, як правило, 2 – 3 мл спирту.

До всіх останніх пробірок додають при помішуванні стільки спирту, скільки його додавали в пробірку № 4.

Спостерігають через 20 – 30 хвилин замулення, яке позначають за нижченаведеною схемою:

- + слабка коагуляція
- ++ більш сильна коагуляція
- +++ найбільш сильна коагуляція

Розчин	№ пробірки					
	1	2	3	4	5	6
	кількість в мл					
CH ₃ COONa 0,1 н	2	2	2	2	2	2
CH ₃ COOH 0,1 н	0,25	0,5	1	2	4	-
CH ₃ COOH 1,0 н	-	-	-	-	-	0,8
Дистильована вода	3,75	3,50	3	2	-	3,2
Желатин, 1 %	2	2	2	2	2	2
pH	5,6	5,3	5,0	4,7	4,4	4,1
Коагуляція	-	-	++	+++	+-	-

Отже, ІЕТ желатину дорівнює рН – 4,7. Залежно від сорту желатину ІЕТ може змінюватися в невеликій межі.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Що таке ізоелектричний стан білків? Його значення у формуванні структури білкових молекул.
2. Що таке ізоелектрична точка білків?
3. Від чого залежить заряд білків?
4. Ізоелектрична точка білка дорівнює 4,7. Який заряд має цей білок, якщо рН = 3, рН = 6,9?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 12

РОЗПОДІЛЬЧА ХРОМАТОГРАФІЯ АМІНОКИСЛОТ (НИЗХІДНА)

Адсорбція – поглинання однієї речовини на поверхні іншої (адсорбенту) за рахунок вільної поверхневої енергії. Найбільшу властивість адсорбції мають системи з великим запасом вільної поверхневої енергії – колоїдні системи. Адсорбція буває молекулярною та іонною.

Явище адсорбції знайшло застосування в розподільчій хроматографії суміші, що складається з декількох близьких за будовою і властивістю речовин. Розділення суміші речовин застосовано на неоднаковому коефіцієнті розподілену (коефіцієнт розподілу – це відношення швидкості руху речовини до швидкості руху розчинника). Володіючи характерними коефіцієнтами розподілу, кожна речовина, просочуючись разом з розчинником через шар адсорбенту, адсорбується на різній висоті цього шару – проходить хроматографічний розподіл суміші речовин. Як адсорбент при хроматографії застосовується спеціальний папір, по капілярах якого просочується розчинник, що тягне за собою розчинені речовини; оскільки коефіцієнт розподілу у різних речовин буде неоднаковий, то кожна речовина відкладається на різних ділянках паперу. У разі хроматографії кольорових речовин ділянки їх адсорбції будуть видимі, а у разі не кольорових речовин папір після хроматографії обробляють спеціальними реактивами, що дають з досліджуваними речовинами кольорові комплекси. За появою кольору знаходять ділянки відкладання досліджуваних речовин.

ХІД РОБОТИ:

1. Готують камеру для хроматографії. На дно камери наливають невелику кількість розчинника, який при випаровуванні насичує камеру парами, що запобігають висиханню фільтрувального паперу. До верхньої частини камери прикріплюють ванночку в точно горизонтальному положенні та наливають туди розчинник.

2. Беруть смужку хроматографічного паперу завширшки 5 см та, залишаючи від краю 8 – 10 см, наносять 0,005 – 0,01 мл суміші амінокислот за допомогою мікропіпетки. Утворену пляму швидко просушують над електроплиткою. Кінець смуги паперу, де ближче

нанесена крапля суміші, опускають у ванночку з розчинником, а другий кінець повинен вільно звисати через отвір у ванночці до камери. Слід запам'ятати, що смуга паперу повинна звисати точно вертикально і не торкатися своїм вільним кінцем ні стінок, ні дна камери, а також до розчинника на дні камери. В ванночці смужка паперу фіксується предметним склом або скляною паличкою.

Підготовлена таким чином камера герметично закривається скляною кришкою. В процесі хроматографії розчинник повинен пройти вздовж усієї смуги паперу, потягнувши за собою амінокислоти. Через різний коефіцієнт розподілу суміш амінокислот розділяється на окремі амінокислоти, які адсорбуються на різних ділянках смуги фільтрувального паперу.

Коли розчинник дійде до кінця смуги, папір витягують з камери та висушують на повітрі або у витяжній шафі. Для кращого розподілу суміші пропускання розчинника можна повторити. Висушену смугу паперу обприскують розчином нінгідрину і поміщають у сушильну шафу при температурі 60°C на 10 – 15 хвилин для проявлення кольору. На висушеній смугі знаходять окремі лілові плями, які відповідають розміщенню окремих адсорбованих амінокислот з узятої суміші.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Що таке протеолітичні амінокислоти? Їх класифікація.
2. Що таке незамінні й замінні амінокислоти? Навести приклади.
3. Як утворюється пептидний зв'язок між молекулами амінокислот?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 13

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВОДОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ

Вітаміни – це група низькомолекулярних органічних речовин, які потрібні для нормальної фізіологічної дії живого організму. Вони входять до складу простетичних груп багатьох ферментів і виконують каталітичні функції, маючи великий вплив на ріст, розвиток, продуктивність та здоров'я тварин.

Більшість вітамінів в організмі тварин не синтезується або утворюється в таких кількостях, які не забезпечують потреби організму.

Якщо у кормах тварин вітамінів немає, виникають глибокі порушення в процесах обміну речовин, які ведуть до захворювань, що називаються авітамінозами; якщо вітамінів не вистачає у раціоні – гіповітамінозами. Вони можуть привести до загибелі організму.

За фізико-хімічними властивостями вітаміни поділяють на дві групи: вітаміни, що розчиняються у воді – В₁, В₂, В₃, В₅, В₆, В₁₂, Н, фолієва кислота, С, Р та вітаміни, що у воді нерозчинні: А₁, D₁, Е₁, К₁, F₁.

ДОСЛІД 1

Якісна реакції на вітамін В₂

Виявлення засноване на відновленні жовтого рибофлавіну спочатку в родофлавін (проміжне з'єднання) червоного кольору, а потім у безбарвний лейкофлавін.

У пробірку вносять 10 крапель суспензії рибофлавіну у воді, додають 5 крапель концентрованої НСІ і занурюють шматочок металевого цинку. Починається виділення пухирів водню і рідина поступово забарвлюється в рожевий колір, а потім знебарвлюється. При збовтуванні знебарвленого розчину лейкоз'єднання знову окислюється киснем, що міститься в повітрі, в рибофлавін (розчин стає жовтим).

