

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

**Факультет агротехнологій**

*Кафедра ґрунтознавства та агрохімії*

**БІОЛОГІЧНА, ФІЗИЧНА ТА КОЛОЇДНА ХІМІЯ**

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

**Миколаїв**  
2018

УДК 544.77:577.1

Б63

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету агротехнологій Миколаївського національного аграрного університету від 15.02.2018 р., протокол № 6.

Укладач:

Д. С. Качук – канд. техн. наук, старший викладач кафедри ґрунтознавства та агрохімії Миколаївського національного аграрного університету.

Рецензенти:

Г. В. Міщенко – д-р техн. наук, професор, завідувач кафедри хімії, екології та безпеки життєдіяльності Херсонського національного технічного університету;

Р. О. Трибрат – канд. с.-г. наук, доцент, доцент кафедри технології виробництва продукції тваринництва Миколаївського національного аграрного університету.

© Миколаївський національний  
аграрний університет, 2018

## ВСТУП

Біохімія – це хімія живих об'єктів (клітин і організмів). Живі об'єкти відрізняються від неживих своєю здатністю до метаболізму і відтворення (з передачею генетичної інформації). При цьому живі істоти являють собою складову частину природи і підлягають усім основним її законам: закону збереження маси та енергії, законам термодинаміки.

Живі об'єкти є відкритими системами, а це означає, що вони приймають участь в обміні речовин і енергії з довкіллям.

В хімічній підготовці майбутнього технолога важливе місце займають лабораторні роботи.

В лабораторії здобувачами вищої освіти знайомиться з практичним значенням загальних теоретичних ідей, які викладаються на лекціях і в підручниках з біологічної, фізичної та колоїдної хімії.

Метою методичних рекомендацій є набуття здобувачами вищої освіти навичок роботи з хімічними речовинами, оволодіння методиками їх дослідження, прийомами роботи з приладами та обладнанням хімічних лабораторій.

Методичні рекомендації складено таким чином, щоб навчити здобувачів вищої освіти самостійно виконувати експеримент, робити хімічні розрахунки, формулювати і узагальнювати висновки.

Кожна робота містить опис необхідного обладнання, методичку експериментальної частини роботи, методи обробки отриманих даних. Опису лабораторних завдань передують стислі теоретичні введення і умови виконання робіт. Закінчуються лабораторні роботи переліком контрольних питань.

При підготовці до лабораторного заняття здобувач вищої освіти повинен самостійно ознайомитися з методичними вказівками до роботи, рекомендованою літературою. Здобувач вищої освіти повинен ознайомитися з вимірювальною апаратурою, обладнанням та матеріалами, підготувати форми протоколів для внесення в них отриманих даних.

На лабораторних заняттях здобувач вищої освіти знайомиться з принципом роботи та конструкцією приладу або пристрою, проводить вимірювання, розрахунки, робить висновки. Під час виконання лабораторної роботи здобувачі вищої освіти не тільки опановують сучасні методи експериментальних досліджень, але й набувають уміння аналізувати одержані результати.

Після виконання лабораторної роботи оформлюється звіт, який містить: назву роботи; стислий опис методики виконання роботи;

експериментальні дані і результати їх обробки у вигляді таблиць, розрахунки, висновки або пояснення отриманих результатів.

Саме така структура методичних рекомендацій є ефективною для оптимального засвоєння здобувачами вищої освіти теоретичного матеріалу.

Лабораторні заняття з дисципліни «Біологічна, фізична і колоїдна хімія» проводяться відповідно до Європейської кредитно-трансферної системи навчання студентів. Обсяг лабораторних занять з дисципліни – 48 годин, кредитів – 1,6.

## ПРАВИЛА РОБОТИ В ХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

Виконання лабораторних робіт розраховано на одержання навичок експериментальної роботи. До роботи допускаються особи, які ознайомлені з інструкцією й описом приладу, правилами його експлуатації, що пройшли інструктаж з техніки безпеки і підписалися в журналі. Здобувачі вищої освіти, що пройшли інструктаж, допускаються до роботи тільки в присутності викладача чи відповідального за лабораторію.

Перш ніж починати виконання експерименту, слід ознайомитися з устаткуванням і приладами, які використовуються, правилами роботи з хімічними реактивами і технікою безпеки при їх використанні. Не починати виконання досліду, поки не стане зрозумілою його мета, не буде перевірено наявність устаткування, необхідного для досліду (посуд, прилади, реактиви). При роботі дотримуйтеся чіткої послідовності операцій проведення дослідів.

Під час проведення досліду на робочому місці не повинно бути зайвих речей. Підготуйте необхідні прилади і реактиви. Уважно спостерігайте за ходом досліду, відзначаючи і записуючи кожен його особливості (випадання і розчинення осадів, зміну забарвлення, температури і ін.). Важливо навчитися правильно обробляти отримані експериментальні дані, і оцінювати похибки експерименту. Підсумки дослідів запишіть за встановленою формою в робочий журнал, і щоразу давайте на підпис викладачу.

Використовуйте реактиви, які виготовлені для даної лабораторної роботи. При визначенні запаху газу чи рідини обережно вдихайте повітря, злегка направляючи рукою потік його від посудини до себе. При проведенні нагрівання не тримайте пробірки отвором до себе чи вбік товаришів.

Не виливайте в раковину відпрацьовані кислоти і луки, а використовуйте для цього ємності, установлені під тягою. Після закінчення роботи вимийте використаний посуд, виключіть воду й електрику. У разі потреби в лабораторії є настінна аптечка з необхідним для екстреної допомоги медичними препаратами та матеріалами.

## ЗАПАМ'ЯТАЙТЕ!

1. При загорянні бензину, спирту, ефіру накрийте полум'я азбестовим полотном чи засипте піском.

2. У випадку загоряння одягу слід гасити полум'я обгортанням у ковдру. Ні в якому разі не бігти!

3. У випадку порізу склом переконайтеся, що в ранці немає скла, і ватою, змоченою етиловим спиртом чи розчином калій перманганату, видаліть кров, змажте йодом і перебинтуйте.

4. *При термічних опіках* (від вогню, пари, гарячих предметів чи електричної дуги) накладіть пов'язку (марля, бинт), змочену 3 % розчином калій перманганату або 2 % розчином стрептоциду чи 2-3 % розчином харчової соди. Не можна змазувати опік вазеліном чи жиром.

