

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

Факультет агротехнологій

Кафедра ґрунтознавства та агрохімії

БІОХІМІЯ

Методичні рекомендації
до виконання лабораторних робіт
для здобувачів вищої освіти ступеня «бакалавр»
спеціальності 181 «Харчові технології» денної форми навчання

Частина II

Миколаїв
2020

УДК 577.1
Б63

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету агротехнологій Миколаївського національного аграрного університету від 11 червня 2020 р., протокол № 10

Укладач:

Я. В. Діордіца – асистент кафедри ґрунтознавства та агрохімії, Миколаївський національний аграрний університет.

Рецензенти:

О. О. Цвях – канд. біол. наук, ст. викладач кафедри біології та хімії, Миколаївський національний університет ім. В.О. Сухомлинського;

Р. О. Трибрат – канд. с.-г. наук, доцент кафедри технології виробництва продукції тваринництва, Миколаївський національний аграрний університет.

©Миколаївський національний аграрний університет, 2020

ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
Лабораторна робота № 16. Визначення вмісту вітаміну С у плодах йодометричним методом	5
Лабораторна робота № 17. Якісні реакції на водорозчинні вітаміни.....	8
Лабораторна робота № 18. Якісні реакції на жиророзчинні вітаміни.....	12
Лабораторна робота № 19. Визначення вітаміну Р в рослинному матеріалі	16
Лабораторна робота № 20. Виявлення наявності каротиноїдів у біоматеріалі.....	17
Лабораторна робота № 22-23. Загальні властивості ферментів.....	20
Лабораторна робота № 24-25. Визначення активності каталази та пероксидази крові	24
Лабораторна робота № 26. Оцінка якості молока за активністю каталази.....	29
Лабораторна робота № 27. Визначення діастази в сечі за Вольгемутом	31
Лабораторна робота № 28. Вплив розчинів з різним осмотичним тиском на еритроцити та рослинні клітини	33.
Лабораторна робота № 29. Вплив різних чинників на ступінь пошкодження клітинних мембран.....	37
Лабораторна робота № 30. Виділення препарату цитохромів та цитохромоксидази.....	38
Лабораторна робота № 31. Визначення аміаку в сечі	40
Лабораторна робота № 32. Якісне та кількісне визначення білка в сечі.....	42
Лабораторна робота № 33-34. Розподільча хроматографія амінокислот	45
Лабораторна робота № 35. Визначення глюкози в біологічних рідинах.....	48
СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	51

ВСТУП

Біологічна хімія – одна із фундаментальних дисциплін у системі професійної підготовки фахівців зі спеціальності «Харчові технології», оскільки біохімічні процеси лежать в основі зберігання й переробки сировини всіх галузей харчової промисловості. Біохімія відіграє важливу роль в удосконаленні технологічних процесів харчової промисловості, створенні нових раціональних схем та принципів переробки харчової сировини, одержанні високоякісних продуктів.

Предметом дисципліни є вивчення хімічного складу живих організмів, структури біогенних речовин, взаємозв'язку хімічних процесів, що лежать в основі життєдіяльності живих організмів.

Метою викладання дисципліни є засвоєння студентами основних понять біохімії та біохімічних методів дослідження, біохімічних процесів, що відбуваються в живих організмах в процесі їх життєдіяльності, у сировині під час її зберігання та переробки.

Завдання дисципліни – підготувати студентів до вивчення спеціальних дисциплін, в основі яких лежать біохімічні процеси, а саме дисциплін, пов'язаних із вивченням процесів переробки рослинної і тваринної сировини в різних галузях харчової промисловості.

В процесі виконання лабораторних робіт закріплюються теоретичні знання з дисципліни, здобувач вищої освіти навчається загальним правилам роботи з хімічними речовинами, лабораторним обладнанням та посудом у хімічній лабораторії, формує цілісну картину між взаємозв'язками у будові та фізико-хімічними властивостями сполук, формує навички виявлення основних класів органічних речовин у біологічних об'єктах, які будуть в майбутньому складати предмет його дослідження як харчового технолога, формує навички узагальнення отриманих даних і формування висновків.

Дисципліна «Біохімія» базується на ряді фундаментальних дисциплін: «Неорганічна хімія», «Органічна хімія», «Аналітична хімія», Фізична та колоїдна хімія.

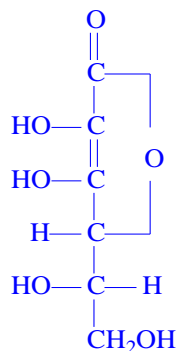
Лабораторна робота № 16

Тема: Визначення вмісту вітаміну С у плодах йодометричним методом

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Вітамін С – водорозчинний вітамін, що широко розповсюджений у рослинній сировині.

Вітамін С – похідне L-гулонової кислоти (2,3-ендіол-L-гулоно-1,4-лактон):



Вітамін С має сильні відновні властивості: відновлює нітрат срібла, Фелінгову рідину. При нагріванні швидко розкладається. Здатність окислюватись і відновлюватись за рахунок інших сполук пов'язана з наявністю в її складі діенольного угруповання. Окислення аскорбінової кислоти може здійснюватися як ферментативно (аскорбіноксидаза), так і неферментативно (кисень повітря, іони Cu^{2+} , Fe^{2+}).

Першим продуктом окислення аскорбінової кислоти є дегідроаскорбінова кислота (2,3-дикетогулонолактон). Дегідроаскорбінова кислота залежно від умов може легко відновлюватися в аскорбінову кислоту або ж піддаватися подальшому окисленню, внаслідок чого вона перетворюється на дикетогулонову кислоту. Остання при наступному окисленні перетворюється на L-треонову і щавлеву кислоти, які видаляються з організму через нирки. Розщеплення дегідроаскорбінової кислоти проходить спонтанно без участі ферментів.

Вітамін С є нестійким, швидко руйнується під дією сонячного світла, кисню повітря та під час нагрівання. Контакт свіжих овочів та фруктів з металевими поверхнями під час подрібнення також призводить до значних втрат аскорбінової кислоти.

Продукти, що містять вітамін С можуть містити фермент **аскорбатоксидазу**. Під час нарізання, шаткування або подрібнення рослинної сировини в результаті порушення цілісності клітин **аскорбатоксидаза** вивільняється та руйнує аскорбінову кислоту.

Головними джерелами вітаміну С є зелені частини рослин, овочі і фрукти. Найбільше його міститься в плодах шипшини, чорній смородині, червоному перці, капусті, а з продуктів тваринного походження вітаміну С найбільше міститься в печінці та молоці.

Вітамін С відіграє в організмі надзвичайно важливу роль. Оскільки він в організмі людини не синтезується, то необхідне постійне надходження його з продуктами харчування.

При нестачі або тривалій відсутності вітаміну С виникають гіпо- та авітамінози. Розвиваються вони найчастіше в зимовий або ранній весняний період, коли вміст вітаміну в харчових продуктах значно знижується. Тривала відсутність вітаміну протягом 3 – 5 міс. призводить до розвитку захворювання, що дістало назву цинги, або скорбуту.

Найхарактернішою ознакою цинги є ураження кровоносних судин, особливо капілярів, яке супроводжується ламкістю їх стінок і підвищенням проникності. Зміни в капілярах призводять до виникнення підшкірних точкових крововиливів (петехій). Спостерігаються також зміни в кістковій та інших мезенхімальних тканинах (хрящах, сухожиллях, дентині зубів), що зумовлено значним зменшенням вмісту колагену. Спостерігається ураження ясен – гінгівіт, що призводить до їх розрихлення, оголення і розхитування зубів, кровоточивості ясен.

Аскорбінова кислота виконує такі функції в організмі:

1. бере участь в обміні амінокислоти проліну, що забезпечує стійкість капілярів та ясен;
2. сприяє окисненню холестерину та зниження його рівня в організмі;
3. покращує засвоюваність заліза;
4. позитивно впливає на імунну систему організму;
5. проявляє детоксикаційні властивості;
6. перешкоджає утворенню надлишку вільних радикалів (антиоксидантні властивості).

Дослід 1. Приготування екстракту аскорбінової кислоти

1. беремо наважку свіжої рослинної сировини масою 10 – 50 г (якщо використовують соки – 1 – 50 г, плоди шипшини – 10 г, консерви 5 – 10 г)
2. подрібнити сировину якомога швидше, уникаючи контакту з металевими предметами (розтерти в ступці)
3. наважку перенести в фарфорову ступку та додати 20 см³ 1% розчину НСІ
4. розтерти до утворення гомогенної маси
5. перенести масу в мірну колбу на 100 см³ ступку сполоснути декілька разів 1% розчином щавлевої кислоти, який потім злити в ту ж колбу
6. вміст колби довести до мітки 1% розчином щавлевої кислоти
7. перемішати та залишити на 5 хв
8. відфільтрувати у суху колбу.

Дослід 2. Визначення вмісту вітаміну С йодометричним методом

Принцип. Аскорбінова кислота відновлює молекулярний йод до йодоводневої кислоти.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
		1
1	Екстракт вітаміну С, мл	10
2	Розчин H ₂ SO ₄ (С = 6 М), мл	4
3	Розчин йоду (С = 0,01 М), мл	20
4	Титрують Na ₂ S ₂ O ₃ (С = 0, 01 М) до появи світло-жовтого забарвлення	
5	1% розчин крохмалю, мл	0,5 - 1
6	Титрують Na ₂ S ₂ O ₃ (С = 0, 01 М) до зникнення синього забарвлення	

Вміст аскорбінової кислоти (мг/100 г продукту) розраховують за формулою:

$$AK = \frac{(C_1 \times V_1 - C_2 \times V_2) \times M_{AK} \times V_k}{1000 \times V_{п}}$$

Де C₁, C₂ – концентрація розчинів йоду та тіосульфату натрію, моль/л;
 V₁, V₂ – кількість розчину йоду, яка вносились та кількість тіосульфату натрію, яку витратили на титрування надлишку йоду, мл;
 M_{AK} – молярна маса еквіваленту аскорбінової кислоти (88 г/моль);
 V_к – об'єм мірної колби, в якій готували витяжку (100 мл);
 V_п – кількість витяжки, яку взяли на титрування (10 мл).

AK = _____

Дані спостережень та розрахунків записують у процесі виконання роботи в таблицю

Зразок продукту	Табличне значення	Результат дослідження	% від добової потреби

ВИСНОВОК

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Наведіть класифікацію вітамінів. До якої групи вітамінів відноситься аскорбінова кислота?

2. Добова потреба людини у вітаміні. Фактори, якими ця потреба обумовлена.

3.Способи зменшення втрати аскорбінової кислоти під час зберігання сировини та в технологічному процесі виробництва страв.

4.Фізіологічна роль аскорбінової кислоти.

5.Вплив нестачі та надлишку вітаміну С на організм людини.

6.Охарактеризуйте йодометричний методи визначення вмісту аскорбінової кислоти в продуктах.

7.Умови проведення екстракції аскорбінової кислоти з продуктів. Чим це зумовлено?

8.Де збережеться більша кількість вітаміну С – під час варіння картоплі у великій кількості води чи на пару? Чому?

9.Індикатори, які використовуються в йодометричному методі визначення вітаміну С.

10.Чому під час внесення йоду до витяжки з вітаміном С він окислює лише аскорбінову кислоту і не взаємодіє з іншими відновниками, які містилися в продукті (наприклад з редукуючими цукрами)?

Лабораторна робота № 17

Тема: Якісні реакції на водорозчинні вітаміни

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

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.

До водорозчинних вітамінів відносять: вітаміни групи В (В₁, В₂, В₃, В₅, В₆, В₁₂), вітамін Н, фолієва кислота, вітамін С, та Р.