ДОСЛІД 2

Якісна реакції на вітамін С

Беруть дві пробірки. В першу наливають трохи розчину, де є вітамін С (витяжка з силосу, сік капусти, яблука та ін.), у другу – дистильовану воду. В обидві пробірки додають декілька краплин

розчину червоної кров'яної солі $K_3[Fe(CN)_6]$. (4,5%) і по декілька краплин 1% розчину хлориду заліза (III). За наявності вітаміну С з'являється синій або зелений колір, який потім дає темно-зелений осад берлінської блакиті. У другій пробірці забарвлення буде буре. Напишіть хімізм цієї реакції.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Дати класифікацію вітамінам. Хімічна структура вітамінів.
2. У чому полягає біологічна дія жиророзчинних вітамінів?
3. У чому полягає біологічна дія водорозчинних вітамінів?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 14

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ЖИРОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ

Вітаміни – це група низькомолекулярних органічних речовин, які потрібні для нормальної фізіологічної дії живого організму. Вони входять до складу простетичних груп багатьох ферментів і виконують каталітичні функції, маючи великий вплив на ріст, розвиток, продуктивність та здоров'я тварин.

Більшість вітамінів в організмі тварин не синтезується або утворюється в таких кількостях, які не забезпечують потреби організму.

Якщо у кормах тварин вітамінів немає, виникають глибокі порушення в процесах обміну речовин, які ведуть до захворювань, що називаються авітамінозами; якщо вітамінів не вистачає у раціоні – гіповітамінозами. Вони можуть привести до загибелі організму.

За фізико-хімічними властивостями вітаміни поділяють на дві групи: вітаміни, що розчиняються у воді – В₁, В₂, В₃, В₅, В₆, В₁₂, Н, фолієва кислота, С, Р та вітаміни, що у воді нерозчинні: А₁, D₁, Е₁, К₁, F₁.

ДОСЛІД 1

Якісні реакції на вітамін А

1. У пробірку наливають розчин олії в хлороформі і додають декілька краплин розчину 1% хлориду заліза (III). За наявності вітаміну А розчин забарвлюється в яскраво-зелений колір.

2. В пробірку наливають декілька мілілітрів розчину олії та по 1 – 2 мл концентрованої сірчаної кислоти. При належності вітаміну А з'являється синій колір, що змінюється на фіолетовий, а потім на червоно-бурий.

Контрольні питання:

1. Дати класифікацію вітамінам. Хімічна структура вітамінів.
2. У чому полягає біологічна дія жиророзчинних вітамінів?
3. У чому полягає біологічна дія водорозчинних вітамінів?

МОДУЛЬ III. БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ ТКАНИН ТА ОРГАНІВ

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 15 ЗАГАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ

Ферменти – білки, що каталізують певні хімічні реакції в процесах обміну речовин і відзначаються надзвичайно високою ефективністю і специфічністю своєї дії.

Усі ферменти можна поділити на два великих класи: 1 - ферменти-протеїни, що складаються лише з білка; 2 – ферменти-протеїди, що містять білок і активну речовину небілкової природи.

У простих ферментах каталітична активність визначається тільки хімічною будовою і просторовим розташуванням поліпептидного ланцюга білкової молекули.

Білковий компонент складних ферментів називають апоферментом, а небілковий – простетичною групою, або коферментом. Міцність зв'язку між білком і простетичною групою в різних складних ферментах неоднакова.

Втративши простетичну групу, складні ферменти дезактивуються. Білковий компонент впливає на ефективність дії складних ферментів і зумовлює специфічність взаємодії між ферментом і субстратом.

І в простих, і в складних ферментах у каталітичному акті безпосередньо бере участь не вся білкова молекула, а лише певні її ділянки, що називаються активним центром ферменту.

Усі різноманітні хімічні перетворення, що складають основу життєдіяльності організму, відбуваються за участю біологічних каталізаторів – ферментів, які є специфічними білками.

Завдяки ферментам проявляється одна з особливостей живих клітин – здатність до здійснення складних реакцій у дуже короткий час за порівняно низької температури. Біологічне значення цього явища дуже велике.

ДОСЛІД 1

Термостабільність ферментів

При реакціях, що каталізуються ферментами, а також при хімічних реакціях, за підвищення температури збільшується реакційна здатність. Але ферменти є білки, які за високої температури можуть незворотно денатуруватися. Для ферментативної дії характерно, що

підвищення температури спочатку приводить до збільшення швидкості реакції, а потім до швидкого її зниження. Температурний оптимум більшості ферментів тваринного тіла близький до температури тіла і лежить у межах $(37 - 40)^{\circ}\text{C}$. Особлива чутливість ферментів до температури є однією з властивостей, що якісно відрізняє їх від неорганічних каталізаторів. При низькій температурі припиняється ферментативна діяльність. Цей процес є зворотним.

ХІД РОБОТИ:

У чотири пробірки наливають по 5 мл розчину крохмалю. В пробірки № 1, №2, №3 додають по 2 – 3 мл розбавленої слини. У четверту пробірку додають 2 – 3 мл прокип'яченої слини. Перемішують вміст кожної пробірки. Першу пробірку ставлять у посуд з кригою (0°C), другу – залишають у штативі при кімнатній температурі, третю і четверту – поміщують у водяну баню при температурі $(38 - 40)^{\circ}\text{C}$.

Через 10 хвилин пробірки, які були в бані, охолоджують і до них додають розчин йоду в йодистому калії (0,02н) (із першої пробірки для реакції з йодом відлити трохи рідини). У першій пробірці рідина забарвлюється в синій колір, у другій – у фіолетовий або червоно-бурий, у третій пробірці – в жовтий, у четвертій – у синій. Якщо помістити пробірку № 1 у водяну баню при $(38 - 40)^{\circ}\text{C}$ на 10 хвилин, відбудеться гідроліз крохмалю, що і покаже реакція з йодом. Таким чином може бути показана зворотна гальмуюча дія низької температури на активність ферменту.

ДОСЛІД 2

Вплив рН на дію ферменту

Активність ферменту змінюється залежно від величини рН. Для дії різних ферментів оптимум рН різний. Взагалі ферментативні властивості має не вся поверхня молекули, а її точно обмежена ділянка. Просторове розташування цієї ділянки є дуже важливим для дії ферменту. Зміна електричного заряду молекули ферменту – білка, що відбувається під впливом рН та пов'язана зі зміною ступеня дисоціації дисоціюючих груп білка, призводить до зміни будови та просторового розташування поліпептидного ланцюга. При зміні ступеня дисоціації одні групи ланцюга наближаються один до одного, а другі – віддаляються. Ця зміна просторового розташування активних

ділянок молекули ферменту під впливом рН і приводить до зміни швидкості ферментативної дії.