*При опіках кислотами* промийте великою кількістю води, потім 2-3 % розчином харчової соди.

*При опіках лугами* – обмийте водою і нейтралізуйте лимонною кислотою чи 1-2 % розчином оцтової кислоти.

# МОДУЛЬ I. ОСНОВИ ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

### ВПЛИВ РОЗЧИНІВ З РІЗНИМ ОСМОТИЧНИМ ТИСКОМ НА ЕРИТРОЦИТИ ТА РОСЛИННІ КЛІТИНИ

**Мета роботи:** дослідити вплив розчинів з різним осмотичним тиском на стан еритроцитів та рослинних клітин.

#### Загальні теоретичні відомості

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

**Осмоз** (від грецьк. *ōsmos* – поштовх, тиск) – це однобічна дифузія молекул води через напівпроникну мембрану з ділянки з низькою концентрацією розчиненої речовини в ділянки з більшою концентрацією. Осмос обумовлений прагненням системи до термодинамічної рівноваги і вирівнювання концентрацій розчину з обох сторін мембрани. Таким чином, будь-яка осмотична система припускає наявність мембрани, проникної у першу чергу для молекул води. Молекули розчинника при своєму русі, натрапляючи на напівпроникну перегородку, вільно проникають через неї, молекули розчиненої речовини перебувають у стані теплового руху, наштовхуються на напівпроникну перегородку, ударяються об неї, утворюючи при цьому певний тиск. Такий тиск називається осмотичним.

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

Показник осмотичного тиску визначається за рівнянням:

$$P = CRT,$$

де  $C$  – концентрація речовини;

$R$  – універсальна газова стала;

$T$  – температура.

Величина осмотичного тиску виражається в атмосферах або в міліметрах ртутного стовпчика.

В живих організмах осмотичний тиск регулює розподіл води між тканинами і клітинами.

**Онкотичний тиск** – це осмотичний тиск органічних речовин плазми.

У тваринному організмі плазматична напівпроникна мембрана здатна пропускати розчинник (воду) і не пропускати розчинені в ній речовини,

зокрема, солі, концентрація яких як у плазмі, так і в клітинах однакова і складає близько 0,9 %. Таким чином, осмотичний тиск залежить від кількості неорганічних сполук, розчинених у рідинах.

Осмотичний тиск плазми крові в нормі складає 7,6 атм (5600 мм рт. ст., чи 745 кПа) і обумовлений, в основному, концентрацією NaCl. Розчини, що мають однаковий з плазмою осмотичний тиск, одержали назву фізіологічних чи *ізотонічних*. Ізотонічність розчинів має важливе значення для життєдіяльності клітин і, зокрема, для еритроцитів, у цитоплазмі яких кількість NaCl відповідає його вмісту в плазмі. Це вирівнює осмотичний тиск з обох боків мембрани і не приводить до руйнування еритроцитарної клітини, що виконує важливу функцію переносу газів.

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

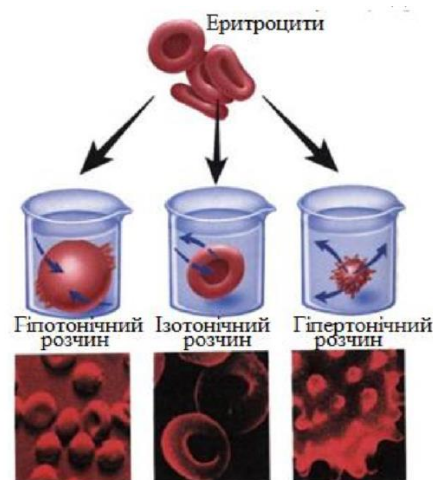


Рис. 1. Вплив осмосу на еритроцити, що перебувають у розчинах з різною концентрацією NaCl

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



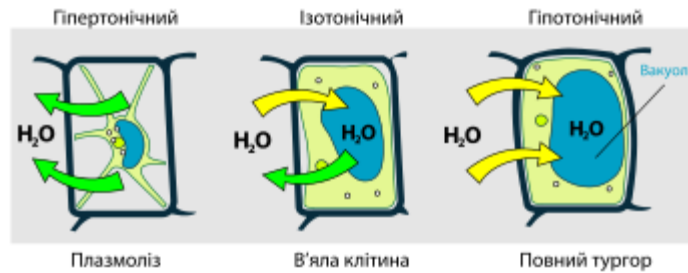


Рис. 2. Вплив осмосу на рослинні клітини, що перебувають у розчинах з різною концентрацією NaCl

В ізотонічних розчинах рослинні клітини не підлягають фізичним змінам. У них проходить двобічний осмос розчинника, і клітини не підлягають ні набуханню, ні зморщуванню. В гіпотонічних розчинах розчинник осмотично всмоктується в клітини – відбувається ендосмос, який у рослинних клітинах викликає тургор. У гіпертонічних розчинах рослинні клітини підлягають екзосмосу, який призводить до зморщування клітин. Це явище дістало назву плазмолізу (рис. 2).

### Виконання роботи

1. У три пробірки додають по 2-3 см<sup>3</sup> розчинів натрій хлориду: в пробірку № 1 – 10 %, в пробірку № 2 – 0,8 %, в пробірку № 3 – 0,1 %. У кожену пробірку додають по 1-2 краплі цитратної крові. Вміст кожної пробірки перемішують і відразу ж беруть скляною паличкою краплину вмісту з пробірки № 3 на предметне скло, накривають покривним склом і розглядають під мікроскопом при великому збільшенні. Після спостереження за поведінкою еритроцитів 0,1 % розчині натрій хлориду, вміст пробірки № 1 та № 2 по краплині поміщають на предметні скельця, накривають покривним склом і розглядають під мікроскопом при великому збільшенні.

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

2. У три пробірки додають по 2-3 см<sup>3</sup> розчинів натрій хлориду різної концентрації, як і в попередньому досліді. В кожену з пробірок поміщають по одному зрізу тонкої зовнішньої плівки цибулі, відпрепарованого препарувальною голкою. За 10 хв після розміщення плівок цибулі в розчинах, їх витягують, поміщують на предметне скло, накривають покривним склом і розглядають під мікроскопом при великому збільшенні.

