

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

Факультет агротехнологій

Кафедра ґрунтознавства та агрохімії

БІОХІМІЯ

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

Частина I

Миколаїв
2021

УДК 577.1
Б63

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету агротехнологій Миколаївського національного аграрного університету від 17 червня 2021 р., протокол № 10

Укладач:

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

Рецензенти:

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

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

©Миколаївський національний аграрний університет, 2021

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 - 2. Фізико-хімічні властивості білків	19
Лабораторна робота № 3-4. Кольорові реакції на білки та окремі амінокислоти	25
Лабораторна робота № 5. Визначення ізоелектричної точки білків.....	34
Лабораторна робота № 7. Складні білки. Дослідження білків молока.....	36
Лабораторна робота № 8. Визначення йодного та кислотного числа жирів	41
Лабораторна робота № 9. Якісні реакції на холестерин і лецитин..	46
Лабораторна робота № 10. Ціанідний метод визначення вмісту моносахаридів у рослинах	50
Лабораторна робота № 11. Дослідження хімічних властивостей глюкози.....	52
Лабораторна робота № 13, 14. Аналіз складу нуклеопротейдів.....	55
СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	58
ДОДАТКИ.....	59

ВСТУП

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

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

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

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

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

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

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 нахилиючись 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),

вирити стіл; перевірили, 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 щупкою 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 натрійгідрогенкарбонату 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°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.

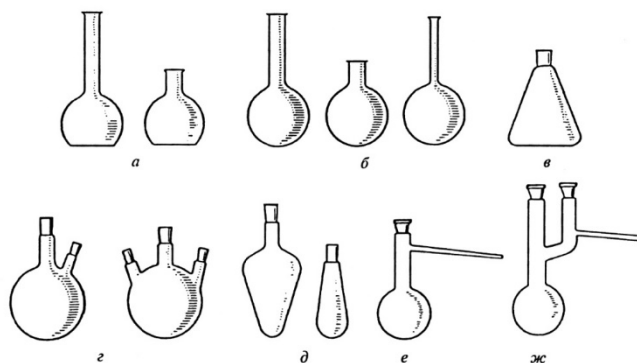


Рис.2. Колби: *а* – плоскодонні; *б* – круглодонні; *в* – конічні; *г* – двох- і трьохгорлі; *д* – грушоподібні; *е* – колба Вюрца; *ж* – колба Кляйзена

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 Лібіха* 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*.

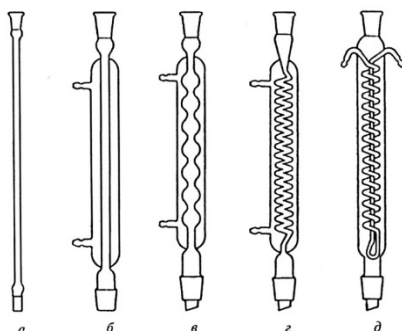


Рис.3. Холодильники: *а* – повітряний; *б* – Лібіха; *в* – кульковий; *г* – зміювиків; *д* – Дімрота.

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.

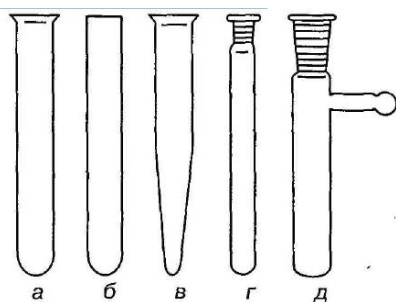


Рис. 4. Пробірки:

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.

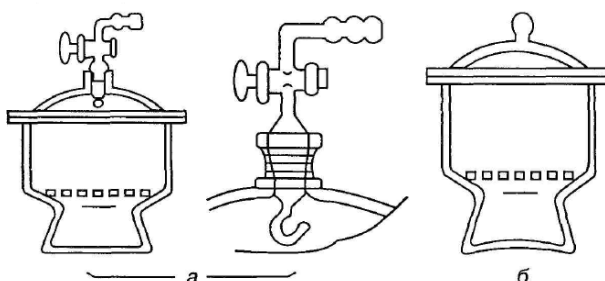


Рис. 5. Ексикатори: а – вакуумний; б – звичайний.

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.

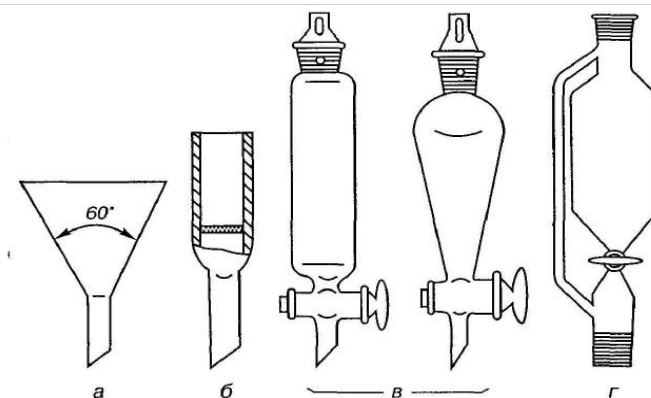


Рис. 6. Лійки:

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.

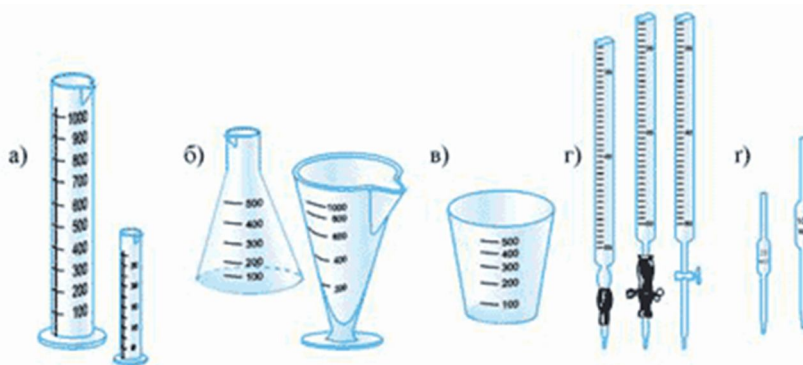


Рис. 7. Мірний посуд

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.

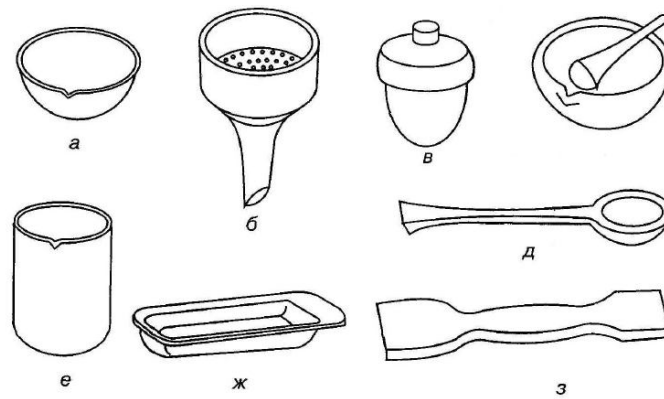


Рис. 9. Фарфоровий посуд:

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

Лабораторна робота № 1-2

Тема: Фізико-хімічні властивості білків

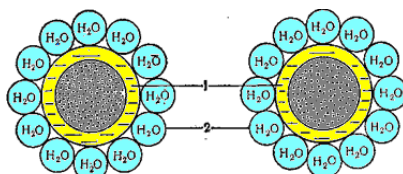
ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

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 ($-\text{OH}$, $-\text{NH}_3^+$, $-\text{COO}^-$) 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 опалесциують, 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 висолуванням.