ХІД РОБОТИ:

У шести пронумерованих пробірках готують фосфатні буферні суміші з різними рН таким чином:

Реактиви	№ пробірки					
	1	2	3	4	5	6
0,15 М розчин KH_2PO_4	9,5	9,0	7,0	5,0	3,0	1,0
0,15 М розчин Na_2HPO_4	0,5	1,0	3,0	5,0	7,0	9,0
Спостереження
рН буферної суміші	5,59	5,91	6,47	6,81	7,17	8,1

Потім у шість інших пронумерованих пробірок наливають по 5 мл свіжоприготовленого 0,5% розчину крохмалю. В кожену з пробірок додають по 1 мл фосфатної буферної суміші з різним значенням рН. Потім у кожену пробірку доливають по 1 мл розбавленої слини, перемішують і ставлять у водяну баню при $38 - 40^\circ\text{C}$. Через 3 – 5 хвилин із пробірки № 3 беруть кілька крапель розчину і проводять реакцію з розчином йоду в йодистому калії, причому цю операцію повторюють кілька разів (через кожні 2 хвилини) до того часу, доки в пробірці № 3 не відбудеться повне розщеплення крохмалю (з'являється жовто-червоний колір). Після цього в інші пробірки додають по кілька крапель розчину йоду в йодистому калії.

Вміст пробірок забарвлюється в різні кольори відповідно до глибини ферментативного гідролізу крохмалю:

№ пробірки	рН	Колір з йодом
1	5,59	синій
2	5,91	фіолетовий
3	6,47	червоний
4	6,81	жовтий
5	7,17	червоний
6	8,1	фіолетовий

Найбільш повний розклад крохмалю відбувся а пробірці № 3. Це означає, що рН данного розчину (приблизно 6,8) є найбільш сприятливим для дії амілази слини.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Дати визначення поняттю «ферменти»
2. Класифікація ферментів, біохімічні реакції, які вони каталізують;
3. Механізм дії ферментів;
4. Вплив фізико-хімічних факторів на активність ферментів;
5. Особливості будови ферментів;

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №16

СПЕЦИФІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ АМІЛАЗИ СЛИНИ

ДОСЛІД 1

Специфічність дії ферменту амілази

ХІД РОБОТИ:

Беруть чотири пробірки, в пробірки № 1 і № 3 наливають по 4 – 5 мл розчину крохмалю, а в пробірки № 2 і № 4 по 4 – 5 мл розчину сахарози. Потім у пробірки № 1 і № 2 доливають по 2 мл розчину ферменту сахарази, а в пробірки № 3 і № 4 – по 2 мл розведеної слини. Вміст кожної пробірки старанно перемішують і ставлять у водяну баню при температурі 38⁰С. Через 20 хвилин вміст кожної пробірки ділять на 2 частини: з однією із них проводять реакцію Фелінга, а з іншою – пробу з йодом. Добуті результати занести в таблицю:

№ пробірки	Субстрат	Фермент	Реакція Фелінг	Проба з йодом
			Позитивна або негативна	
1	Крохмаль	амілаза		
2	Сахароза	амілаза		
3	Крохмаль	сахараза		
4	Сахароза	сахараза		
Висново				

ДОСЛІД 2

Активатор та паралізатор амілази слини

Великий вплив на активність ферментів здійснює наявність у тканинах ряду хімічних сполук. Одні з них підвищують активність ферментів (активатори), інші, навпаки, значно зменшують ферментативну реакцію (паралізатори або інгібітори). Активатори необхідні для проявлення максимальної активності ферменту. Активатори є необхідною умовою дії ферменту. Ізольований та очищений від домішок активатора фермент часто буває неактивним. Після додавання активатора активність ферменту відновлюється.

Інгібітори гальмують ферментативні реакції, викликаючи структурні зміни білкової молекули ферменту. Уповільнення каталітичної активності ферменту, що викликаються паралізаторами, можуть бути зворотними та незворотними.

ХІД РОБОТИ

У три пробірки наливають по 1 мл таких розчинів: у першу – дистильовану воду, в другу – розчин хлористого натрію, в третю – розчин сульфату міді (II). В усі пробірки додають по 2 мл розчину крохмалю і по 1 мл розбавленої слини. Одночасно поміщують всі пробірки у водяну баню за температури 38°C і через 10 – 15 хвилин усі пробірки разом переносять в склянку з кригою. В усі пробірки додають розчин йоду в йодистому калії. Найкраща дія амілази на крохмаль спостерігається за наявності хлористого натрію, який є активатором амілази слини. За наявності іонів міді розщеплення крохмалю дуже гальмується або повністю припиняється, оскільки CuSO_4 є паралізатором амілази слини.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Дати визначення амілази, класифікацію амілази за видом ферменту;
2. Механізм дії амілази;
3. Розкрити поняття активатору та паралізатору амілази. Які речовини можуть бути активаторами або паралізаторами амілази, відповідь пояснити;
4. Будова молекули амілази, активні центри амілази;

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 17 ВИЗНАЧЕННЯ ДІАСТАЗИ В СЕЧІ ЗА ВОЛЬГЕМУТОМ

ХІД РОБОТИ:

У десять пробірок наливають по 1 мл фізіологічного розчину. В першу пробірку додають 1 мл сечі. З першої пробірки беруть 1 мл і переносять у другу, з другої беруть 1 мл і переносять у третю тощо. З 10-ї пробірки 1 мл рідини виливають. У кожену пробірку доливають по 2 мл 0,1% розчину крохмалю, ретельно збовтують та ставлять усі пробірки у водяну баню при 45⁰С на 15 хвилин. Після закінчення вказаного терміну пробірки негайно охолоджують. Потім у кожену, починаючи з останньої пробірки, додають по 1 краплині 0,02н розчину йоду до утворення стійкого кольору.

У тій пробірці, де рідина забарвлена в синій колір, крохмаль діастазою не розщеплюється. Ферментативна дія закінчилась у попередній пробірці. Якщо, наприклад, у пробірці 6 є нерозщеплений крохмаль, то розраховують, яка кількість сечі утримується в п'ятій пробірці, де зовсім немає синього кольору. Для цього використовують таблицю, приведену нижче. У п'ятій пробірці активність ферменту, що виражається в одиницях діастази, дорівнює 64.