Класифікація і номенклатура вітамінів (за Ф.Ф. Босчко, 1995)

Буквені позначення	Назва		Фізіологічна дія	Добова потреба, мг	Ознаки авітамінозу
	раціональна	тривіальна			
С	Аскорбінова кислота	Антискорбутний фактор	Посилює еритропоез, фагоцитарну активність лейкоцитів, стимулює обмін речовин	50 – 70	Ламкість та підвищення проникності капілярів, точкові крововиливи, ураження ясен, цинга
Р	Рутин, цитрин	Капілярзміцнюючий	Виявляє протизапальну та протиалергічну дію	50 – 60	Геморагії, патехії, гіперкератоз, пігментації, еритема кистей рук
В ₁	Тіамін	Антиневритний фактор	Стимулює процеси обміну вуглеводів	2 – 3	Психічна та фізична втома, біль у м'язах, парестезії
В ₂	Рибофлавін	Фактор росту	Стимулює енергетичні процеси	2,5 – 3,5	Ангулярний стоматит, глосит, себорейна екзема
В ₃	Пантотенова кислота	Фактор росту	Забезпечує синтез біологічно активних сполук	7 – 10	Дерматити, депігментація волосся, затримка росту
В ₅ (PP)	Нікотинова кислота	Антипелагрічний фактор	Стимулює обмін речовин, енергетичні процеси	5 – 15	Хвороба трьох Д (дерматит, діарея, деменція)
В ₆	Піридоксин	Антидерматичний фактор	Стимулює білковий обмін та кровотворні процеси	2 – 4	Епілептоформні судоми, хейлоз, глосит, симетричний дерматит
В ₁₂	Ціанкобаламін	Антианемічний фактор	Посилює кровотворні процеси	0,0015	Перніціозна анемія, ахлоргідрія, діарея
В _с (В ₁₀ , В ₁₁)	Фолієва кислота	Антианемічний фактор	Стимулює еритропоез, забезпечує синтез холіну	0,2 – 0,3	Макроцитарна мегабластична анемія
Н	Біотин	Антисеборейний фактор	Стимулює білковий та ліпідний обмін	0,1 – 0,2	Себорейний дерматит, м'язова слабкість, атрофія сосочків язика

ВИКОНАННЯ РОБОТИ

Дослід 1. Якісна реакція на вітамін В₁

Принцип. Тіамін у лужному середовищі під впливом калій гексаціаноферату (III) перетворюється в тіохром, який за присутності

ізобутилового спирту дає інтенсивно-синю флюоресценцію. Ця реакція дуже чутлива та специфічна.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Розчин В ₁ , мл	1
2	Суміш 1% K ₃ [Fe(CN) ₆] і 30% NaOH (1:1), мл	2
3	Добре перемішати та залишити на 3 хв	
4	Тіохром екстрагують 5 мл ізобутилового спирту енергійним та рівномірним струшуванням протягом 2 хв.	
5	Забарвлення:	
6	Екстракт тіохрому в ультрафіолетовій частині спектру дає інтенсивно-синю флюоресценцію	

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

ВИСНОВОК _____

Дослід 2. Якісна реакція на вітамін В₂

Принцип. Реакція ґрунтується на властивості вітаміну легко відновлюватись в присутності цинку та хлоридної кислоти в родофлавін (проміжна сполука) червоного кольору, а потім в безбарвний лейкофлавін.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Розчин В ₂ , краплі	10
2	Розчин HCl конц, краплі	5
3	Цинк	зернина
4	Виділяється водень, що відновлює рибофлавін	
5	Забарвлення:	
6	Рівняння реакції:	

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

ВИСНОВОК _____

Дослід 3. Якісна реакція на вітамін В₆**Принцип.** В₆ з FeCl₃ утворює сполуку типу ферум феноляту.**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Розчин В ₆ , краплі	5
2	Розчин FeCl ₃ , краплі	1
3	Забарвлення:	
4	Рівняння реакції:	

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

ВИСНОВОК**Дослід 4. Якісна реакція на вітамін С****Принцип.** Аскорбінова кислота відновлює молекулярний йод до йодоводневої кислоти.**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Розчин вітаміну С, краплі	10
2	Вода, краплі	10
3	0,1% розчин йоду в калій йодиді, краплі	2
4	Забарвлення:	
5	Рівняння реакції:	

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

ВИСНОВОК**Дослід 5. Якісна реакція на вітамін С з калій гексаціанофератом (III)****Принцип.** Аскорбінова кислота відновлює калій гексаціаноферат (III) в калій гексаціаноферат (II).

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Розчин вітаміну С, мл	1
2	0,1% розчин $K_3[Fe(CN)_6]$, мл	0,5
3	Забарвлення:	
4	Рівняння реакції:	

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Загальна характеристика вітамінів
2. Форми засвоєння вітамінів
3. Загальна характеристика вітаміну В₂, біологічна роль, добова потреба, метаболізм, гіпо-та гіпервітамінози, якісна реакція, продукти харчування, що є джерелом вітаміну.
4. Загальна характеристика вітаміну В₆, біологічна роль, добова потреба, метаболізм, гіпо-та гіпервітамінози, якісна реакція, продукти харчування, що є джерелом вітаміну.
5. Загальна характеристика вітаміну С, біологічна роль, добова потреба, метаболізм, гіпо-та гіпервітамінози, якісна реакція, продукти харчування, що є джерелом вітаміну.
6. Біоантиоксидантні властивості водорозчинних вітамінів

Лабораторна робота № 18

Тема: Якісні реакції на жиророзчинні вітаміни

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

До жиророзчинних вітамінів відносять вітаміни А, D, Е, F, К.

Класифікація і номенклатура вітамінів (за Ф.Ф. Босчко, 1995)

Буквені позначення	Назва		Фізіологічна дія	Добова потреба, мг	Ознаки авітамінозу
	раціональна	тривіальна			
Жиророзчинні вітаміни					
A ₁ A ₂	Ретинол Дегідроретинол	Антиксерофтальмічний фактор	Стимулює процеси росту, запобігає розвитку ксерофтальмії	0,7 – 1,5	Сухість шкіри та слизових оболонок, пригнічення процесів росту та імунних реакцій
D ₂ D ₃	Холекальциферол Ергокальциферол	Антирахітичний фактор	Регулює фосфорно-кальцієвий обмін	0,0012	Підвищена дратівливість, остеомалія, гіпотонія м'язів
E	Токофероли (α-,β-,γ-,)	Антистерильний фактор	Забезпечує нормальний перебіг вагітності	11 – 24	Схильність до раннього переривання вагітності
K ₁ , K ₂	Філохінони	Антигеморагічний фактор	Забезпечує процес зсідання крові	10 – 15	Геморагічний діатез
F	Полієнові вищі жирні кислоти	Фактор росту	Стимулює ріст та розвиток організму	8000 – 10000	Сповільнення росту, некрози, гематурії

Дослід 1. Якісна реакція на вітамін А

Принцип. Сульфатна кислота, що володіє водовіднімальними властивостями, сприяє перетворенню вітаміну А в комплексну сполуку червоно-фіолетового кольору. Реакція специфічністю не володіє.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Розчин вітаміну А, краплі	2
2	H ₂ SO ₄ (конц), краплі	1
3	Забарвлення:	
4	Рівняння реакції:	

Поясніть результати дослідження та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 2. Реакція вітаміну А з ферум (III) сульфатом

Принцип. Вітамін А з ферум (III) сульфатом у кислому середовищі дає сполуку, забарвлену в рожево-червоний колір (каротини дають зеленувате забарвлення).

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Розчин вітаміну А, краплі	2
2	Ацетатна кислота насичена ферум (II) сульфатом, краплі	1-2
	H ₂ SO ₄ (конц), краплі	
3	Забарвлення:	
4	Рівняння реакції:	

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 3. Якісна реакція на вітамін Е

Принцип. Альфа-токоферол окиснюється ферум (III) хлоридом до токоферілхінону.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка має бути сухою!!!
1	0,1% розчин вітаміну Е, мл	0,5
2	10% розчин FeCl ₃ , мл	0,5
3	Інтенсивно перемішати	
4	Забарвлення:	
5	Рівняння реакції:	

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 4. Якісна реакція на вітамін К

Принцип. При взаємодії 2-метил-1,4-нафтохінону з аніліном утворюється 2-метил-3-феніламіно-1,4-нафтохінону.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка має бути сухою
1	0,05% спиртовий розчин вікасолу, краплі	16
2	0,05% розчин аніліну, краплі	2
3	Струшують	
4	Забарвлення:	
5	Рівняння реакції:	

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Загальна характеристика жиророзчинних вітамінів
2. Загальна характеристика вітаміну А, біологічна роль, добова потреба, метаболізм, гіпо-та гіпервітамінози, якісна реакція, продукти харчування, що є джерелом вітаміну.
3. Загальна характеристика вітаміну D, біологічна роль, добова потреба, метаболізм, гіпо-та гіпервітамінози, якісна реакція, продукти харчування, що є джерелом вітаміну/
4. Загальна характеристика вітаміну Е, біологічна роль, добова потреба, метаболізм, гіпо-та гіпервітамінози, якісна реакція, продукти харчування, що є джерелом вітаміну.
5. Загальна характеристика вітаміну К, біологічна роль, добова потреба, метаболізм, гіпо-та гіпервітамінози, якісна реакція, продукти харчування, що є джерелом вітаміну.
6. Загальна характеристика вітаміну F, біологічна роль, добова потреба, метаболізм, гіпо-та гіпервітамінози, якісна реакція, продукти харчування, що є джерелом вітаміну.
7. Біоантиоксидантні властивості жиророзчинних вітамінів.

Лабораторна робота № 19.

Тема: Визначення вітаміну Р в рослинному матеріалі

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Вітамін Р міститься в тих продуктах харчування, що багаті на вітамін С. Висока концентрація вітаміну Р міститься в лимонах, болгарському перці, чаї, чорній смородині. Недостатня кількість в раціоні призводить до підвищеної проникності капілярів та ламкості кровоносних судин.

Авітаміноз зазвичай супроводжується авітамінозом вітаміну С, тому дія вітаміну Р проявляється лише в присутності мінімальної кількості вітаміну С.

Вітамінною активністю володіють декілька сполук. Основу їх складає флавіон. Відрізняються представники кількістю ОН груп в ядрах бензолу.

Препаратами вітаміну Р, що мають практичне значення є:

- 1) Цитрин – виділяють з шкірки цитрусових;
- 2) Вітамін Р, що виділяють з листя чайного дерева;
- 3) Рутин (глікозид кверцетину), що добувають з листя гречки.

ВИКОНАННЯ РОБОТИ

Принцип методу: визначення рутину ґрунтується на його здатності окиснюватись калій перманганатом. Як індикатор використовують індигокармін, який вступає в реакцію з калій перманганатом після того, як окисниться весь рутин. Доведено, що 1 мл 0,1 н розчину калій перманганату окиснює 6,4 мкг рутину. При окисненні індигокармін змінює забарвлення, яке переходить в світло-жовте, червоно-фіолетове, фіалково-синє.

Хід роботи(алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Конічна колба
1	100 мг чаю екстрагувати в 50 мл гарячої води протягом 5 хв.	
2	Екстракт чаю, мл	10
3	Вода, мл	10
4	Індигокармін, краплі	10
5	Перемішати, та відтитрувати 0,05н розчином калій перманганату до появи стійкого жовтого забарвлення	
	Забарвлення до реакції	Забарвлення після реакції
	Вміст рутину в чаї:	

Розрахунок вмісту рутину проводять за формулою:

$$X = \frac{3,2 \cdot A \cdot 50 \cdot 100}{10 \cdot 0,1 \cdot 1000} \text{ мг \%}, \text{ де}$$

3,2 – кількість рутину, що відповідає 1 мл 0,05 н розчину калій перманганату, мкг;

A – об'єм 0,05 н розчину калій перманганату, використаного на титрування, мл;

0,1 – наважка чаю, г;

10 – об'єм екстракту, взятий для аналізу, мл;

50 – загальний об'єм екстракту, мл;

100 – коефіцієнт переведення у відсотки;

1000 – коефіцієнт переведення мікрограмів у міліграми.

ВИСНОВОК

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. З якими іншими водорозчинними вітаміном пов'язана біологічна функція рутину?
2. Який препарат рутину використовується в медицині? З якою метою?
3. Біологічна роль рутину
4. Хімічна будова та метаболізм рутину
5. Гіпер- та гіповітаміноз рутину
6. Природні джерела вітаміну

Лабораторна робота № 20

Тема: Виявлення наявності каротиноїдів у біоматеріалі

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Каротиноїди є найбільш розповсюдженою, багаточисельною та важливою групою природних пігментів у рослинному світі. Відомо більше ніж 600 каротиноїдів, але близько 50 з них відносять до провітаміну А.

Молекула каротиноїдів в основі має полієновий ланцюг, побудований з чотирьох ланок ізопрену, по кінцях якого розташовані циклогексенові або інші аліфатичні залишки (рис. 1).

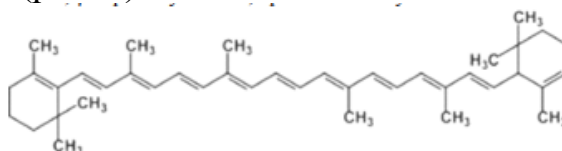


Рис. 1. Загальна формула каротиноїдів

Попередниками вітаміну А є ті каротиноїди, до складу молекул яких входить кільце β-іононо (3,4-дегідріонона), зв'язане з аліфатичним ланцюгом, що містить систему спряжених подвійних зв'язків. Найбільшу біологічну цінність має β-каротин.