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

### Контрольні питання

1. Що називається осмосом, осмотичним тиском?
2. Яким рівнянням описується осмос? Від чого він залежить?
3. Які розчини називають ізотонічними, гіпертонічними, гіпотонічними?
4. Яке значення має осмотичний тиск для життя?
5. Який осмотичний тиск має розчин, у 1 дм<sup>3</sup> якого вміщується 0,2 моль неелектроліту за 17<sup>0</sup>С?
6. Розрахувати осмотичний тиск розчину, що містить в 1 дм<sup>3</sup> 3,1 г аніліну C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NH<sub>2</sub>. Температура розчину 21<sup>0</sup>С.
7. Визначити молекулярну масу манніту, якщо відомо, що осмотичний тиск розчину, що містить у 250 см<sup>3</sup> 9 г манніту дорівнює 4,5 атм за 0<sup>0</sup>С.
8. Розрахуйте за температури 17 <sup>0</sup>С осмотичний тиск 0,24 М розчину амоній нітрату.
9. Що таке онкотичний тиск розчинів?

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2

### РН-МЕТРІЯ ПИТНИХ ПРОДУКТІВ ХАРЧУВАННЯ

**Мета роботи:** визначити водневий показник питних продуктів харчування за допомогою рН-метра (потенціометрією); проаналізувати їх придатність до вживання.

#### Загальні теоретичні відомості

**рН (водневий показник)** — величина, що показує міру активності іонів гідрогену ( $H^+$ ) в розчині, тобто ступінь кислотності або лужності цього розчину. Для розведених розчинів можна користуватись терміном «концентрація» замість «активність» у цьому визначенні.

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

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

По аналогії з ним було введено і **гідроксильний показник рОН:**

$$pOH = - \lg [OH^-].$$

**Для води і розведених водних розчинів за умов постійної температури добуток концентрацій йонів гідрогену і гідроксид-іонів є величиною сталою:**

$$K_{H_2O} = [H^+] \times [OH^-] = 10^{-14} (22^{\circ}C), \text{ де}$$

$K_{H_2O}$  – йонний добуток води.

Таке саме значення  $K_{H_2O}$  при  $22^{\circ}C$  мають і розведені водні розчини кислот і основ.

При стандартних умовах значення рН лежить в межах від 0 до 14. Максимально можливе значення рН визначається як сума рН і рОН і дорівнює 14.

Із значення рН можна розрахувати рОН:

$$pOH = 14 - pH.$$

рН розчинів визначають за допомогою рН-метра. рН-метр – це електронний вимірювальний прилад. рН метр побудований із:

- 1) стандартного електроду (електрод порівняння) зі сталим значенням електродного потенціалу;
- 2) електроду визначення (індикаторний), потенціал якого залежить від концентрації (активності) йонів гідрогену;
- 3) безпосередньо вимірювального приладу, до якого приєднуються електроди.

Найбільшого поширення у вимірюванні рН як електрод порівняння набув хлоросрібний, а як індикаторний – скляний електрод з водневою функцією.

Скляний електрод складається зі скляного корпусу, який має мембрану кулястої форми, виготовлену зі спеціального електродного скла (натрієвого або літієвого). У корпусі електрода міститься розчин HCl з певною концентрацією іонів  $H_3O^+$ , у який занурений допоміжний хлоросрібний електрод.

### Виконання роботи

1. Дістають іонселективний електрод з розчину, в якому він зберігається, ретельно промивають дистильованою водою, вставляють у штатив.

2. Калібрують рН-метр за допомогою буферних розчинів. Для цього наливають у стакан відповідний буферний (стандартний) розчин, опускають у нього електроди і фіксують значення рН. Якщо необхідно, коригують його за допомогою спеціального настроювання. Похибка вимірювання не повинна перевищувати 0,05 одиниць рН.

Перед кожним зануренням у стандартний розчин електроди ретельно промивають дистильованою водою і обережно забирають залишок води з їх поверхні фільтрувальним папером.

3. Занурюють вимірювальний електрод у досліджуваний розчин, натискають кнопку Enter на значенні рН, чекають 1 хв. На екрані з'явиться виміряне значення рН розчину.

4. Ретельно промивають електрод дистильованою водою, витирають фільтрувальним папером.

5. Проводять дослідження наступного розчину.

6. Отримані результати занести до таблиці, обчисливши значення концентрацій іонів  $H^+$  і  $OH^-$ :

№ з/п	Вид продукту	рН <sub>експ</sub>	рН якісних продуктів	рОН	[H <sup>+</sup> ], моль/дм <sup>3</sup>	[OH <sup>-</sup> ], моль/дм <sup>3</sup>
1	Молоко		6,3-6,7			
2	Кефір		4,85-4,65			
3	Йогурти		4,0-4,3			

1. Враховуючи отримані дані зробити висновок щодо придатності до вживання питних продуктів харчування.

### Контрольні питання

1. Дати визначення поняттю «йонний добуток води». Як його обчислюють?
2. Дати визначення поняттям «водневий» і «гідроксильний показники»? Як вони пов'язані між собою?

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

### БУФЕРНІ РОЗЧИНИ

**Мета роботи:** приготувати буферні розчини та дослідити їх властивості; дослідити вплив розведення на рН буферного розчину та буферну ємність; дослідити буферну ємність біологічних рідин.

#### Загальні теоретичні відомості

**Буферними розчинами** називають розчини, до складу яких входять слабка кислота (або слабка основа) та її сіль. Наприклад, суміш оцтової кислоти і натрій ацетату ( $\text{CH}_3\text{COOH} + \text{CH}_3\text{COONa}$ ), суміш амоній гідроксиду і амоній хлориду ( $\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$ ).

рН буферної суміші під впливом сильної основи або сильної кислоти практично не змінюється. Кожний буферний розчин має певну буферну ємність – здатність розчину зберігати сталу величину рН при додаванні кислот або лугів. **Буферна ємність** – це кількість мольеквівалентів сильної кислоти або лугу, які необхідно додати до 1 л буферного розчину, щоб змістити рН на одиницю. Буферна ємність **залежить від концентрації компонентів та їх співвідношення**. Найбільшу буферну ємність мають розчини, в яких концентрації обох компонентів однакові.

