

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

**Факультет агротехнологій**

Кафедра ґрунтознавства та агрохімії

**БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ**

**Методичні рекомендації**  
до виконання лабораторних робіт  
для здобувачів вищої освіти ступеня «бакалавр»  
спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія» денної  
форми навчання

Миколаїв  
2020

УДК 577.1  
Б63

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету агротехнологій Миколаївського національного аграрного університету від 19 листопада 2020 р., протокол № 3.

Укладачі:

- Я. В. Діордіца – асистент кафедри ґрунтознавства та агрохімії, Миколаївський національний аграрний університет.
- Д.С. Качук – канд. техн. наук, старший викладач 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;
- Т. М. Манушкіна – канд. с.-г. наук, доцент кафедри землеробства, геодезії та землеустрою, Миколаївський національний аграрний університет.

©Миколаївський національний  
аграрний університет, 2020

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	4
ОСНОВНІ ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ У ЛАБОРАТОРІЇ БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ.....	5
ВИМОГИ БЕЗПЕКИ ПІД ЧАС ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ.....	7
ПРАВИЛА ПРОТИПОЖЕЖНОЇ БЕЗПЕКИ.....	9
ПЕРША ДОПОМОГА ПРИ НЕЩАСНИХ ВИПАДКАХ.....	10
ХІМІЧНИЙ ПОСУД І ЛАБОРАТОРНЕ ОБЛАДНАННЯ.....	12
Лабораторна робота № 1. Кольорові реакції на білки .....	20
Лабораторна робота № 2. Фізико-хімічні властивості білків .....	25
Лабораторна робота № 3. Визначення ізоелектричної точки білків.....	31
Лабораторна робота № 4. Розподільча хроматографія амінокислот.....	33
Лабораторна робота № 5. Аналіз складу нуклеопротейдів.....	36
Лабораторна робота № 6. Загальні властивості ферментів.....	39
Лабораторна робота № 7. Визначення активності каталази крові...43	
Лабораторна робота № 8. Дослідження хімічних властивостей глюкози.....	46
Лабораторна робота № 9. Визначення глюкози в біологічних рідинах.....	50
Лабораторна робота № 10. Визначення йодного та кислотного числа жирів.....	52
Лабораторна робота № 11. Якісні реакції на холестерин і лецитин58	
Лабораторна робота № 12. Визначення вмісту вітаміну С у плодах йодометричним методом.....	62
Лабораторна робота № 13. Якісні реакції на водорозчинні вітаміни.....	65
Лабораторна робота № 14. Якісні реакції на жиророзчинні вітаміни.....	68
Лабораторна робота № 15. Терпени та алкалоїди.....	71
СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	74

## ВСТУП

Біологічна хімія – одна із фундаментальних дисциплін у системі професійної підготовки фахівців зі спеціальності «Біотехнології та біоінженерія», що спрямована на формування у здобувачів вищої освіти цілісної системи знань про хімічний склад живих організмів, фізико-хімічні і біологічні властивості природних сполук, основні шляхи обміну речовин, механізми регуляції та взаємозв'язку біохімічних перетворень.

**Метою** навчальної дисципліни є формування у здобувачів вищої освіти сукупності знань про хімічний склад і пов'язані з цим фізіологічні функції організмів, що мають біохімічне підґрунтя і подальше застосування отриманих навичок під час вивчення фізіології рослин, генетики, цитології.

**Завдання** дисципліни – формувати поняття про хімічні основи життєдіяльності організмів, зокрема хімічну будову та властивості природних сполук, основні шляхи і механізми регуляції метаболізму, біохімічні механізми реалізації генетичної інформації; формувати поняття про взаємодії між різними біологічно важливими сполуками і шляхи їх перетворень та роль окремих сполук в ході різних фізіологічних процесів; ознайомити з новітніми досягненнями біохімії та перспективами їх використання у різних галузях народного господарства.

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

## ОСНОВНІ ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ У ЛАБОРАТОРІЇ БІОЛОГІЧНОЇ ХІМІЇ

1. Допуск до занять дозволяється тільки після ознайомлення з правилами техніки безпеки, первинного інструктажу і здачі теоретичного матеріалу викладачу. Факт здачі матеріалу фіксується в журналі інструктажів під особистий підпис здобувачів вищої освіти, які пройшли інструктаж. Особи, що не пройшли інструктаж, до роботи не допускаються.

2. Перед проведенням лабораторної роботи здобувач вищої освіти зобов'язаний детально вивчити відповідну тему за підручником, конспектами лекцій і методичними рекомендаціями, ознайомитись з лабораторним устаткуванням та методикою проведення лабораторних дослідів. Приступати до виконання дослідів можна після того, як здобувач вищої освіти пройде співбесіду з викладачем та отримає допуск до виконання лабораторної роботи.

3. Здобувачі вищої освіти несуть відповідальність за невиконання правил техніки безпеки при виконанні хімічних робіт.

4. При виконанні всіх робіт треба знати основні властивості вихідних та кінцевих речовин, їх дію на організм, правила роботи з ними, бути максимально обережними.

5. Потрібно уникати безпосередніх контактів шкіри, очей і дихальних шляхів з хімічними речовинами. Тому, у хімічній лабораторії потрібно працювати в халаті та гумових рукавичках. Якщо у вас довге волосся, його слід акуратно прибрати, щоб воно не могло дотикатися до нагрівальних приладів та реактивів.

6. Не можна класти на лабораторні столи сторонні предмети.

7. Реактиви необхідно зберігати у закритому посуді, на якому є етикетка, де зазначено назву, формулу, концентрацію речовини (для розчинів) та дату виготовлення.

8. Пити, приймати їжу в хімічній лабораторії категорично заборонено! Нюхати будь-які речовини в лабораторії слід обережно, не нахиляючись над посудом і не вдихати на повні груди, а

направляючи до себе пари чи газу рукою. Сильні отрути взагалі нюхати не можна.

9. Виносити з лабораторії реактиви, переносити їх з витяжної шафи або титрувального столика, де як правило, розміщують сильні кислоти, луки, передавати їх стороннім особам категорично заборонено.

10. Більшість органічних речовин є леткими і горючими. Пари їх вибухонебезпечні. Тому нагрівання таких речовин треба проводити особливо обережно. Під час нагрівання пробірок з такими рідинами їх отвори слід спрямовувати від себе та від людей, що знаходяться поруч. Такі роботи краще виконувати у витяжній шафі. Під час перемішування рідин не слід пробірку закривати пальцем, для цього використовують корки.

11. Забороняється виливати в раковини умивальників залишки розчинів, що містять сильні кислоти, вогненебезпечні та отруйні речовини. Їх слід зливати у спеціальні склянки для зливу реактивів. Вони знаходяться або у витяжній шафі або поруч з раковиною.

12. Під час роботи з отруйними речовинами та речовинами, що подразнюють органи дихання або мають сильний запах, слід користуватись витяжною шафою.

13. Здобувачу вищої освіти забороняється без дозволу викладача проводити які-небудь досліди, що не зазначені в ході проведення роботи та працювати в лабораторії одному за відсутності викладача чи лаборанта.

14. Про будь-яку подію в лабораторії необхідно повідомляти викладача або лаборанта.

15. Після виконання роботи слід обов'язково прибрати робоче місце: вимити посуд (пробірки, колби, стакани, чашки тощо), витерти стіл; перевіривши, чи закриті всі банки з реактивами, поставити їх на місце, відключити прилади, вимити руки.

## ВИМОГИ БЕЗПЕКИ ПІД ЧАС ВИКОНАННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

1. При виконанні хімічних дослідів суворо дотримуйтесь вимог методики, яка описана в практикумі.
2. Беручи речовину для дослідів, треба уважно читати етикетку, а при найменшому сумніві – запитати у викладача.
3. Не дозволяється брати реактиви незахищеними руками. Для цього слід використовувати шпателі та ложки.
4. Насипати або наливати реактиви необхідно на столі: сухі – над аркушем паперу, рідкі над скляною посудиною.
5. Не можна виливати надлишок реактиву з пробірки назад в реакційну склянку.
6. Не слід плутати корки від різних пляшок. Щоб внутрішня сторона корка залишалася чистою, його кладуть на стіл зовнішньої поверхнею.
7. У лабораторії забороняється пробувати на смак реактиви.
8. Всі роботи з отруйними і пахучими речовинами, з концентрованими розчинами кислот, лугів, а також упарювання їх розчинів слід проводити тільки у витяжній шафі. Дверцята шафи під час роботи повинні бути опущені до 18-20 см від її робочої поверхні.
9. Для одержання розчинів з концентрованих кислот необхідно лити *кислоту у воду*, а не навпаки, постійно перемішуючи. Розчинення концентрованої кислоти у воді, а особливо сульфатної супроводжується сильним нагріванням і розбризкуванням рідини, що може призвести до опіків.
10. Для розбавлення та змішування концентрованих кислот, а також для змішування речовин, які супроводжуються виділенням теплоти, потрібно користуватися хімічним тонкостінним скляним або фарфоровим посудом, так як товстостінний хімічний посуд при нагріванні може тріснути.
11. Пробірки при нагріванні закріплюють або в штативній лапці або в пробіркотримачі ближче до отвору. Отвір пробірки необхідно

направляти від себе і оточуючих, щоб уникнути викиду речовин з пробірки.

12. Не нагрівати плоскодонних колб та іншого плоскодонного посуду на відкритому вогні, необхідно підкладати азбестові сітки або просто лист азбесту.

13. Будь який прилад перед дослідом повинен бути ретельно оглянутим і перевіреним.

14. Знайомлячись із запахом речовини, не можна нахилитися над посудиною з рідиною і вдихати повними грудьми. Для цього потрібно направити рукою струмінь повітря від отвору посудини до себе і зробити носом легкий вдих.

15. Не заглядайте в пробірку, в якій нагрівається рідина, і не нахиляйтеся над посудиною, в яку наливається будь-яка рідина (особливо їдка), щоб непомітні бризки не потрапили в очі.

16. У випадку потрапляння на шкіру кислоти чи лугу, їх слід нейтралізувати та промити під струменем води. Луги нейтралізують 1% розчином лимонної кислоти, а кислоти 1% розчином соди. Після нейтралізації уражену ділянку інтенсивно промити струменем води.

17. Після проведення дослідів залишки металів в раковину не викидають, а збирають в банку. Не можна виливати в раковину залишки розчинників, горючих речовин, реакційні суміші, розчини кислот, лугів і інших шкідливих речовин. Вони повинні збиратися в спеціальний посуд з етикеткою «злив органіки».

18. Вмикати центрифуги необхідно в присутності викладача чи лаборанта після попереднього врівноважування пробірок з досліджуваним біоматеріалом.

19. Не можна залишати без нагляду ввімкнені прилади, палаючі спиртівки, електроплитки, водяні бані.

20. У випадку пожежі слід використовувати первинні засоби пожежогасіння (вогнегасники, пожежний інвентар)

21. Під час перерви, обов'язково провітрювати приміщення лабораторії.

22. Після закінчення роботи необхідно вимкнути всі прилади, загасити спиртівки



## **ПРАВИЛА ПРОТИПОЖЕЖНОЇ БЕЗПЕКИ**

### **У разі займання горючих речовин:**

1. Вимкніть вентиляцію витяжної шафи.
2. Погасіть спиртівку.
3. Приберіть посуд з вогненебезпечними речовинами і гасіть пожежу.

Горючі рідини накривають азбестом, а потім за потреби засипають піском, але не заливають водою.

Фосфор гасять мокрим піском або водою.

При загоранні лужних металів гасять полум'я сухим піском. В жодному разі не можна використовувати воду.

У разі загорання одягу на людині, необхідно її накрити цупкою ковдрою.

Невеликі локальні пожежі гасять за допомогою вогнегасника.

## **ПЕРША ДОПОМОГА ПРИ НЕЩАСНИХ ВИПАДКАХ**

### ***Перша допомога при опіках***

1. При опіках гарячою рідиною або гарячим предметом пошкоджене місце треба промити проточною холодною водою протягом 10 хв. Змазати «Пантенолом». За необхідності – доставити до лікарні.

2. Якщо будь-який реактив потрапить на шкіру, то, перш за все, потрібно змити реактив водою протягом 15 хв., а вже потім використовувати нейтралізуючі речовини. При потраплянні кислоти промивають розчином питної соди з масовою часткою натрій гідрогенкарбонату 3 %, а при потраплянні лугу – розчином оцтової чи лимонної кислоти з масовими частками 1-2 %. Потім знову промивають водою і накладають марлеву пов'язку з фурациліном. При опіках фенолом уражене місце від країв до центру обробляють етиловим спиртом.