Встановлено, що каротиноїди виконують такі функції:

- ✓ нешкідливий харчовий барвник (E160), що надає продуктам харчування тони від блідо-жовтого до червоно-оранжевих відтінків;

- ✓ біологічно активна харчова добавка з лікувально-профілактичними властивостями;
- ✓ адаптоген та радіопротектор, що захищає організм від впливу іонізуючого випромінювання, хімічних канцерогенів та інших шкідливих факторів;
- ✓ антиоксидант, який нейтралізує активні радикали, що утворюються в організмі, а також сприяє подовженню строків зберігання продуктів харчування.

Каротин використовують як харчову добавку для забарвлення масла, маргарину, сиру, майонезу, йогуртів, згущеного молока, кондитерських та борошняних виробів, і в невеликій кількості як вітамінний додаток в продуктах харчування.

Основною сировиною для одержання каротину є морква, гарбуз, обліпиха, люцерна. Каротин також одержують з одноклітинних водоростей, грибів та бактерій.

Якісно та кількісно каротиноїди можна визначити за інтенсивністю максимуму поглинання світла у синьо-фіолетовій ділянці спектра за допомогою фотоколориметричного або спектрофотометричного методів, а також за допомогою хроматографії.

ВИКОНАННЯ РОБОТИ

Дослід 1. Виявлення каротиноїдів у біоматеріалі

Принцип методу: сульфатна кислота, що володіє водовіднімаючими властивостями, сприяє перетворенню вітаміну А в комплексну сполуку червоно-фіолетового кольору.

Хід роботи(алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Кінчна колба
1	0,5 г подрібненої моркви внести у фарфорову ступку	
2	Вода, мл	1
3	Розтерти до гомогенного стану	
4	Додати ефір (Тяга!!!), мл	1
5	Струшувати в Шуттель-апараті протягом 10 хв	
6	Після розшарування суміші 0,5 мл верхнього шару перенести в чисту пробірку	
7	Додати конц. H ₂ SO ₄ , краплі	3-4
	Забарвлення до реакції	Забарвлення після реакції

Аналогічний дослід провести з морквою, пасерованою в жирі.

Пояснити результати дослідів та записати висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 2. Кількісне визначення каротину у біоматеріалі

Принцип методу: каротин екстрагується із продуктів органічними розчинниками. При цьому він надає їм характерний жовто-оранжевий колір. Отриманий екстракт колориметрують, порівнюють зі стандартним розчином каротину (містить у 1мл розчинника 0,00203 мг каротину) та визначають його концентрацію.

Хід роботи(алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Конічна колба
1	1 г подрібненої моркви розтирають у ступці з прожареним піском	
2	Додають ацетон або 95-96% спирт, мл	1-2
3	Розтерти до гомогенного стану	
4	Фільтрують	
5	До осаду, що залишився в ступці додають 2-3 мл ацетону або спирту і розтирають. Екстракт знову фільтрують. Процедуру повторюють до повного знебарвлення доданого для екстрагування ацетону або спирту.	
6	До витяжки додають бензин, мл	5-10
7	Вода, мл	2-3
8.	Закрити пробірку та перемішати	
9.	Після розшарування каротин переходить у верхній шар, а нижній шар ацетону з водою відокремлюють ділильною лійкою	
10.	У пробірку з витяжкою додають безводний Na ₂ SO ₄ , г	1
11	Пробірку збовтують до того часу, поки розчин стане прозорим	
12	Виміряти об'єм витяжки за допомогою циліндру	
13	Розчин колориметрують на ФЕК при червоному світлофільтрі і порівнюють його екстинцію зі стандартним розчином каротину, що містить в 1 мл 0,00203 мг каротину	
14.	Вміст каротину в моркві:	

Кількість каротину визначають за формулою:

$$C_2 = C_1 \times E_2/E_1, \text{ де}$$

E_1 – екстинція стандарту;

E_2 – екстинція каротинової витяжки;

C_1 – концентрація стандартного розчину каротину;

C_2 – концентрація каротину у витяжці.

Для визначення вмісту каротину в 1 г досліджуваної моркви, необхідно отриману концентрацію каротину в зневодненій бензиновій витяжці (C_2) помножити на кількість мілілітрів витяжки. Якщо отримане число помножити на 100, отримаємо вміст каротину в моркві у мг %.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

ВИСНОВОК

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Що таке каротиноїди? Яка їх будова?
2. Яка будова α -та β -каротину? В чому різниця між ними?
3. Біологічна роль каротинів?
4. Яким чином β -каротин перетворюється на вітамін А?
5. З якою метою проводили пасерування моркви в жирі?
6. Продукти харчування, що містять каротини.

Лабораторна робота № 22-23

Тема: Загальні властивості ферментів

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Ферменти (ензими) – це біологічні каталізатори білкової природи, які утворюються в живих клітинах і володіють здатністю прискорювати хімічні процеси в організмі.

Всі ферменти є простими або складними білками. Протеїни (прості білки) – складаються лише з білкової частини, а протеїди складаються з білкової частини (апоферменту) та небілкової – простетичної групи або кофактору.

Для ферментів характерні всі властивості: добре розчиняються у воді, в розбавлених розчинах кислот, лугів, солей і деяких органічних розчинниках; водні розчини ферментів проявляють типові ознаки ліофільних колоїдних систем; висока молекулярна маса; проявляють амфотерні і володіють високою хімічною активністю.

Ферменти – термолабільні сполуки. При дії високих температур вони денатуруються, що призводить спочатку до зменшення, а потім і до припинення каталітичних функцій. Температурний оптимум дії більшості ферментів тварин знаходиться в межах температури тіла – 37 – 40°C.

Кожний фермент проявляє максимальну для нього каталітичну дію при певному значенні рН, яке називається *pH-оптимумом*. Більшість ферментів проявляє максимальну каталітичну активність при рН = 7. Зміни рН уповільнюють або припиняють дію ферментів.

Ферменти – високоспецифічні сполуки (кожний фермент діє на певний субстрат або групу речовин, схожих за своєю будовою). Специфічність дії ферментів пояснюється подібністю просторових конфігурацій активного центру ферменту і субстрату, їх хімічною спорідненістю, що призводить до утворення фермент-субстратного комплексу і здійснення каталітичного процесу. Без специфічності ферментів був би неможливий впорядкований ланцюг реакцій обміну речовин.

На активність ферментів впливає багато речовин. Речовини, що підвищують активність ферментів називають активаторами, а речовини, що пригнічують дію ферментів – *інгібітори*, або паралізатори. Нерідко одні і ті ж речовини для одних ферментів можуть бути активаторами, для інших – інгібіторами. Так, соляна кислота є активатором для пепсину і інгібітором для амілази слини.

Виконання роботи

Дослід 1. Вплив температури на активність амілази

Принцип. При 37-40°C швидкість ферментативної реакції найвища – температурний оптимум. При підвищенні температури швидкість більшості ферментативних процесів зменшується. Це пояснюється тепловою денатурацією молекули ферменту і втратою каталітичної активності.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

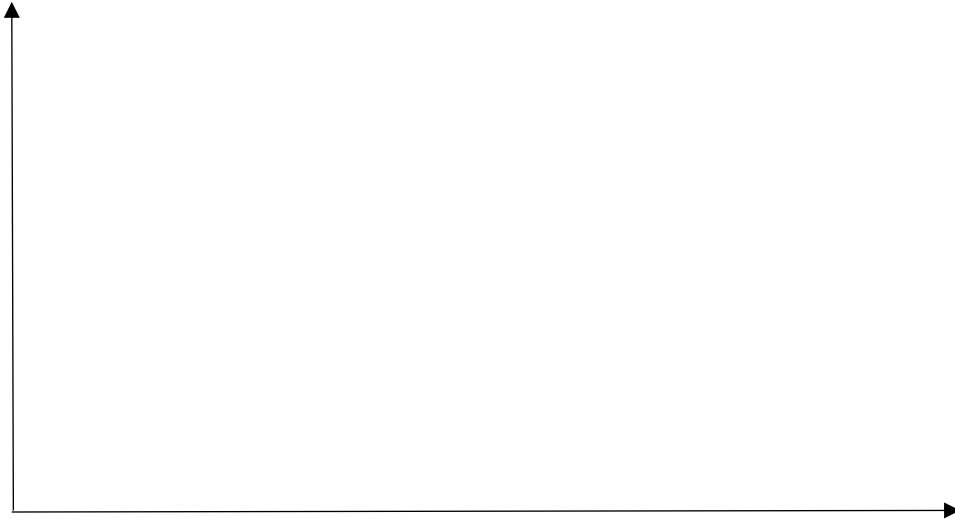
№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки			
		1	2	3	4
1	слина, мл	0,2	0,2	0,2	0,2
2	кипятіння на водяній бані 10 хв	+	-	-	-
3	крижана баня 10 хв	-	+	-	-
4	кімнатна температура	-	-	+	-
5	інкубація в термостаті при 37°C 10 хв	-	-	-	+
6	1% розчин крохмалю, мл	1	1	1	1
4	Розчин йоду, краплі	1	1	1	1
	Забарвлення:				

Спостереження відмічати на початку дослідження та через 2, 5, 10, 15 хв. після додавання крохмалю пробою з розчином Люголя. Пробу проводити на предметному скельці.

Результати спостережень вносять в таблицю.

№ пробірки	Температурний режим	Реакція з розчином Люголя через певні проміжки часу (хв)				
		0	2	5	10	15
1						
2						
3						
4						

Залежність активності амілази від температури відобразити на графіку



Поясніть результати дослідження та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 2. Вплив рН середовища на активність амілази.

Принцип. Вплив рН на активність ферментів пояснюється тим, що білкова молекула ферменту є амфотерним поліелектролітом і його каталітична активність залежить від ступеня іонізації функціональних груп, які входять в його активний центр. Зміщення рН від оптимуму порушує зв'язок між білковою частиною ферменту та їх простетичними групами, що гальмує зв'язок субстрату з ферментом. рН середовища, при якій активність ферменту є максимальною, називається рН-оптимум.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки		
		1	2	3
1	1% розчин крохмалю, мл	5	5	5
2	Фосфатний буфер, рН 5,6, мл	1	-	-
3	Фосфатний буфер, рН 6,8, мл	-	1	-
4	Фосфатний буфер, рН 8,1, мл	-	-	1
5	слина, мл	1	1	1
інкубація в термостаті при 37°C 20 хв				
6	Розчин йоду, краплі	1	1	1
	Забарвлення:			

Поясніть результати дослідження та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 3. Специфічність дії амілази та сахарози

Принцип. Амілаза слини прискорює гідроліз полісахаридів та не впливає на дисахариди. Сахароза, що міститься в екстракті дріжджів, розщеплює тільки сахарозу. Продуктами гідролізу полі- та дисахаридів є моносахариди, зокрема, глюкоза, яка може бути відкрита реакцією Тромера. Позитивна реакція Тромера свідчить про повний гідроліз крохмалю та сахарози під впливом відповідних ферментів. Позитивна реакція з йодом вказує на відсутність гідролізу крохмалю.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

Реактиви, послідовність додання	Пробірки							
	1	2	3	4				
1% розчин крохмалю, мл	5	5	-	-				
2% розчин сахарози, мл	-	-	5	5				
Слина, мл	1	-	1	-				
Екстракт дріжджів, мл	-	1	-	1				
Інкубація пробірок в термостаті при 38-40°C протягом 20 хв								
Вміст кожної пробірки ділимо на 2 частини								
	1	1a	2	2a	3	3a	4	4a
Розчин йоду, краплі	1		1		1		1	
Реакція з йодом (+) чи (-)								
10% розчин NaOH, краплі		10		10		10		10
1% розчин CuSO ₄ , краплі		3		3		3		3
Реакція Тромера (+) чи (-)								

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 4. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази

Принцип. Вплив NaCl та CuSO₄ на активність амілази визначали за зміною швидкості гідролізу крохмалю під дією ферменту. Ступінь зменшення крохмалю оцінювали за реакцією з йодом.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

Реактиви, послідовність додання	Пробірки		
	1	2	3
Вода, мл	1	-	-
1% розчин NaCl, мл	-	1	-
1% розчин CuSO ₄ , мл	-	-	1
Слина, мл	1	1	1

1% розчин крохмалю, мл	0,5	0,5	0,5
Інкубація при кімнатній температурі протягом 5 хв			
Розчин йоду, краплі	1	1	1
Вода, мл	2	2	2
Забарвлення:			

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Загальна характеристика амілази та сахарози
2. Як впливає температура на активність амілази?
3. Як можна виявити зміну активності амілази?
4. Які значення температурного оптимуму для амілази?
5. Чим пояснюється чутливість ферментів до рН середовища?
6. Як зміна рН впливає на активність амілази?
7. В яких межах рН лежить активність більшості ферментів? Чому?
8. Поняття специфічності та її різновиди. Який різновид специфічності характерний для амілази та сахарози?
9. Яким чином виявляють активність сахарози?
10. Які аніони є активаторами дії амілази?
11. Яким чином активатори впливають на активність ферментів? Як перевірити їх дію?