№ пробірки	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Розведення	2	4	8	16	32	64	128	266	512
Одиниці діастази Д = 45/15	4	8	16	32	64	128	256	512	1024

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Як класифікують ферменти? Назвати основні класи ферментів.
2. Яку будову мають ферменти?
3. Чим відрізняються складні ферменти від простих?
4. Що таке термолабільність та температурний оптимум ферменту?
5. Що таке рН-оптимум ферменту?
6. Що таке специфічність ферментів? Якою вона буває?
7. Що таке активатори та інгібітори ферментів?
8. У чому полягає молекулярний механізм активації та інгібування ферментів?
9. Що таке ізоферменти?

10. У чому полягає теорія ферментативного каталізу? Субстрат - ензимні взаємодії.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 18 ВИЗНАЧЕННЯ АМІАКУ В СЕЧІ

Аміак – це кінцевий продукт дезамінування амінокислот та нуклеотидів. Його вміст у сечі залежить головним чином від характеру їжі та функціонального стану печінки. Аміак є токсичною речовиною і для організму шкідливий. В організмі він знешкоджується в печінці та інших тканинах.

Значна кількість аміаку внаслідок спеціальних реакцій перетворюється на індиферентні речовини. Одна з таких реакцій зв'язана з утворенням сечовини. Деяка кількість аміаку використовується для нейтралізації кислот і виводиться з організму через нирки у вигляді амонійних солей.

Принцип методу. За взаємодії амонійних солей з формальдегідом утворюється соляна кислота, яка потім відтитровується лугом.

Хімізм реакції. В нейтральному середовищі амонійні солі розкладаються з утворенням гексаметилентетраміну (уротропіну) та соляною кислотою:



ХІД РОБОТИ:

5 мл свіжої сечі наливають у хімічну склянку, туди ж додають 1 – 2 краплі фенолфталеїну і вносять 0,1 н розчин лугу, доводячи вміст до слабо лужної реакції за фенолфталеїном (слабо рожевий колір). Потім у колбу додають 2,5 мл формольної суміші та титрують 0,1 н NaOH до слабо рожевого кольору, який не щезає протягом 1 хвилини. Підраховують кількість лугу, витраченого на титрування.

Розрахунок: 1 мл 0,1 н розчин лугу еквівалентний 1,7 мг аміаку. Помноживши кількість мілілітрів лугу, витраченого на титрування після додавання формольної суміші, на 1,7, одержують кількість аміаку в 5 мл сечі, яка була взята для досліду.

Приклад розрахунку: На титрування 5 мл сечі витраченого 1,5 мл 0,1 н розчин лугу. Тоді: $X = 1,5 \cdot 1,7 \cdot 100 : 5 = 51,0$ мг % аміаку.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Яким шляхом утворюється аміак у тваринному організмі?
2. У чому полягають шляхи непрямого дезамінування амінокислот?
3. Які відомі шляхи знешкодження аміаку в організмі?
4. Як відбувається синтез сечовини в організмі?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 19 АНАЛІЗ СКЛАДУ НУКЛЕОПРОТЕЇДІВ

Нуклеопротеїди – це складні білки, що складаються з простих білків і пов'язані з нуклеїновими кислотами.

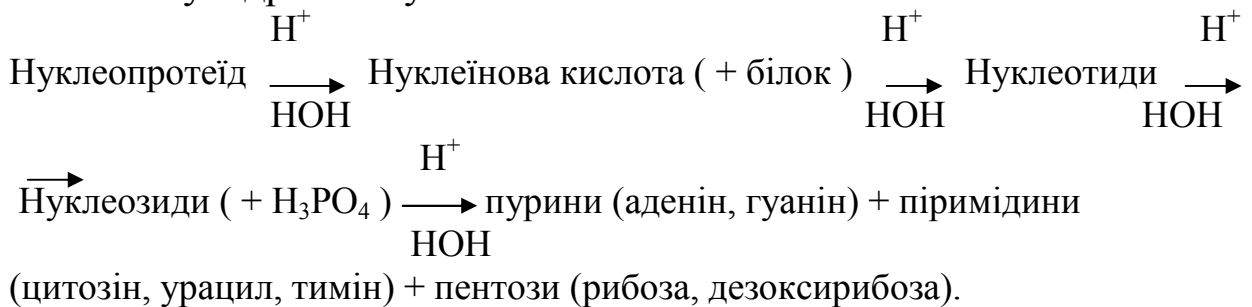
Розрізняють два типи нуклеїнових кислот – рибонуклеїнову та дезоксирибонуклеїнову.

Дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК) входить до складу хромосом ядра клітин, а рибонуклеїнова кислота (РНК) є, головним чином, у цитоплазмі клітини та її структурних утвореннях (мітохондрії, рибосоми). У хімічному відношенні нуклеїнові кислоти – це полінуклеотиди. Кожний мононуклеотид складається з пуринової або піримідинової основи, вуглеводу - пентози (рибоза, дезоксирибоза) та фосфорної кислоти.

До складу РНК як вуглевод входить рибоза, а як пуринові та піримідинові основи – аденін, гуанін, цитозін і урацил.

До складу ДНК замість рибози входить дезоксирибоза, а замість урацилу – тимін.

При кип'ятінні нуклеопротеїдів з розчиненими кислотами проходить їх гідролітичний розклад: спочатку відщеплюються білки, а нуклеїнові кислоти деполімеризуються, потім гідролізуються мононуклеотиди, відщеплюючи пуринові основи, вуглевод пентозу та фосфорну кислоту. Піримідинові основи відщеплюються лише при глибокому гідролізі нуклеїнових кислот:



ДОСЛІД 1

Одержання нуклеопротеїдів з дріжджів

5 г дріжджів поміщають у ступку, додають 10 краплин ефіру і 10 краплин води. Вносять щіпку скляного піску і ретельно розтирають. До гомогенату доливають 30мл розчину NaOH (0,4%) і продовжують розтирання протягом 15 хвилин.

Вміст ступки розливають у три центрифужні пробірки, доводячи об'єм до 10 мл центрифугують протягом 5 – 10 хвилин при 2500 обертах.

Центрифугат з усіх пробірок зливають в одну склянку, постійно перемішуючи паличкою, додають розчин 5% оцтової кислоти (12мл) до повного осадження нуклеопротеїду.

Осад нуклеопротеїду збирають за допомогою другого центрифугування та використовують для реакції гідролізу.

ДОСЛІД 2

Гідроліз нуклеопротеїду

Нуклеопротеїд, одержаний з дріжджів, переносять у колбочку для гідролізу, додають 15мл 5% розчину сірчаної кислоти. Колбочку закупорюють пробкою зі зворотним холодильником і обережно кип'ятять протягом часу.