3. При потраплянні хімічної речовини в очі їх необхідно добре промити протягом 10-15 хв. Струменем холодної води або, використовуючи промивалку. При потраплянні в очі кислоти після промивання накладають ватний тампон, змочений розчином натрійгідрогенкарбонату з масовою часткою 3%. При потраплянні в очі лугу після промивання водою слід промити 2% розчином борної кислоти. Промивати очі слід ретельно протягом 20-30 хв. Після заключного промивання водою негайно доставити в лікарню.

### ***Перша допомога при отруєннях***

1. При отруєнні газами треба швидко і щільно зачинити дверці витяжної шафи, в якій проводився дослід, припинити дослід, відкрити вікна і двері. Потерпілого швидко винести на повітря, розстебнути одяг, зняти пояс, облити груди, голову і обличчя холодною водою, піднести до носа потерпілого хустину чи вату, змочену нашатирним спиртом. Коли потерпілий опритомніє, дати йому міцного чаю. При неглибокому отруєнні хлором чи бромом

необхідно дати понюхати суміш етилового спирту з нашатирним спиртом.

2. При отруєнні лугами (каустичною содою, нашатирним спиртом, поташем і т.д.) дати випити молока або соку лимона. Не давати блювотних засобів.

3. При отруєнні кислотами потерпілому давати пити воду з льодом, з тертою крейдою, золою, 1%-м розчином питної соди, борошно з водою. Не давати блювотних засобів і не промивати шлунок.

4. При отруєнні вуглеводнями потерпілому слід промити шлунок, викликати блювоту, дати понюхати нашатирний спирт, винести його на свіже повітря. В разі необхідності зробити штучне дихання.

5. У разі потрапляння в організм через рот отруйних органічних рідин: ацетон, формалін, метанол, анілін тощо -необхідно викликати блювання, а потім дати молока і яєчний білок.

### ***Перша допомога при пораненні***

Той, хто подає допомогу при пораненні, повинен з милом помити руки, а якщо це неможливо – змазати пальці йодною настоянкою. Торкатися рани навіть вимитими руками не дозволяється. Не дозволяється обмивати рану водою.

1. При незначних порізах склом треба видалити рештки скла з рани, змити кров, продезинфікувати розчином йоду і перев'язати бинтом.

2. При пораненні склом або іншим предметом рану промивають великою кількістю дистильованої води або тампономпромивають рану спиртом. Якщо рана забруднена, бруд видаляється лише навкруги, але ні в якому разі не з глибинних шарів рани. Шкіру навколо рани обробляють йодною настоянкою або розчином брильянтової зелені, перев'язують і звертаються до медпункту.

3. При серйозному порізі й сильній кровотечі необхідно накласти джгут вище рани, покрити рану стерильною марлею і негайно викликати лікаря.

## ХІМІЧНИЙ ПОСУД І ЛАБОРАТОРНЕ ОБЛАДНАННЯ

В лабораторних умовах найчастіше використовують скляний посуд. Він стійкий до дії більшості хімічних реагентів, легко миється, і є прозорим. Скляним посудом не можна користуватися при роботах з фтороводнем і з розплавленим лугом, в ньому не можна нагрівати концентровані розчини лугу. Лабораторний посуд має порівняно невеликий коефіцієнт лінійного розширення, що дуже важливо при змінних температурах хімічного експерименту.

**Стакани** (рис. 1) виготовляють або з звичайного хімічно стійкого скла, або з тугоплавкого скла (термостійкі). Не можна нагрівати стакани з звичайного скла на відкритому полум'ї. Нагрівати можна лише на азбестовій сітці, або на водяній бані. Ємкість стаканів коливається від 50 до 2000 мл. Їх використовують для фільтрування, випарювання (при температурі не більше  $100^{\circ}\text{C}$ ) та приготування розчинів в лабораторних умовах.



Рис. 1. Хімічний стакан

**Колби** бувають плоскодонні, конічні, круглодонні і грушоподібні (рис. 2). Плоскодонні і конічні колби звичайно використовують в якості приймачів при перегонці рідин, для приготування розчинів і кристалізації. Їх не можна застосовувати при нагріванні речовин до високих температур і використовувати при зниженому тискові. Круглодонні колби використовують для перегонки речовин, в тому числі і під вакуумом. Довжина і діаметр горла круглодонних колб можуть бути різними. Такі колби бувають двох-, трьохгорлими і т.д. Круглодонні колби з відвідною трубкою називають колбами В'юрца. Вони призначені для перегонки при атмосферному тискові. Для перегонки при зниженому тискові застосовують колби Кляйзена.

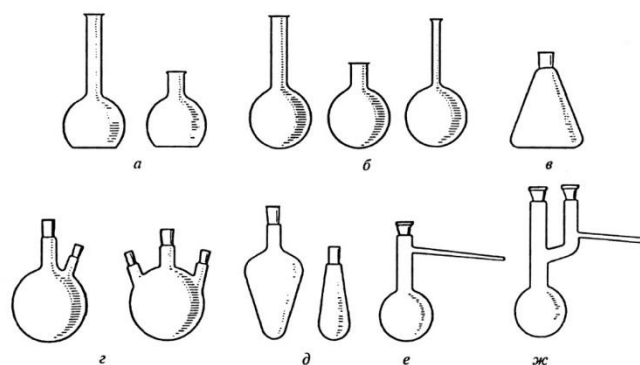


Рис.2. Колби: *а* – плоскодонні; *б* – круглодонні; *в* – конічні; *г* – двох- і трьохгорлі; *д* – грушоподібні; *е* – колба Вюрца; *ж* – колба Кляйзена

**Холодильники** (рис. 3) служать для охолодження і конденсації парів, що утворюються при кипінні органічних рідин. Щоб уникнути втрат низькокиплячих компонентів, колби (а іноді і пробірки) наділяють *зворотними холодильниками*, де пари охолоджуються і конденсат вертається в реакційну суміш. При перегонці речовина конденсується в холодильник і відводиться в колбу-приймач. Такі холодильники називають *низхідними* (вони кріпляться під кутом до столу вбік приймача).

Найпростішим є *повітряний холодильник*, який являє собою довгу скляну трубку. Він годиться лише для роботи з висококиплячими рідинами, оскільки охолоджувальна ефективність повітря невелика. Повітряні холодильники можна використовувати для перегонки рідин, що мають температуру кипіння більшу ніж 150°C.

В *холодильнику Лібиха* для охолодження і конденсації парів використовується проточна вода. Його застосовують в якості низхідного холодильника для перегонки речовин з температурою кипіння менш ніж 160°C. В якості зворотного холодильника він малоефективний, так як має малу поверхню, що охолоджується. Більш ефективними в якості зворотних холодильників є *кулькові, зміювикові холодильники*. Найбільш ефективним вважається *холодильник Діброта*.

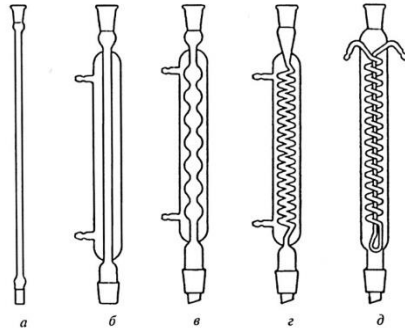


Рис.3. Холодильники: *а* – повітряний; *б* – Лібіха; *в* – кульковий; *г* – змієвиків; *д* – Діброта.

При роботі з холодильниками, в яких охолоджувальним засобом є вода, необхідно пам'ятати, що до водопровідного крану приєднується завжди нижній відросток оболонки холодильника, а верхній відводять у раковину. При цьому холодильник повинен бути повністю заповнений водою, і її циркуляція через оболонку холодильника не повинна припинятися, бо відключення холодильника під час роботи може привести до пожежі, або вибуху.

**Пробірки** (рис. 4) бувають різної величини і діаметру. Пробірки використовуються для проведення реакцій з різноманітними речовинами. Пробірки з конусним шліфом та відповідною трубкою застосовують для фільтрування невеликих об'ємів рідин при пониженому тиску.

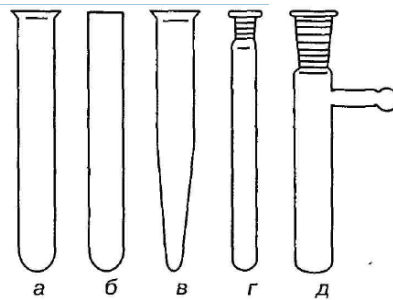


Рис. 4. Пробірки:

*а* – циліндрична з розгорнутим краєм; *б* – циліндрична без відгину; *в* – гостродонна (центрифужна); *г* – зі шліфом; *д* – з конусним шліфом та відповідною трубкою

При перемішуванні реактивів пробірку тримають за верхню частину великим, вказівним і середнім пальцями лівої руки, а вказівним пальцем правої руки легенько вдаряють по її нижній частині декілька разів. Не можна струшувати пробірку, закривши її пальцем, бо при цьому забруднюються речовини, що

перемішуються, а при проведенні дослідів з їдкими речовинами може бути травмована шкіра руки.

При нагріванні пробірки з реакційною сумішшю на відкритому полум'ї слід пам'ятати таке:

1. відкритий кінець пробірки повинен бути повернений в бік від людей, що працюють поряд;
2. перед локальним нагріванням пробірки її необхідно рівномірно прогріти по всій довжині;
3. для запобігання бурхливого скіпання і викидання реакційної суміші з пробірки, її слід обережно нагрівати у верхній частині полум'я до появи перших ознак скіпання, потім треба забрати її з полум'я і продовжити нагрівання гарячим повітрям; в міру необхідності пробірку можна на короткий час вносити в полум'я пальника.

**Ексикатори** (Рис. 5). – це ємкості з товстостінного скла, що складаються з масивного корпусу і притертої до нього скляної кришки. Їх використовують для висушування речовин та зберігання гігроскопічних речовин. Розрізняють звичайні і вакуум-ексикатори. Із останніх через трубку з краном за допомогою вакуум-насосів відкачують повітря. Речовину розміщують в ексикаторі в чашці Петрі. В якості осушувача застосовують прожарений хлорид кальцію, силікагель, оксид фосфору (V), натронне вапно, гідроксид натрію, сульфат магнію або натрію.

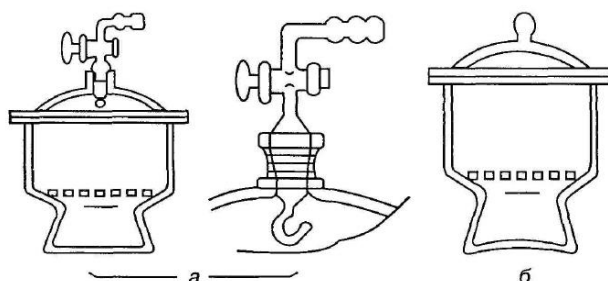
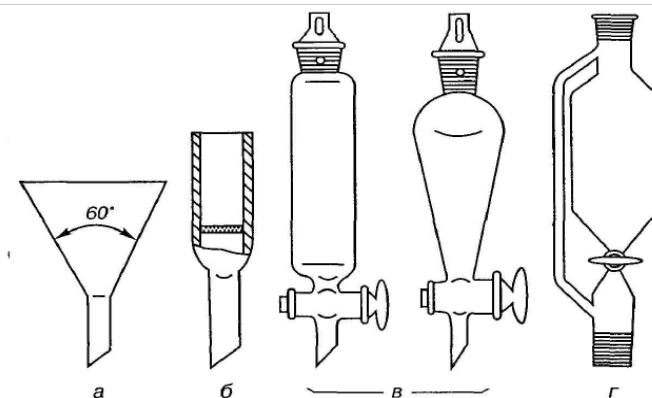


Рис. 5. Ексикатори: а – вакуумний; б – звичайний.

**Лійки** (Рис.6) використовують для наливання, фільтрування, розділення рідин. Лабораторні лійки використовують для наливання

рідин та фільтрування розчинів через паперовий фільтр. Лійки зі скляним фільтром використовують для фільтрування агресивних рідин, що руйнують паперові фільтри. Ділильні лійки використовують для розділення рідин, що не змішуються при екстрагуванні та очистки речовин. Крапельні лійки використовують для регульованого приливання речовин. Лійки Бюхнера відрізняються від звичайних тим, що вони зроблені з фарфору і мають перегородку з отворами, на яку поміщають паперовий фільтр. Лійку вставляють в колбу Бунзена, з якої потім відкачують повітря.



**Рис. 6. Лійки:**

а – лабораторна; б – фільтруюча з впаяним скляним фільтром; в – ділильна; г – крапельна з боковою трубкою для вирівнювання тиску

**Мірний посуд** (Рис. 7) служить для виміру об'єму рідин. *Мірні циліндри і мензурки* придатні для виміру відносно великих об'ємів – від 5 до 2000 мл. *Бюретки* – прилади для виміру точних об'ємів рідини, що застосовуються переважно при титруванні. *Піпетки* відміряють найбільш точні об'єми – від 0,005 мл (для мікро піпеток) до 10-25 мл (для градуїрованих піпеток і піпеток Мора). *Мірні колби* застосовують для виготовлення розчинів точних концентрацій. Вони мають тонке довге горло, на якому нанесена кільцева риска. При приготуванні розчину рівень рідини доводять до цієї мітки.