Лабораторна робота № 24-25

Тема: Визначення активності каталази та пероксидази

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Оксидази – ферменти, що передають електрони від субстрату на кисень. При цьому утворюється вода, пероксид гідрогену (H₂O₂) або супероксидний аніон оксисену (O²⁻). Для зешкодження токсичних речовин та радикалів в організмі існує антиоксидантна система, що утворена рядом ферментів.

Каталаза – фермент класу оксидоредуктаз, що входить до складу антиоксидантної системи клітини та виконує функцію захисту від перекисів. Біологічна роль каталази полягає в захисті живих організмів від високих концентрацій перекису водню шляхом розщеплення його на молекулярний кисень та воду:



Каталаза має високу специфічність відносно перекису водню: вона не розкладає інші перекиси, а при взаємодії з H₂O₂ проявляє високу активність.

Активність каталази крові – біомаркер порушення метаболічних процесів в організмі, що є проявом ендотоксикозу.

Каталаза належить до хромопротеїдів, складається з 4 субодиниць, що містять гем. Локалізована переважно в пероксисомах клітин та цитоплазмі. У людини каталаза у великій кількості міститься в еритроцитах, печінці та нирках.

Активність ферменту виражають каталазним числом і показником каталази.

Каталазне число – це кількість мг H_2O_2 , яку розкладає 1 мкл крові за певний проміжок часу. Кількість H_2O_2 , що розклався, визначають за різницею між об'ємами калій перманганату, витраченими на титрування контрольної та дослідної проб.

Однак визначення каталазного числа без визначення кількості еритроцитів є недоцільним, оскільки кількість фермента є залежною від кількості еритроцитів. Тому в клініці використовують не каталазні числа, а показник каталази.

Показник каталази – це відношення каталазного числа до числа мільйонів еритроцитів в 1 мкл крові, що досліджувалась. Цей показник становить у нормі $2-3 \times 10^{-6}$.

Висока активність каталази спостерігається при анеміях, при введенні в організм кофеїну, ацетонових тіл, алкоголю.

Пониження активності ферменту спостерігається при злоякісних пухлинах, інфекційних захворюваннях, таких як черевний тиф, скарлатина, малярія, туберкульоз легень.

Пероксидаза – фермент класу оксидоредуктаз, що каталізує окиснення субстратів і має високу специфічність до окиснення перекису водню. Широко поширена в рослинних тканин, проте наявна і у тварин. Клітини рослин містять особливий вид органел, що містять в собі пероксидазу та виконують протимікробну функцію. У великих кількостях вона міститься в коренях хрину, молочному соці інжиру, грибах, що руйнують дерева, соці чорної редьки. У тварин у значній кількості міститься в нейтрофільних гранулоцитах крові, купферовських клітинах печінки, еритроцитах, тромбоцитах, слюних та молочних залозах, слизових оболонках кишечника. Вона каталізує розклад перекису водню до води та атомарного кисню, який є сильним окисником.

Фермент входить до складу антиоксидантної системи рослин, здатний каталізувати реакції оксидазного, пероксидазного і оксигеназного окиснення. Каталізує окиснення різних поліфенолів, амінів, жирних кислот та інших сполук за допомогою перексиду гідрогену або органічних перекисів.

Пероксидаза, як і каталаза відноситься до гемопротеїдів, простетична група має у складі ферум, що з'єднується із залишками чотирьох пірольних кілець.

Активність пероксидаз змінюється при стресі, пошкодженні клітин, вірусному або мікробному інфікуванні організму, алергії, злоякісних новоутвореннях.

Хід роботи

Дослід 1. Якісне визначення каталази в крові

Принцип. Каталаза, що міститься в біоматеріалі розщеплює перекис водню на молекулярний кисень та воду:



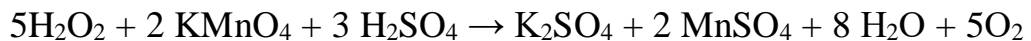
Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
		контроль	дослід
1	Дистильована вода, мл	3	3
2	Кров, краплі	-	2
3	1% розчин H_2O_2 , мл	1	1
4	Спостереження:		

ВИСНОВОК: _____

Дослід 2. Визначення активності каталази крові за методом Баха і Зубкової

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



Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Колби	
		контроль	дослід
1	Дистильована вода, мл	7	7
2	Розведена кров (1:1000), мл	1	1
3	1% розчин H_2O_2 , мл	2	2
4	10% розчин H_2O_2 , мл	3	-
5	Інкубація при кімнатній температурі 30 хв		
6	10% розчин H_2O_2 , мл	-	3
7	Титрують вміст обох колб 0,1М робочим розчином до появи рожевого забарвлення		
8	Об'єм робочого розчину, який пішов на титрування, мл		

Каталазне число розраховують за формулою:

$$КЧ = 1,7 \times (V_1 - V_2)$$

1,7 – кількість міліграмів H_2O_2 , що міститься в 1 мл 0,1М розчину.

В нормі КЧ = 10 – 15 одиниць.

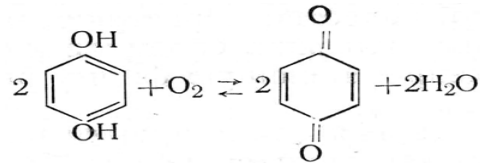
КЧ = _____

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

ВИСНОВОК _____

Дослід 3. Виявлення пероксидази в біоматеріалі

Принцип. При окисненні гідрохінону в бензохінон розчин буріє. Відбувається реакція:



Спостерігається деяке побуріння самого картопляного соку без додавання гідрохінону і пероксиду гідрогену, що пов'язано з дією поліфенолоксидази, яка окислює поліфеноли тканин картоплі за участю молекулярного кисню.

Хід роботи. (алгоритм наведено у таблиці):

1. Натерти на тертушці картоплю
2. Віджати сік з одержаної маси
3. Сік вносять в 4 пробірки за схемою:

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки			
		1	2	3	4
1	1% гідрохінон, мл	5	5	5	5
2	3% H_2O_2 , мл	1	1	-	1
3	Сік свіжий, мл	1	-	1	-
4	Кип'ячений сік, мл	-	-	-	1

Результати досліду занесіть до таблиці

Таблиця 3

Інтенсивність забарвлення розчину при різних умовах досліду

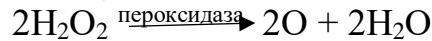
Варіант	Склад суміші в пробірці			Інтенсивність забарвлення розчину
	Картопляний сік	Пероксид гідрогену	гідрохінон	
1	+	+	+	
2	-	+	+	
3	+	-	+	
4	+	+	+	

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 4. Визначення активності пероксидази крові

Принцип. Активність пероксидази визначають за швидкістю окиснення барвника індигокарміну атомарним киснем, який утворюється при розщепленні гідроген пероксиду.



Хід роботи. (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Колби
		1
1	Ацетатний буфер, мл	2
2	Розведена кров (1:1000), мл	3
3	дистильована H_2O , мл	2
4	розчин індигокарміну ($C_n = 0,001$), краплі	8
5	розчин H_2O_2 ($C_n = 0,2\text{M}$), мл	2
6	Перемішують та фіксують час (в секундах), за який синє забарвлення індигокарміну перейде в жовте.	

В нормі активність пероксидази в крові становить 30 – 50 с.

Активність пероксидази _____

ВИСНОВОК

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Класифікація ферментів
2. Номенклатура ферментів
3. Загальна характеристика оксидоредуктаз
4. Загальна характеристика каталази
5. Біологічна роль каталази
6. Діагностичне значення каталази
7. Поняття антиоксидантів
8. Загальна характеристика пероксидази, її біологічна роль

Лабораторна робота № 26

Тема: оцінка якості молока за активністю каталази

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Один зі способів виявлення аномального молока – визначення активності каталази. Цей фермент володіє абсолютною специфічністю по відношенню до перекису водню, що є сильною клітинною отрутою.

При різноманітних захворюваннях вим'я, особливо при маститі та порушенні секреції у корів зростає активність оксидаз, що утворюють перекис водню. Захисною реакцією організму на збільшення концентрації перекису водню є збільшення секреції каталази.

В молоці розрізняють каталазу нативну та каталазу бактеріального походження.

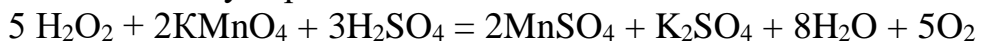
Нативна каталаза утворюється в крові та паренхімі залози і виділяється при секреції молока. Збільшення каталази відбувається при одночасному збільшенні кількості лейкоцитів в молоці. Це свідчить про порушення секреції. Різке збільшення концентрації каталази спостерігається також в молозиві і молоці, що отримане в кінці лактації.

Каталаза бактеріального походження виділяється мікроорганізмами, що обсіменили молочну залозу або потрапили в молоко після доїння.

Здатність мікроорганізмів до утворення каталази різна. Наприклад, молочнокислі бактерії не утворюють каталазу. У значній кількості каталазу утворюють аеробні гнильні бактерії групи кишкової палички.

Саме через це визначення активності каталази можна використовувати для контролю якості молока.

Принцип перманганатометричного методу полягає в визначенні кількості перекису водню, що розкладається каталазою, яка міститься в 1 см³ молока за 1 хв при 25°C. Кількість перекису водню, що розклалася в результаті реакції знаходять методом зворотного титрування. Для цього перекис водню вводять в надлишку, з таким розрахунком, що він не може бути повністю розщеплений каталазою. Перекис водню, що не розклався відтитровують калій перманганатом в кислому середовищі:



Аналіз проводять паралельно з дослідним та контрольним зразком, в якому каталаза інактивована високою температурою. В контрольному варіанті перекис водню не буде розкладатися каталазою і кількість KMnO_4 буде еквівалентна внесеному H_2O_2 . Таким чином, різниця між об'ємом KMnO_4 витраченого на титрування в контрольній та дослідній пробі, вказує на кількість перекису, що розколався.

Активність каталази виражають в стандартних одиницях (Е), що відповідає кількості ферменту, яка міститься в 1 г субстрату і каталізує перетворення 1 мкмоль субстрату за 1 хв за стандартних умов (25°C, оптимальне рН, концентрація субстрату).

Хід роботи

1. Зразок молока ділять на дві частини.

2. Одну частину кип'ятять, а потім охолоджують (контроль)
3. Наносять на конічні колби маркування «дослід» та «контроль» та за допомогою піпеток вносять у них зразки молока.
4. Проводять операції згідно з таблицею.

Зразок	Молоко, см ³		об'єм води, см ³	Нагрівання на водяній бані	об'єм 0,3% H ₂ O ₂ , см ³	Витримка в термостаті при 25°C, хв	об'єм 10% H ₂ SO ₄ , см ³	об'єм 0,1 моль/дм ³ KMnO ₄ , витрачений на титрування, см ³
	сире	кип'ячене						
Контроль	-	2	98	До 25±1°C	25	30	5	
Дослід	2	-	98	До 25±1°C	25	30	5	

5. Дистильовану воду відміряють циліндром, H₂O₂ вносять піпеткою та закривають колби корками.
6. Після витримки в термостаті в колби вносять H₂SO₄ з бюретки.
7. Вміст колб титрують з бюретки розчином перманганату до появи рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 1 хв.

Активність каталази розраховують за формулою:

$$A = \frac{(V_k - V_o) \cdot 1,7}{V_m \cdot t \cdot 0,034},$$

A – активність каталази в стандартних одиницях, E;

V_k - об'єм перманганату калію, витраченого на титрування контрольної проби, см³;

V_o - об'єм перманганату калію, витраченого на титрування дослідної проби, см³;

1,7 – маса перекису водню, що відповідає 1 см³ розчину перманганату калію з еквівалентною концентрацією 0,1 моль/дм³, мг;

V_m - об'єм молока, см³;

t – тривалість витримки молока з розчином перекису водню, хв;

0,034 – маса 1 мкмоль перекису водню, мг.

Після підстановки відомих значень (об'єм молока 2 см³, тривалість витримки 30 хв) формула набуває вигляду:

$$A = (V_k - V_o) \cdot 0,83$$

Результат оцінюють згідно даних таблиці:

Активність каталази, E	Молоко
4 - 16	Від здорових тварин
37-50	стародійна
50-94	молозиво
62 і більше	мастит

Розрахунок:

A =

ВИСНОВОК

Лабораторна робота № 27

Тема: Визначення діастази в сечі за Вольгемутом

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Діастаза (альфа-амілаза) сечі – гідролітичний фермент, що каталізує гідроліз полісахаридів, що містять α -D-глюкозу (крохмаль та глікоген), до простих моно- і дисахаридів (мальтози, глюкози). Розриваються зв'язки між α -1 і 4 атомами вуглецю.