Після охолодження гідролізат фільтрують у хімічну склянку, і використовують для аналізу продуктів гідролізу.

АНАЛІЗ ПРОДУКТІВ ГІДРОЛІЗУ НУКЛЕОПРОТЕЇДІВ

ДОСЛІД 1

Виявлення простих білків

У пробірку наливають 0,5мл профільтрованого гідролізату, нейтралізують за лакмусом NaOH (10%) і додають ще 0,5мл, потім 2-3 краплини сульфату міді. Пробірку збовтують і спостерігають позитивну біуретову реакцію (рожевий або фіолетовий колір).

Напишіть рівняння реакції.

ДОСЛІД 2

Відкриття пентоз

У пробірку наливають 0,5-1мл гідролізату та нейтралізують за лакмусом 10% розчином NaOH.

До нейтралізованого гідролізату додають рівний об'єм реактиву Фелінга, пробірку збовтують та нагрівають. Спостерігають появу жовто-червоного кольору осаду закисі та окисі міді.

Напишіть рівняння реакції.

ДОСЛІД 3

Відкриття пуринових основ

У пробірку наливають 2мл гідролізату нуклеопротеїду, додають 5-6 краплин концентрованого аміаку до лужної реакції на лакмус. Потім доливають 0,5мл аміачного розчину срібла. Утворюється хлоп'яний осад сріблястих пуринових основ, який поступово осідає на дно.

ДОСЛІД 4

Відкриття фосфорної кислоти

У пробірку наливають 2мл кислого гідролізату, додають 3мл молібденово кислого амонію та 0,4 мл ейконогену. Добре перемішують. Спостерігають появу синього забарвлення суміші.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Напишіть стадії повного гідролізу нуклеопротеїдів.
2. Напишіть формули піридинових та пуринових основ, що входять до складу РНК та ДНК.
3. Напишіть будь-який нуклеотид, що входить до складу ДНК.
4. Яким чином проходить з'єднання нуклеотидів в нуклеїнових кислотах?
5. В чому полягає правило Чаргафа?
6. Будова ДНК та її локалізація у клітині.
7. Будова та види РНК. Її локалізація у клітині.
8. Як проходить перетравлення нуклеїнових кислот у шлунково-кишковому тракті?
9. Особливості синтезу нуклеїнових кислот.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 20

КІЛЬКІСНЕ ТА ЯКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БІЛКА В СЕЧІ

У нормальній сечі дуже невелика кількість білка. При патологічних умовах (запалення нирок, порушення серцевої діяльності та ін.) кількість білка в сечі збільшується так, що її можна визначити звичайними реакціями. Білок сечі складається з сироваточного альбуміну та сироваточного глобуліну. Сеча, що містить кров, також дає реакцію на білок. Поява білка в сечі в нормі не перебільшує 1%, дуже рідко доходить до 4 %, однак бувають випадки, коли вміст білка у сечі доходив до 8 %.

ДОСЛІД 1

Проба з кип'ятінням

У пробірку наливають 3 – 5 мл сечі. Сечу, що кисла за лакмусом, кип'ятять відразу, а сечу лужної реакції перед тим трохи підкислюють 1% оцтовою кислотою, перемішують і потім нагрівають до кипіння. Якщо у сечі є білок, залежно від його кількості, у нагрітій зоні утворюються: опалесценція, муть або властивці від коагульованого білка. При кип'ятінні пробірку утримують нахиленою таким чином, щоб полум'я горілки охоплювало верхній шар рідини. Забороняється пробірку підігрівати знизу, бо закипіла знизу сеча викидається з пробірки. Не треба пробірку утримувати так, щоб полум'я охоплювало скло вище рідини – тоді пробірка від такого нагрівання може тріснути.

Якщо в сечі є білок та нагрівання проводилося тільки у верхній зоні пробірки, то муть, що з'явилася, добре помітна на чорному фоні.

ДОСЛІД 2

Проба з азотною кислотою

У пробірку наливають 1 – 2 мл 50% розчину азотної кислоти, на яку обережно нашаровують, доливаючи по стінці пробірки профільтровану сечу так, щоб утворилося два відокремлених шари : знизу – азотна кислота, зверху – сеча. По лінії зіткнення рідин наявності в сечі білка утворюється каламутний білий шар, або як його звичайно називають, біле коло, що складається з денатурованого білка.

У разі нормальної сечі на межі двох рідин може з'явитися червоне коло внаслідок зміни сечових пігментів під впливом азотної кислоти.

Іноді мутне коло з'являється вище межі. Таке явище може залежати від випадку осадів кислих сечокихслних солей або муцину сечі.

ДОСЛІД 3

Кількісне визначення білка

Вміст білка в сечі визначають за допомогою методу Стольникова. Метод заснований на експериментально установленому факті, який полягає в тому, що коли взаємодіє шар міцної азотної кислоти та шар сечі, через 2 – 3 хвилини утворюється білкове кільце. Це означає, що у пробі сечі міститься приблизно 0,0033% білка.

Для визначення білка досліджувану сечу розчиняють декілька разів водою і знаходять те розведення, при якому виникає кільце. Потім роблять відповідні перерахунки.

ХІД РОБОТИ:

У п'ять сухих пробірок наливають по 2 мл дистильованої води. В пробірку № 1 додають 2 мл профільтрованої сечі. Вміст пробірки ретельно перемішують і 2 мл суміші переливають у пробірку № 2 і т. д. до пробірки № 5. Останні 2 мл суміші з пробірки № 5 виливають. Таким чином, у кожній пробірці залишається 2 мл сечі, розведеної у 2, 4, 8 16 і 32 рази. В кожену пробірку з розведеною сечею обережно доливають по 1 мл азотної кислоти. Через 2 – 3 хвилини оцінюють результат реакції за утворенням білкового кільця.

Припустимо, що в пробірках № 1, 2 і 3 кільце звилося за 1- 2 хвилини, а в пробірці № 4 – за 3 – 4 хвилини. Отже, необхідне для наших умов розведення сечі знаходиться десь між пробірками № 3 і № 4, в яких сеча має розведення у 8 та 12 разів. Знаходять те розведення, де кільце на межі сечі та азотної кислоти з'явилося за 2 – 3 хвилини.

Результати досліджень виражають у грамах білка на 1 л сечі. Для цього найдене розведення сечі помножується на 0,0033.