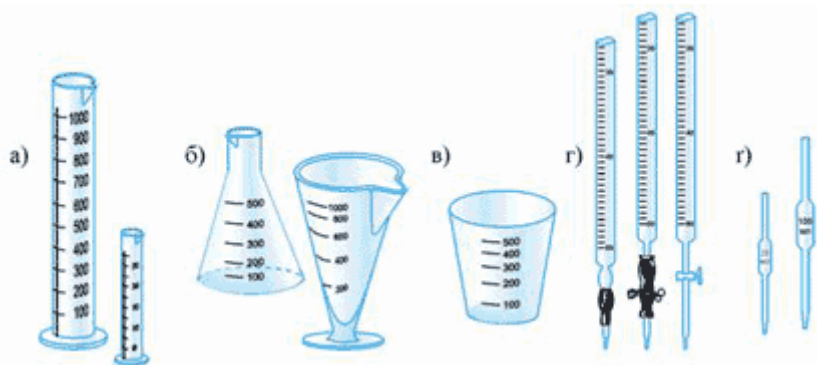


Рис. 7. Мірний посуд

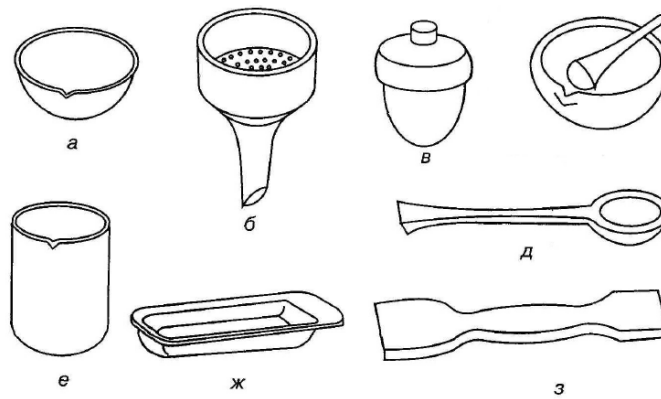
а – мірний циліндр; б – мірна плоскодонна конічна колба; в – мірна склянка; г – бюретки; г) піпетки

**Нагрівальні бані.** Пряме нагрівання на полум'ї газового пальника або на електричній плитці може призвести до місцевих перегрівів. Цього можна уникнути при використанні нагрівальних бань. В якості теплоносія в банях застосовують воду, повітря, пісок і масло.

Найпростішу *повітряну баню* можна одержати, якщо між полум'ям і колбою, що нагрівається, помістити азбестову сітку. *Пісочні бані* мають дуже велику теплову інерцію, що утруднює регуляцію температури. Найбільш зручними є *масляні і водяні бані*, так як вони забезпечують рівномірне нагрівання колби і завдяки незначній тепловій інерції дозволяють точно регулювати температуру реакційної суміші. Вибір бані визначається властивостями речовини або суміші, що нагрівається, а також температурою, необхідною для їх нагрівання. Водяні бані застосовують при нагріванні речовин до 100°C, масляні – до 150°C, пісочні – вище 400°C.

**Порцеляновий посуд** (Рис. 9) дозволяє вести прямий нагрів речовини до температури 1200°C. Недоліком цього посуду є його велика маса і непрозорість. *Чашки для випаровування* застосовують для нагрівання і випаровування різних розчинів. Цей процес можна проводити на відкритому полум'ї, але рівномірне випаровування зазвичай відбувається на азбестовій сітці або водяній бані. *Тиглі* застосовують для прожарювання різних речовин і для спалювання

органічних сполук. З порцелянового посуду в хімічній лабораторії часто використовують стакани, ложки, шпателі і ступки.



**Рис. 9. Фарфоровий посуд:**

а – чашка випарна; б – лійка Бюхнера; в – тигель; г – ступка і пестик; д – ложка;  
е – стакан; ж – лодочка для спалювання; з – шпатель

## Лабораторна робота № 1

**Тема:** Кольорові реакції на білки та окремі амінокислоти

### ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Існують дві різновидності кольорових реакцій:

- універсальні – біуретова (на всі білки) і нінгідрінова (на всі амінокислоти та білки);
- специфічні – тільки на деякі амінокислоти як в молекулі білка, так і в розчинах окремих амінокислот.

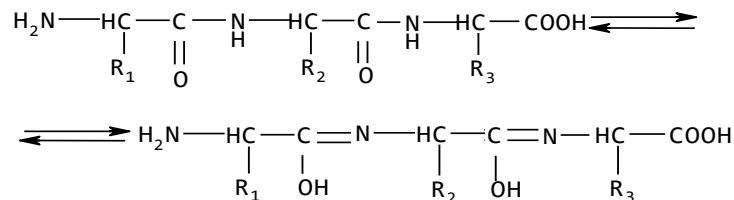
Радикали амінокислот дають різноманітні забарвлення, що зумовлює можливість виявлення більшості з них певними кольоровими реакціями.

Кольорові реакції широко використовуються для виявлення білкової природи речовин, вивчення амінокислотного складу різних природних білків і пептидів, для ідентифікації індивідуальних амінокислот. Багато з них є досить чутливими та високо специфічними, що дозволяє відкривати незначні кількості білків та амінокислот в досліджуваних об'єктах.

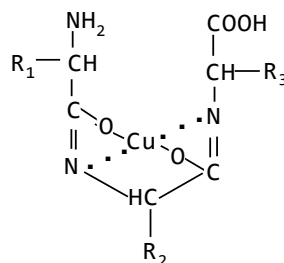
#### *Дослід 1. Біуретова реакція (реакція Піотровського)*

**Принцип.** Біуретова реакція зумовлена наявністю в молекулах білків пептидних зв'язків. Ця реакція ґрунтується на утворенні хелатного комплексу  $\text{Cu}^{2+}$  з функціональними групами пептидних зв'язків у лужному середовищі, при цьому виникає синьо-фіолетове забарвлення.

Спочатку пептидні зв'язки в лужному середовищі енолізуються:



Найпростіший пептид, який дає позитивну біуретову реакцію, – трипептид:



Біуретову реакцію дають також амінокислота гистидин і амід аспарагінової кислоти.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	1% розчин білку	1 мл
2	10% розчин NaOH	5 крапель
3	1% розчин CuSO <sub>4</sub>	1-2 краплі
	<b>Забарвлення:</b>	

Пояснити результати досліду та записати у висновок.

**ВИСНОВОК**

---



---

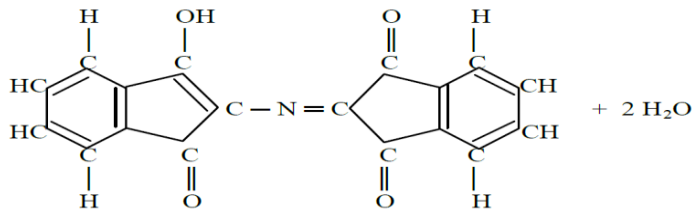


---

### *Дослід 2. Нінгідринова реакція*

**Принцип.** Нінгідринова реакція обумовлена наявністю в складі білків та амінокислот аміногрупу в  $\alpha$ -положенні.

При нагріванні білка з водним розчином нінгідрину амінокислоти окиснюються з утворенням відповідного альдегіду, амоніаку та карбон (IV) оксиду, а нінгідрин при цьому відновлюється. Відновлений нінгідрин конденсується з аміаком і окисненою формою нінгідрину та утворює комплексну сполуку синьо-фіолетового кольору:



Ця реакція не є специфічною лише для амінокислот, а й характерна для амінів та амідів.

Нінгідрин є токсичною речовиною!!!!, тому слід уникати потрапляння його на шкіру та слизові оболонки.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

	Реактиви, послідовність додавання	Фільтрувальний папір
1	1% розчин білку	1 крапля
Висушити над електроплиткою		
2	0,1% розчин нінгідрину	1-2 краплі
Висушити над електроплиткою		
	<b>Забарвлення:</b>	

Пояснити результати досліду та записати у висновок.

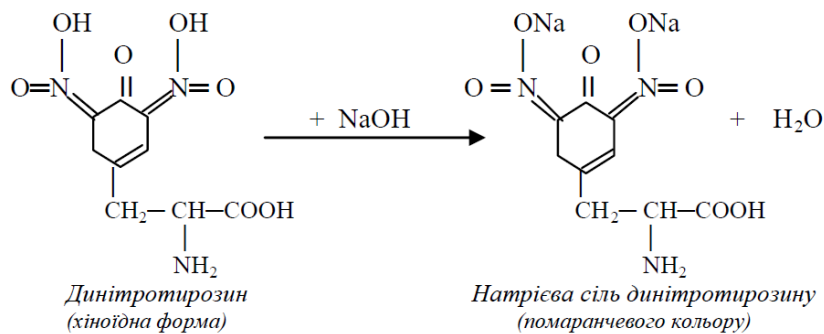
**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### Дослід 3. Ксантопротеїнова реакція (реакція Мульдера)

**Принцип.** При нітруванні бензольного циклу ароматичних амінокислот (фенілаланін, тирозин, триптофан) концентрованою нітратною кислотою відбувається утворення нітросполук жовтого кольору, які за присутності лугу дають солі хіноїдної природи, забарвлені в помаранчевий колір.



**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	1% розчин білку	1 мл
2	концентрована $\text{HNO}_3$	5 крапель
Обережно нагріти до появи забарвлення. Охолодити		
3	концентрований розчин $\text{NH}_3$	10 крапель
	<b>Забарвлення:</b>	

Пояснити результати досліду та записати висновок.

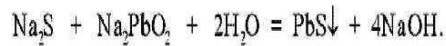
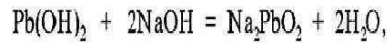
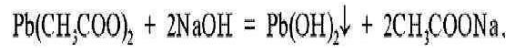
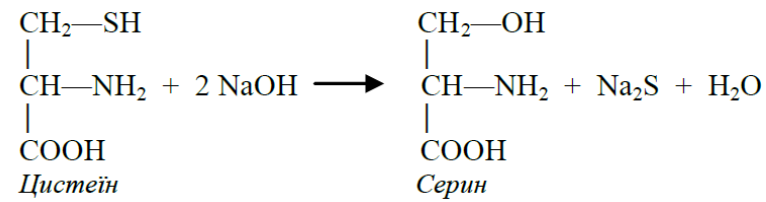
**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### Дослід 4. Реакція Фоля

**Принцип.** При нагріванні розчину білка, який містить сірковмісні амінокислоти (цистеїн, метіонін) з плюмбум ацетатом в присутності лугу, спостерігається буре або чорне забарвлення плюмбум (II) сульфід.



**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	5% розчин п्लумбум (II) ацетат	2 краплі
2	30% розчин NaOH	По краплям до повного розчинення осаду
3	1% розчин білка	1мл
Закип'ятити		
	<b>Забарвлення:</b>	

Пояснити результати досліду та записати висновок.

**ВИСНОВОК**

---



---



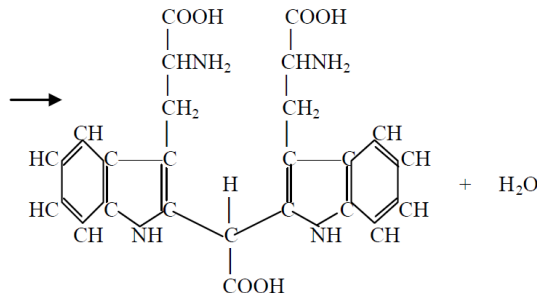
---



---

### *Дослід 5. Реакція Адамкевича*

**Принцип.** Триптофан у кислому середовищі взаємодіє з гліоксалевою кислотою, яка в невеликій кількості міститься в концентрованій оцтовій кислоті. Продукт конденсації забарвлений в червоно-фіолетовий колір.



**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	1% розчин білку	1 мл
2	концентрована $\text{CH}_3\text{COOH}$	0,5 мл
Обережно нагріти до розчинення осаду. Охолодити		
3	концентрована $\text{H}_2\text{SO}_4$	1 мл
	<b>Забарвлення:</b>	

Пояснити результати досліду та записати висновок.

**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### Контрольні питання

1. За допомогою якої реакції можна виявити білки в досліджуваних об'єктах? Пояснити їх принцип та записати хімізм реакцій.

2. За допомогою якої реакції можна виявити вільні  $\alpha$ -амінокислоти? Пояснити її принцип та записати хімізм.

3. За допомогою якої реакції можна виявити сірковмісні амінокислоти? Пояснити її принцип та записати хімізм.