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:

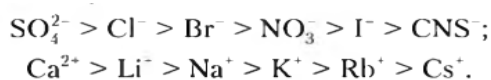
1) незворотні реакції осадження, при яких білки зазнають глибоких змін і не можуть бути знову розчинені. В такому випадку настає денатурація білка. До незворотних реакцій відносяться: осадження білка солями важких металів, алкалоїдами, мінеральними та органічними кислотами, високою температурою.

2) Зворотні реакції осадження, при яких осаджені білки не зазнають глибоких змін і тому одержані осади 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.

Найбільш поширеним способом, що дозволяє осадити білки не порушуючи їх природних властивостей є висолювання. Для цього використовують концентровані розчини солей лужних металів, амонію та магнію.

Механізм дії таких солей на білок полягає в тому, що ці солі, розчиняючись зв'язують велику кількість води і позбавляють молекули білків гідрофільної оболонки. При цьому йони з протилежним зарядом адсорбуються на поверхні білкових частинок і вони стають електронейтральними. Як наслідок, знижується стійкість білкових молекул в розчині і вони випадають в осад. Осади білків (гель), що утворені висолюванням, можуть бути знову розчинені, якщо зменшити концентрацію солей діалізом або розведенням водою.

Висолююча здатність солей різна і визначається дегідратуючими властивостями солі (характеризується положенням катіонів та аніонів в ряді Гофмейстера):



Найбільш активним є сульфат амонію, що осаджує білки як в слабкокислому, так і в нейтральному середовищі. При застосуванні інших солей, наприклад сульфатів та хлоридів натрію та магнію, для досягнення

осадження необхідно підкислити розчин. Хлорид натрію осаджує білки при повному насиченні розчину (100 %), а сульфат амонію – при напівнасиченні.

Дослід 1. Висолювання білків хлоридом натрію

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	2-3 мл
2	Подрібнений NaCl	До тих пір, поки не почне осідати на дні
Поява осаду глобулінів. Альбуміни залишаються в розчині		
Фільтрування		
Перевірка наявності альбумінів у фільтраті біуретовою реакцією		
3	До фільтрату додають 1% розчин оцтової кислоти	1 крапля
4	Нагрівають на водяній бані. Альбуміни випадають в осад	
5	Відфільтровують. Перевіряють фільтрат на наявність білків біуретовою реакцією	
Спостереження:		

Пояснити результати дослідження та записати висновок.

ВИСНОВОК _____

Дослід 2. Висолювання білків сульфатом амонію

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
Спостереження:		

Пояснити результати дослідження та записати висновок.

ВИСНОВОК _____

Дослід 3. 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
	Спостереження:	

Пояснити результати дослідів та записати висновок.

ВИСНОВОК _____

Дослід 4. 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 слабкокислому 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% CH ₃ COOH, краплі	-	2	-	-	-
3	10% CH ₃ COOH, краплі	-	-	3	3	-
4	NaCl, кристал	-	-	-	1-2	-
5	10% розчин NaOH, краплі	-	-	-	-	3

Обережно нагріти до кипіння					
Наявність осаду:					

Пояснити результати досліду та записати висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 5. 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, сірчаної 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 ₃ , краплі	2	-	-
3	5% розчин (CH ₃ COO)Pb, краплі	-	2	-
4	5% розчин CuSO ₄ , краплі	-	-	2
	Наявність осаду:			

Пояснити результати досліду та записати висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 6. 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 ₂ SO ₄ , мл	-	1	-
3	Концентрована HNO ₃ , мл	-	-	1
4	1% розчин білку (нашаровувати по стінці пробірки під кутом), мл	1	1	1
	Наявність осаду та швидкість його утворення:			
	Збовтати пробірки			
	Наявність осаду:			

Пояснити результати досліду та записати висновок.

ВИСНОВОК _____

Дослід 7. 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
	Наявність осаду:		

Пояснити результати досліду та записати висновок.

ВИСНОВОК _____

Дослід 8. 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 CH_3COOH , краплі	2	2	2
3	2% таніну, краплі	3	-	-
4	10% розчин пікринової кислоти, краплі	-	5	-
5	5% розчин жовтої кров'яної солі	-	-	3
	Наявність осаду:			

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 № 3-4

Тема: Кольорові реакції на білки та окремі амінокислоти

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

У харчовій промисловості широко використовуються речовини білкової та пептидної природи (ферменти, білкові продукти харчування, харчові і кормові добавки та інші); гідролізати тканинних білків; суміші індивідуальних амінокислот; амінокислоти (цистеїн, гістидин, глютамінова кислота, метіонін та інші); похідні амінокислот (ацетилцистеїн, цистамін та інші), тому дуже важливо вміти їх ідентифікувати.

Існують два різновиди кольорових реакцій:

- універсальні – біуретова (на всі білки) і нінгідрінова (на всі α -амінокислоти та білки);

- специфічні – тільки на деякі амінокислоти як в молекулі білка, так і в розчинах окремих амінокислот.

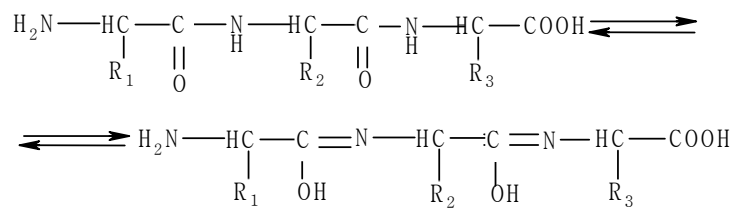
Радикали амінокислот дають різноманітні забарвлення, що зумовлює можливість виявлення більшості з них певними кольоровими реакціями.

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.

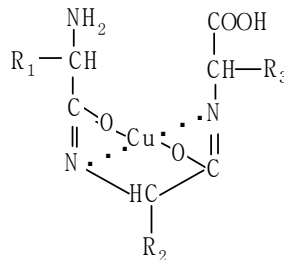
Дослід 1. Біуретова реакція (реакція Піотровського)

Принцип. Біуретова реакція зумовлена наявністю в молекулах білків пептидних зв'язків. Ця реакція ґрунтується на утворенні хелатного комплексу 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:

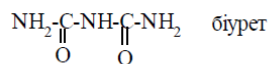


Найпростіший пептид, який дає позитивну біуретову реакцію, – трипептид:



Біуретову реакцію дають також амінокислоти гістидин, серин, треонін, аспарагін і амід аспарагінової кислоти але при досить значній концентрації в розчині.

Біурет утворюється при сплавленні двох молекул сечовини:



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_4	1-2 краплі

Забарвлення:	
---------------------	--

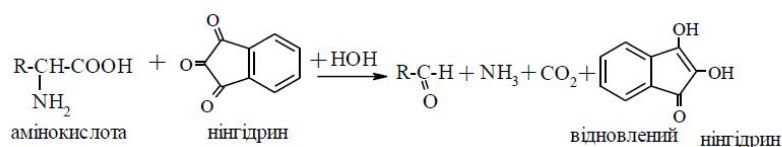
Пояснити результати досліду та записати у висновок.