Наприклад: кільце виникає через 2 – 3 хвилини з розведенням сечі в 10 разів. Тоді вміст білка в 1 л сечі буде: $X = 0,0033 \cdot 10 = 0,033\%$.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Дати класифікацію білків, навести приклади.
2. Як проходить перетравлення білків у шлунково-кишковому тракті?
3. У чому особливості перетравлення білків у жуйних тварин?
4. Як відбувається біосинтез білка у клітинах?

5. Які білки вважаються повноцінними та неповноцінними?
6. Що таке позитивний, негативний, нейтральний азотний баланс?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №21 ВІДКРИТТЯ ПЕРОКСИДАЗИ В РОСЛИННИХ І ТВАРИННИХ ТКАНИНАХ

Пероксидаза – фермент, редуктаза, який каталізує реакцію розпаду пероксиду водню в організмі людини, тварин та рослин. Фермент виконує антиоксидантну функцію, тобто захищає організм від негативного впливу активних форм кисню, які безперервно виникають внаслідок процесів електронного переносу окислювального фосфорилування у мітохондріях клітин. Під дією пероксидази пероксид водню розкладається на воду і молекулярний кисень, який має значно нижчі окислювальну здатність у порівнянні з активними формами кисню. Пероксидаза міститься майже у всіх тканинах рослин і тварин, особливо тих, які безпосередньо контактують з киснем (кров, лімфа, листя тощо). Про наявність пероксидази в тканині роблять висновок під час утворення кисню після додавання розчину перекису водню до тканини.

ХІД РОБОТИ:

Для дослідження беруть зразки тваринних тканин – кров, мязева тканина, лімфа, рослинних – бульби картоплі, листя молодого цибулі, яблуко. Зважуємо на аналітичних терезах хімічний стакан, додаємо до стакану 10 г пероксиду водню (9%), і додаємо до розчину 1 г досліджуваної тканини. При виникненні реакції, аналітичні ваги будуть показувати зменшення маси розчину. Записати значення маси розчину відносно часу – через 10, 20, 30, 40, 50 і 60 с. За зміною маси в часі рахують масу прокаталізованого пероксиду водню відносно часу:

$$M(10\text{ с}) = m_0 - m_{10}$$

$$m(20\text{ с}) = m_{10} - m_{20} \text{ і так далі.}$$

Результати заносимо до таблиці:

Тканина	m ₀	m					
		10 s	20 s	30 s	40s	50 s	60 s
Кров							
Мязи							
Лімфа							
Картопля							
Листя							
Яблуко							

Отримані результати зобразити у вигляді діаграми, зробити висновок, у якому випадку реакція відбувається найінтенсивніше і в якій тканині міститься найбільший вміст пероксидази і пояснити основні причини даного факту.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Дати ферментну класифікацію пероксидази;
2. Особливості будови молекули пероксидази, її активних центрів;
3. Механізм дії пероксидази при розкладі пероксиду водню;
4. Фактори, які посилюють або пригнічують дію пероксидази;
5. Гени, які відповідають за синтез пероксидази, які хвороби виникають при мутації даного гену?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 22 ВИЗНАЧЕННЯ ЦУКРУ В КРОВІ

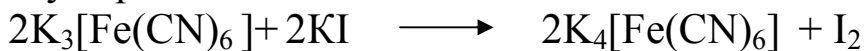
Цукор є постійною складовою часткою крові. Хоч тканини постійно споживають глюкозу і вона періодично надходить з кишечника, проте кількість її в крові завжди стала. Сталість концентрації глюкози в крові підтримує ряд органів і фізіологічних систем, особливо печінка.

Найбільш точним і зручним методом визначення цукру в крові є мікрометод Хагедорна-Ієнсена. Цей метод заснований на відновленні глюкозою заліzosиньородистого калію $K_3[Fe(CN)_6]$ до заліzистосиньородистого калію $K_4[Fe(CN)_6]$ якщо нагрівати її в лужному середовищі з безбілковим фільтратом крові. Заліzистосиньородистий калій треба брати в надлишку, і його залишок визначають йодометрично.

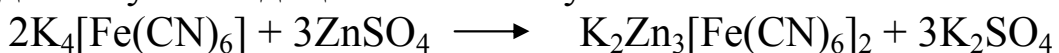
Схема реакції:



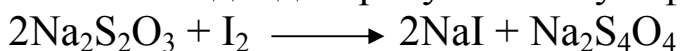
Залишок заліzosиньородистого калію визначають йодометрично в кислому середовищі:



Але ця реакція зворотна і для того, щоб вона відбулася повністю, її проводять за наявності цинку, завдяки якому заліzистосиньородистий калій, що утворився, виходить із кола реакції, випадаючи у вигляді цинкової сполуки:



Вільний йод відтитрують тіосульфатом:



Якщо цукру у крові забагато, тоді невикористаного $K_3[Fe(CN)_6]$ залишається мало, отже, мало виділяється вільного йоду. Відповідно мало тіосульфату потрібно на титрування цього йоду. Отже, між кількістю цукру і кількістю тіосульфату, витраченого на титрування, є не пряма, а зворотна залежність.

Кількість цукру в крові визначають за наслідками титрування за допомогою таблиці за кількістю витраченого тіосульфату.

ХІД РОБОТИ:

Перший етап – вилучення білків.

Білки крові осаджують гідроксидом цинку і кип'ятінням. Для цього попередньо готують гідроксид цинку. В чотири пробірки наливають по 5 мл сульфату цинку і по 1 мл 0,1 н розчину КОН. При цьому утворюється білий колоїдний осад гідроксиду цинку – $Zn(OH)_2$. Кров, яку взяли з вени, видувають у розчин гідроксиду цинку. Піпетку двічі промивають цим розчином, набираючи та випускаючи його назад у пробірку. Кров набирають тільки у дві пробірки – паралельні проби, а дві пробірки використовують для контролю – реактиви без крові (для визначення редуруючих властивостей реактиву). Всі пробірки ставлять на три хвилини в киплячу водяну баню. Білки зсідаються у вигляді сірих згустків, а рідина робиться безбарвною і прозорою. Вміст пробірок фільтрують через заздалегідь промиту гарячою водою вату в широкі пробірки. Осад двічі промивають водою по 3 мл. Промивні води фільтрують через вату.

Другий етап – визначення глюкози.

До безбілкового фільтрату крові та контрольних проб додають (точно) по 2 мл титрованого лужного розчину червоної кров'яної солі (0,005 н). Усі пробірки ставлять на 15 хвилин у киплячу водяну баню. Потім пробірки охолоджують і в кожну з них додають по 3 мл розчину $ZnSO_4 + NaCl + KJ$ і 2 мл 3% оцтової кислоти. Рідина жовтіє від йоду, що виділився. Додають по дві краплі крохмалю в пробірку і на білому фоні титрують з мікробюретки до зникнення синього забарвлення.