4. За допомогою якої реакції можна виявити ароматичні амінокислоти? Пояснити її принцип та записати хімізм.

5. За допомогою якої реакції можна виявити триптофан? Пояснити її принцип та записати хімізм.

6. Напишіть формули таких амінокислот:

Аланін \_\_\_\_\_

Валін \_\_\_\_\_

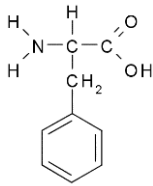
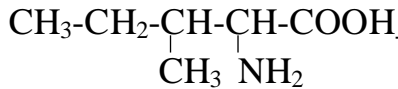
Триптофан \_\_\_\_\_

Цистеїн \_\_\_\_\_

Гістидин \_\_\_\_\_

7. Дайте назву амінокислотам за міжнародною номенклатурою та тривіальною:

$\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$  \_\_\_\_\_



8. Побудувати трипептид: Аспарагіл-аланін-лізин

## Лабораторна робота № 2

**Тема:** Фізико-хімічні властивості білків

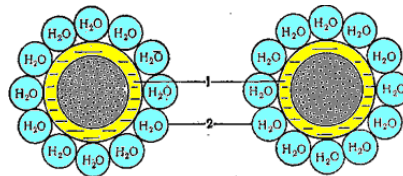
### ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

**Білки** – це біополімери, мономерами яких є амінокислоти. Білок складається щонайменше з п'ятдесяти амінокислотних залишків, з'єднаних між собою пептидними зв'язками, що формуються за рахунок взаємодії карбоксильної та аміногрупи.

Розчинність білків - важлива фізична властивість, що залежить від амінокислотного складу, молекулярної маси, властивостей радикалів, температури, розчинників та інших факторів.

Більшість білків, подібно до гідрофільних колоїдів, за певних умов розчиняються у воді, водно-сольових розчинах та в розчинах деяких полярних розчинників.

При розчиненні білка у воді навколо іонізованих і полярних груп молекул білка (-ОН, -NH<sub>3</sub><sup>+</sup>, -COO<sup>-</sup>) утворюються гідратні оболонки, що складаються з орієнтованих у просторі диполів води. Процес гідратації білку є важливим фактором стабілізації їх розчинів.



**Білки в водному розчині.** 1 – колоїдні частинки білка;

2 – гідратна оболонка

Білки мають велику молекулярну масу, тому їх водні розчини проявляють колоїдний характер. Білки, як високомолекулярні колоїдні сполуки проявляють гідрофільні властивості, оскільки мають велику спорідненість з водою, а як наслідок легко розчиняються в ній. Білки, як колоїди, мають такі властивості: розчини білків опалесцирують, у них



спостерігаються явище Фарадея - Тиндаля, броунівський рух, вони не проходять через ультрафільтри, мають низький осмотичний тиск та ін.

Підвищення розчинності білків за присутності низьких концентрацій нейтральних солей має назву засолювання або сольового розчинення.

При додаванні до білків розчинів нейтральних солей високої концентрації білки випадають в осад, тобто відбувається зменшення їх розчинності. Цей процес називається висолюванням.

Денатурація – це втрата білковою молекулою притаманної їй просторової структури, що супроводжується порушенням фізико-хімічних властивостей та біологічної активності під дією кислот, лугів, органічних розчинників, високих доз ультрафіолетового та іонізуючого випромінення, високих температур.

У результаті цих змін білок втрачає здатність розчинятися у звичайних для нього розчинниках (вода, солеві розчини і т.д.), втрачає свої гідрофільні властивості і набуває гідрофобних. За умов денатурації відбувається руйнування нативної вторинної та третинної структури, що як правило призводить до втрати ним біологічних властивостей.

Реакції осадження білків можна розділити на дві групи:

1) незворотні реакції осадження, при яких білки зазнають глибоких змін і не можуть бути знову розчинені. В такому випадку настає денатурація білка. До незворотних реакцій відносяться: осадження білка солями важких металів, алкалоїдами, мінеральними та органічними кислотами, високою температурою.

2) Зворотні реакції осадження, при яких осаджені білки не зазнають глибоких змін і тому одержані осадки білків можуть бути розчинені у воді. При цьому молекула білка зберігає свої властивості. До зворотних реакцій слід віднести осадження білків органічними розчинниками (спирт, ацетон) і висолювання білків.

Висолювання – зворотне осадження білків під дією водовіднімаючих засобів, що позбавляють білок гідратної оболонки (осадження під впливом розчинів нейтральних солей  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  та ін.). Осадки білків (гель), що утворені висолюванням, можуть бути знову розчинені, якщо зменшити концентрацію солей діалізом або розведенням водою.

### ***Дослід 1. Висолювання білків сульфатом амонію***

**Принцип.** При додаванні великих кількостей солей лужних та лужноземельних металів до розчину білка відбувається дегідратація білкових молекул і нейтралізація заряду. Цей процес є зворотним: після розведення або проведення діалізу білок знову розчиняється та відновлює нативні властивості. Цей метод застосовують для розділення білків біологічних рідин.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	1% розчин білка	1 мл
2	80% розчин амоній сульфату	3 краплі
Поява осаду глобулінів. Фільтрування. Повтор дії 1-2. Поява осаду альбумінів		
3	вода	4 мл
<b>Спостереження:</b>		

Пояснити результати досліду та записати висновок.

**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

### ***Дослід 2. Осадження білків органічними розчинниками***

**Принцип.** Органічні розчинники дегідратують білок і знижують його стійкість в розчині. Короткочасна дія органічного розчинника зберігає білок в його природному стані, а тривала – веде до денатурації.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	1% розчин білку	1 мл
2	етиловий спирт	1 мл
Поява осаду		
3	вода	5 мл
<b>Спостереження:</b>		

Пояснити результати досліду та записати висновок.

**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

### ***Дослід 3. Осадження білків під впливом високих температур***

**Принцип.** Більшість білків при нагріванні до 56°C та вище денатурують, перетворюючись безповоротно на гель (вийняток – желатин). Механізм температурної коагуляції та денатурації білків пов'язаний з перебудовою структури макромолекул білка, зокрема колоїдної частки білка під впливом підвищеної температури, вони з гідрофільних перетворюються на гідрофобні. Іде глибока та незворотна зміна третинної та вторинної будови молекул білка – вони вивертаються "навиворіт". Температурна денатурація білків проходить повільно і прискорюється з підвищенням температури. Найбільш повне та швидке осадження проходить в ізоелектричній точці білка, тобто при значенні рН, коли колоїдні частинки білка є електронейтральними та найменш стійкими. Для більшості білків ізоелектрична точка знаходиться в слабкокислomu середовищі. В сильно кислих розчинах (за виключенням розчинів нітратної та ТХО) при нагріванні білок не випадає в осад, тому що частинки білка перезаряджаються або посилюється вже існуючий заряд, що

підвищує його стійкість в розчині. Але білки можуть осаджуватись в сильно кислих розчинах при нагріванні, якщо додати достатню кількість будь-якої нейтральної солі. Іони солі адсорбуються на частинках білка та нейтралізують його заряд і білок випадає в осад.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка				
		1	2	3	4	5
1	1% розчин білку, мл	1	1	1	1	1
2	3% $\text{CH}_3\text{COOH}$ , краплі	-	2	-	-	-
3	10% $\text{CH}_3\text{COOH}$ , краплі	-	-	3	3	-
4	$\text{NaCl}$ , кристал	-	-	-	1-2	-
5	10% розчин $\text{NaOH}$ , краплі	-	-	-	-	3
Обережно нагріти до кипіння						
	<b>Наявність осаду:</b>					

Пояснити результати досліду та записати висновок.

**ВИСНОВОК**

---



---

#### ***Дослід 4. Осадження білків солями важких металів***

**Принцип.** 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** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка		
		1	2	3
1	1% розчин білку, мл	1	1	1
2	10% розчин AgNO <sub>3</sub> , краплі	2	-	-
3	5% розчин (CH <sub>3</sub> COO)Pb, краплі	-	2	-
4	5% розчин CuSO <sub>4</sub> , краплі	-	-	2
	<b>Наявність осаду:</b>			

Пояснити результати досліду та записати висновок.

**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

**Дослід 5. Осадження білків мінеральними кислотами.**

**Принцип.** Концентровані мінеральні кислоти (крім фосфорної) спричиняють осадження білків із розчину. Це пояснюється явищем дегідратації колоїдних часток білка та денатурацією білка. Надлишок мінеральних кислот (за винятком азотної) розчиняє осад білків, що випадає при їх додаванні.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка		
		1	2	3
1	Концентрована HCl, мл	1	-	-
2	Концентрована H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , мл	-	1	-
3	Концентрована HNO <sub>3</sub> , мл	-	-	1
4	1% розчин білку (нашаровувати по стінці пробірки під кутом), мл	1	1	1
	<b>Наявність осаду та швидкість його утворення:</b>			
	Збовтати пробірки			
	<b>Наявність осаду:</b>			

Пояснити результати досліду та записати висновок.

**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

**Дослід 6. Осадження білків органічними кислотами**

**Принцип.** Білки з розчину можуть осаджуватись органічними кислотами, проте різні органічні кислоти діють по-різному. Механізм осадження пояснюється дегідратацією білкової молекули та нейтралізацією заряду. Трихлороцтова кислота (ТХО) є надчутливим і специфічним реактивом на білок: вона осаджує тільки білки і не осаджує продукти їх розпаду.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка	
		1	2
1	1% розчин білку, мл	1	1
2	10% розчин ТХО, краплі	3	-
3	10% розчин сульфосаліцилової кислоти, краплі	-	3
	<b>Наявність осаду:</b>		

Пояснити результати досліду та записати висновок.

**ВИСНОВОК**

---

### *Дослід 7. Осадження білків алкалоїдними реактивами*

**Принцип.** Танін, пікринова кислота, жовта кров'яна сіль та інші алкалоїди утворюють з білками у кислому середовищі нерозчинні сполуки. Механізм осадження білків алкалоїдними реактивами пов'язаний з наявністю в молекулі білка гетероциклічних груп, аналогічних тим, що знаходяться в молекулі алкалоїдів. Більш повне осадження спостерігається при перезарядженні білкової молекули на позитивний заряд (підкислення), що полегшує взаємодію білка з від'ємно-зарядженими іонами осаджувача. При цьому утворюються нерозчинні солеподібні сполуки з основними азотистими групами білка. У цій сполуці білок виступає катіоном, а алкалоїдний реактив – аніоном.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка		
		1	2	3
1	1% розчин білку, мл	1	1	1
2	2% розчин $\text{CH}_3\text{COOH}$ , краплі	2	2	2
3	2% таніну, краплі	3	-	-
4	10% розчин пікринової кислоти, краплі	-	5	-
5	5% розчин жовтої кров'яної солі	-	-	3
	<b>Наявність осаду:</b>			

Пояснити результати досліду та записати висновок.

**ВИСНОВОК**

---

### *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 №3

**Тема:** Визначення ізоелектричної точки білків

### ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Кислотно-основні властивості білків визначаються згідно з розташуванням на поверхні білкових молекул аніоногенних ( $-\text{COOH}$  і меншою мірою  $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$ ) та катіоногенних ( $-\text{NH}_2$ , гуанідинових та імідазолільних фрагментів) груп. Унаслідок цього білки є амфотерними електролітами, заряд яких залежить від значень рН середовища та амінокислотного складу. При низьких значеннях рН молекула білка має позитивний заряд, при високих – негативний. При деякому проміжному значенні рН загальний, або середній, заряд молекули буде дорівнювати нулю, і це значення рН називається *ізоелектричним станом або ізоелектричною точкою*.



Властивості білкових молекул значно змінюються при переході через ізоелектричний стан. Залежність підсумкового заряду на поліпептиді або білку від зміни рН середовища використовують для розділення цих молекул за допомогою електрофорезу.

Кожен білок має свої значення ізоелектричної точки: казеїн – 4,6 -4,7; сироваточний глобулін – 5,4; протаміни – 10-12 і т.д.

### Виконання роботи

Готують серію буферних розчинів:

Розчин	№ пробірки					
	1	2	3	4	5	6
	Об'єм, см <sup>3</sup>					
CH <sub>3</sub> COONa, 0,1 н.	1	1	1	1	1	1
CH <sub>3</sub> COOH 0,1 н	0,12	0,25	0,5	1	2	–
CH <sub>3</sub> COOH 1 н	–	–	–	–	–	0,4

Дистильована вода	1,88	1,75	1,5	1	–	1,6
Желатин, 1 %	1	1	1	1	1	1

pH	5,6	5,3	5,0	4,7	4,4	4,1
Коагуляція						

Вміст пробірок збовтують. Додають із піпетки (повільно при перемішуванні) в перші чотири пробірки етиловий спирт до появи незникаючої протягом 3–5 хвилин легкої муті. Для цього потрібно, як правило, 1-1,5 см<sup>3</sup> спирту.