Буферна ємність виражається в моль/дм<sup>3</sup> або частіше в ммоль/ дм<sup>3</sup> і обчислюється за такими формулами:

$$B_k = \frac{c(\frac{1}{2}k - tu) \cdot V(k - tu)}{V(\text{буф. р - ну}) \cdot \Delta\text{рН}} \quad B_l = \frac{c(\frac{1}{2} \text{лузу}) \cdot V(\text{лузу})}{V(\text{буф. р - ну}) \cdot \Delta\text{рН}}, \text{ де}$$

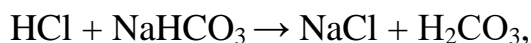
$B_k$  – буферна ємність за кислотою;

$B_l$  – буферна ємність за лугом;

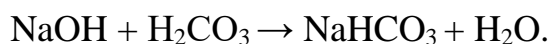
$\Delta\text{рН}$  – зміна рН буферної системи при додаванні кислоти (лугу);

$V(\text{буф. р - ну})$  – об'єм буферного розчину.

Принцип дії буферної системи (на прикладі буферної системи  $\text{NaHCO}_3 + \text{H}_2\text{CO}_3$ ) полягає в тому, що при появі в середовищі кислоти з нею взаємодіє основний компонент буфера, наприклад,



при цьому сильна кислота (HCl) перетворюється у слабку ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ). І, навпаки, додавання в середовище якої-небудь основи веде до її зв'язування кислотним компонентом буфера:



Не змінюється рН буферної суміші й при розведенні, тому що залежить від співвідношення концентрації солі та кислоти. При розведенні

концентрація обох компонентів змінюється однаково, а їх співвідношення залишається незмінним.

Буферні системи бувають кислотні, основні та амфолітні. Кислотні складаються зі слабкої кислоти і її солі із сильною основою. Основні – зі слабкої основи і її солі із сильною кислотою. Наприклад, ацетатний буферний розчин містить слабку оцтову кислоту й натрій ацетат; аміачний буферний розчин – слабку основу амоній гідроксид й амоній хлорид. Амфолітні – розчини амінокислот або білків.

В організмі діють чотири буферні системи:

1. Бікарбонатний буфер:  $\text{H}_2\text{CO}_3 + \text{NaHCO}_3$ .
2. Фосфатний буфер:  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$ .
3. Гемоглобіновий буфер: відновлений гемоглобін  $\text{Hb}$  + окиснений гемоглобін  $\text{HbO}_2$  (у вигляді калієвої солі).
4. Білковий буфер: в ролі слабкої кислоти виступають вільні (не втягнуті в утворення пептидних зв'язків) карбоксильні групи амінокислот ( $\text{COOH}$ ), а основним компонентом є ті ж самі групи ( $\text{COO}^-$ ), тільки зв'язані з калієм.

Найбільш потужною буферною системою крові є гемоглобінова. Її буферна ємність – 73-76 %. Відповідно для бікарбонатної – 17-27 %, білкової – 2-5 %, фосфатної – 1-2 %.

pH будь-якої буферної системи можна розрахувати за рівнянням:

$$pH = pK_{\text{кислоти}} - \lg \frac{[\text{кислота}]}{[\text{сіль}]}$$

### Виконання роботи

#### 1. Приготування буферних розчинів.

pH буферного розчину залежить від природи речовин, що входять до складу буферної системи, і від їх співвідношення у розчині.

Нумерують шість пробірок. Додають у них розчин оцтової кислоти та натрій ацетату в таких співвідношеннях:

Розчин	№ пробірки					
	1	2	3	4	5	6
0,1 н. розчин оцтової кислоти	9	8	5	3	2	1
0,1 н. розчин натрій ацетату	1	2	5	7	8	9
pH <sub>розрах</sub>	3,7	4,0	4,6	5,0	5,2	5,6
pH <sub>експ</sub>						

pH приготованих розчинів визначають універсальним індикаторним папером. Для вимірювання беруть смужку універсального індикаторного

папірця і за допомогою скляної палички наносять краплю досліджуваного розчину на смужку.

Використовуючи кольорову шкалу порівняння, що додається до індикаторних папірців, за отриманим кольором індикатора знаходять значення величини рН, що відповідає отриманому кольору.

## 2. Властивості буферних розчинів.

У колбу відміряють 4 см<sup>3</sup> оцтової кислоти та 16 см<sup>3</sup> натрій ацетату. Вміст колби старанно перемішують. Нумерують чотири пробірки. У пробірки № 1 та № 3 відміряють по 5 см<sup>3</sup> приготованої буферної суміші, а в пробірки № 2 та № 4 по 5 см<sup>3</sup> дистильованої води. В пробірки № 1 та № 2 додають по 1 – 2 краплини фенолфталеїну та їх вміст титрують із бюретки лугом (0,1 н. NaOH), при цьому рахують краплі до появи малинового кольору. В пробірки № 3 і № 4 додають індикатор конго червоний і титрують кислотою (0,1 н HCl) до появи синього кольору, підраховуючи краплини.

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

## 3. Вплив розведення на рН буферного розчину та буферну ємність.

Беруть три колби. В кожну з них відміряють по 5 см<sup>3</sup> оцтової кислоти і по 5 см<sup>3</sup> натрій ацетату. Вміст колби № 1 залишають нерозведеним, вміст колби № 2 розводять у 2 рази, для чого до одержаної буферної суміші додають рівний об'єм води (10 см<sup>3</sup>), а вміст колби № 3 розбавляють у 4 рази, для чого до неї додають 30 см<sup>3</sup> води. Розчини в кожній колбі перемішують.

Нумерують три пробірки і в них відміряють по 2 см<sup>3</sup> буферних розчинів: нерозведеного, розведеного удвічі та розведеного у 4 рази. Потім рН кожного розчину визначають універсальним індикаторним папером.

Чи змінюється рН при розведенні буферного розчину?

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

Як впливає розведення на буферну ємність розчину?

## 4. Буферна ємність біологічних рідин.

За допомогою універсального індикаторного паперу у фарфоровій чашці визначають рН досліджуваних біологічних рідин (усі вони мають приблизно нейтральну реакцію (рН ≈ 7)). Відміряють в окремі пробірки по 5 см<sup>3</sup> досліджуваних рідин, у кожну з них додають по 2 – 3 краплі

фенолфталеїну і титрують із бюретки лугом, підраховуючи краплі, до появи малинового кольору.

Результати записують у зошит.

Аналогічно перевіряють буферну ємність за кислотою, використовуючи індикатор конго червоний. Титрують до появи синього кольору.

По відношенню до яких сполук (кислота або луг) виражена більша буферна ємність у перевірених біологічних рідин?