Утворюється фермент переважно в підшлунковій та слинних залозах. Розрізняють відповідно панкреатичний та слинний ізоферменти. Фермент виводиться через нирки у незмінному стані, відповідно збільшення амілази в сироватці призводить до збільшення її в сечі. Із сечею виділяється в основному P-амілаза, що є однією з причин більшої інформативності про функціональний стан підшлункової залози уроамілази, ніж амілази сироватки крові. Вважають, що 65 % амілазної активності сечі зумовлено панкреатичною амілазою. Цим пояснюється та обставина, що при гострому панкреатиті саме її вміст збільшується в сироватці (до 89 %) і особливо в сечі (до 92%) без зміни показників амілази слинних залоз.

Визначення активності альфа-амілази має велике значення в діагностиці захворювань підшлункової залози. Підвищення активності альфа-амілази в сироватці крові в 2 і більше разів повинно розцінюватися як симптом ураження підшлункової залози. Невелика гіперамілаземія дає підставу запідозрити патологію підшлункової залози, але іноді спостерігається при захворюваннях інших органів.

Відомо, що активність альфа-амілази пригнічується при дії великої кількості молекул нейтральних жирів на активний центр ферменту. У зв'язку з цим слід особливо уважно підходити до інтерпретації результатів дослідження активності альфа-амілази у хворих на панкреатит із супутнім порушенням ліпідного обміну.

Принцип. Метод кількісного визначення активності діастази (амілази) сечі за методом Вольгемута полягає в тому, що знаходять найменшу кількість ферменту, яка повністю розщеплює всю кількість доданого крохмалю. Для цього спочатку проводять покрокове розведення сечі, а після проведення

реакції розраховують активність амілази в 1 мл цільної сечі. Амілазна активність сечі в нормі коливається від 16 до 64 одиниць.

Хід роботи

1. У 7 пробірок наливають по 1 мл фізіологічного розчину.
2. В першу пробірку додають 1 мл досліджуваної сечі, перемішують.
3. З першої пробірки беруть 1 мл суміші і переносять у 2 пробірку, з 2 пробірки беруть 1 мл суміші і переносять у 3 пробірку і т.д. З 7-ї пробірки 1 мл суміші виливають.
4. У кожену пробірку доливають по 2 мл 0,1% розчину крохмалю, ретельно збовтують та ставлять усі пробірки у водяну баню при 38⁰С на 30 хвилин.
5. Після закінчення вказаного терміну у кожену пробірку додають по 1 краплі 0,02н розчину йоду.
6. Визначають розведення сечі (Р) в останній пробірці з жовтим забарвленням. 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.

№ пробірки	1	2	3	4	5	6	7
Розведення сечі	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128
Забарвлення після додавання йоду							

Активність амілази розраховують за формулою $A = 2 \times P$, де 2 – кількість 0,1% розчину крохмалю, що використовувався в досліді.

Наприклад, якщо остання пробірка, в якій з'явилося жовте забарвлення – третя, то розведення сечі в ній дорівнює 1:8, а активність амілази $A = 2 \times 8 = 16$.

Розрахунок:

$$A = 2 \times P =$$

ВИСНОВОК

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. ферментів?
10. Що таке ізоферменти? У чому полягає теорія ферментативного каталізу? Субстрат- ензимні взаємодії.

Лабораторна робота № 28

Тема: Вплив розчинів з різним осмотичним тиском на еритроцити та рослинні клітини

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Осмос (від грецьк. *ōsmos* – поштовх, тиск) – це однобічна дифузія молекул води через напівпроникну мембрану з ділянки з низькою концентрацією розчиненої речовини в ділянки з більшою концентрацією.

Осмос відіграє велику роль у фізіологічних процесах організму. Засвоєння їжі, обмін речовин тісно пов'язані із різною проникною здатністю клітинної мембрани для води та розчинених речовин.

Осмос обумовлений прагненням системи до термодинамічної рівноваги і вирівнювання концентрацій розчину з обох сторін мембрани. Таким чином, будь-яка осмотична система припускає наявність мембрани, проникної у першу чергу для молекул води. Молекули розчинника при своєму русі, натрапляючи на напівпроникну перегородку, вільно проникають через неї, молекули розчиненої речовини перебувають у стані теплового руху, наштовхуються на напівпроникну перегородку, ударяються об неї, утворюючи при цьому певний тиск. Такий тиск називається осмотичним.

Осмотичний тиск – сила, що визначає рух розчинника через напівпроникну мембрану з менш концентрованого розчину в більш концентрований.

Показник осмотичного тиску визначається за рівнянням:

$$P = CRT$$

де C – концентрація речовини;

R – універсальна газова стала;

T – температура.

Величина осмотичного тиску виражається в атмосферах або в міліметрах ртутного стовпчика. В живих організмах осмотичний тиск регулює розподіл води між тканинами і клітинами.

Онкотичний тиск – це осмотичний тиск органічних речовин плазми.

У тваринному організмі плазматична напівпроникна мембрана здатна пропускати розчинник (воду) і не пропускати розчинені в ній речовини, зокрема, солі, концентрація яких як у плазмі, так і в клітинах однакова і складає близько 0,9 %. Таким чином, осмотичний тиск залежить від кількості неорганічних сполук, розчинених у рідині.

Осмотичний тиск плазми крові в нормі складає 7,6 атм (5600 мм рт. ст., чи 745 кПа) і обумовлений, в основному, концентрацією NaCl. Розчини, що мають однаковий з плазмою осмотичний тиск, одержали назву фізіологічних чи ізотонічних.

Ізотонічність розчинів має важливе значення для життєдіяльності клітин і, зокрема, для еритроцитів, у цитоплазмі яких кількість NaCl відповідає його вмісту в плазмі. Це вирівнює осмотичний тиск з обох боків мембрани і не приводить до руйнування еритроцитарної клітини, що виконує важливу функцію переносу газів.

Розчини, осмотичний тиск яких вищий (вміст натрій хлориду вищий 0,9%), ніж у плазмі, належать до гіпертонічних, і в їхньому середовищі еритроцити будуть втрачати воду (зневоднюватися). До гіпотонічних розчинів належать розчини, осмотичний тиск яких, а отже і вміст NaCl, буде нижчим, ніж у плазмі. У цих розчинах еритроцити за рахунок поглинання води будуть набрякати аж до розриву мембрани (гемоліз) (рис. 1).

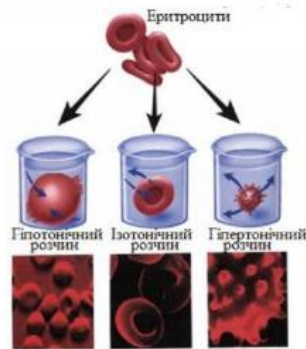


Рис. 1. Вплив осмосу на еритроцити, що перебувають у розчинах з різною концентрацією NaCl

У рослинній клітині роль напівпроникної перетинки виконує вся цитоплазма, зокрема її граничні шари. Осмотичний тиск клітинного соку є регулятором пересування води по рослині, розподілу її між окремими органами. Цей тиск є основою тургору, завдяки якому ніжні, збагачені водою тканини рослини здатні зберігати певну форму, а також пружність і еластичність.

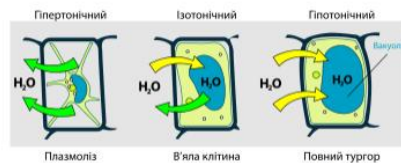


Рис. 2. Вплив осмосу на рослинні клітини, що перебувають у розчинах з різною концентрацією NaCl

В ізотонічних розчинах 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.

У гіпертонічних розчинах рослинні клітини підлягають екзосмосу, який призводить до зморщування клітин. Це явище дістало назву плазмолізу (рис. 2).

Дослід 1. Вплив розчинів з різним осмотичним тиском на еритроцити крові

Хід роботи(алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки		
		1	2	3
1	NaCl 10%, мл	2		
2	NaCl 0,8%, мл		2	
3	NaCl 0,1%, мл			2
4	цитратна кров, краплі	1-2	1-2	1-2
5	Вміст кожної пробірки перемішують і відразу ж беруть скляною паличкою краплину вмісту з кожної пробірки на предметні скельця, накривають покривним склом і розглядають під мікроскопом			

Розглянуті під мікроскопом зміни еритроцитів під впливом розчинів натрій хлориду з різною концентрацією, а отже і з різним осмотичним тиском, нарисувати в зошиті, вказати характер змін.

Гіпертонічний розчин

Ізотонічний розчин

Гіпотонічний розчин

ВИСНОВОК

Дослід 2. Вплив розчинів з різним осмотичним тиском на рослинні клітини

Хід роботи(алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки		
		1	2	3
1	NaCl 10%, мл	2		
2	NaCl 0,8%, мл		2	
3	NaCl 0,1%, мл			2
4	Зріз півки цибулі	1	1	1
5	Вміст кожної пробірки перемішують і залишають на 10 хв. Потім півки з кожної пробірки виймають і поміщають на предметні скельця, накривають покривним склом і розглядають під мікроскопом на великому збільшенні			

Розглянуті під мікроскопом зміни в клітинах цибулі під впливом розчинів натрій хлориду з різною концентрацією, а отже і з різним осмотичним тиском, нарисувати в зошиті, вказати характер змін.

Гіпертонічний розчин

Ізотонічний розчин

Гіпотонічний розчин

ВИСНОВОК

Контрольні питання

1. Що називається осмосом, осмотичним тиском?
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 дм³ якого вміщується 0,2 моль неелектроліту за 17⁰С?
6. Розрахувати осмотичний тиск розчину, що містить в 1 дм³ 3,1 г аніліну C₆H₅NH₂. Температура розчину 21⁰С.

7. Визначити молекулярну масу манніту, якщо відомо, що осмотичний тиск розчину, що містить у 250 см^3 9 г манніту дорівнює 4,5 атм за 0°C .
8. Розрахуйте за температури 17°C осмотичний тиск 0,24 М розчину амоній нітрату.
9. Що таке онкотичний тиск розчинів?

Лабораторна робота № 29

Тема: Вплив різних чинників на ступінь пошкодження клітинних мембран

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Завдяки білкам біомембранам характерні каталітичні властивості (цю функцію виконують перефериричні білки, що частково занурені в ліпідний матрикс) і напівпроникність.

Функцію напівпроникності виконують інтегральні білки, за рахунок яких утворюється пори. Завдяки мембранам клітина зберігає свої властивості і постійність внутрішнього середовища.

Пошкодження клітини відбувається, в першу чергу, за рахунок руйнування білкових структур. Через те, що напівпроникність мембран забезпечують білки, при пошкодженні вони руйнуються і мембрана втрачає цю найважливішу функцію. Розпочинається вільний вихід речовини з клітини. Чим більше пошкодження, тим активніше виходять речовини. Ця ознака може бути використана, як індикатор або показник ступеня пошкодження клітини.

Хід роботи

Дослід 1. Вплив різних факторів на пошкодження клітинної мембрани

1. З коренеплоду столового буряка вирізають шматочки циліндричної форми заввишки 4 см, їх ретельно промивають у воді і поміщають по одному в п'ять пробірок, наповнених 10 мл різних розчинів за схемою досліді (табл.1).

2. Варіант досліді з кип'ятінням виконують таким чином: у колбу з киплячою водою опускають шматочок буряка, через 2 хв його виймають і опускають у пробірку з холодною водою.

3. Через 20 хв після початку досліді всі пробірки інтенсивно збовтують, шматочки буряка виймають і порівнюють кількість пігменту, що вийшов з клітин у різних варіантах досліді за допомогою фотоелектроколориметра (ФЕК). Результати записують у таблицю.

Таблиця 1.

Вплив різних факторів на ступінь пошкодження клітини

Номер пробірки	Варіант досліді	Інтенсивність забарвлення розчину
1	Вода (контроль)	
2	Вода (кип'ячена)	

3	30% розчин оцтової кислоти	
4	50% розчин етилового спирту	
5	Вода + 3 краплі хлороформу	

За матеріалами спостережень роблять висновки про ступінь пошкодження мембрани дією різних факторів.

Висновок: _____

Контрольні питання

1. Які функції виконують біологічні мембрани?
2. Які білки входять до складу біомембран?
3. Що таке асиметрія біомембран?
4. Які є види транспорту речовин через мембрану?
5. Як працює калій-натрієва «помпа»?
6. Що таке ендо- і екзоцитоз? Які механізми цих процесів?
7. Шатл-система переносів у мембранах.