ВИСНОВОК

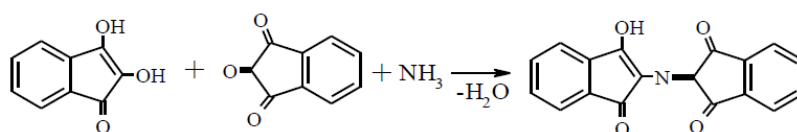
Дослід 2. Нінгідринова реакція

Принцип. Нінгідринова реакція обумовлена наявністю в складі білків та амінокислот аміногрупу в α -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):

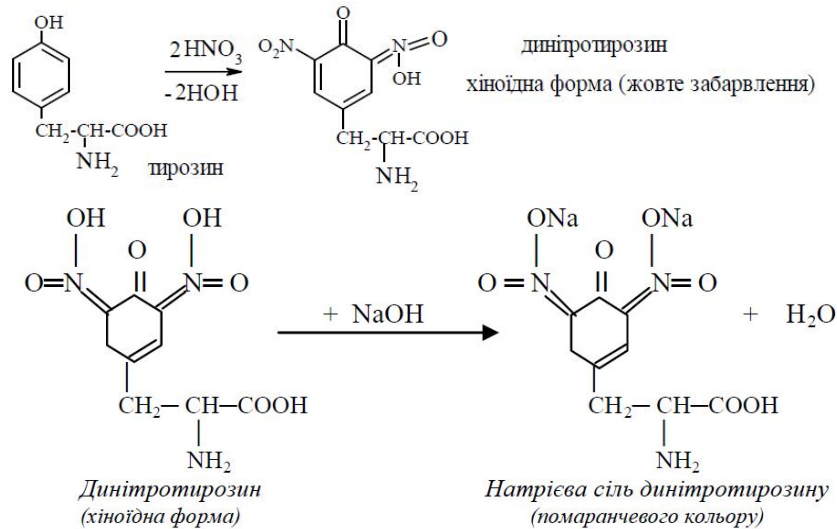
	Реактиви, послідовність додавання	Фільтрувальний папір
1	1% розчин білку	1 крапля
Висушити над електроплиткою		
2	0,1% розчин нінгідрину	1-2 краплі
Висушити над електроплиткою		
	Забарвлення:	

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):

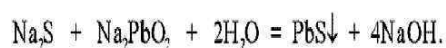
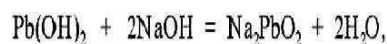
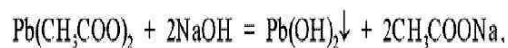
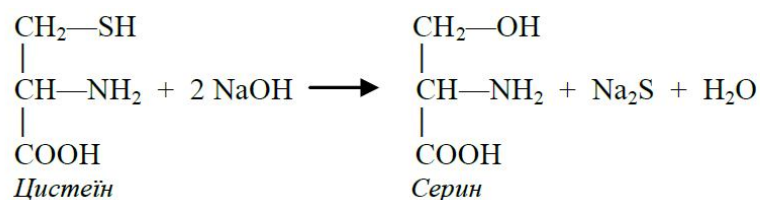
№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	1% розчин білку	1 мл
2	концентрована HNO_3	5 крапель
Обережно нагріти до появи забарвлення. Охолодити		
3	концентрований розчин NH_3	10 крапель
	Забарвлення:	

Пояснити результати досліду та записати висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 4. Реакція Фоля

Принцип. При нагріванні розчину білка, який містить сірковмісні амінокислоти (цистеїн, цистин) з плюмбум ацетатом в присутності лугу, спостерігається буре або чорне забарвлення плюмбум (II) сульфід. Метилтіогрупа метіоніну більш стійка, тому при слабкому гідролізі не руйнується і цієї реакції не дає. Деякі білки, наприклад желатин, практично не містять сульфуровмісних амінокислот.



Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

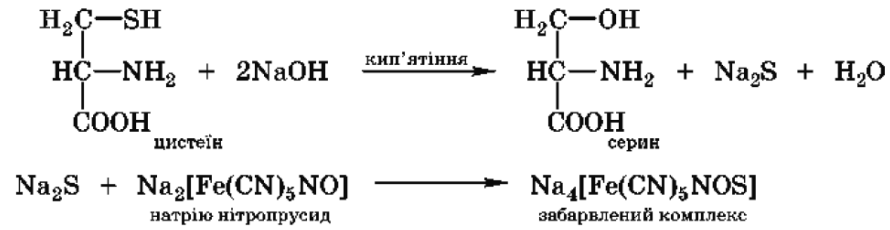
№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка			
		1	2	3	4
1	5% розчин плюмбум (II) ацетат	10 крапель			
2	30% розчин NaOH	По краплям до повного розчинення осаду			
3	1% розчин білка	1мл			
4	1% розчин желатину		1мл		
5	0,1 % розчин цистеїну гідрохлориду			1мл	
6	0,1 % розчин метіоніну				1мл
Закип'ятити					
Забарвлення:					

Пояснити результати досліду та записати висновок.

ВИСНОВОК _____

Дослід 5. Нітропрусидна реакція на сульфовмісні амінокислоти

Принцип. Натрій сульфід, що утворюється в результаті лужного гідролізу білків і сульфовмісних амінокислот, утворює з нітропрусидом натрію комплексну сполуку червоно-фіолетового забарвлення:



Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

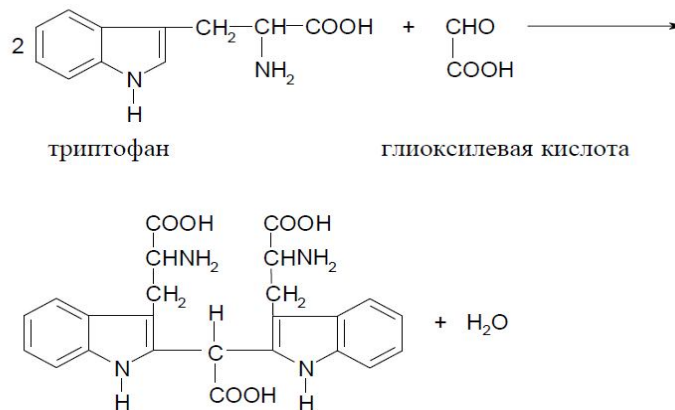
№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка		
		1	2	3
1	1% розчин білку	1 мл		
2	0,1% розчин цистеїну гідрохлориду		1 мл	
3	0,1% розчин метіоніну			1 мл
4	20% натрій гідроксид	1 мл	1 мл	1 мл
Кип'ятять 3 хв. Охолодити				
5	5% розчин натрій нітропрусид	2-3 краплі	2-3 краплі	2-3 краплі
	Забарвлення:			

Пояснити результати досліду та записати висновок.

ВИСНОВОК _____

Дослід 6. 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

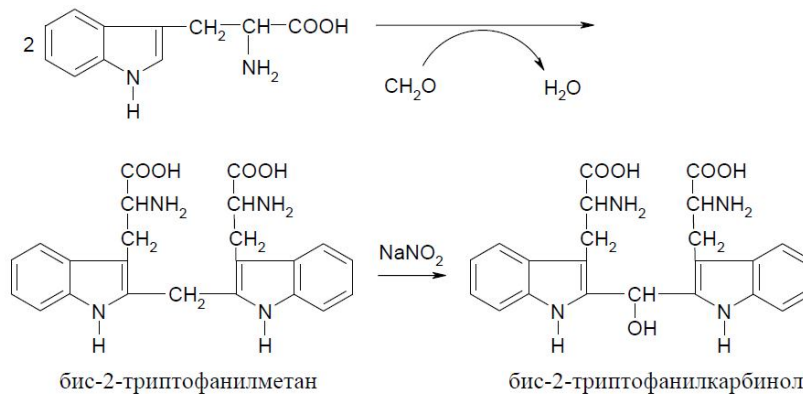
2	концентрована CH_3COOH	0,5 мл
Обережно нагріти до розчинення осаду. Охолодити		
3	концентрована H_2SO_4	1 мл
	Забарвлення:	

Пояснити результати досліду та записати висновок.