В решту пробірок додають стільки спирту, скільки його було добавлено в пробірку № 4.

Спостерігають через 20-30 хвилин помутніння, яке позначають за нижченаведеною схемою:

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

Ізоелектрична точка желатину (ІЕТ) становить 4,7. Залежно від сорту желатину ІЕТ може приймати дещо інші значення.

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

### **ВИСНОВОК**

---



---



---



---

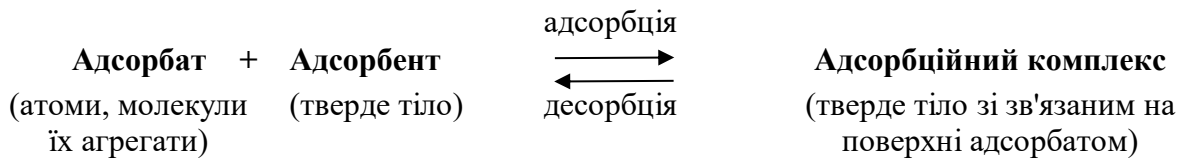
### **Контрольні питання**

1. Що називають ізоелектричним станом білків? Значення ізоелектричного стану у формуванні структури білкових молекул.
2. Від чого залежить заряд білків?
3. Яка залежність існує між розчинністю білка та його ізоелектричною точкою?
4. Чому ізоелектрична точка є індивідуальною характеристикою білка?
5. Чому в ізоелектричній точці розчини білків нестійкі?

**Лабораторна робота № 4**  
**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  $\alpha$ -амінокислот використовувати розчин нінгідрину ( $\omega$ (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 °С 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.

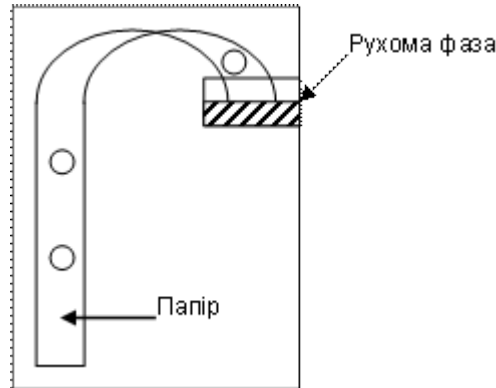


Рис. 1. Низхідна хроматографія

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.

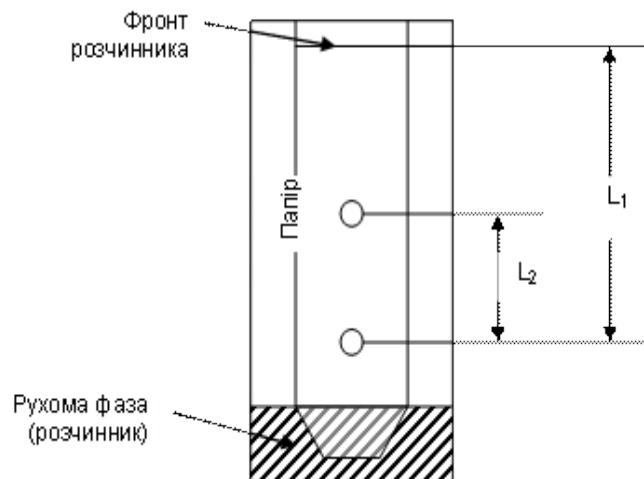


Рис. 2. Висхідна паперова хроматографія

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 № 5

**Тема:** Аналіз складу нуклеопротейдів

#### ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Нуклеїнові кислоти – біополімери, мономерами яких є нуклеотиди. У живих організмах нуклеїнові кислоти входять до складу нуклеопротейдів.

Нуклеопротейди – складні білки, комплекси нуклеїнових кислот (ДНК або РНК) з білками, які є складовими ядер клітин та вірусів.

Кожний нуклеотид складається з пуринової або піримідинової основи, вуглеводу – пентози (рибоза – в РНК, дезоксирибоза – в ДНК) та залишку фосфорної кислоти. До складу РНК входять такі азотисті основи, як аденін, гуанін, цитозин і урацил, а до складу ДНК – замість урацилу – тимін.

Нуклеозиди – природні чи синтетичні сполуки, що складаються з пуринової чи піримідинової основи, зв'язаної N – глікозидним зв'язком з залишком рибози або дезоксирибози.

До азотистих основ пуринового ряду належать: аденін та гуанін, а до піримідинового – цитозин, урацил та тимін.

Дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК) входить до складу хромосом ядра клітин, а рибонуклеїнова кислота (РНК) знаходиться, головним чином, у цитоплазмі клітини та її структурних утвореннях (мітохондрії, рибосоми).

При частковому кислотному гідролізі нуклеопротейнів утворюються білки та нуклеїнові кислоти, а при повному – пуринові і піримідинові основи, рибоза чи дезоксирибоза, фосфорна кислота. Білок також зазнає часткового гідролізу до низькомолекулярних пептидів і амінокислот.

## Хід роботи

### 1. Одержання нуклеопротейдів з дріжджів.

10 г дріжджів змішують у ступці з сумішшю з 2 мл ефіру і 2 мл води, додають 5 г піску і ретельно розтирають, підливаючи до розтертої маси невеликими порціями 40 – 50 мл 0,4%-ного розчину гідроксиду натрію. Розтирання продовжують ще протягом 15 – 20 хвилин. Після цього осад або фільтрують або, краще, відділяють шляхом центрифугування. Центрифугат зливають в стакан і до нього додають невеликими порціями (по 0,5 мл) 10%-ну оцтову кислоту до слабокислої реакції по лакмусу (5 – 6 мл). Отриманий осад нуклеопротейдів відділяють центрифугуванням.

### 2. Гідроліз нуклеопротейду.

Нуклеопротейд, одержаний з дріжджів, переносять у колбу для гідролізу, додають 15 см<sup>3</sup> 5 % розчину сульфатної кислоти. Колбу закривають пробкою зі зворотним холодильником і обережно кип'ятять протягом години. Після охолодження гідролізат фільтрують у хімічну склянку, і використовують для аналізу продуктів гідролізу.

### 3. Аналіз продуктів гідролізу нуклеопротейдів.

#### 3.1. Виявлення простих білків.

**Принцип.** Біуретова реакція зумовлена наявністю в молекулах білків пептидних зв'язків. Ця реакція ґрунтується на утворенні хелатного комплексу  $\text{Cu}^{2+}$  з функціональними групами пептидних зв'язків у лужному середовищі, при цьому виникає синьо-фіолетове забарвлення.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Гідролізат дріжджів, мл	0,5
2	10% розчин NaOH (нейтралізують гідролізат), мл	+ 0,5
3	2% $\text{CuSO}_4$ , краплі	3
	<b>Забарвлення:</b>	

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

## ВИСНОВОК

---



---

#### 3.2. Виявлення пентоз

**Принцип.** Реакція ґрунтується на здатності моно- та дисахаридів при нагріванні в лужному середовищі окиснюючись відновлювати блакитний  $\text{Cu}$  (II) гідроксид в жовтий  $\text{Cu}$  (I) гідроксид. При подальшому нагріванні утворюється купрум (I) оксид цегляно-червоного кольору.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Гідролізат дріжджів, мл	1
2	10% розчин NaOH (нейтралізують гідролізат), мл	
3	Реактив Фелінга	1
Обережно нагрівають		
	<b>Забарвлення:</b>	

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

### 3.3. Виявлення пуринових основ

**Принцип.** Пуринові основи з аміачним розчином аргентуму нітрату утворюють осад, що забарвлюється у світло-коричневий колір.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Гідролізат дріжджів, мл	2
2	Концентрований розчин аміаку, краплини	5-6
3	1% розчин AgNO <sub>3</sub> , мл	0,5
	<b>Забарвлення через 5 хв:</b>	

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

### 3.4. Виявлення фосфатної кислоти

**Принцип.** Фосфати у кислому середовищі утворюють з молібдатами забарвлені фосфатно-молібденові комплекси.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Гідролізат дріжджів, мл	2
2	Молібдат амонію в нітратній кислоті, мл	4
	<b>Забарвлення:</b>	жовто-зелений осад

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

## 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 Чаргаффа?
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.
10. Записати будову нуклеозидів аденіну, гуаніну, цитозину, тиміну, урацилу. Дати повні та скорочені назви.
11. Записати формули і дати повні та скорочені назви нуклеотидам, що містять аденін, гуанін, цитозин, тимін.

## Лабораторна робота № 6

### 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 *рН-оптимумом*. Більшість ферментів проявляє максимальну каталітичну активність при  $pH = 7$ . 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):

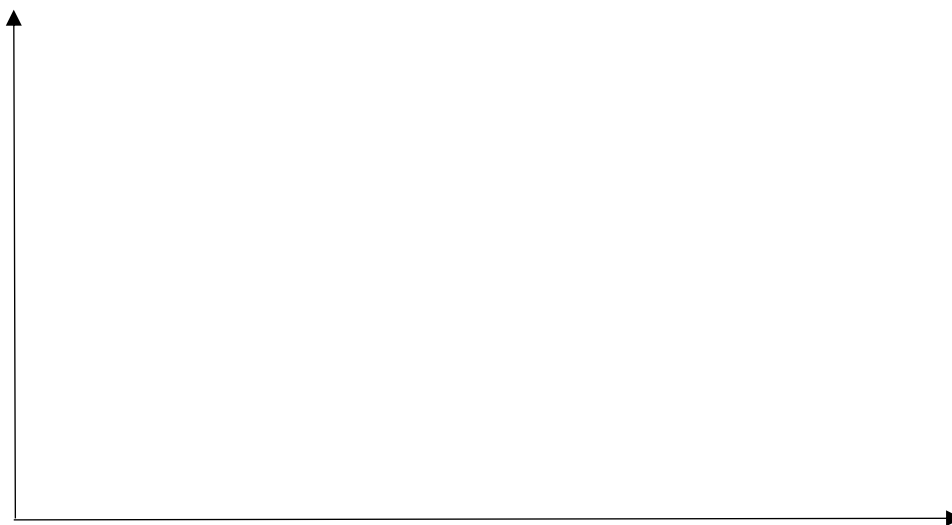
№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки			
		1	2	3	4
1	слина, мл	0,2	0,2	0,2	0,2
2	кипятіння на водяній бані 10 хв	+	-	-	-
3	крижана баня 10 хв	-	+	-	-
4	кімнатна температура	-	-	+	-
5	інкубація в термостаті при 37°C 10 хв	-	-	-	+
6	1% розчин крохмалю, мл	1	1	1	1
4	Розчин йоду, краплі	1	1	1	1
	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

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 дослідів 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
	<b>Забарвлення:</b>			

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.



**ВИСНОВОК****Дослід 3. Специфічність дії амілази та сахарози**

**Принцип.** Амілаза слини прискорює гідроліз полісахаридів та не впливає на дисахариди. Сахараза, 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 додавання	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	1а	2	2а	3	3а	4	4а
Розчин йоду, краплі	1		1		1		1	
Реакція з йодом (+) чи (-)								
10% розчин NaOH, краплі		10		10		10		10
1% розчин CuSO <sub>4</sub> , краплі		3		3		3		3
Реакція Тромера (+) чи (-)								

Поясніть результати дослідження та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК****Дослід 4. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази**

**Принцип.** Вплив NaCl та CuSO<sub>4</sub> 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 додавання	Пробірки		
	1	2	3
Вода, мл	1	-	-
1% розчин NaCl, мл	-	1	-
1% розчин CuSO <sub>4</sub> , 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
<b>Забарвлення:</b>			

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 № 7

**Тема:** Визначення активності каталази та пероксидази

#### ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Оксидази – ферменти, що передають електрони від субстрату на кисень. При цьому утворюється вода, пероксид гідрогену (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) або супероксидний аніон оксисену (O<sup>2-</sup>). 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  $\text{H}_2\text{O}_2$  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  $\text{H}_2\text{O}_2$ , яку розкладає 1 мкл крові за певний проміжок часу. Кількість  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 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, сокі 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.

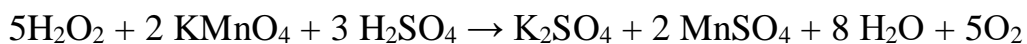
Фермент входить до складу антиоксидантної системи рослин, здатний каталізувати реакції оксидазного, пероксидазного і оксигеназного окиснення. Каталізує окиснення різних поліфенолів, амінів, жирних кислот та інших сполук за допомогою пероксиду гідрогену або органічних перекисів.

Пероксидаза, як і каталаза відноситься до гемопротейдів, 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, злякисних новоутвореннях.