Лабораторна робота № 30

Тема: Виділення препарату цитохромів та цитохромоксидази

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Цитохром «с» – важливий компонент дихального ланцюга, який забезпечує транспорт протонних еквівалентів (електронів) на ділянці дихального ланцюга між цитохромами «в» і «а». За хімічною природою він є складним білком, до складу якого в вигляді простетичної групи входить похідне протопорфірину IX, що містить йони феруму, здатні змінювати ступінь окиснення і переходити із окисненої у відновлену форму. Цим зумовлена участь цитохрому «с» у процесах біологічного окиснення.

Цитохромоксидаза – фермент, який завершує дихальний ланцюг, переносить два електрони, зняті з цитохрому «а», безпосередньо на кисень. За хімічною природою цитохромоксидаза – це складний білок, до складу простетичної групи якого, крім йонів феруму, входять йони купруму.

Дослід 1. Виділення препарату цитохромів та цитохромоксидази

Хід роботи

1. 5 г свіжої м'язової тканини звільнити від жиру і добре подрібнити ножицями.

2. Подрібнену тканину гомогенізувати в фарфоровій ступці при поступовому додаванні чотирикратного об'єму дистильованої води до утворення гомогенної маси (для кращої гомогенізації можна використати кварцевий пісок).

3. Одержаний гомогенат профільтрувати через марлю складену вдвоє.

4. Осад, що залишився на фільтрі, який містить цитохромоксидазу, комплекс цитохромів та інші дегідрогенази, промити водою до отримання прозорої рідини, після чого розділити його на три частини.

5. Першу частину використати для відновлення цитохрому «с», а дві інші – для проведення якісної реакції на цитохромоксидазу (для виявлення цитохромоксидазної активності).

Дослід 2. Відновлення цитохрому «С»

Принцип. Аскорбінова кислота відновлює цитохром «с», внаслідок чого окиснюється до дигідроаскорбінової. Після відновлення цитохрому «с» колір розчину змінюється, що можна виявити візуально.

Хід роботи. (алгоритм наведено у таблиці):

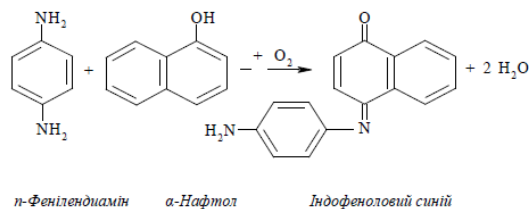
№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
		1
1	Препарат цитохрому, одержаний в досліді 1, мл	2
2	0,5 М розчин аскорбінової кислоти, мл	2
3	Забарвлення:	

Пояснити результати досліді та записати висновок.

Висновок: _____

Дослід 3. Якісна реакція на цитохромоксидазу

Принцип. Цитохромоксидаза здатна окиснювати не лише цитохроми, але і деякі органічні сполуки, зокрема, реактив НАДІ, що містить *n*-фенілендіамін та α -нафтол, при взаємодії яких за присутності кисню утворюється барвник індофеноловий синій:



Хід роботи. (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки	
		1 (контроль)	2 (дослід)
1	Препарат цитохромоксидази, одержаний в досліді 1, мл	1	1
2	Вода, мл	1	1
3	Добре перемішати		
4	Кип'ятіння протягом 2-3 хв	+	-
5	Охолодити		
6	НАДІ, мл	2	2
7	Перемішати		
8	Забарвлення:		

Пояснити результати досліді та записати висновок.

Висновок: _____

Контрольні питання

1. Запишіть схему транспорту електронів по цитохромній системі
2. Яку окисно-відновну реакцію забезпечує цитохром «С»?
3. Яке значення має здатність цитохрому «с» переходити з окисненої у відновлену форму?
4. У чому подібність і відмінність у будові та функціях цитохромів і гемоглобіну?

Лабораторна робота № 31

Тема: Визначення вмісту азоту аміаку в сечі

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Білки – це азотовмісними сполуками, тому важливою характеристикою стану білкового обміну є азотистий баланс – показник, який дає уяву про відношення між вмістом азоту, що надходить до організму, та кількістю азоту, який виділяється у складі кінцевих продуктів обміну.

Сума всіх азотовмісних сполук, що виділяються з сечею у процесі обміну, складає загальний азот сечі. Цей показник включає: азот сечовини (80-90% загального азоту), аміаку (біля 5% загального азоту), креатиніну (2-7% загального азоту), сечової кислоти (1,6% загального азоту), гіпурової кислоти (0,5% загального азоту), індикану, парних глюкоуронових кислот (1-3% загального азоту).

За добу з сечею виділяється 10-20 г загального азоту, основну частину якого складає азот сечовини. За вмістом загального азоту сечі можна визначити кількість білка, що надходить до організму, та розрахувати стан азотистого балансу. Для цього кількість визначеного азоту слід перемножити

на коефіцієнт перерахунку 6,25, розрахованого виходячи з того, що в білках міститься в середньому 16% азоту.

Визначення вмісту загального азоту сечі та окремих його складових має важливе значення для оцінки стану білкового обміну в організмі, а також функціонування внутрішніх органів – печінки, нирок та ін.

Принцип. При взаємодії амонійних солей з формальдегідом утворюється гексаметилентетраамін (уротропін) та вивільняється еквівалентна кількість відповідних кислот, які відтитровують лугом.

Хід роботи. (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Колба
1	Сеча, мл	10
2	фенолфталеїн, краплі	1 - 2
3	Нейтралізувати 0,1 н розчином NaOH до появи рожевого забарвлення	
4	Рівний об'єм свіжонейтралізованого 20% розчину формальдегіду (забарвлення індикатора зникає через зміну рН середовища)	
5	Титрують 0,1 н розчином NaOH до появи стійкого рожевого забарвлення	

У добовій сечі здорової людини міститься 0,5-1 г аміаку або його екскреція з сечею складає 30-60 мМоль/доб.

За кількістю натрій гідроксиду, використаного на титрування, можна визначити кількість аміаку в 10 мл сечі:

1 мл 0,1н NaOH еквівалентний вмісту 1,7 мг аміаку,
на титрування використано 2,2 мл 0,1н NaOH – x мг аміаку

$$x = 3,74 \text{ мг}$$

Яка кількість аміаку виділяється з сечею за добу?

В 10 мл сечі ——— 3,74 мг аміаку

В 1500 мл сечі ——— x_1 мг аміаку

$$x_1 = 561 \text{ мг} = 5,61 \text{ г}$$

Провести розрахунки та зробити висновок

Кількість виділеного аміаку за добу: _____

Розрахунки: _____

Висновок: _____

Контрольні питання

1. На чому ґрунтується принцип методу визначення вмісту аміаку в сечі?

2. У вигляді яких сполук аміак виділяється з сечею?
3. Записати хімізм гідролітичного розкладу білка за схемою: білок → поліпептиди → амінокислоти. Вказати ферменти.
4. Записати схему гідролізу гексапептиду довільної будови під впливом аміно- і карбоксипептидаз.
5. Здійснити гідроліз поліпептиду довільної будови під впливом пепсину, трипсину та хімотрипсину.
6. Написати рівняння реакцій дезамінування серину, лейцину і треоніну за участю флавінвмісного білка (оксидази амінокислот).

Лабораторна робота № 32

Тема: Якісне та кількісне визначення білка в сечі

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Сеча – це рідина, в якій містяться органічні й неорганічні речовини, що виводяться з організму. Із сечею виходить надлишок води, в якій розчинені кінцеві продукти азотного обміну; продукти гниття білків, що всмоктуються в кишечнику і через кров надходять до печінки; мінеральні солі та сторонні для організму речовини (ксенобіотики). Із сечею виділяються також гормони, вітаміни та їх похідні.

В основі утворення сечі лежать три процеси, що відбуваються в нефронах: фільтрація, реабсорбція і секреція.

Клубочкова фільтрація води і низькомолекулярних компонентів плазми зумовлена різницею між гідростатичним тиском крові в капілярах клубочків, онкотичним тиском білків плазми крові та гідростатичним тиском ультрафільтрату плазми крові в капсулі клубочка. Для фільтрації необхідно, щоб сума онкотичного тиску білків плазми крові й тиску рідини в капсулі клубочка була меншою від гідростатичного тиску крові в капілярах клубочка.

У результаті фільтрації утворюється первинна сеча, в якій практично немає білка. За добу в просвіт каналців надходить 180-200 л ультрафільтрату плазми крові. Оскільки фільтрація є пасивним процесом, то у фільтраті компоненти містяться приблизно в таких концентраціях, як і в плазмі. Білки потрапляють в ультрафільтрат у незначній кількості (з невисокою молекулярною масою), та й ті здебільшого реабсорбуються.

Зворотному всмоктуванню (реабсорбції) не підлягають сечовина (частково), сечова кислота, креатинін, парні сполуки та інші кінцеві продукти обміну, які не потрібні організмові. Таким чином утворюється вторинна сеча.

Здорова людина за добу виділяє із сечею до 30мг білка, який звичайними лабораторними методами не виявляється. Це низькомолекулярні білки плазми крові або інших тканин і органів, ферменти, наприклад, пепсин, трипсин, підшлункова амілаза. У сечу також потрапляють білки злущених клітин сечовивідних органів.

Збільшення вмісту білків у сечі (протеїнурія) свідчить про захворювання нирок. Запальні процеси нирок (гломерулонефрити) супроводжуються підвищенням проникності базальних мембран клубочків нефрону, фільтрації

білків і появи їх у сечі. При нефрозах порушується реабсорбція білків у каналцях.

Виникнення протеїнурії можливе й у здорової людини при підвищених фізичних навантаженнях, що має разовий характер.

Дослід 1. Якісне визначення білку в сечі пробою на кип'ятіння

Принцип. При нагріванні сечі у якій присутній білок, залежно від його кількості у нагрітій зоні будуть спостерігатись опалесценція, або помутніння, або осад коагульованого білка.

Хід роботи

1. У пробірку додають 3-5 см³ сечі.
2. Сечу, що кисла за лакмусом, кип'ятять відразу, а сечу з лужною реакцією перед цим трохи підкислюють 1 % розчином оцтової кислоти, перемішують і потім нагрівають до кипіння. 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 таким чином, щоб полум'я охоплювало скло вище рідини – тоді пробірка від такого нагрівання може тріснути.

Пояснити результати дослідів та записати висновок.

Висновок: _____

Дослід 2. Якісне визначення білку в сечі пробою з нітратною кислотою.

Принцип. За наявності в сечі білку нітратна кислота денатурує його по лінії зіткнення. Утворюється так зване «біле коло».

Хід роботи

1. У пробірку додають 1-2 см³ 50 % розчину нітратної кислоти.
2. На кислоту обережно нашаровують по стінці пробірки профільтровану сечу так, щоб утворилося два відокремлених шари: знизу – нітратна кислота, зверху – сеча.

Якщо рівень білку в сечі знаходиться у межах норми, то на межі двох рідин може з'явитися червоне коло внаслідок зміни сечових пігментів під впливом нітратної кислоти.

Іноді помутніння може з'являтися вище межі. Таке явище може залежати від випадіння осадів кислих солей або муцину сечі.

Пояснити результати дослідів та записати висновок.

Висновок: _____

Дослід 3. Кількісне визначення білка.

Принцип. Метод базується на реакції осадження білків концентрованою нітратною кислотою, (осад не розчиняється в надлишку кислоти), яка дає позитивний результат при наявності у сечі не менш як $0,033 \text{ г/дм}^3$ сечі білка (проба Геллера).

Хід роботи

1. В 6 пробірок наливають по 2 см^3 води.
2. В першу додають 2 см^3 сечі. Рідину перемішують і 2 см^3 її переносять у другу пробірку.
3. Із другої пробірки 2 см^3 суміші переносять у третю пробірку і т.д.
4. Із останньої (шостої) пробірки 2 см^3 суміші виливають. Таким чином одержують розбавлення сечі в 2, 4, 8, 16, 32, 64 рази.
5. У 6 інших пробірок додають по 1 см^3 50 % розчину нітратної кислоти.
6. Потім піпеткою нашаровують (додають по стінках нахиленої пробірки, щоб не перемішувалась рідина) 1 см^3 розбавленої сечі із першої пробірки в пробірку з нітратною кислотою.
7. Визначають час появи кільця.
8. Аналогічно проводять дослід з наступними пробірками з розбавленою сечею.

Проба, в якій біле кільце з'являється між другою і третьою хвилинами, містить $0,033 \text{ г/дм}^3$ білка.