ВИСНОВОК _____

Дослід 7. Реакція Вуанзе на триптофан

Принцип. Триптофан, конденсуючись з формальдегідом, утворює забарвлений продукт конденсації біс-2-триптофанілметан, який окислюється до біс-2-триптофанілкарбіноду:



За наявності мінеральних кислот біс-2-триптофанілкарбінол утворює солі, що забарвлені в синьо-фіолетовий колір.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

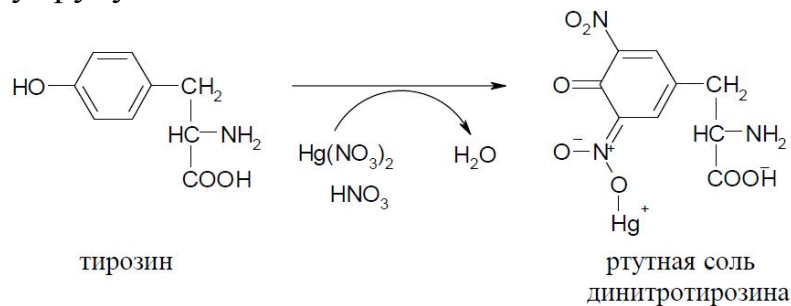
№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка 1	Пробірка 2
1	1% розчин білку	2 мл	
2	0,01% розчин триптофану		2 мл
3	Розчин формальдегіду	1 крапля	1 крапля
Перемішати			
4	концентрована H_2SO_4	6 мл (порціями по декілька крапель)	6 мл (порціями по декілька крапель)
5	Охолоджують пробірки у ванночці з льодом. Перемішують суміш і дають відстоятися 10 хв.		
6	0,5 % розчин нітриту натрію	10 крапель	10 крапель
	Забарвлення:		

Пояснити результати досліду та записати висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 8. Реакція на тирозин (реакція Міллона)

Принцип. Амінокислота тирозин і білки, що її містять, при нагріванні з реактивом Міллона (суміш меркурію нітратів і нітритів, розчинених в концентрованій нітратній кислоті) утворюють меркурієву сіль динітрозину, забарвлену в пурпурно-червоний колір. Проте, ця реакція не має абсолютної специфічності. Її дають також феноли, поліфеноли, а також алкалоїди, що мають фенольну групу:



Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

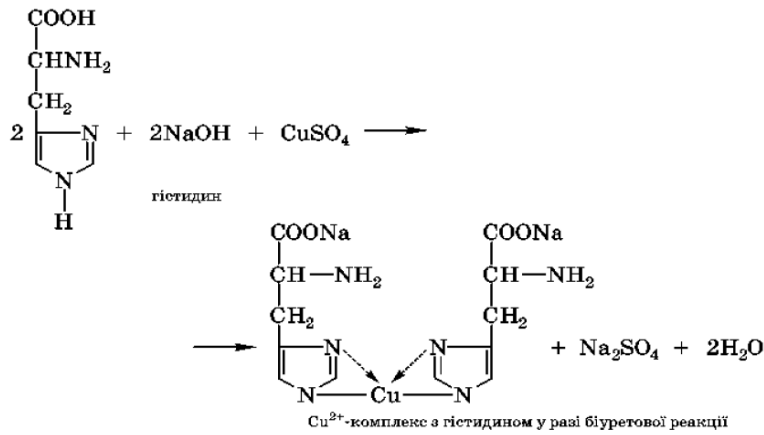
№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка 1	Пробірка 2	Пробірка 3
1	1% розчин білку	1 мл		
2	0,1 % розчин тирозину		1 мл	
3	0,1 % розчин фенілаланіну			1 мл
Додати у всі пробірки по 3 краплі реактиву Міллона і обережно нагріти на водяній бані (не вище 50°C)				
	Забарвлення:			

Пояснити результати досліду та записати висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 9. Реакція на гістидин

Принцип. Розчин гістидину значної концентрації в лужному середовищі в присутності купрум сульфату дає фіолетове забарвлення, що переходить у червоно-фіолетове:



Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	4% розчин гістидину	0,5 мл
2	Вода	1,5 мл
3	10% натрій гідроксид	0,5 мл
Обережно нагріти. До гарячого розчину додають:		
3	10% купрум сульфат	1 крапля
	Забарвлення:	

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 α -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 _____

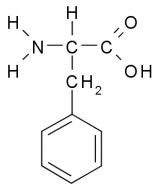
Цистеїн _____

Гістидин _____

7. Дайте назву амінокислотам за міжнародною номенклатурою та тривіальною:

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

$$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-CH-CH-COOH} \\ | \quad | \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$$



8. Побудувати трипептид: Аспарагіл-аланін-лізин

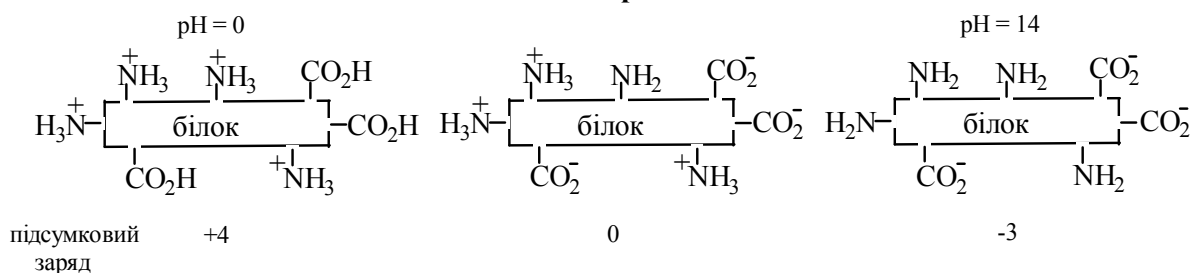
Лабораторна робота № 5

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*.

Ізоелектричний стан



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; сироватковий глобулін – 5,4; протаміни – 10-12 і т.д.

Виконання роботи

Дослід 1. Визначення ізоелектричної точки яєчного білку.

Готують серію буферних розчинів:

Розчин	№ пробірки					
	1	2	3	4	5	6
	Об'єм, см ³					
CH ₃ COONa, 0,1 н.	1	1	1	1	1	1
CH ₃ COOH 0,1 н	0,12	0,25	0,5	1	2	–
CH ₃ COOH 1 н	–	–	–	–	–	0,4
Дистильована вода	1,88	1,75	1,5	1	–	1,6
Желатин, 1 %	1	1	1	1	1	1

рН	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 см³ 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

Дослід 2. Визначення ізоелектричної точки казеїну.

У шістьох пронумерованих пробірках готують буферні суміші з різним значенням рН. Вміст пробірок збовтують і в кожену додають по 0,5 мл 0,1%-вого розчину казеїну. Після цього суміш у пробірках знову збовтують і відзначають величину помутніння розчину (див. нижче).

Потім у кожену пробірку додають по 2 мл 95%-вого етилового спирту, збовтують і оцінюють ступінь мутності знаками «плюс» або «мінус»: відсутність осаду (-), наявність його (+), значне помутніння — декількома плюсами. Ізоелектричну точку казеїну визначають за максимальним ступенем помутніння. У висновках слід визначити ІЕТ казеїну і можливість її практичного використання для виділення цього білка із молока.