### **Дослід 1. 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 відтитровують 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 $\text{H}_2\text{O}_2$ , мл	2	2
4	10% розчин $\text{H}_2\text{O}_2$ , мл	3	-
5	Інкубація при кімнатній температурі 30 хв		
6	10% розчин $\text{H}_2\text{O}_2$ , 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:

$$\text{КЧ} = 1,7 \times (V_1 - V_2)$$

1,7 – кількість міліграмів  $\text{H}_2\text{O}_2$ , що міститься в 1 мл 0,1М розчину.

В нормі КЧ = 10 – 15 одиниць.

КЧ = \_\_\_\_\_

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

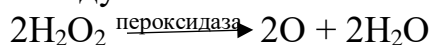
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Дослід 2. 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 $\text{H}_2\text{O}$ , мл	2
4	розчин індигокарміну ( $C_H = 0,001$ ), краплі	8
5	розчин $\text{H}_2\text{O}_2$ ( $C_H = 0,2\text{M}$ ), 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 № 8

**Тема:** Дослідження хімічних властивостей глюкози

#### ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Глюкоза – моносахарид, основне джерело енергії для живих організмів. Глюкоза міститься майже в усіх органах рослин – плодах, корінні, листі, квітках. Багато її є у винограді (тому її називають виноградним цукром), цукровій тростині, цукрових буряках, солодких фруктах, ягодах. Глюкоза входить до складу тваринних організмів. Її масова частка у крові людини становить близько 0,1 %. Глюкоза поступає в організм у складі кормів,

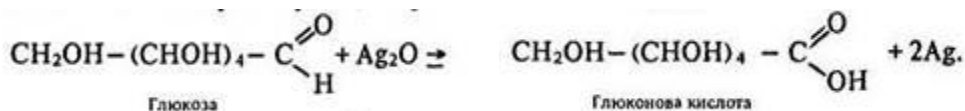
утворюється при гідролізі складних вуглеводів і в результаті неоглікогенеза. Глюкоза – обов'язкова складова частина крові людини і тварин. Розчини глюкози використовуються в медицині і ветеринарії для внутрішньовенних ін'єкцій.

За хімічною будовою глюкоза відноситься до альдогексоз, тобто має альдегідну та 5 гідроксо груп. Тому глюкоза вступає в реакції, характерні для альдегідів та спиртів.

### Виконання роботи

#### Дослід 1. Реакція «срібного дзеркала»

**Принцип.** Глюкоза відновлює аміачний розчин аргентум гідроксиду, який утворюється при взаємодії аргентум нітрату з водним розчином аміаку, до металічного срібла.



**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
амоніак, мл	1
1% розчин AgNO <sub>3</sub> , мл	1
розчин глюкози, мл	1
Перемішати та обережно нагріти на спиртівці	
<b>Забарвлення:</b>	

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

#### ВИСНОВОК

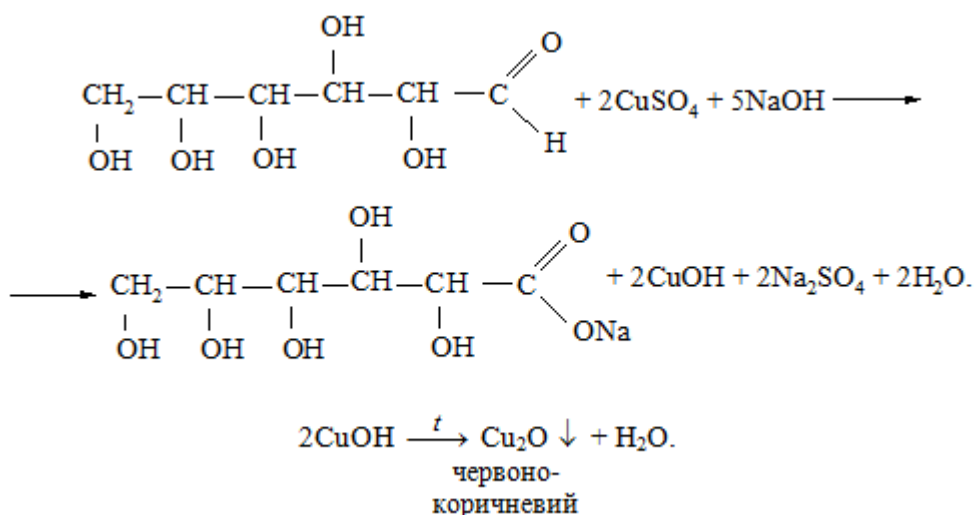
---

---

---

#### Дослід 2. Реакція Френкеля

**Принцип.** Розчини гексоз при нагріванні у лужному середовищі відновлюють гідроксид купруму (II) до оксиду Купруму (I), а самі при цьому окиснюються до відповідних альдонових кислот (спочатку утворюється сіль, а потім внаслідок гідролізу утворюється глюконова кислота).



За умови утворення надлишку купрум гідроксиду, у розчині утворюється чорний осад  $\text{CuO}$ , який заважає визначенню та маскує позитивну реакцію.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

Реактиви, послідовність додання	Пробірка
розчин глюкози, мл	1
розчин $\text{NaOH}$ , мл	3
розчин $\text{CuSO}_4$ , краплі	1
	4-5
Перемішати та обережно нагріти на спиртівці	
<b>Забарвлення:</b>	

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК**

---



---



---

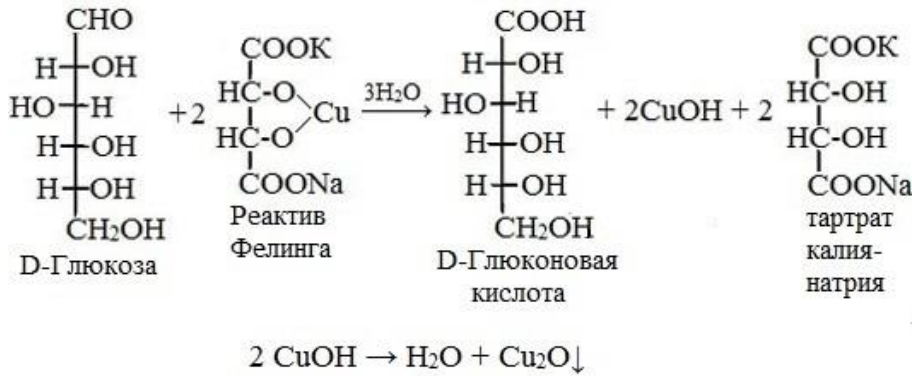


---

### *Дослід 3. Реакція Фелінга*

**Принцип.** Моносахариди за рахунок наявності альдегідної групи здатні відновлювати йони металів в лужному середовищі. Глюкоза при нагріванні в лужному середовищі окиснюючись відновлює блакитний  $\text{Cu}$  (II) гідроксид в жовтий  $\text{Cu}$  (I) гідроксид. При подальшому нагріванні утворюється купрум (I) оксид цегляно-червоного кольору.

До складу реактиву Фелінга входить купрум (II) сульфат, натрій гідроксид, калійнатрій тартрат. Ця реакція використовується для виявлення глюкози в сечі.



**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
Розчин Фелінг-1, мл	1
Розчин Фелінг-2, мл	1
розчин глюкози, мл	1-2
Перемішати та обережно нагріти верхню частину на спиртівці	
<b>Забарвлення:</b>	

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК**

---



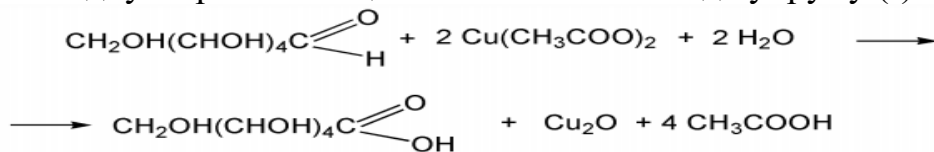
---



---

#### **Дослід 4. Реакція Барфед**

**Принцип.** Відновлення йонів міді моносахаридами може відбуватись як в лужному так і в слабо кислому середовищі. В результаті реакції глюкози з ацетатом міді утворюється оцтова кислота та оксид купруму (I):



Реакція Барфед відрізняється тим, що дисахариди, здатні до гідролізу, за таких умов практично не окиснюються. Тому ця реакція дає можливість ідентифікувати моносахариди в присутності дисахаридів.

**Реактив Барфед:** 6 - 7 % розчин купрум ацетату в 1 % розчині оцтової кислоти.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

Реактиви, послідовність додавання	Пробірки		
Вода, мл	1	2	3
1% розчин глюкози, мл	1	1	-



1% розчин сахарози, мл	1	1	2
Реактив Барфедда, мл	1	2	1
Обережно нагріти до кипіння			
<b>Забарвлення:</b>			

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК**

---



---



---

### КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Загальна характеристика глюкози
2. Як підтвердити наявність альдегідної групи в глюкозі?
3. Як підтвердити наявність спиртових груп в глюкозі?
4. Реакції бродіння характерні для глюкози
5. Значення глюкози для живих організмів та її поширення в природі.
6. Мутаротація моносахаридів на прикладі глюкози.

### Лабораторна робота № 9

**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**. Різке 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.

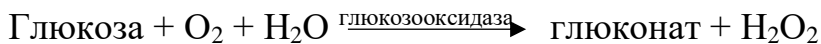
Глюкоза, при нормальній її концентрації в крові із сечею з організму не виводиться. У випадку надлишкового вмісту глюкози в крові, нирки не в змозі забезпечити повну реабсорбцію глюкози із сечі. У зв'язку з цим вона виводиться з організму.

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**

---

---

---

---

**Лабораторна робота № 10****Тема:** Визначення йодного та кислотного числа жирів**ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА**

Жири або гліцериди – це складні ефіри триатомного спирту гліцерину ( $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_2$ ) 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 ( $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$ ).

Прості гліцериди мають у своїй молекулі три однакові кислоти, а змішані гліцериди мають у своєму складі 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).

Йодне число – це показник, що характеризує ненасиченість жирних кислот, які входять до складу жиру. Визначення йодного числа ґрунтується на здатності ненасичених жирних кислот приєднувати молекули галогену (хлор, бром, йод) в умовах, за яких ця реакція не супроводжується заміщенням водню на галоген. На кожен подвійний зв'язок витрачається одна молекула галогену. Таким чином йодне число залежить від кількості етиленових (подвійних) зв'язків в жирних кислотах: з їх збільшенням йодне число зростає.

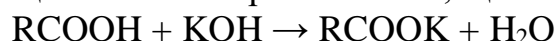
Крім того, чим більше у жирі міститься ненасичених жирних кислот, тим також вищим є його йодне число. Рослинні олії внаслідок більшого вмісту ненасичених жирних кислот порівняно з тваринними жирами мають більш високі значення йодних чисел.

Під *йодним числом* розуміють кількість грамів йоду, що приєднується до 100 г жиру. Йодне число використовують для визначення виду харчового жиру, його здатності до висихання, розрахунку потрібної кількості водню для його гідрогенізації. За величиною йодного числа жирів та олій роблять висновок про їх здатність до різноманітних хімічних перетворень, оскільки ненасичені жирні кислоти можуть приєднувати кисень по місцю розриву подвійних зв'язків, що обумовлює процеси згіркнення та висихання жирів. У процесі окиснення жирів кількість ненасичених жирних кислот знижується і як наслідок зменшується йодне число. Зменшення йодного числа є показником псування жиру.

**Йодне число для деяких рослинних олій і тваринних жирів**

Вид харчового жиру		Йодне число, % I <sub>2</sub>
Олія:	соняшникова	125-145
	соєва	120-140
	гірчична	102-108
	бавовняна	102-117
	оливкова	75-85
	кукурудзяна	111-133
Жир	яловичий	32-47
	баранячий	35-40
Вершкове масло		30-50

*Кислотне число* – це кількість міліграмів гідроксиду калію або натрію, необхідна для нейтралізації вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру:



Кількість вільних жирних кислот в жирі є непостійною та залежить від кількості жирової сировини, способу отримання жирів, тривалості та умов зберігання, інших факторів. Їх накопичення зумовлено гідролітичним розщепленням гліцеридів на дигліцериди, моногліцериди, гліцерин та жирні кислоти. Частково вільні жирні кислоти утворюються і внаслідок окиснювальних перетворень жиру на більш пізніх стадіях його окиснення.

Кислотне число є одним з основних якісних показників, що характеризують ступінь свіжості жиру, та регламентується стандартами на всі види харчових жирів. У разі неправильного зберігання кількість вільних жирних кислот зростає і подальше їх окиснення призводить до появи дефектів смаку та запаху, а у разі більш глибоких процесів – до непридатності жиру для харчових цілей.

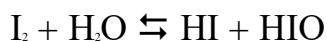
Гранично допустимі норми кислотного числа окремих олій та жирів (мг/г жиру) наведено в табл.2.