Показник розбавлення множать на 0,033 і дістають показник кількості білка в сечі.

Наприклад, при розбавленні сечі у 4 рази концентрація білка складає $0,132 \text{ г/дм}^3$ ($0,033 \times 4 = 0,132$).

Провести розрахунки та зробити висновок

Кількість білку в сечі: _____

Розрахунки: _____

Висновок: _____

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. Дайте визначення поняттям «позитивний», «негативний», «нейтральний азотний баланс».
7. Здійснити перетворення за схемами: а) цистеїн → таурин; б) метіонін → цистеїн.
8. Які діаміни утворюються в результаті декарбоксілювання амінокислот Ліз, Орн, Арг? Записати реакції, вказати ферменти.
9. Записати повні схеми реакцій переамінування між:
- а) α -кетоглутаровою кислотою і аланіном,
 - б) ЩОК та гліцином,
 - в) ЩОК і глютаміновою кислотою.

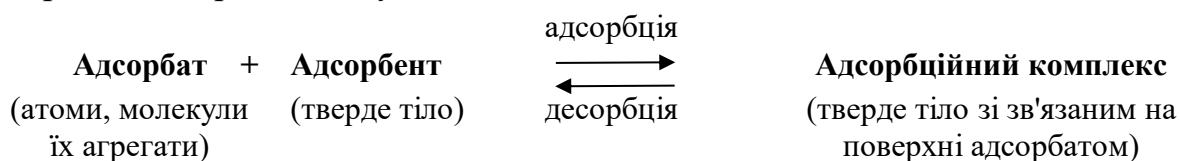
Лабораторна робота № 33-34

Тема: Розподільча хроматографія амінокислот

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Адсорбція є окремим випадком сорбції – поглинання газів, пари і розчинених речовин твердими тілами і рідинами. *Адсорбцією називається концентрування речовини (адсорбата, або адсорбтива) з об'єму фаз на поверхні розділу між ними, наприклад, з газу чи розчину на поверхні твердого тіла (адсорбенту) чи рідини.* Адсорбція відбувається під впливом молекулярних сил поверхні адсорбенту і веде до зменшення поверхневої енергії.

Процес адсорбції описується схемою:



Явище адсорбції знайшло застосування в розподільчій хроматографії суміші близьких за будовою і властивостями речовин. Розділення суміші речовин засновано на різних коефіцієнтах розподілу. Коефіцієнт розподілу – це відношення швидкості руху речовини до швидкості руху розчинника, в якому ця речовина розчинена. Володіючи характерними коефіцієнтами розподілу, кожна речовина суміші, проходячи разом з розчинником через шар адсорбенту, адсорбується ним на різних відстанях – відбувається хроматографічний розподіл суміші речовин.

Хроматографія – високоефективний фізико-хімічний метод розділення і аналізу, в якому речовина розподіляється між двома фазами: рухомою і нерухомою.

Залежно від способу подачі розчинника розрізняють:

- 1) висхідну хроматографію (розчинник рухається знизу вгору);

2) низхідна (розчинник рухається зверху вниз, при цьому внесок у рух вносить гравітаційна сила);

3) радіальна хроматографія.

Для хроматографічних цілей застосовується спеціальний папір, до якого висуваються наступні вимоги: папір повинен бути хімічно чистим, однорідним по щільності, з волокнами однакової довжини, що забезпечує потрібну швидкість руху розчинника.

Хід роботи

1. Низхідна хроматографія.

Готують камеру для хроматографії. На дно камери наливають невелику кількість розчинника (суміш етанолу, води (7:3), який при випаровуванні насичує камеру парами, що запобігають висиханню фільтрувального паперу. Висота шару розчинника не повинна бути вище на 1 см від дна циліндра. До верхньої частини камери прикріплюють ванночку в точно горизонтальному положенні та заповнюють її розчинником.

На хроматографічному папері шириною 5 см за допомогою лінійки провести на відстані 2 см від нижнього краю горизонтальну пряму АБ (лінія старту). Намалювати кільця діаметром 3 мм на відстані 2 см один від одного та проставити над ними порядкові номери. Від лінії старту на відстані 10 см провести пряму А'Б' (лінія фінішу).

Розчини амінокислот на папір нанести на окремому столі. Папір покласти на попередньо ретельно вимите скло. Під нижній край паперу підкласти скляну пластинку чи зошит так, щоб та частина паперу, де намальовані кільця, знаходилася в повітрі, не торкалась поверхні скла.

Капілярами нанести в намальовані кільця краплі розчинів сумішей, що досліджуються, та “свідків”. Крапля, яку наносять не повинна розтікатися за межі намальованого кільця. Утворену пляму швидко просушують. Смужку хроматографічного паперу помістити в хроматографічну камеру так, щоб нижній край пластинки був занурений у розчинник. Інший кінець смужки повинен вільно звисати донизу. 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 (рис. 1).

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 (10 см), папір дістають з камери та висушують на повітрі або у витяжній шафі. Для кращого розподілу суміші пропускання розчинника можна повторити.

Коли розчинник повністю випариться, хроматограму проявляють. Як проявник для α -амінокислот використовувати розчин нінгідрину ($\omega(\text{нінгідрину}) = 0,5 \%$) в ацетоні. Цим розчином оприснути хроматограму декілька разів з пульверизатора так, щоб папір ставав тільки слабо вологий та на ньому не утворювались би розмиваючі струмені розчину. Потім висушити папір на повітрі та прогріти у сушильній шафі при $110 \text{ }^\circ\text{C}$ до появи лілових плям.

Значно краще висушити хроматограму поступово у темряві. Плями, що проявилися, легко обвести олівцем та при бажанні закріпити розчином нікол сульфату, після чого ще раз просушити хроматограму на повітрі.

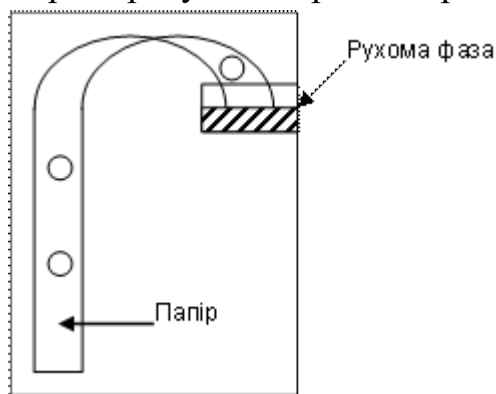


Рис. 1. Низхідна хроматографія

Олівцем відмітити плями на хроматограмі, виміряти довжину пробігу плям (l) і визначити R_f :

$$R_f = \frac{l(\text{плями})}{10}$$

Якісний склад контрольної суміші амінокислот визначити по значенню R_f кожної плями, порівнюючи з R_f , що обчислені за хроматограмою для “свідків”.

Значення R_f амінокислот в цій системі: гліцин 0,13; аланін 0,18; валін 0,36; фенілаланін 0,46.

2. Висхідна хроматографія.

Висхідна хроматографія відрізняється від низхідної тим, що рухома фаза в цьому випадку спускається вгору, як видно з рис. 2.

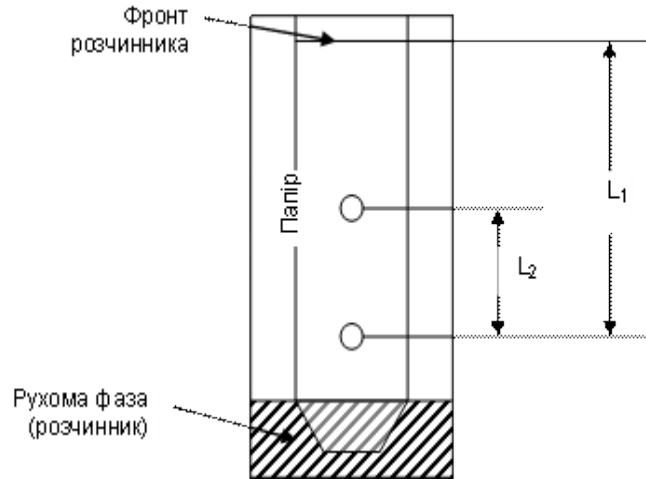


Рис. 2. Висхідна паперова хроматографія

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Контрольні питання

1. Дайте визначення поняттю «протеолітичні амінокислоти». Їх класифікація.
2. Дайте визначення поняттям «незамінні» й «замінні амінокислоти». Наведіть приклади.
3. Як утворюється пептидний зв'язок між молекулами амінокислот?
4. Теоретичні основи хроматографічних методів аналізу: класифікація та суть кожного виду.
5. Методика визначення якісного складу амінокислот за допомогою паперової хроматографії.

Лабораторна робота № 35

Тема: Визначення глюкози в біологічних рідинах

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Глюкоза є основним джерелом енергії для більшості клітин організму. У сироватці крові здорової дорослої людини концентрація вуглеводів складає 4,44 – 6,66 ммоль/л. Основним їхнім компонентом є глюкоза, що утримується в крові в концентрації 2,78-5,27 ммоль/л. У крові в значно меншій кількості є й інші сахари – фруктоза, галактоза, пентоза.

Зменшення концентрації глюкози в крові нижче нормального рівня називається **гіпоглікемією**. Різде зниження рівня глюкози в крові викликає тривалу гіпоглікемію або гіпоглікемічну кому і може бути пов'язане з передозуванням інсуліну, захворюваннями нирок, великою втратою крові, незбалансованій дієті та ін. Тривала гіпоглікемія призводить до незворотних змін у центральній нервовій системі (ЦНС), викликаних збідненням нервових тканин глюкозою.

Збільшення концентрації глюкози в крові – **гіперглікемія** – спостерігається звичайно при цукровому діабеті, гострому панкреатиті, панкреатичних цирозах. Цукровий діабет є результатом порушення обміну речовин, у результаті чого в організмі недостатньо виділяється гормону підшлункової залози – інсуліну.

Збільшення концентрації глюкози в крові викликано токсичними, травматичними подразненнями ЦНС: травми головного мозку, епілепсія, менінгіт, отруєння карбон оксидами, ціанідною кислотою, ефіром (це так звана центральна (нервова) гіперглікемія).

Гіперглікемічна кома розвивається в результаті різкого збільшення концентрації глюкози в крові і завжди супроводжується кетозом. Збільшення в організмі концентрації кетонових тіл (ацетону, β -оксимасляної кислоти) токсично для ЦНС і призводить до втрати свідомості, судомам.

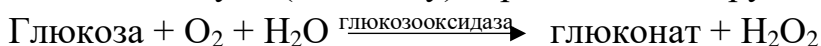
Глюкоза, при нормальній її концентрації в крові із сечею з організму не виводиться. У випадку надлишкового вмісту глюкози в крові, нирки не в змозі забезпечити повну реабсорбцію глюкози із сечі. У зв'язку з цим вона виводиться з організму.

Рівень глюкози в крові, при якому починається **глюкозурія** (поява глюкози в сечі) називається нирковим порогом глюкози.

У нормі він складає 8,8-9,8 ммоль глюкози в крові.

Виконання роботи

Принцип. Глюкоза в присутності глюкозооксидази окиснюється киснем повітря з утворенням гідроген пероксиду. Під дією гідроген пероксиду та пероксидази фенол конденсується з 4-аміноантипірином з утворенням комплексної сполуки (хіноіміну) червоного кольору.



Інтенсивність забарвлення комплексу пропорційна концентрації глюкози в зразку.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

Реактиви, послідовність додавання	Пробірки		
	1	2	3
Р1, мл	4	4	4
Стандарт, мл	-	0,04	-
Біологічна рідина, мл	-	-	0,04

Фіз. розчин, мл	0,04	-	-
Перемішати, інкубувати 10 хв. При 37°C або 30 хв. При 15-25°C			

Вимірювання проводять при довжині хвилі 505 нм, використовують кювети з товщиною оптичного шару 1 см.

При високому вмісті глюкози в сечі її потрібно перед дослідженням розвести в 50 разів, а при розрахунках отриманий результат домножити на 50.

Розрахунки результатів:

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

$C_{\text{ст}}$ – концентрація глюкози в стандарті, 10 ммоль/л

$C_{\text{дос}}$ – концентрація глюкози в дослідному зразку, ммоль/л

$E_{\text{ст}}$ – оптична густина стандарту

$E_{\text{дос}}$ – оптична густина дослідного зразку

ВИСНОВОК

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Біологічна хімія / Павлоцька Л.Ф., Дуденко Н.В., Дмитрієвич Л.Р., Божко Н.В. Суми: Ун-ська книга, 2014. 378 с.
2. Біологічна хімія: підруч. / Л.В. Левандовський та ін. Київ, 2012. 363 с.
3. Вороніна Л.М., Десенко В.Ф., Мадієвська Н.М. Біологічна хімія : підруч. Х., 2000. 608 с.
4. Губський Ю. І. Біологічна хімія. К. : Укрмедкнига, 2000. 663 с.
5. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини: підруч. Тернопіль, 2001. 736 с.
6. Кучеренко Е. К., Бабенюк Ю. Д., Васильєв А. Н. Биохимия. Київ, 1990. 432 с.
7. Штеменко Н.І., Соломко З.Ф., Авраменко В.І. Органічна хімія та основи статичної біохімії. Дніпропетровськ, 2004. 686 с.
8. Красільнікова О.Л., Авксентьєва О.О., Жмурко В.В. Біохімія рослин. Харків, 2007. 188 с.