Розчин	№ пробірки					
	1	2	3	4	5	6
	Об'єм, см ³					
CH ₃ COONa, 0,2 м.	0,1	0,2	0,6	1	1,4	1,8
CH ₃ COOH 0,1 м	1,9	1,8	1,4	1	0,6	0,2
казеїн, 1 %	1	1	1	1	1	1

рН	3,4	3,8	4,4	4,7	5,1	5,7
Коагуляція						

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

Поясніть результати дослідів 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 № 6

Тема: Складні білки. Дослідження білків молока

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Молоко і продукти його переробки є цінною сировиною. Їхня висока біологічна цінність обумовлена оптимальним вмістом і майже ідеальним співвідношенням білків, ліпідів, вуглеводів, мінеральних солей і вітамінів. Завдяки складу і збалансованості амінокислот ці речовини засвоюються організмом людини майже повністю.

Ступінь чистої утилізації молочного білка в організмі людини становить 75%). Білки коров'ячого молока багаті на лізин і треонін, лімітуючими амінокислотами є метіонін і цистеїн.

Завдяки колоїдному стану білки молока легкодоступні для дії травних ферментів. Харчова цінність білків збільшується завдяки тому, що вони утворюють комплекси з вітамінами, особливо групи В, і мінеральними речовинами.

Харчова цінність молока і вихід таких молочних продуктів, як кисломолочний сир, сири сичужні залежить від вмісту білка. Білки молока є найціннішими в харчовому відношенні. Вміст білків у молоці коливається в межах 2,8-4,0%.

Молоко містить більше ніж 20 білків. їх поділяють на дві групи: *казеїни* (складні білки) і *сироваткові* (прості білки). Вони відрізняються один від одного за молекулярною масою, ізоелектричною точкою, співвідношенням амінокислот, особливостями складу і структури.

Вміст казеїну в молоці становить 73-85% усіх білків. Казеїн має вигляд колоїдних частин або міцел (ниток), що складаються з більш дрібних частин (субміцел). Казеїн чутливий до дії іонів кальцію. За їх наявності випадає в осад. Казеїн є фосфопротеїном, оскільки містить у своєму складі фосфорну кислоту. Він приєднує до себе кальцій, магній, натрій, мінеральні речовини. У складі казеїну є чотири фракції, що відрізняються за вмістом амінокислот, фосфорної кислоти, за чутливістю до дії іонів кальцію та сичужового ферменту. Казеїн у молоці міститься у вигляді кальцій-фосфат-казеїнового комплексу. Він складається з казеїнату кальцію, колоїдного фосфату кальцію, лимонної кислоти, магнію, калію і натрію.

Після осадження казеїну в ізоелектричній точці виявляються сироваткові білки. До їх складу входять β -лактаглобулін, α -лактоальбумін, альбумін сироватки крові, імуноглобуліни і протеозопептидна фракція.

Здатність казеїну легко коагулювати під дією кислоти, сичужного ферменту (пепсину) та наростання іонів кальцію широко використовується у виробництві кисломолочних продуктів, сичужних сирів та бринзи. Іншу значну частину білків складають сироваткові білки (15-20% всіх білків). Відділяють сироваткові білки внаслідок кип'ятіння прозорих фільтратів, отриманих після осадження казеїну. Дані білки містять багато незамінних амінокислот (метіоніну, цистеїну, треоніну), що має важливе значення при їх використанні в подальшому для

харчових цілей. У багатьох країнах світу вже давно введені розцінки за молоко з врахуванням вмісту білка. Найближчим часом це планується робити і в Україні.

У нейтральному середовищі білки молока не коагулюють при кип'ятінні, хоча й денатурують. Осадження казеїнів відбувається під впливом молочної кислоти, що утворюється під дією мікроорганізмів у процесі скисання молока.

Експериментальна частина

Дослід 1. Осадження казеїну молока йонами кальцію

Принцип. При коагуляції білків молока кальцій хлоридом в осад переходять усі їх фракції.

Такий метод використовують тоді, коли готують прісний сир з молока для дітей на молочних кухнях, а також білок молочний харчовий з пахти (відходи, що залишаються при виготовленні масла). Ці продукти в 4 – 5 разів багатші на Кальцій та Фосфор, ніж кисломолочний сир.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

№	Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
1	молоко	2 мл
2	Доводять до кипіння	
3	10% розчин кальцій хлориду	5-6 крапель
	Спостереження:	

Пояснити результати дослідів та записати висновок.

ВИСНОВОК _____

Дослід 2. Визначення загальної кількості білка в молоці формольним титруванням

У конічну колбу відмірюють циліндром 10 мл молока, додають 5 крапель розчину фенолфталеїну і з бюретки обережно титрують 0,1 н розчином натрій гідроксиду, увесь час перемішуючи рідину до появи незникаючого протягом хвилини слабкорожевого забарвлення. Потім у рідину додають 2 мл попередньо нейтралізованого розчину формаліну і, коли рідина почне знебарвлюватися, знову продовжують обережно титрувати з тієї самої бюретки до появи слабкорожевого забарвлення, яке не зникає протягом однієї хвилини. Рівень лугу в бюретці записують і за різницею з першим титруванням визначають кількість лугу, який пішов на друге титрування.

Отриману цифру помножують на 1,47 і знаходять вміст казеїну в молоці у відсотках, а після множення на 1,94 визначають загальну кількість білка в молоці.

С казеїну (%) = _____

С заг. білку в молоці = _____

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 3. Визначення вмісту казеїногену в молоці

Принцип. Визначення вмісту казеїногену в молоці полягає в тому, що казеїноген має кислу реакцію й тому різниця між об'ємом розчину, необхідним для нейтралізації зібраного молока, та об'ємом, витраченим на нейтралізацію сироватки після осадження казеїногену, – це об'єм лугу, потрібний для нейтралізації казеїногену. Знаючи еквівалентну масу казеїногену, можна визначити його кількість у молоці.

Готують дві колби (*A* і *B*) об'ємом 200 мл. У колбу *A* наливають 40 мл води і 20 мл сепарованого молока, в колбу *B* – 20 мл води та 10 мл сепарованого молока. Потім у колбу *A* по краплях, перемішуючи, вносять 0,02 моль/л розчин сірчаної кислоти доти, доки казеїноген випаде в осад. Фіксують кількість витраченого на титрування розчину сірчаної кислоти. В колбу *B* також повільно доливають розчин сірчаної кислоти, об'єм якої дорівнює половині об'єму, який додали в колбу *A*.

Розчин у колбі *A* доливають дистильованою водою до об'єму 100 мл і фільтрують в колбу *A*. Фільтрат (50 мл), який є сироваткою молока, з колби *A* переносять у колбу *A*₂. У колби *A*₂ і *B* додають по 1 мл розчину фенолфталеїну та титрують 0,1 моль/л розчином калій гідроксиду до появи блідо-рожевого забарвлення. Масову концентрацію казеїногену в молоці, мг/мл, розраховують за формулою:

$$C = (A-B)fQIV,$$

де *A* і *B* – об'єми, мл, розчину гідроксиду калію, витрачені на титрування зібраного молока та сироватки;

f – коефіцієнт поправки на титр 0,1 моль/л розчину гідроксиду калію (0,98);

Q – маса казеїногену, еквівалентна 1 мл 0,1 моль/л розчину гідроксиду калію (11,315 мг);

V – об'єм молока, витраченого для аналізу (10 мл).