### Контрольні питання

1. Які розчини називають буферними?
2. Наведіть класифікацію буферних розчинів.
3. Який механізм буферної дії (на прикладі ацетатного буфера)?
4. Які відомі буферні системи організму? Назвіть буферні системи крові.
5. Як обчислюють рН буферних розчинів? Від чого він залежить?
6. Що таке буферна ємність? Від чого вона залежить? Як приготувати буферний розчин, щоб його буферна ємність була найбільшою?
7. Як впливає розведення на рН і ємність буферних розчинів?
8. Визначити рН ацетатного буфера, що складається з  $100 \text{ см}^3$   $0,1 \text{ н}$   $\text{CH}_3\text{COOH}$  та  $200 \text{ см}^3$   $0,2 \text{ н}$   $\text{CH}_3\text{COONa}$ , якщо  $K(\text{CH}_3\text{COOH}) = 1,75 \cdot 10^{-5}$ . Як зміниться рН цього буфера, якщо до нього додати  $30 \text{ см}^3$   $0,2 \text{ н}$   $\text{NaOH}$ ?
9. Обчислити об'єм ( $\text{см}^3$ )  $0,1 \text{ М}$   $\text{CH}_3\text{COONa}$  і  $0,1 \text{ М}$   $\text{CH}_3\text{COOH}$ , які треба змішати, щоб приготувати  $3 \text{ дм}^3$   $0,1 \text{ М}$  ацетатного буфера з  $\text{рН} = 5,24$ ,  $\text{рК}$   $\text{CH}_3\text{COOH} = 4,76$ .
10. До  $100 \text{ см}^3$  крові для зміни рН від  $7,36$  до  $7,0$  треба додати  $36 \text{ см}^3$   $0,05 \text{ н}$   $\text{HCl}$ . Обчислити буферну ємність крові за кислотою.



## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

### СПОСОБИ ОДЕРЖАННЯ ТА ВЛАСТИВОСТІ КОЛОЇДНИХ РОЗЧИНІВ

**Мета роботи:** одержати колоїдні розчини різними способами та дослідити їх властивості.

#### Загальні теоретичні відомості

Дисперсні системи є гетерогенними системами, тобто складаються з декількох фаз, найчастіше з двох. Одна з фаз знаходиться в сильноподрібненому (диспергованому) стані у вигляді дрібних твердих частинок, крапельок рідини, бульбашок газу і називається **дисперсною фазою**. Друга складова частина дисперсної системи – середовище, у якому розподілені частки диспергової речовини, називається **дисперсійним середовищем**.

Дисперсні системи класифікують за різними ознаками.

1. Три агрегатних стани (твердий, рідкий, газоподібний) дозволяють виділити дев'ять типів дисперсних систем. Їх позначають дробом, чисельник якого вказує на агрегатний стан дисперсної фази, а знаменник – дисперсійного середовища.

#### Класифікація дисперсних систем за агрегатним станом

Дисперсійне середовище	Дисперсна фаза	Умовне позначення	Назва системи і приклади
Тверде	Тверда	Т/Т	Тверді гетерогенні системи: мінерали, сплави, бетон, композиційні матеріали.
	Рідка	Р/Т	Капілярні системи: ґрунти, рідина в пористих тілах.
	Газоподібна	Г/Т	Пористі тіла: адсорбенти і каталізатори.
Рідке	Тверда	Т/Р	Суспензії і золі: пасти, мул, пульпа.
	Рідка	Р/Р	Емульсії: нафта, креми, молоко.
	Газоподібна	Г/Р	Газові емульсії, піни.
Газоподібне	Тверда	Т/Г	Аерозолі: (пил, дим), порошки.
	Рідка	Р/Г	Аерозолі: тумани, хмари.
	Газоподібна	Г/Г	Атмосфера.

2. Всі дисперсні системи за кінетичними властивостями дисперсної фази можна поділити на два класи: вільнодисперсні системи, в яких дисперсна фаза рухлива, і зв'язанодисперсні системи – найчастіше системи з

твердим дисперсійним середовищем, в яких частинки дисперсної фази не можуть вільно пересуватися.

3. Дисперсні системи також класифікуються за ступенем дисперсності дисперсної фази.

Вільнодисперсні системи поділяються на ультрамікрогетерогенні (з розміром частинок від 1 до 100 нм), мікрогетерогенні (від 0,1 до 10 мкм) і грубодисперсні, розмір частинок яких більше  $10^{-3}$  см. Дисперсні системи, у яких дисперсійним середовищем є рідина, а дисперсна фаза має колоїдний ступінь дисперсності ( $10^{-5}$  –  $10^{-7}$  см), називаються золями, тобто золі – це колоїдні розчини або рідкі колоїдні системи.

Зв'язанодисперсні системи, або пористі тіла, класифікують на мікропористі – з розмірами комірки до 2 нм, перехіднопористі – від 2 до 200 нм і макропористі – більше 200 нм.

Тверді колоїдні розчини одержують, як правило, зі зв'язанодисперсних систем у розплавах у процесі їхнього охолодження й отвердіння (одержання скла, сталі, чавуна і т.п.).

Колоїдні розчини можуть бути одержані двома шляхами:

- подрібненням великих частинок до необхідної дисперсності (диспергаційні методи);

- об'єднанням молекул чи іонів в агрегати колоїдних розмірів (конденсаційні методи).

Крім того, окремо виділяють метод пептизації, що полягає в переведенні в колоїдний розчин осадів, первинні частинки в яких вже мають колоїдні розміри.

**Одержання колоїдних систем диспергаційними методами** здійснюється в різного роду дробарках, млинах різної конструкції (кульові, колоїдні), за допомогою ультразвуку, у вольтовій дузі (електрогідравлічний удар).

Подрібнення до частинок малих розмірів вимагає великої витрати роботи, тому що поверхня розділу між фазами в таких системах дуже велика. Частинки, що утворюються при подрібненні, мають схильність до самодовільного злипання (коагуляції), тому подрібнення проводять у дисперсійному середовищі в присутності стабілізаторів – поверхнево-активних речовин.

Процес диспергування має велике практичне значення в ряді виробництв і технологічних процесів: при одержанні високодисперсних порошків, наповнювачів для полімерів, пігментів для фарб, при виготовленні борошна й інших харчових продуктів і т.п.