**Гранично допустимі норми кислотного числа окремих олій та жирів**

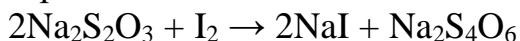
Вид харчового жиру		Кислотне число, мг/г жиру
Соняшникова олія	рафінована	0,4
	нерафінована вищого сорту	1,5
	нерафінована I сорту	2,25
Соева олія	рафінована	0,3
	гідратована I сорту	1,0
Кукурудзяна олія	рафінована	0,4
	нерафінована	5,0
Топлений харчовий жир (баранячий, яловичий, свинячий)	вищого сорту	1,2
	I сорту	2,2
Збірні жири (без покажчика сорту)		3,5

**Дослід 1. Визначення йодного числа методом Маргошеса**

**Принцип.** Метод ґрунтується на здатності ненасичених жирних кислот, що входять до складу жиру вступати в реакцію з йоднуватою кислотою, що утворюється під час взаємодії йоду з великою кількістю води за рівнянням:



Реакція жиру з йоднуватою кислотою відбувається за наступною схемою:  
 $CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH + HOI \rightarrow CH_3(CH_2)_7CHON-CHI(CH_2)_7COOH$   
 Надлишок йоду, що не приєднався, титрують тіосульфатом натрію за присутності індикатора крохмалю:



Щоб дізнатися про кількість йоду, яка приєдналася до ненасичених жирних кислот досліджуваної олії, слід провести в аналогічних умовах контрольний дослід (без наважки жиру). Різниця між кількістю 0,1 н розчину тіосульфату, використаного на титрування контрольної та дослідної проб, є показником кількості йоду, зв'язаного наважкою жиру.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Дослідна колба	Контрольна колба
1	Наважка жиру, г	0,1	-
2	Етанол, мл	10	10
3	Підігріти на водяній бані при 45...50°C, закривши стакан годинниковим склом або чашкою Петрі і перемішати вміст круговими рухами		
4	Спиртовий розчин йоду (Сн = 0,1 моль), мл	10	10
5	Вода, мл	200	200
6	Збовтують і залишають на 5 хв		
7	Титрують надлишок йоду 0,1 н розчином Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> за присутності 1%-ного розчину крохмалю до зникнення синього забарвлення.		

Розрахунок йодного числа (х) ведуть за формулою:

$$\text{Й.ч.} = \frac{(A-B) \times 12,692 \times 100}{0,1 \times 1000}$$

A – об'єм тіосульфату, що пішов на титрування контролю;

B – об'єм тіосульфату, що пішов на титрування досліді;

12,692 – маса йоду, що відповідає 1мл 0,1N розчину тіосульфату, мг;

100 – перерахунок на 100г жиру;

0,1 – наважка жиру у грамах;

1000 – коефіцієнт перерахунку мг йоду у грами

Дані розрахунків записують у процесі виконання роботи в таблицю і роблять висновок про якість жиру за йодним числом.

Назва параметру	Значення
Маса порожньої колби, m <sub>1</sub> , г	
Маса жиру з колбою, m <sub>2</sub> , г	
Маса наважки жиру, m, г	
Кількість 0,1 н розчину тіосульфату Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , що витрачається на титрування під час проведення контрольного досліді (без жиру), V, см <sup>3</sup>	
Кількість 0,1 н розчину тіосульфату Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , що прореагувала з жиром, см <sup>3</sup>	
Кількість 0,1 н розчину тіосульфату Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> , що витрачається на титрування надлишку йоду після приєднання його до жиру, V <sub>1</sub> , см <sup>3</sup>	
Йодне число, Й.ч., % I <sub>2</sub>	

## ВИСНОВОК

---



---



---



---

### **Дослід 2. Визначення кислотного числа жиру**

**Принцип.** Визначення кислотного числа ґрунтується на здатності гідроксиду калію або натрію вступати в реакцію нейтралізації з вільними жирними кислотами, що утворюються при гідролізі жирів.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Дослідна колба	Контрольна колба
1	Наважка жиру, г	3	-
2	Етанол, мл	50	50
3	Підігріти на водяній бані при 45...50°C, закривши стакан годинниковим склом або чашкою Петрі і перемішати вміст круговими рухами		
4	Фенолфталеїн, краплі	1-2	1-2
5	Титрують 0,1 н спиртовим розчином NaOH до появи слабо-малинового забарвлення, що не зникає протягом 30 с.		

Кислотне число (мг/г олії) розраховують за формулою:

$$\text{К. ч.} = \frac{5,61 \cdot K \cdot V}{m},$$

де 5,61 – кількість NaOH або KOH, що міститься в 1 см<sup>3</sup> розчину концентрації 0,1 н; K – коефіцієнт поправки до 0,1 н розчину NaOH або KOH;

V – об'єм 0,1 н NaOH або KOH, що використаний на нейтралізацію вільних жирних кислот в масі наважки жиру, см<sup>3</sup>;

m – маса взятої для аналізу наважки, г.

Дані спостережень та розрахунків запишіть у таблицю.

Назва параметру	Значення
Маса порожньої колби, m <sub>1</sub> , г	
Маса жиру з колбою, m <sub>2</sub> , г	
Маса наважки жиру, m, г	
Об'єм 0,1 М розчину лугу, що витрачається на нейтралізацію вільних жирних кислот в харчовому жирі, V, см <sup>3</sup>	
Коефіцієнт поправки до 0,1 н розчину лугу, K	
Титр 0,1 М розчину NaOH або KOH, мг/см <sup>3</sup>	5,611
Кислотне число, мг/г жиру	

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК**

---

---

---

---

**Дослід 3. Рефрактометричний метод визначення йодного числа**

**Принцип.** Йодне число визначають за показником заломлення олії. Необхідною умовою для отримання відтворюваності результатів та їх кореляції з даними, отриманими за допомогою хімічних методів, є суворе дотримання температури під час заміру показника заломлення. Визначення показника заломлення здійснюють на рефрактометрі ИРФ-454Б2М (рисунок 1).

Величину йодного числа (в г на 100 г жиру) обчислюють за формулою, в яку підставляють середню величину показника заломлення ( $n_D^{20}$ ), отриману для двох паралельних проб:

$$\text{Й. ч.} = \frac{(n_D^{20} - 1,4595) \cdot 100}{0,0118}$$



Рисунок 1 – Рефрактометр ИРФ-454Б2М

**ВИСНОВОК**

---

---

---

---

**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?
5. Механізм окислення жирів.

### Лабораторна робота № 11

**Тема:** Якісні реакції на холестерин і лецитин

#### ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Лецитини (фосфатидилхоліни) – складні ефіри аміноспирту холіну і діацилгліцеридфосфорної кислоти – є одними з найбільш поширених представників фосфоліпідів. При розщепленні лецитинів утворюються вищі жирні кислоти (пальмітинова, стеаринова, олеїнова і арахідонова), гліцерофосфатидна кислота і холін. Лецитин бере участь в утворенні мембран клітин. Фосфатидилхоліновий залишок 36 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.

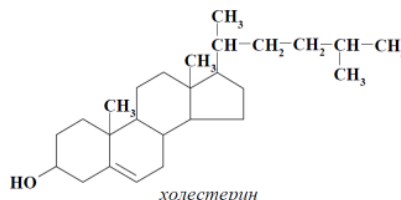
Значна кількість лецитину знайдена в мозку, нервах, яєчному жовтку, рибній ікрі.

Лецитин використовують в медичній практиці при лікуванні гепатиту, атеросклерозу судин, ішемічного інсульту, хронічній пневмонії.

Осадження лецитину відбувається при додаванні насиченого розчину хлориду кадмію (білий осад).

Холестерин – ліпід, що належить до класу стероїдів, має важливе біологічне значення для людини та тварин. Він у значних кількостях міститься в нервовій та жировій тканинах, печінці. У хребетних тварин та у людини є попередником стероїдних гормонів, жовчних кислот, ліпопротеїнів та вітаміну D. Надлишок холестеролу в організмі людини призводить до утворення жовчних каменів, холестеринових бляшок, порушень обміну речовин. Біосинтез холестеролу відбувається в цитозолі та мітохондріях клітин.

В організмі холестерол підлягає біотрансформації, численним метаболічним перетворенням. Цей процес забезпечує синтез стероїдних сполук та забезпечує умови для екскреції надлишків стеролу.



Важливе місце у фізіології та біохімії посідає метаболізм холестеролу. Порушення транспорту холестеролу та триацилгліцеролів є передумовою виникнення багатьох важких хвороб людини і в першу чергу серцево-судинних.

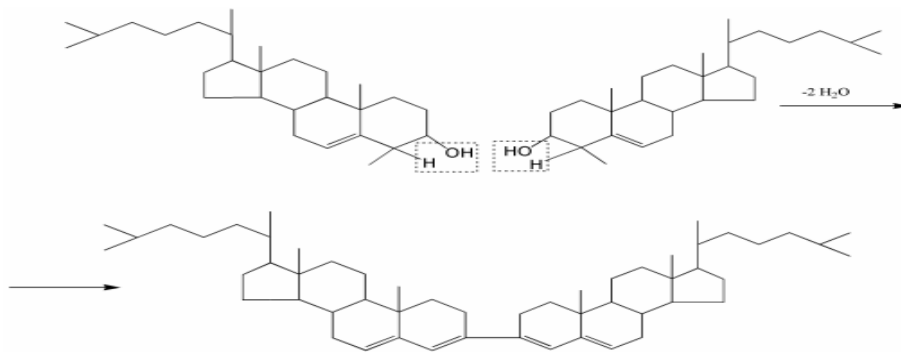
Гіперхолестеринемія – збільшення вмісту холестерину в крові є фактором ризику розвитку коронарного атеросклерозу, ішемічної хвороби серця, інфаркту міокарда. Найвищий рівень холестерину відмічається при генетичних порушеннях обміну ліпопротеїнів – сімейній холестеринемії. Вторинна гіпохолестеринемія спостерігається при захворюваннях печінки, ураженні нирок, злоякісних пухлинах підшлункової залози, подагрі, гіпертензивній хворобі, ожирінні, цукровому діабеті.

Вважають, що гіпохолестеринемія запобігає атеросклеротичному ураженню коронарних судин, але підвищує ризик розвитку онкопатологій.

**Дослід 1. Якісна реакція на холестерол з сульфатною кислотою (реакція Сальковського)**

**Принцип.** При взаємодії сульфатної кислоти з холестерином утворюються забарвлені продукти розпаду холестерину.

Якісні реакції на холестерол ґрунтуються на його здатності перетворюватися з вторинного спирту на ненасичений вуглеводень дихолестадиєн в результаті дегідратації і окиснення. Розчин холестеролу в хлороформі при взаємодії з оцтовим ангідридом і концентрованою сірчаною кислотою дає сполуку (ненасичений вуглеводень зі спряженими подвійними зв'язками) червоного кольору, що переходить в синій, а з часом – в зелений.



**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
холестерин, мл	1
хлороформ, мл	1
розчин H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (обережно нашарувати по стінці пробірки), мл	1-2
<b>Забарвлення:</b>	

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК**

---



---



---



---

**Дослід 2. Мікрометод кількісного визначення фракцій холестерину в сироватці крові за Станкевичене**

**Принцип.** Визначення окремих фракцій холестерину ґрунтується на реакції їх взаємодії з кольоровим реактивом (3 частини 0,1% розчину  $\text{FeCl}_3$  у льодовій ацетатній кислоті і 2 частини концентрованої  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) за різних температурних умов. Вільний холестерин вступає в реакцію при кімнатній температурі, а ефірнозв'язаний – при  $100^\circ\text{C}$ . У нормі загального холестерину в крові міститься 3-5 ммоль/л, а вільного – 1,4 – 3,0 ммоль/л.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
<b>Визначення вільного холестерину</b>	
Кольоровий реактив, мл	2
Сироватка крові, мл	0,04
Змішати, інкубувати 1 годину при кімнатній температурі	
Фотометрувати на ФЕК при $\lambda = 540$ нм в кюветі 5 мм проти контролю (кольоровий реактив)	
<b>Визначення загального холестерину</b>	
Рідину з кювети, в якій визначали вільний холестерин, вилити у пробірку. Кип'ятити 3 хв. Охолодити. Фотометрувати на ФЕК при $\lambda = 540$ нм в кюветі 0,5 см проти контролю	
Результат 1 вимірювання (вільний холестерин), о. оп.щ.	$E_1 =$
Результат 2 вимірювання (загальний холестерин), о. оп.щ.	$E_2 =$

Кількість холестерину в мкг у пробі знаходять за калібрувальним графіком.

Вільний холестерин, мкг \_\_\_\_\_

Загальний холестерин, мкг \_\_\_\_\_

Розраховують вмісту холестерину в сироватці крові в ммоль/л за формулою:

$$X = \frac{a \times 100 \times 0,0259}{0,04 \times 1000}$$

$a$  – кількість холестерину у мкг (знайдена за калібрувальним графіком);

100 – перерахунок на 100 мл крові;

1000 – перерахунок мкг в мг;

0,0259 – коефіцієнт перерахунку мг % у ммоль/л;

0,04 – об'єм сироватки крові, мл.