C = _____

Поясніть результати дослідів та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 4. Вивчення складу фосфопротеїнів молока

Фосфопротеїди – це складні білки, простетичною групою яких є фосфорна кислота, що зв'язана складноєфірними зв'язками з залишками серину та треоніну. Один і фосфопротеїдів – це казеїноген, який міститься в молоці у вигляді розчинної кальцієвої солі. Під час ферментативного згортання молока (дія пепсину) казеїноген зазнає хімічного перетворення, продуктом якого є казеїн.

Кальцієва сіль казеїну, на відміну від кальцієвої солі казеїногену, нерозчинна у воді.

Ізоелектрична точка казеїногену відповідає рН 4,7. У підкисленому розчині (рН 4,7) кальцієва сіль казеїногену розщеплюється на білок і фосфатну кислоту, які можна визначати за характерними реакціями: білок – за допомогою біуретової реакції, фосфатну кислоту – за реакцією з молібденовим реактивом.

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 5. Осадження казеїну із молока

До 30 мл сепарованого молока, розведеного в чотири рази, обережно перемішуючи, по краплях додають 0,1 % розчин оцтової кислоти до припинення осадження казеїну, який відфільтровують, промивають водою, вносять у 0,1 % розчин карбонату натрію, щоб очистити від жиру та інших речовин.

Казеїн у розчині карбонату натрію розчиняється, а жир знаходиться в емульгованому стані.

Суміш фільтрують через вологий фільтр (жир залишається на фільтрі).

Із фільтрату розчином оцтової кислоти знову осаджують казеїн. Осад відфільтровують, віджимають між листками фільтрувального паперу (бажано насухо) й розтирають у ступці з 15 – 20 мл 96 %-го розчину спирту з метою зневоднення. Для знежирення казеїн змішують спочатку з 20 мл ефіру, а потім із 20 мл суміші метилового спирту та хлороформу (1 : 1). Знежирений казеїн висушують на повітрі й розтирають у порошок, який використовують для гідролізу казеїну.

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 6. Гідроліз казеїну

У пробірку вносять 50 мг подрібненого на порошок казеїну, доливають 3 мл розчину 20 % гідроксиду натрію та гідролізують із зворотним холодильником протягом 1 год. Суміш охолоджують і використовують гідролізат для реакцій на продукти гідролізу.

Дослід 7. Знаходження білка в гідролізаті казеїну

В пробірку додають 0,5 мл гідролізату, п'ять крапель розчину 10 % гідроксиду натрію й одну краплю купруму (II) сульфату (проводять біуретову реакцію). Спостерігають появу червоно-фіолетового забарвлення, яке свідчить про наявність білка в гідролізаті казеїну.

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 8. Відкриття фосфатної кислоти у гідролізаті казеїну

До гідролізату (1–2 мл) додають 12–15 крапель розчину 10 % нітратної кислоти до слабкокислої реакції на лакмус. Після цього суміш фільтрують у суху пробірку, до 0,5 мл фільтрату додають 2 мл молібденового реактиву й кип'ятять на водяній бані 2–3 хв. Спостерігають утворення жовтого забарвлення, а під час охолодження суміші – осаду жовтого кольору амонійної солі фосфорномолібденової кислоти.

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Лабораторна робота № 8

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.

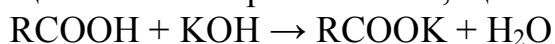
Під *йодним числом* розуміють кількість грамів йоду, що приєднується до 100 г жиру. Йодне число використовують для визначення виду харчового жиру, його здатності до висихання, розрахунку потрібної кількості водню для його гідрогенізації. За величиною йодного числа жирів та олій роблять висновок про їх 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.

Таблиця 1.

Йодне число для деяких рослинних олій і тваринних жирів

Вид харчового жиру		Йодне число, % I ₂
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.

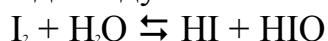
Таблиця 2

Гранично допустимі норми кислотного числа окремих олій та жирів

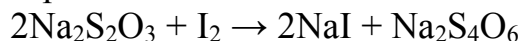
Вид харчового жиру		Кислотне число, мг/г жиру
Соняшникова олія	рафінована	0,4
	нерафінована вищого сорту	1,5
	нерафінована I сорту	2,25
Соева олія	рафінована	0,3
	гідратована I сорту	1,0
Кукурудзяна олія	рафінована	0,4
	нерафінована	5,0
Топлений харчовий жир (баранячий, яловичий, свинячий)	вищого сорту	1,2
	I сорту	2,2
Збірні жири (без показника 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
5	Вода, мл	200
6	Збовтують і залишають на 5 хв	
7	Титрують надлишок йоду 0,1 н розчином Na ₂ S ₂ O ₃ за присутності 1%-ного розчину крохмалю до зникнення синього забарвлення.	

Розрахунок йодного числа (x) 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 досліду;

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 ₁ , г	
Маса жиру з колбою, m ₂ , г	
Маса наважки жиру, m, г	
Кількість 0,1 н розчину тіосульфату Na ₂ S ₂ O ₃ , що витрачається на титрування під час проведення контрольного досліду (без жиру), V, см ³	
Кількість 0,1 н розчину тіосульфату Na ₂ S ₂ O ₃ , що прореагувала з жиром, см ³	
Кількість 0,1 н розчину тіосульфату Na ₂ S ₂ O ₃ , що витрачається на титрування надлишку йоду після приєднання його до жиру, V ₁ , см ³	
Йодне число, Й.ч., % I ₂	

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 см³ 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, см³;

m – маса взятої для аналізу наважки, г.

Дані спостережень та розрахунків запишіть у таблицю.

Назва параметру	Значення
Маса порожньої колби, m ₁ , г	
Маса жиру з колбою, m ₂ , 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 ³	
Коефіцієнт поправки до 0,1 н розчину лугу, K	
Титр 0,1 М розчину NaOH або KOH, мг/см ³	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.

Тема: Якісні реакції на холестерин і лецитин

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

Лецитини (фосфатидилхоліни) – складні ефіри аміноспирту холіну і диацилгліцеридфосфорної 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.

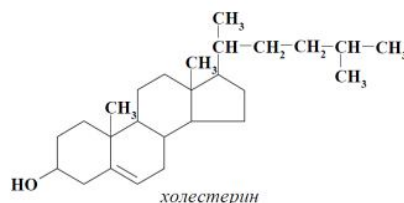
Значна кількість лецитину знайдена в мозку, нервах, яєчному жовтку, рибній ікрі.

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,

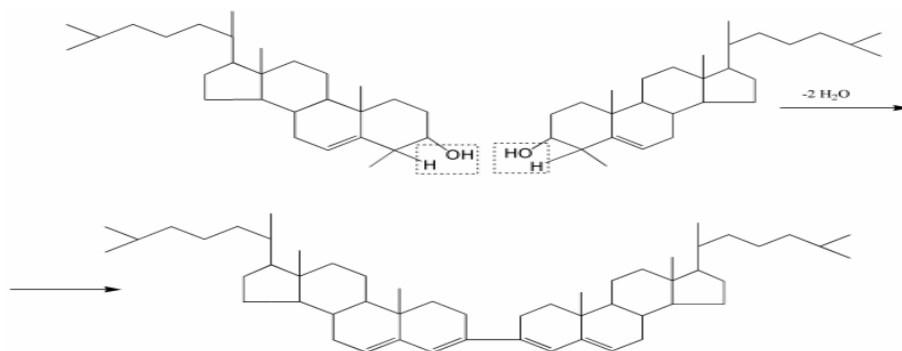
ураженні нирок, злоякісних пухлинах підшлункової залози, подагрі, гіпертензивній хворобі, ожирінні, цукровому діабеті.