Диспергаційними методами не вдається досягти високої дисперсності. Системи з розмірами частинок  $10^{-8}$  –  $10^{-9}$  м одержують **конденсаційними методами**, що не вимагають витрат зовнішньої роботи. Шляхом конденсації, в залежності від умов, можуть бути отримані системи будь-якої дисперсності.

Розрізняють методи фізичної і хімічної конденсації.

Найважливіші фізичні методи одержання дисперсних систем – конденсація з пари і метод заміни розчинника (погіршення якості розчинника).

Найбільш простий приклад конденсації з пари – утворення туману. При зміні параметрів системи, зокрема, при зниженні температури, тиск пари може стати вище рівноважного тиску пари над рідиною (чи над твердим тілом) і в газовому середовищі виникає нова рідка фаза. В результаті система стає гетерогенною – починає утворюватися туман.

Широко застосовується метод заміни розчинника. На відміну від методу конденсації з пари, у даному випадку змінюють не параметри системи, а склад середовища. Наприклад, розчин якої-небудь речовини поступово, при перемішуванні, додають до рідини, у якій ця речовина не розчинна. При цьому відбувається конденсація молекул і утворення колоїдних частинок.

Хімічні методи також засновані на конденсаційному виділенні нової фази з пересиченого розчину, однак, на відміну від фізичних методів, речовина, що утворює дисперсну фазу, утворюється в результаті хімічної реакції: обміну, відновлення, окислення, гідролізу.

Розміри частинок, що утворюються при хімічній конденсації, залежать від умов проведення процесу конденсації, а саме – від співвідношення між швидкостями двох процесів, що відбуваються одночасно: утворення зародків кристалів і їх росту. Для одержання дрібних частинок необхідна значна перевага швидкості першого процесу над швидкістю другого. Такі умови створюються або в дуже розведених розчинах (при цьому утворюються частинки розміром до 1 нм), або в досить концентрованих розчинах, коли утворюється відразу багато зародків кристалізації, що не встигають вирости до великих розмірів (при цьому утворюється дрібнокристалічний осад).

Осад за певних умов можна перевести в колоїдний розчин. При цьому відбувається фізико-хімічне подрібнення осаду, що називається **пептизацією**. У рихлих осадах є окремі частинки дисперсної фази, що розділені прошарками дисперсійного середовища. Їхньому безпосередньому зіткненню перешкоджають або подвійні електричні шари, або сольватні оболонки на поверхні частинок. Вони забезпечують відштовхування

частинок на близьких відстанях, у той час як на більш далеких переважають сили міжмолекулярного тяжіння, що не дозволяють частинкам розійтися за рахунок теплового руху.

**Стійкість** – це здатність системи певний час зберігати незмінною свою структуру, тобто розміри частинок та їх рівномірний розподіл в об'ємі системи.

Розмежують стійкість седиментаційну (кінетичну) і агрегативну. Ці два види стійкості різняться за своїм механізмом і вимагають різних підходів до розгляду.

**Седиментаційна стійкість** – це здатність дисперсної системи зберігати незмінним у часі розподіл частинок в об'ємі системи, тобто здатність системи протидіяти силі тяжіння.

**Агрегативна стійкість** – це здатність системи зберігати незмінним у часі ступінь дисперсності частинок, тобто їх розміри.

При порушенні агрегативної стійкості має місце коагуляція. **Коагуляцією** називається процес злипання частинок з утворенням **крупних агрегатів**. В результаті коагуляції система втрачає седиментаційну стійкість.

На коагуляцію впливають:

- зміни температури;
- дія електричних і електромагнітних полів;
- дія світла;
- механічна дія;
- електроліти та ін.

### Правила коагуляції

1. Усі сильні електроліти викликають коагуляцію. Мінімальна концентрація електроліту, при якій починається коагуляція, називається **порогом коагуляції**. Чим менше поріг коагуляції, тим більша коагулююча здатність електроліту.

2. Коагулюючою дією володіє не весь електроліт, а тільки іон, знак якого співпадає зі знаком протиіону міцели ліофобного золю, його називають іон – **коагулянт**.

3. Коагулююча здатність іону – коагулянту тим більше, чим більше заряд іона.

Ця закономірність кількісно описується правилом Шульце-Гарді:

$$C_k = \alpha \left( \frac{1}{Z^6} \right), \text{ де}$$

$C_k$  – концентрація електроліту (поріг коагуляції),

$\alpha$  – стала для даної системи,

$Z$  – заряд іону коагулянту.

4. При однаковій зарядності іонів, їх дія знижується зі збільшенням ступеня гідратації. Під дією електроліту може виникнути концентраційна або нейтралізаційна коагуляція.

**Концентраційна коагуляція** виникає під дією індиферентного електроліту внаслідок стискання дифузного шару протиіонів і зменшення  $\zeta$ -потенціалу.

**Нейтралізаційна коагуляція** виникає при введенні неіндиферентного електроліту, який зв'язує потенціаловизначаючі іони, що веде до зменшення абсолютних величин термодинамічного і електрокінетичного потенціалу.

Щоб запобігти агрегації золів та захистити їх від коагулюючої дії електролітів, використовують розчини високомолекулярних сполук (ВМС) та колоїдних поверхнево-активних речовин (ПАР). Цей процес запобігання коагуляції називається **колоїдним захистом золів**. Стабілізуюча дія ВМС та ПАР ґрунтується на утворенні на поверхні частинок дисперсної фази адсорбційних желеподібних плівок, що призводить як до зменшення міжфазного натягу, так і до виникнення структурно-механічного поверхневого шару.

### Виконання роботи

1. Одержання колоїдного розчину каніфолі, сірки.

У дві пробірки додають по 3 – 4 см<sup>3</sup> води і в одну з них додають 2 – 3 краплі спиртового розчину каніфолі, а в другу – спиртового розчину сірки. У одержаних розчинів спостерігають явище опалесценції. Воно характерне тільки для колоїдних розчинів.

Спостереження і висновки записати в журнал. Визначити метод одержання дисперсної системи.

2. Одержання гідрозолу ферум гідроксиду.

Додають у дві пробірки по 3 – 4 см<sup>3</sup> води. Одну з пробірок нагрівають до кипіння, при цьому додають кілька крапель концентрованого розчину ферум (III) хлориду, після чого припиняють нагрівання пробірки. Окремо додають ферум (III) хлорид і в пробірку з холодною водою.

Спостереження записують у зошит. Визначити метод одержання дисперсної системи.