Ефірнозв'язаний холестерин вираховують за різницею між загальним і вільним холестерином.

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК****Дослід 3. Виявлення лецитину в жовтку курячого яйця**

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка	
		1	2
1	Жовток яйця, краплі	3	3
2	Ацетон, краплі	10	-
3	Спирт, мл	-	1
4	Дистильована вода, мл	-	1-2
5	<b>Спостереження:</b>		

Поясніть результати дослідження та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК****Дослід 4. Якісна реакція на лецитин**

**Принцип.** При взаємодії лецитину з солями  $\text{Cd}^{2+}$  утворюється червоний осад.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
		1
1	Жовток яйця, краплі	2-3
2	Хлороформ, мл	1
3	Сіль кадмію, мл	1
4	<b>Спостереження:</b>	

Поясніть результати дослідження та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК****КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ**

1. Загальна характеристика холестерину, значення для організму людини та тварин
2. Біосинтез холестерину
3. Метаболізм холестерину. Роль холестерину в нормі і при патології.

4. Формування в організмі ліпопротеїнів різної густини, роль холестерину в даному процесі.
5. Якісні реакції на холестерин
6. Визначення вільного та загального холестерину в крові
7. Загальна характеристика лецитину, біологічна роль
8. Добова норма лецитину, продукти харчування з високим вмістом лецитину
9. Роль лецитину у формуванні біологічних мембран

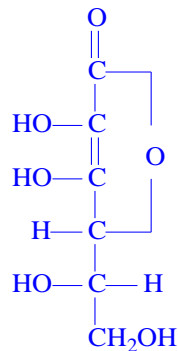
## Лабораторна робота № 12

**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  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ).

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 см<sup>3</sup> 1% розчину HCl

4. розтерти до утворення гомогенної маси
5. перенести масу в мірну колбу на 100 см<sup>3</sup> 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 <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (С = 6 М), мл	4
3	Розчин йоду (С = 0,01 М), мл	20
4	Титрують Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (С = 0, 01 М) до появи світло-жовтого забарвлення	
5	1% розчин крохмалю, мл	0,5 - 1
6	Титрують Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (С = 0, 01 М) до зникнення синього забарвлення	

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

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

Де C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> – концентрація розчинів йоду та тіосульфату натрію, моль/л;  
V<sub>1</sub>, V<sub>2</sub> – кількість розчину йоду, яка вносились та кількість тіосульфату натрію, яку витратили на титрування надлишку йоду, мл;

M<sub>AK</sub> – молярна маса еквіваленту аскорбінової кислоти (88 г/моль);

V<sub>к</sub> – об'єм мірної колби, в якій готували витяжку (100 мл);

V<sub>п</sub> – 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 № 13

**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 (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>), 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	Капілярозміцнюючий	Виявляє протизапальну та протиалергічну дію	50 – 60	Геморагії, патехії, гіперкератоз, пігментації, еритема кистей рук
В <sub>1</sub>	Тіамін	Антиневритний фактор	Стимулює процеси обміну вуглеводів	2 – 3	Психічна та фізична втома, біль у м'язах, парестезії
В <sub>2</sub>	Рибофлавін	Фактор росту	Стимулює енергетичні процеси	2,5 – 3,5	Ангулярний стоматит, глосит, себорейна екзема
В <sub>3</sub>	Пантотенова кислота	Фактор росту	Забезпечує синтез біологічно активних сполук	7 – 10	Дерматити, депігментація волосся, затримка росту
В <sub>5</sub> (РР)	Нікотинова кислота	Антипелагрічний фактор	Стимулює обмін речовин, енергетичні процеси	5 – 15	Хвороба трьох Д (дерматит, діарея, деменція)
В <sub>6</sub>	Піридоксин	Антидерматичний фактор	Стимулює білковий обмін та кровотворні процеси	2 – 4	Епілептоформні судоми, хейлоз, глосит, симетричний дерматит
В <sub>12</sub>	Ціанкобаламін	Антианемічний фактор	Посилює кровотворні процеси	0,0015	Перніціозна анемія, ахлоргідрія, діарея
В <sub>С</sub> (В <sub>10</sub> , В <sub>11</sub> )	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 B<sub>2</sub>*

**Принцип.** Реакція ґрунтується на властивості вітаміну легко відновлюватись в присутності цинку та хлоридної кислоти. При цьому утворюється його лейкоформа.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

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

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### *Дослід 2. Якісна реакція на вітамін B<sub>6</sub>*

**Принцип.** B<sub>6</sub> з FeCl<sub>3</sub> утворює сполуку типу ферум феноляту.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	Розчин B <sub>6</sub> , краплі	5
2	Розчин FeCl <sub>3</sub> , краплі	1
3	<b>Забарвлення:</b>	
4	Рівняння реакції:	

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Дослід 3. 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	<b>Забарвлення:</b>	
5	Рівняння реакції:	

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК**

---



---



---

**КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ**

1. Загальна характеристика вітамінів
2. Форми засвоєння вітамінів
3. Загальна характеристика вітаміну В<sub>2</sub>, біологічна роль, добова потреба, метаболізм, гіпо-та гіпервітамінози, якісна реакція, продукти харчування, що є джерелом вітаміну.
4. Загальна характеристика вітаміну В<sub>6</sub>, 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 № 14**

**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			
<b>Жиророзчинні вітаміни</b>					
A <sub>1</sub> A <sub>2</sub>	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 <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	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 <sub>1</sub> , K <sub>2</sub>	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.** В основі реакції лежить окиснення вітаміну А концентрованою сульфатною кислотою.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

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

Поясніть результати дослідження та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Дослід 2. Якісна реакція на вітамін E**

**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 E, краплі	5
2	1% розчин FeCl <sub>3</sub> , краплі	8
3	Перемішують та нагрівають	
4	<b>Забарвлення:</b>	
5	Рівняння реакції:	

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК**

---



---



---

**Дослід 3. Якісна реакція на вітамін K**

**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	<b>Забарвлення:</b>	
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 № 15

**Тема:** терпени та алкалоїди

#### ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Алкалоїди – нітрогеновмісні органічні сполуки основного характеру, переважно рослинного походження, здебільшого непростого хімічного складу, побудовані з гетеро циклів ядер. Відомо понад 1000 алкалоїдів ( з них тваринного походження лише близько 50).

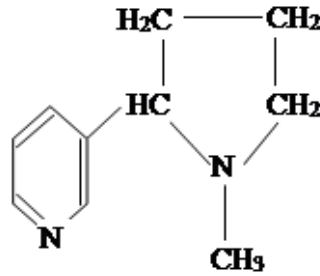
Алкалоїди дуже поширені в рослинному світі. На них багаті рослини родини макових, пасльонових, жовтецевих, бобових та ін.. алкалоїди концентруються в різних органах рослин. Наприклад, нікотин міститься переважно в листках тютюну й махорці, опій – у насінні маку, хінін – у корі хінного дерева, коніїн - у всіх органах цикути й бугили, аконіти – у бульбах аконіту тощо.

У рослинних тканинах алкалоїди містяться у вигляді солей з органічними кислотами ( найчастішез оксалатною, сукцинатною, тартратною, цитратною тощо). Їх поділяють на кисневі й безкисневі. Кисневі алкалоїди (атропін, хінін, кофеїн та ін..) здебільшого кристалічні речовини, безкисневі ( коніїн, нікотин, анабазин) – рідкі речовини.

#### *Дослід 1. Добування і властивості нікотину*

##### ХІД РОБОТИ

**Принцип.** Нікотин екстрагується з махорки або тютюну водою, підкисленою сульфатною кислотою. Кислота нейтралізується лугом, а алкалоїдні реактиви, які додають у кожному чотирьох пробірок утворюють з нікотинном нерозчинні прості солі, оскільки він, маючи два атоми нітрогену в складі своєї молекули, виявляє яскраво виражені основні властивості:



Реакція з таніном має практичне застосування при отруєння алкалоїдами. Людині чи тваринам, що отруїлися дають випити розчин таніну або міцного чаю (ньому є танін та інші дубильні речовини). У травному каналі алкалоїд зв'язується в нерозчинну і мало отруйну сполуку. Подальше промивання шлунка сприяє виведенню отрути з організму.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

*1. Екстракція нікотину*

№	Реактиви, послідовність додавання	Колба
1	Тютюн, г	2-3
2	Вода, мл	20-30
3	10% розчин сульфатної кислоти, мл	2-3
4	Кип'ятять упродовж 10-15 хвилин. Охолоджують і фільтрують. Суміш нейтралізують лугом до появи лужної реакції (перевіряють лакмусом).	

*2. Властивості нікотину*

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірки			
		1	2	3	4
1	Екстракт тютюну, мл	5	5	5	5
2	Розчин люголю, краплі	1-2	-	-	-
3	10% розчину таніну, краплі	-	1-2	-	-
4	Насичений розчин пікринової кислоти	-	-	1-2	-
5	Хлорид меркурію (I)	-	-	-	1-2
6	Забарвлення:				Жовтий осад

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

**ВИСНОВОК**

---



---



---



---

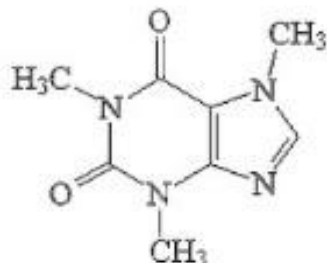
*Дослід 2. Добування кофеїну та вивчення його властивостей*

**Принцип.** Кофеїн з таніном утворює просту нерозчинну сіль, яка під дією нітратної кислоти і подальшій дії аміаку утворює мурексид.

**Хід роботи** (алгоритм наведено у таблиці):

*Сублімація кофеїну*

У невеличкій тигель вносять 0,5 - 1 г чайного листа і накривають годинниковим склом. Поміщають на азбестову сітку і обережно нагрівають. Через кілька хвилин виділяється вода, після чого сублімується кофеїн у вигляді ніжних блискучих кристалів:

*Властивості кофеїну*

№	Реактиви, послідовність додавання	Годинникове скло	
		1	2
1	Кристали кофеїну	2-3	2-3
2	Вода, краплі	8-10	
3	10% розчин таніну, краплі	2-5	
4	концентрована нітратна кислота, краплі		3-4 (нагріти під витяжною шафою)
5	концентрований розчин аміаку, краплі		2-3
6	Спостереження:		

**КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ**

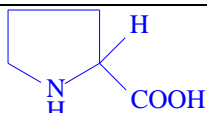
1. Загальна характеристика алкалоїдів
2. Класифікація алкалоїдів
3. Загальна характеристика, будова, дія на організм, дробування, якісні реакції на нікотин
4. Загальна характеристика, будова, дія на організм, дробування, якісні реакції на кофеїн
5. Біосинтез алкалоїдів
6. Значення алкалоїдів у житті рослин
7. Загальна характеристика терпенів
8. Біологічне значення терпенів



**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 білків<sup>1)</sup>**

№	Назва	Скорочене позначення	Структурна формула
<b>З аліфатичними боковими ланцюгами</b>			
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	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}-\text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_2-\text{CH}_3 \end{array}$
<b>З боковими ланцюгами, які містять гідроксильні (ОН) групи</b>			
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
<b>З боковими ланцюгами, які містять атоми сірки</b>			
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 <sup>2)</sup>	Цис Cys C	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2-\text{SH} \end{array}$
<b>Імінокислоти</b>			
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 мМоль/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
Біспірубін - прямий - непрямий - 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
Фуккоза	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 <sub>1</sub>	плазма	1,0-1,5 мкг%		0,03-0,045 мкМоль/л
B <sub>2</sub>	кров	12 мкг%		0,033 мкМоль/л
B <sub>6</sub>	сироватка	1,0-18 мкг%		0,059-1,06 мкМоль/л
B <sub>12</sub>	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 Цис Терм Три	У Ц А Г											
	УУА } УУГ }						Про	ЦАУ } ЦАЦ } ЦАА } ЦАГ }	ЦГУ } ЦГЦ } ЦГА } ЦГГ }	У Ц А Г							
	Ц										ЦУУ } ЦУЦ } ЦУА } ЦУГ }	АЦУ } АЦЦ } АЦА } АЦГ }	ААУ } ААЦ } ААА } ААГ }	АГУ } АГЦ } АГА } АГГ }	У Ц А Г		
																А	АУУ } АУЦ } АУА } АУГ –
Г		ГУУ } ГУЦ } ГУА } ГУГ }	Ала	Асп Глу	Глі	У Ц А Г											







Навчальне видання

# **БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ**

Методичні рекомендації

Укладачі: **Діордіца Яна Вікторівна**  
**Качук Дар'я Сергіївна**

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.