РОЗРАХУНОК. Вміст цукру в сечі вираховують з таблиці, що складена з умов застосування для титрування точно 0,005 н тіосульфату. В першій вертикальній колонці вказують узяті цілі мілілітри та їх десяті частки тіосульфату, а у верхній горизонтальній – соті частки мілілітрів. Перехрещення вертикальної та горизонтальної ліній дає кількість цукру в міліграмах на 100 мл крові.

Наприклад, на титрування в першій дослідній пробі пішло 1,3 мл 0,005 н тіосульфату, а в другій пробі – 1,34 мл, в середньому – 1,32 мл. У першій вертикальній колонці знаходять 1,3, а у першому горизонтальному ряді – 0,02. На місті перехрещення вертикальної та горизонтальної ліній, які йдуть від цих цифр, стоїть 120. З цієї величини потрібно відрахувати ту кількість міліграмів "цукру" (редуючих речовин), яку витрачено на контрольний дослід.

Наприклад, якщо на титрування контрольного дослідження пішло 1,86 мл тіосульфату, то це відповідає в таблиці значенню 0,24. Цю величину віднімають зі 120 і одержують 0,95 мл цукру, тобто 95 мг % або 0,095% цукру в крові.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 23 ВИЗНАЧЕННЯ ЦУКРУ В СЕЧІ

Підвищення вмісту цукру крові понад 120 мг % (для людини) спричиняє гіперглікемію, гіпоглікемію. При підвищенні концентрації цукру в крові до 170 – 180 мг % глюкоза з'являється в сечі. Це явище називається глюкозурією. Вміст цукру в сечі досягає 8 – 10%, а іноді й більше.

Гіперглікемія і зв'язана з нею глюкозурія не завжди є патологічним явищем. Вміст цукру в крові і сечі може підвищуватися і внаслідок психічного збудження або введення в організм за один раз такої кількості цукру, яка перевищує асиміляційну спроможність печінки. Такі форми харчової глюкозурії незагрозливі і скоро минають самі по собі. Поява цукру в сечі спостерігається при сказі, нервовій формі чуми собак, порушенні функції печінки, панкреатичної залози та ін. Лактозурія спостерігається при пологовому порозі вимені, закупорці сосків, маститах.

ДОСЛІД 1

Виявлення цукру в сечі за допомогою якісної проби Тромера

До 2 – 3 мл сечі потрібно додати приблизно 1/3 об'єму 10 процентного розчину NaOH, а потім обережно, краплями, розведений розчин сульфату міді до появи невеликої незникаючої при збовтуванні блакитної каламуті гідроксиду міді. Потім рідину в верхній її частині нагрівають до початку кипіння.

Нагрівання ведуть тільки до початку кипіння і чекають не більше 1 хвилини до появи жовто-червоного осаду закису міді. Зміна кольору без осаду може бути, якщо в сечі є муцин, сечова кислота.

ДОСЛІД 2

Кількісне визначення цукру в сечі за методом Фелінга

У невелику порцелянову чашку піпеткою відміряють 10 мл реактиву Фелінга та циліндром – 40 мл дистильованої води. Чашку ставлять на кільце, що закріплене на залізному штативі. Знизу поміщують пальник та гріють рідину до кипіння. Над чашкою закріплюється бюретка. Як тільки рідина у чашці почне кипіти, з бюретки краплями ллють сечу, весь час помішуючи. Коли йде титрування, треба щоб кипіння рідини не припинялося. Титрування

проводять до того часу, поки рідина над утвореним червоним осадом Cu_2O стане безбарвною (але не жовтою).

Витрачена для досягнення цього моменту кількість сечі містить 0,05 г глюкози. Цей метод швидко виконується, але не зовсім точний. Оскільки 1 мл розчину Фелінга відновлює 0,005 г глюкози, то на відновлення 10 мл розчину необхідно 0,05 г глюкози. Отже ця кількість глюкози буде міститися у витраченій кількості кубічних сантиметрів сечі.

Приклад розрахунку: на відновлення 10 мл розчину Фелінгу витрачено 6,5 мл сечі. Це означає, що її 6,5 мл містять 0,005 г глюкози. Звідси вираховують відсоток глюкози в сечі:

$$0,05 \cdot 100 : 6,5 = 0,77\%.$$

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Дати класифікацію вуглеводів, навести приклади.
2. Яку будову мають крохмаль, глікоген, целюлоза?
3. Як іде перетравлення вуглеводів у шлунково-кишковому тракті?
4. Назвіть особливості травлення вуглеводів у жуйних тварин?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 24 ВИЗНАЧЕННЯ КАЛЬЦІУ В МОЛОЦІ

Із загальної кількості мінеральних речовин молока до 20% перепадає на долю кальцію. Кількість кальцію у молоці залежить від видів тварин, характеру харчування, пори року та інших факторів.

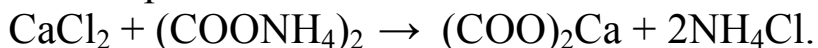
Нормальний розвиток молодих тварин і, в першу чергу, їх ріст і розвиток кістяка значною мірою зумовлений надходженням кальцію з молоком. У молоці кальцій перебуває в оптимальному співвідношенні з фосфором і тому добре засвоюється організмом.

Визначення кальцію в молоці проводять за методом Де-Ваарда.

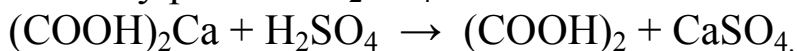
Принцип методу:

Кальцій осаджують безпосередньо насиченим розчином щавлевокислого амонію. Осад щавлевокислого кальцію, що випадає, ізолюють, промивають і розчиняють у міцній мінеральній кислоті. Вільну щавлеву кислоту титрують перманганатом. Якщо відома кількість витраченого на титрування перманганату, визначають кількість щавлевої кислоти, отже, і зв'язаного з нею кальцію.

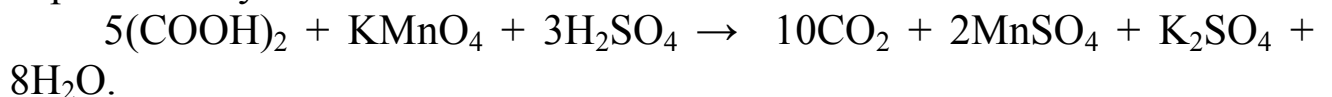
Хімізм реакції:



Отриманий осад щавлевокислого кальцію не розчиняється у лугах, але добре розчиняється у слабких кислотах. Тому осад промивають 2 процентним розчином аміаку і розчиняють у нормальному розчині H_2SO_4 :



Утворену щавлеву кислоту титрують 0,01 н розчином перманганату калію:



З реакції можна зробити висновок, що кількість перманганату калію, витраченого на титрування, еквівалентна кількості кальцію. 1 мл 0,01 н перманганату відповідає 0,2 мг кальцію.