Отриманий гідрозоль гідроксиду заліза залишають для наступного визначення знака заряду колоїдних часток (дослід 7).

### 3. Одержання гідрозолу сірки.

Додають у пробірку 3-4 см<sup>3</sup> розчину натрій тіосульфату і додають до нього 1-2 краплі сульфатної кислоти. Через кілька хвилин розчин змінює свій зовнішній вигляд.

Спостереження записують у зошит. Визначити метод одержання дисперсної системи.

### 4. Одержання гідрозолу берлінської лазурі.

Додають у пробірку 5-6 см<sup>3</sup> розчину жовтої кров'яної солі і 1-2 краплини розчину ферум (III) хлориду. Утворюється золь берлінської лазурі. Добутий золь залишають для визначення знаку заряду колоїдних часток (дослід 7).

Спостереження і висновки записати в журнал. Написати хімічну реакцію утворення гідрозолу берлінської лазурі. Написати формулу міцели гідрозолу берлінської лазурі.

### 5. Коагуляція гідрозолу ферум (III) хлориду.

У три колби додають по 5 см<sup>3</sup> свіжовиготовленого гідрозолу ферум (III) хлориду. Вміст першої колби титрують із бюретки розчином натрій хлориду (5 см<sup>3</sup>) до помутніння розчину, визначаючи об'єм NaCl, у другій колбі колоїдний розчин титрують натрій сульфатом (0,01 н) і в третій колбі розчин титрують K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sub>3</sub> (0,001 н).

Результати титрування записують у зошит і обчислюють поріг коагуляції за формулою:

$$C = N_{\text{ел}} \cdot V_{\text{ел}} \cdot 1000 / (V_3 + V_{\text{ел}}), \text{ ммоль/дм}^3, \text{ де}$$

$N_{\text{ел}}$  – нормальність електроліту,

$V_{\text{ел}}$  – об'єм електроліту, що пішов на титрування,

$V_3$  – об'єм золю.

### 6. Коагуляція мінерального та органічного колоїду амоній сульфатом.

У дві пробірки додають по 5 см<sup>3</sup> гідрозолу ферум (III) хлориду та золю білка. Вміст кожної пробірки титрують із бюретки концентрованим розчином амоній сульфату. В процесі титрування встановлюють, що для коагуляції органічного колоїду потрібно значно більше електроліту, ніж для коагуляції мінерального колоїду. Якщо після коагуляції колоїдів у кожну із пробірок додати по 5-10 см<sup>3</sup> води, то в пробірці з білком зкоагульований колоїд переходить у розчинений стан, і розчин знову стає прозорим.

Додавання такої ж кількості води до зкоагульованого мінерального колоїду не приводить до його розчинення – розчин залишається мутним. Таким чином, осадження мінеральних колоїдів амоній сульфатом –

незворотний процес, тоді як осадження органічного колоїду – зворотний. Пояснити чому.

#### 7. Визначення знаку заряду колоїду.

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

У хімічні склянки наливають невелику кількість досліджуваних колоїдів (кожний окремо). На скляній паличці фіксують смугу фільтрувального паперу, вільний кінець якого занурюють на 2 – 3 мм в досліджуваний колоїдний розчин. Підрахунок результатів досліду проводять через 20 – 30 хвилин. Пояснити свої спостереження.

### Контрольні питання

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

## МОДУЛЬ II. БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ

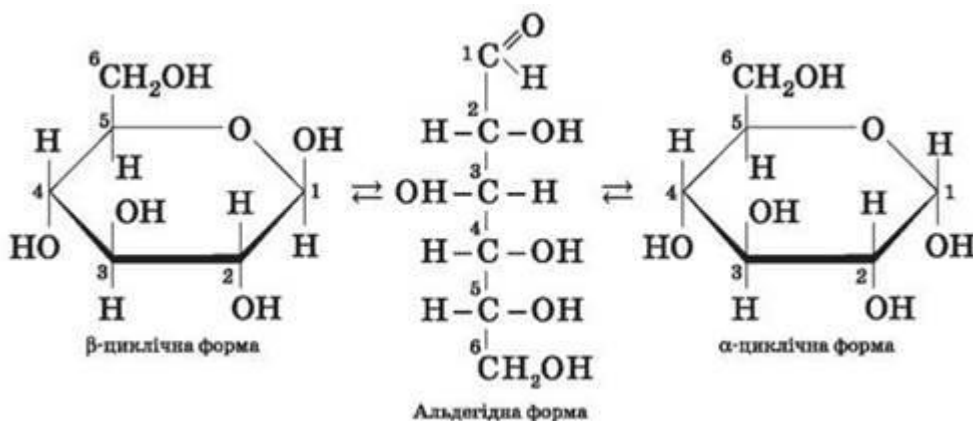
### ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5 ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ГЛЮКОЗИ

**Мета роботи:** дослідити хімічні властивості глюкози.

#### Загальні теоретичні відомості

Глюкоза – альдегідо-багатоатомний спирт, який відноситься до класу альдогексоз, є одним із найпоширеніших моносахаридів у живій природі.

Молекула глюкози у водному розчині існує переважно в циклічній формі. Схема ізомеризації молекули глюкози:



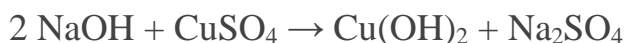
Наявність в молекулі –ОН та –СНО груп обумовлює здатність цих речовин до окиснення. На цій властивості вуглеводів засновано їх визначення. В цих реакціях відбувається окиснення цукру та відновлення катіону металу.

Хімічні властивості глюкози забезпечують утворення біологічно важливих речовин в організмі людини і тварин, такі як глюкозоаміни тощо, які є мономерами важливих гетерополісахаридів, що формують основу твердої сполучної тканини кісток, сухожилів.