L-α-амінокислоти, які входять до складу білків¹⁾

№	Назва	Скорочене позначення	Структурна формула
<i>З аліфатичними боковими ланцюгами</i>			
1	Гліцин	Глі Gly G	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array}$
2	Аланін	Ала Ala A	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
3	Валін	Вал Val V	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
4	Лейцин	Лей Leu L	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
5	Ізолейцин	Іле Ile I	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{array}$
З боковими ланцюгами, які містять гідроксильні (ОН) групи			
6	Серин	Сер Ser S	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{OH} \end{array}$
7	Треонін	Тре Thr T	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}-\text{OH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$
8	Тирозин	Тир Tyr Y	див. нижче
<i>З боковими ланцюгами, які містять атоми сірки</i>			
9	Метіонін	Мет Met M	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3 \end{array}$
10	Цистеїн ²⁾	Цис Cys C	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{SH} \end{array}$
Імінокислоти			
11	Пролін	Про Pro P	

З боковими ланцюгами, які містять кислі групи і їх аміді			
12	Аспарагінова кислота	Асп Asp D	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
13	Аспарагін	Асн Asn N	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{O}=\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$
14	Глютамінова кислота	Глу Glu E	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2-\text{COOH} \end{array}$
15	Глютамін	Глн Gln Q	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_2 \\ \\ \text{O}=\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$
З боковими ланцюгами, які містять основні групи			
16	Аргінін	Арг Arg R	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_3 \\ \\ \text{NH} \\ \\ \text{C}=\text{NH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
17	Лізін	Ліз Lys K	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_4 \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$
18	Гістидин	Гіс His H	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{NH} \end{array}$
Амінокислоти, які містять ароматичні кільця			
19	Гістидин	Гіс His H	див. вище
20	Фенілаланін	Фен Phe F	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$

21	Тирозин	Тир Tyr Y	$ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{OH} \end{array} $
22	Триптофан	Три Trp W	$ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_5 \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} $

Додаток 2.

Значення рН, що відповідає
ізоелектричній точці деяких білків

Фібриноген	8,0	Альбумін яєчного білка	4,9
Гемоглобін	6,7	Альбумін сироватки крові	4,88
Міоген	6-6,57	Казеїн	4,7
Міоглобін	5,2	Міозин	4,6-5,2
Желатина	4,9	Муцин	2,7
Пепсин	1,1		

Біохімічні показники крові, сироватки та плазми

Показник	Досліджуван ий матеріал	Значення у традиційних одиницях	Коефіцієнт перерахунку	Значення в одиницях СІ
Адреналін	плазма	0,35-0,62 мкг/л		1,91-2,46 нМоль/л
Азот загальний				0,87 мМоль/л
Азот - аміний - аміаку - залишковий	сироватка кров плазма кров	2-4,3 мг% 20-25 мг% 10-30 мг% 20-40 мг%	0,714	14,3-25,0 мМоль/л 17,85-35,7 мМоль/л 7,14-21,42 мМоль/л 14,28-28,56 мМоль/л
Альбумін	сироватка крові	3,0-5,0 г%	10	30-50 г/л
Аміак	кров	0,05 мг%		7,14-21,42 мМоль/л
Амінокислоти	кров	50 мг%		21,4 мМоль/л
Апетон	кров	0-3 мг%		0-516,5 мМоль/л
Білірубін - прямиий - непрямиий - загальний	сироватка	0,05-0,25 мг% 0,1-1,0 мг% 0,1-1,2 мг%	17,104	0,86-4,3 мМоль/л 1,7-17,1 мМоль/л 1,7-20,5 мМоль/л
Білок загальний	сироватка крові	6,5-8,5 г%	10	65-85 г/л
Галактоза	сироватка	2-17 мг%	55,5	111-943,5 мМоль/л
Гаптоглобін	сироватка	0,28-1,9 г/л		
Гемоглобін	кров плазма	♂ 12,5-17,5 г% ♀ 11,5-15,5 г% 0,2-2,5 мг%	10	♂ 125-175 г/л ♀ 115-155 г/л 2-25 мг/л
Глікоген	кров	1,62-3,87 мг%	10	16,2-38,7 мг/л
Глобуліни	сироватка	2,3-3,5 г%	10	23-35 г/л
Глюкоза	сироватка	60-100 мг%	0,055	3,32-5,55 мМоль/л
Глюкозамін	сироватка	61-78 мг%	0,056	3,4-4,36 мМоль/л
Глюкуронова кислота	сироватка	1,2-1,3 мг%	51,5	61,8-66,96 мМоль/л
Жирні кислоти	сироватка	190-420 мг%		9-16 мМоль/л
Жовчні кислоти	сироватка	0-3 мг%		0-76,4 мМоль/л
Індикан	сироватка	0,22-0,8 мг%		0,88-3,20 мМоль/л
Кетонові тіла	кров	1-3 мг%	10	10-30 мг/л

17-кетостероїди	плазма	25-125 мкг%	0,0344	0,86-4,31 мкМоль/л
Креатин	сироватка	♂ 0,2-0,6 мг%	76,25	♂ 15,25-45,75 мкМоль/л
	плазма	♀ 0,6-1,0 мг%		♀ 45,25-76,25 мкМоль/л
Креатинін	сироватка	♂ 0,7-1,1 мг%	88,3	♂ 62-97 мкМоль/л
	плазма	♀ 0,6-0,9 мг%		♀ 53-80 мкМоль/л
Лецетин	сироватка	0,75-1,2 г/л		
Ліпіди загальні	сироватка	300-800 мг%	0,01	3-8 г/л
α-ліпопротеїни	плазма	♂ 125-425 мг%	0,01	♂ 1,25-4,25 г/л
		♀ 250-650 мг%		♀ 2,5-6,5 г/л
β-ліпопротеїни	плазма	300-450 мг%	0,01	3,0-4,5 г/л
Молочна кислота	кров			11,0-22 мкМоль/л
	- артеріальна - венозна	3-7 мг% 5-20 мг%		13,4-24,4 мкМоль/л
Норадреналін	плазма	0,65-0,81 мкг%	59	38,42-47,79 нМоль/л
β-оксимасляна кислота	кров	0,14-1,9 мг%	96	13,4-182,4 мкМоль/л
Піровиноградна кислота	кров	0,3-0,9 мг%	113,56	34,07-102,2 мкМоль/л
Серомуккоїди	сироватка	0,22-0,28 г/л		
Серотонін	кров	5,0-30,0 мкг%		0,3-1,7 мкМоль/л
Сечова кислота	сироватка	♂ 45-82 мг/л	0,0059	♂ 0,27-0,48 мМоль/л
		♀ 30-65 мг/л		♀ 0,18-0,38 мМоль/л
Сечовина	сироватка	0,15-0,50 мг%	16,65	2,50-8,33 мМоль/л
Сілові кислоти	сироватка	55-79 мг%		2,0-2,36 мМоль/л
Соматотропін	сироватка	10 мг%		0,47 нМоль/л
Трансферин	сироватка	170-400 мг%	0,113	19,3-45,4 мкМоль/л
Тригліцериди	сироватка, плазма	50-150 мг%	0,0118	0,59-1,77 мМоль/л
Фосфоліпіди	сироватка	1,5-3,6 г/л	0,3229	0,48-1,16 мМоль/л
Фруктоза	кров	0,1-0,5 мг%	55,5	5,55-27,75 мкМоль/л
Фукоза	сироватка	6,7-9,8 мг%		
Холестерин	сироватка	130-250 мг%	0,026	3,38-6,5 мМоль/л
Церулоплазмін	сироватка	23-50 мг%	0,066	1,52-3,31 мкМоль/л
<i>Вітаміни</i>				
A	сироватка	15-60 мкг%		0,52-2,1 мкМоль/л
B ₁	плазма	1,0-1,5 мкг%		0,03-0,045 мкМоль/л
B ₂	кров	12 мкг%		0,033 мкМоль/л
B ₆	сироватка	1,0-18 мкг%		0,059-1,06 мкМоль/л
B ₁₂	кров	0,06-0,14 мкг%		0,44-1,03 нМоль/л

C	сироватка	0,6-1,6 мкг%		34,1-90,8 мкмоль/л
<i>Ферменти</i>				
Аланінаміно- трансфераза	сироватка або плазма	5-30 у.о.		0,1-0,68 ммоль/год.л
Амілаза	кров	16-64 у.о.		12-32 г/год.л
Аспартатамі- нотрансфераза	сироватка або плазма	8-40 у.о.		0,1-0,45 ммоль/год.л
Каталаза	кров	10-15 у.о.		
Лактатдегід- рогеназа	сироватка	13,3-66,7 О/л		0,2-1,1 мккат/л або 0,8-4 ммоль/год.л
Ліпаза	сироватка	14-26 у.о.		
Фосфатаза кисла	сироватка	0-0,7 МЕ/л		0,05-0,13 ммоль/год.л
Фосфатаза лузья	сироватка	2-4 у.о. або 54-137 О/л		0,5-1,3 ммоль/год.л
Холінестераза	сироватка			160-340 ммоль/год.л
<i>Йони</i>				
Калій	сироватка плазма	17,5-22,5 мг% 13,6-20,8 мг%	0,25	4,38-5,63 ммоль/л 3,4-5,3 ммоль/л
Кальцій	сироватка	9-12 мг%	0,25	2,3-3,0 ммоль/л
Купрум	сироватка	♂ 70-140 мкг% ♀ 85-155 мкг%	0,157	♂ 11,0-22,0 мкмоль/л ♀ 13,4-24,4 мкмоль/л
Літій	сироватка			0,5-1,5 ммоль/л
Магній	сироватка	1,6-2,9 мг%	0,47	0,75-1,36 ммоль/л
Натрій	сироватка	290-310 мг%	0,45	130-150 ммоль/л
Сульфати	сироватка	3,4-7,75 мг%		
Ферум	сироватка	♂ 65-175 мкг% ♀ 54-160 мкг%	0,185	♂ 12-32 мкмоль/л ♀ 10-28 мкмоль/л
Фосфат неорганічний	сироватка	2-4 мг%		1,2-2,2 ммоль/л
Хлор	сироватка	340-390 мг%	0,288	98-112 ммоль/л
Цинк	сироватка	0,2-0,5 мг%	1,65	0,33-0,8 ммоль/л

♀ - жінки

♂ - чоловіки

Генетичний код

Перший нуклеотид	Другий нуклеотид				Третій нуклеотид							
	У	Ц	А	Г								
У	УУУ } УУЦ }	УЦУ } УЦЦ } УЦА } УЦГ }	УАУ } УАЦ } УАА* } УАГ* }	УГУ } УГЦ } УГА* } УГГ* }	Фен } Сер } Тир } Терм } Лей } Три }	У } Ц } А } Г }						
	ЦУУ } ЦУЦ } ЦУА } ЦУГ }						ЦЦУ } ЦЦЦ } ЦЦА } ЦЦГ }	ЦАУ } ЦАЦ } ЦАА } ЦАГ }	ЦГУ } ЦГЦ } ЦГА } ЦГГ }	Лей } Про } Гіс } Арг }	У } Ц } А } Г }	
	АУУ } АУЦ } АУА } АУГ –						АЦУ } АЦЦ } АЦА } АЦГ }	ААУ } ААЦ } ААА } ААГ }	АГУ } АГЦ } АГА } АГГ }	Лей } Тре } Ліз } Мет }	Сер } Арг }	У } Ц } А } Г }
	ГУУ } ГУЦ } ГУА } ГУГ }						ГЦУ } ГЦЦ } ГЦА } ГЦГ }	ГАУ } ГАЦ } ГАА } ГАГ }	ГГУ } ГГЦ } ГГА } ГГГ }	Вал } Ала } Асп } Глу }	Глі }	У } Ц } А } Г }

Навчальне видання

БІОХІМІЯ

Методичні рекомендації

Укладачі: **Діордіца Яна Вікторівна**

Формат 60x84 1/16. Ум. друк. арк. 4,0.

Тираж 10 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.