ХІД РОБОТИ:

У циліндр на 10 мл наливають 1 мл молока і 9 мл дистильованої води. Вміст ретельно перемішують. 1 мл розведеного молока переносять у центрифужну пробірку. В обидві пробірки додають по

0,5 мл щавлевокислого амонію. Вміст пробірок ретельно перемішують і залишають на 30 хвилин (можна на добу).

Через 30 хвилин (або добу) вміст пробірок центрифугують 10-15 хвилин при 2500 – 3000 об./хв. Надосадову рідину (обережно, не скаламуючи осад) виливають; до осаду додають 4 мл 2-процентного розчину аміаку і вміст пробірки центрифугують знову. Надосадову рідину виливають у тому ж порядку. Промивання осаду аміаком повторюють ще раз. Остання порція надосадової рідини виливається якомога повніше, а осад використовується в інших реакціях.

Осад розчиняють у 1 мл 1н розчину сірчаної кислоти, потім пробірки ставлять в гарячу водяну баню; через 3 – 5 хвилин гарячий розчин титрують 0,01н розчином перманганату при постійному перемішуванні скляною паличкою до появи блідо-рожевого забарвлення, яке не щезає протягом 1 хвилини.

РОЗРАХУНОК:

$$X = 0,2 (A - B) \cdot 100\%, \text{ де}$$

X – вміст кальцію в мг%;

0,2 – кількість міліграмів кальцію, відповідна 1 мл 0,01н перманганату калію;

A – кількість перманганату калію, витрачена на титрування контролю;

100 – перерахунок на мг%.

Наприклад: на титрування дослідного було витрачено - 0,66 мл 0,01 н розчину перманганату, на титрування контролю (сліпий дослід) – 0,13 мл, тоді:

$$X = 0,2 (0,66 - 0,13) \cdot 100 = 10,6 \text{ мг\%}.$$

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

1. Яке значення мають макроелементи у житті сільськогосподарських тварин?

2. Яке значення мають мікроелементи у житті сільськогосподарських тварин?

3. Фізико-хімічна характеристика води в організмі.

4. Механізм всмоктування води у кишечнику.

5. Значення і обмін в організмі тварин макро- і мікроелементів.

6. Біохімічні зони України.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА:

1. Кононский А. И. Физическая и коллоидная химия / А. И. Кононский. - М : Высшая школа, 1986. – 236 с.
2. Кононский О. І. Біохімія тварин / О. І. Кононский. – К. : Вища школа, 1998. – 426 с.
3. Кучеренко Е. К. Биохимия / Е. К. Кучеренко, Ю.Д. Бабенюк, А.Н. Васильев. – К. : Вища школа, 1990. – 432 с.
4. Губський Ю. І. Біологічна хімія / Ю. І. Губський. – К. : Укрмедкнига, 2000. – 663 с.
5. Строев Е. А. Биологическая химия / Е. А. Строев. – М . : Высшая школа, 1986. – 495 с.
6. Явоненко Л. В. Биохимия / Л. Ф. Явоненко, В. В. Яковенко. – Свердловск : Университетская книга, 2001. – 589 с.

ЗМІСТ

ВСТУП	3
ОЦІНЮВАННЯ ЗНАТЬ СТУДЕНТІВ З ДИСЦИПЛІНИ «БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ З ОСНОВАМИ ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ».....	5
МОДУЛЬ I. ОСНОВИ ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ.....	7
1. Лабораторна робота №1. Вплив розчинів з різним осмотичним тиском на еритроцити та рослинні клітини	7
2. Лабораторна робота №2. рН-метрія питних продуктів харчування.....	10
3. Лабораторна робота №3. Буферні розчини.....	13
4. Лабораторна робота №4. Засоби добування та властивості колоїдних розчинів.....	17
МОДУЛЬ II. БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ.....	22
5. Лабораторна робота №5. Вивчення хімічних властивостей глюкози.....	22
6. Лабораторна робота №6. Визначення глюкози в біологічних рідинах ортотолуїдиновим методом	24
7. Лабораторна робота №7. Визначення йодного та кислотного числа жирів.....	26
8. Лабораторна робота №8. Якісні реакції на холестерин і лецитин.....	28
9. Лабораторна робота №9. Фізико-хімічні властивості білків	31
10. Лабораторна робота №10. Кольорові реакції на білки.....	36
11. Лабораторна робота №11. Визначення ізоелектричної точки білків.....	38
12. Лабораторна робота №12. Розподільча хроматографія амінокислот (низхідна).....	41
13. Лабораторна робота №13. Якісні реакції на водорозчинні вітаміни.....	43
14. Лабораторна робота №14. Якісні реакції на жиророзчинні вітаміни.....	45
МОДУЛЬ III. БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ ТКАНИН ТА ОРГАНІВ.....	46
15. Лабораторна робота №15. Загальні властивості ферментів.....	46
16. Лабораторна робота №16. Специфічні властивості амілази	

слини.....	50
17. Лабораторна робота №17. Визначення діастази в сечі за Вольгемутом.....	52
18. Лабораторна робота №18. Визначення аміаку в сечі.....	54
19. Лабораторна робота №19. Аналіз складу нуклеопротейдів.....	55
20. Лабораторна робота №20. Кількісне та якісне визначення білка в сечі.....	58
21. Лабораторна робота №21. Відкриття пероксидази в рослинних і тваринних тканинах.....	61
22. Лабораторна робота №22. Визначення цукру в крові.....	63
23. Лабораторна робота №23. Визначення цукру в сечі.....	66
24. Лабораторна робота №24. Визначення кальцію в молоці.....	68
25. Список рекомендованої літератури.....	70

Навчальне видання

БІОЛОГІЧНА, ФІЗИЧНА І КОЛОЇДНА ХІМІЯ

методичні рекомендації

Укладач:

Бабич Олександр Анатолійович

Формат 60x84 1/16. Ум. друк. арк. 5.

Тираж 30 прим. Зам. №

Надруковано у видавничому відділі
Миколаївського національного аграрного університету
54020, м. Миколаїв, вул. Г. Гонгадзе, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4490 від 20.02.2013 р.