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 дихolestадієн 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 ₂ SO ₄ (обережно нашарувати по стінці пробірки), мл	1-2
Забарвлення:	

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 FeCl₃ у льодовій ацетатній кислоті і 2 частини концентрованої H₂SO₄) за різних температурних умов. Вільний холестерин вступає в реакцію при кімнатній

температурі, а ефірнозв'язаний – при 100°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
Визначення вільного холестерину	
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)	
Визначення загального холестерину	
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 досліду 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	Спостереження:		

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

ВИСНОВОК _____

Дослід 4. Якісна реакція на лецитин

Принцип. При взаємодії лецитину з солями 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	Спостереження:	

Поясніть результати досліду 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 № 10

Тема: Ціанідний метод визначення вмісту моносахаридів у рослинах

ТЕОРЕТИЧНА ОСНОВА

Метод заснований на здатності $K_3[Fe(CN)_6]$ (червона кров'яна сіль) у лужному середовищі окислювати цукри, що реагують. Реакцію здійснюють шляхом титрування розчином цукру, що досліджується, киплячим лужним розчином $K_3[Fe(CN)_6]$ у присутності метиленової сині у якості індикатору.

Вміст моноцукрів обчислюється за кількістю титрованого розчину калію гексаціаноферату (II) (червона кров'яна сіль) і за об'ємом витраченого на його титрування розчину цукру невідомої концентрації.

ХІД РОБОТИ

Свіжі овочі або фрукти подрібнюють на тертці, а потім розтирають у ступці. На терезах зважують 12-25 г матеріалу, що досліджується і кількісно переносять у широкогорлу мірну колбу ємністю 250 мл, багатократно зливаючи матеріал дистильованою водою у колбу. Дистильованою водою доводять об'єм у колбі з наважкою до 150 мл і перемішують. Сильно кислі розчини нейтралізують за лакмусовим папірцем NaOH (8%).

Колбу поміщають на 30 хв на водяну баню при температурі 80°C. Протягом екстракції вуглеводів вміст колби багатократно помішують. Потім у колбу вливають 10 см³ 10 % плюмбум ацетату для осадження білків. Вміст колби перемішують і надлишок ацетату плюмбуму, що заважають подальшому аналізу, осаджують насиченим розчином натрій сульфату, доливаючи його невеликими порціями до припинення утворення каламуті. Потім об'єм у колбі доводять до 250мл дистильованою водою, ретельно перемішують і фільтрують через складчастий фільтр у колбу.

Фільтратом заповнюють бюретку, а у порцелянову чашку наливають 20 мл 1%-ного розчину $K_3[Fe(CN)_6]$ вливають туди ж 5мл 2,5 н розчину NaOH. Порцелянову чашку встановлюють на кільце і підігрівають пальником, а коли її вміст закипить, додають одну краплю метилової сині. Не припиняючи нагрівання, вміст порцелянної чашки титрують розчином цукру з бюретки до знебарвлення індикатору.

Розчин цукру вливають маленькими порціями постійно перемішуючи вміст чашечки.

Вміст цукру що пішов на титрування має бути не більше 8мл. При більшому витрачені розчину цукру на титрування зменшують вміст удвічі $K_3[Fe(CN)_6]$ і лугу.

Після охолодження відтитрованого розчину може з'явитися фіолетове забарвлення, яке вказує на окислення метиленової сині киснем повітря.

Вміст цукру знаходять за формулою:

$$X = \frac{a(1,006 + 0,00175 \cdot b)100}{H \cdot b}$$

a - кількість 1% -ного $K_3[Fe(CN)_6]$, який було взято у порцелянову чашку для титрування, мл;

b – кількість цукру, що пішло на титрування, мл;

H – наважка аналізуємої речовини, що відповідає 1 cm^3 розчину цукру, яким титрували $K_3[Fe(CN)_6]$ у мл;

Наприклад: для аналізу взято 20г рослинного матеріалу. Отже, 20000мг рослинної сировини міститься у 250мл, а у 1 мл = $20000 \cdot 1 : 250 = 80$ мг. Цю величину і підставляємо у формулу.

ВИСНОВОК

Контрольні питання

1. Класифікація вуглеводів. Навести приклади.
2. Ізомерія моносахаридів. Значення моносахаридів.
3. Похідні моносахаридів та їх значення в організмі.
4. Дисахариди, будова, біохімічне значення.
5. Гомополісахариди. Основні представники. Будова. Біологічне значення.
6. Гетерополісахариди. Основні представники. Будова. біохімічне значення.

Лабораторна робота № 11

Тема: Дослідження хімічних властивостей глюкози

ТЕОРЕТИЧНА ЧАСТИНА

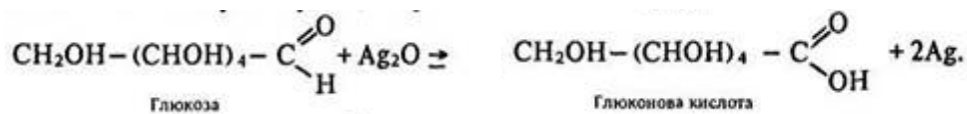
Глюкоза – моносахарид, основне джерело енергії для живих організмів. Глюкоза міститься майже в усіх органах рослин – плодах, корінні, листі, квітках. Багато її є у винограді (тому її називають виноградним цукром), цукровій тростині, цукрових буряках, солодких фруктах, ягодах. Глюкоза входить до складу 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 ₃ , мл	1
розчин глюкози, мл	1
Перемішати та обережно нагріти на спиртівці	
Забарвлення:	

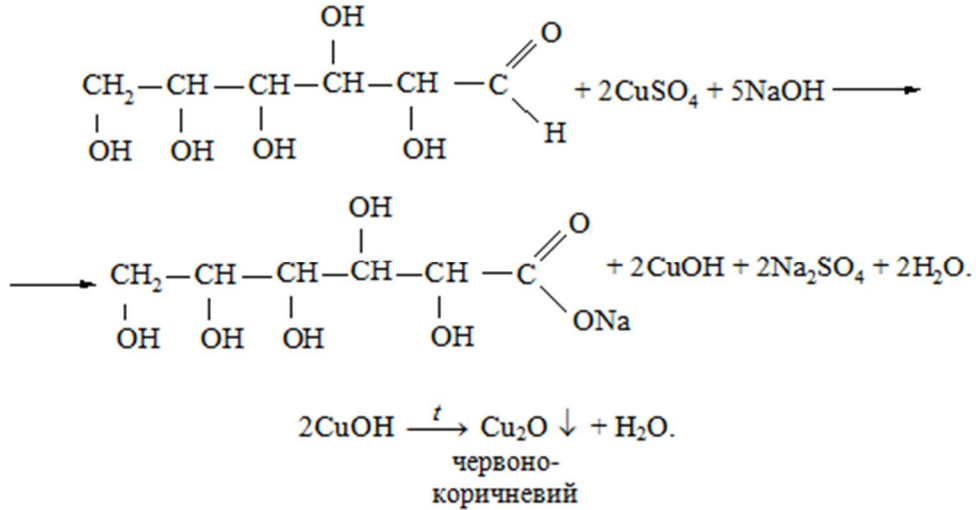
Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

ВИСНОВОК

Дослід 2. Реакція Тромера

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 CuO , який заважає визначенню та маскує позитивну реакцію.

Хід роботи (алгоритм наведено у таблиці):

Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
розчин глюкози, мл	1
розчин NaOH , мл	3
розчин CuSO_4 , краплі	1
	4-5
Перемішати та обережно нагріти на спиртівці	
Забарвлення:	

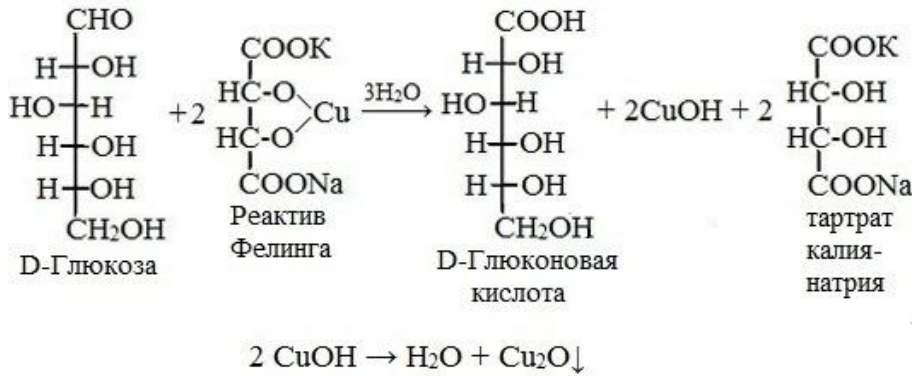
Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

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 Cu (II) гідроксид в жовтий 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):

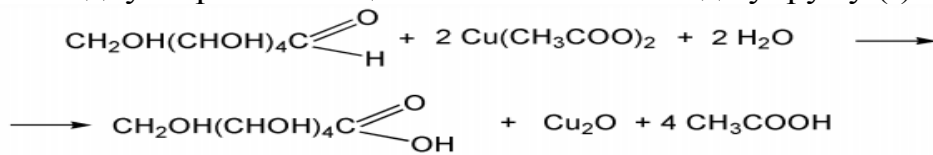
Реактиви, послідовність додавання	Пробірка
Розчин Фелінг-1, мл	1
Розчин Фелінг-2, мл	1
розчин глюкози, мл	1-2
Перемішати та обережно нагріти верхню частину на спиртівці	
Забарвлення:	

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 купрум (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% розчин сахарози, мл	1	1	2

Реактив Барфедда, мл	1	2	1
Обережно нагріти до кипіння			
Забарвлення:			

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 № 13, 14

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 нуклеопротеїдів 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 нуклеопротеїдів відділяють центрифугуванням.

2. Гідроліз нуклеопротеїду.

Нуклеопротеїд, одержаний з дріжджів, переносять у колбу для гідролізу, додають 15 см³ 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 нуклеопротеїдів.

3.1. Виявлення простих білків.

Принцип. Біуретова реакція зумовлена наявністю в молекулах білків пептидних зв'язків. Ця реакція ґрунтується на утворенні хелатного комплексу 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% CuSO_4 , краплі	3
	Забарвлення:	

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 Cu (II) гідроксид в жовтий 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		

	Забарвлення:	
--	---------------------	--

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_3 , мл	0,5
	Забарвлення через 5 хв:	

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
	Забарвлення:	жовто-зелений осад

Поясніть результати досліду та зробіть висновок.

ВИСНОВОК _____

Контрольні питання

1. Напишіть стадії повного гідролізу нуклеопротейдів.
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.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Павлоцька Л.Ф., Дмитрієвич Л.Р., Божко Н.В. Біологічна хімія : підручник. Суми: Ун-ська книга, 2009. 378 с.
2. Біологічна хімія: підруч. / Левандовський Л.В., Дрюк О.І., Семенова О.І та ін. – К.: НУХТ, 2012. 363 с.
3. Вороніна Л. М. , В. Ф. Десенко, Мадієвська Н. М. Біологічна хімія : підручник. Харків: Основа, 2000. 608 с.
4. Губський Ю. І. Біологічна хімія. Київ : Укрмедкнига, 2000. 663 с.
5. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини: підруч. Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. 736 с.
6. Штеменко Н. І., Соломко З.Ф., Авраменко В.І. Органічна хімія та основи статичної біохімії : підручник. Дніпропетровськ : ДНУ, 2004. 686 с.
7. Красільнікова О. Л., Авксентьєва О. О., Жмурко В. В. Біохімія рослин : підручник. Харків : Колорит, 2007. 188 с.
8. Зіменко Б.С., Музиченко В.А., Ніженковська І.В. та ін. Біологічна і біоорганічна хімія : підручник : у 2 книгах. Київ: Медицина, 2017. Книга 1. 272 с.
9. Губський Ю. І., Ніженковська І. В., Корда М. М. та ін. Біологічна і біоорганічна хімія: підручник : у 2 кн. К.: ВСВ «Медицина», 2021. Кн. 2. 544 с.
10. Павлоцька Л., Дуденко Н., Левітін Є. Біологічна хімія: підручник. Суми: Університетська книга, 2019. 513 с.
11. Павлоцька Л., Дуденко Н., Левітін Є. Біологічна хімія. Практикум : підручник. Суми: Університетська книга, 2019. 63 с.

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

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

З боковими ланцюгами, які містять кислі групи і їх аміді			
12	Аспарагінова кислота	Асп Asp D	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$
13	Аспарагін	Асн Asn N	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{O}=\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$
14	Глютамінова кислота	Глу Glu E	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2-\text{COOH} \end{array}$
15	Глютамін	Глн Gln Q	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ (\text{CH}_2)_2 \\ \\ \text{O}=\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$
<i>З боковими ланцюгами, які містять основні групи</i>			
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	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{NH} \end{array}$
<i>Амінокислоти, які містять ароматичні кільця</i>			
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 Тур 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 Тгр W	$\begin{array}{c} \text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$

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		

Додаток 3

Генетичний код

Перший нуклеотид	Другий нуклеотид				Третій нуклеотид																					
	У	Ц	А	Г																						
У	УУУ } УУЦ }	Фен	УЦУ } УЦЦ }	Сер	УАУ } УАЦ }	Тир	УГУ } УГЦ }	Цис	У Ц А Г																	
										УУА } УУГ }	Лей	УЦА } УЦГ }	УАА* } УАГ* }	Терм	УГА* } УГГ* }	Терм Три										
	Ц	ЦУУ } ЦУЦ } ЦУА } ЦУГ }	Лей	ЦЦУ } ЦЦЦ } ЦЦА } ЦЦГ }	Про	ЦАУ } ЦАЦ } ЦАА } ЦАГ }	Гіс	ЦГУ } ЦГЦ } ЦГА } ЦГГ }									Арг									
										А	АУУ } АУЦ } АУА } АУГ }	Лей	АЦУ } АЦЦ } АЦА } АЦГ }	Тре	ААУ } ААЦ }	Асн		АГУ } АГЦ }	Сер							
Г									ГУУ } ГУЦ }											Вал	ГЦУ } ГЦЦ }	Ала	ГАУ } ГАЦ }	Асп	ГГУ } ГГЦ }	Глі

	ГUA ГУГ		ГЦА ГЦГ		ГAA ГАГ	Глу	ГГА ГПГ	Ц А Г
--	------------	--	------------	--	------------	-----	------------	-------------

Навчальне видання

БІОХІМІЯ

Методичні рекомендації

Укладачі: **Діордіца Яна Вікторівна**

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

Тираж 10 прим. Зам. № ____

Надруковано у видавничому відділі
Миколаївського національного аграрного університету

54020, м. Миколаїв, вул. Г. Гонгадзе, 9

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