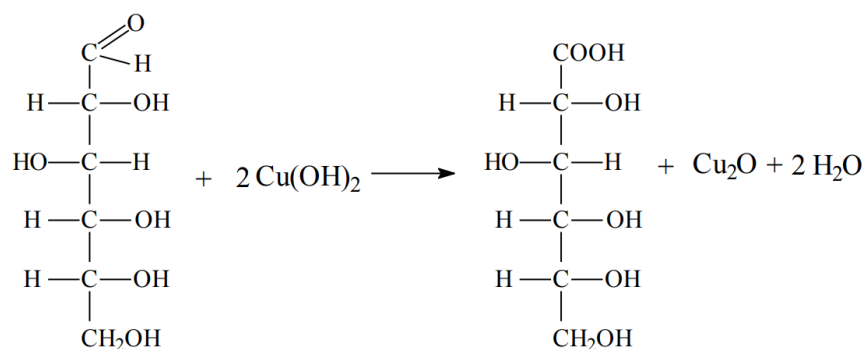
За рахунок наявності гідроксильних груп, глюкоза проявляє усі хімічні властивості багатоатомних спиртів (взаємодія із лужними металами, із нерозчинними гідроксидами, розчинами лугів і т. д.). За рахунок альдегідної групи, глюкоза здатна до реакцій нуклеофільного приєднання, нуклеофільного заміщення карбонільної групи С=О, реакцій окиснення тощо).

#### Виконання роботи

1. Взаємодія глюкози із купрум гідроксидом (реакція Троммера).



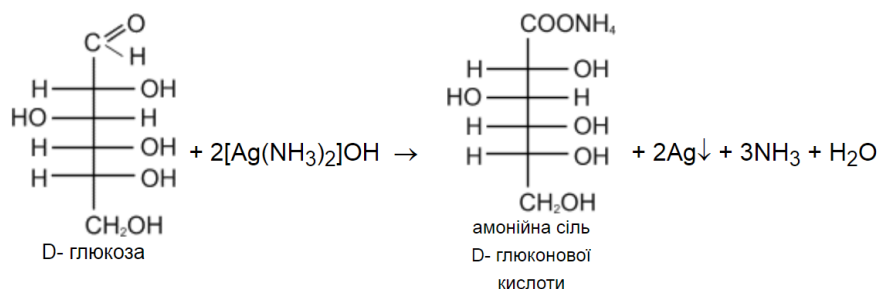




В пробірку додають 2 см<sup>3</sup> 1-5 % розчину натрій гідроксиду, декілька крапель 1-10 % розчину купрум сульфату. До пробірки додають 2 см<sup>3</sup> 5-10 % розчин глюкози, ретельно перемішують.

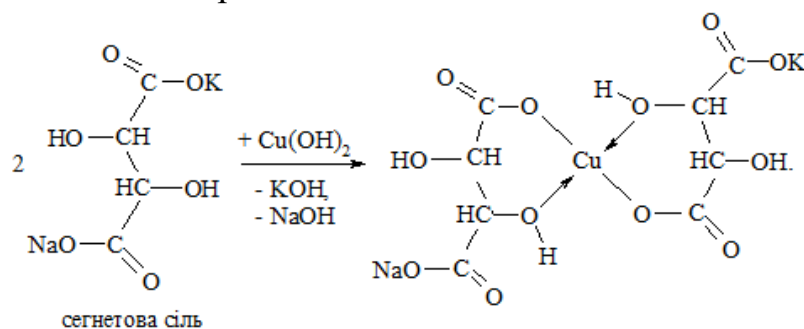
Потім пробірку нагрівають на водяній бані або над полум'ям спиртівки.

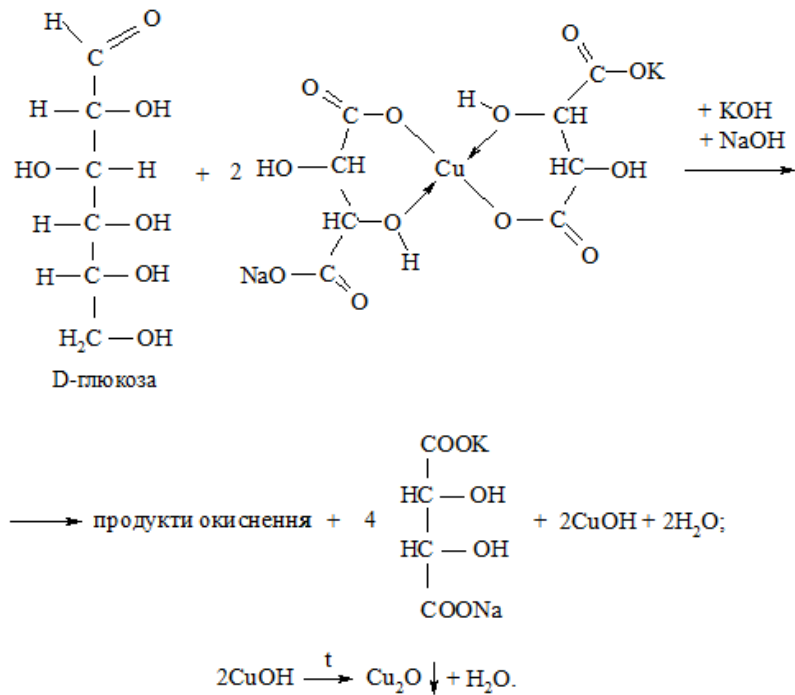
2. Взаємодія глюкози із аміачним розчином аргентум (I) оксиду (реакція «срібного дзеркала»).



До 1 см<sup>3</sup> 1-5 % розчину аргентум нітрату додають декілька крапель 1-5 % розчину натрій або калій гідроксиду. До пробірки з утвореним осадом додати розчин амоніаку до повного його розчинення. Додати 1-2 см<sup>3</sup> 1-10 % розчину глюкози і нагріти на водяній бані при температурі 60-100 °С.

3. Взаємодія глюкози із реактивом Фелінга.





Реактив Фелінга представляє собою тартрат міді в лужному середовищі. У пробірці змішують 2 см<sup>3</sup> розчину Фелінг 1 і 2 см<sup>3</sup> розчину Фелінг 2. До розчину додають 1-2 см<sup>3</sup> 1-10 % розчину глюкози і нагрівають на водяній бані при температурі 70-100 °С.

### Контрольні питання

1. Циклічні і нециклічні структурні формули глюкози.
2. Функція глюкози у живих організмах.
3. Хімічні властивості глюкози.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6

### ВИЗНАЧЕННЯ ГЛЮКОЗИ В БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ ГЛЮКОЗООКСИДАЗНИМ МЕТОДОМ

**Мета роботи:** оволодіти глюкозооксидазним методом визначення глюкози в біологічних рідинах.

#### Загальні теоретичні відомості

Глюкоза в присутності глюкозооксидази окиснюється киснем повітря до глюконової кислоти та пероксиду водню, який за наявності пероксидази реагує з фенолом та 4-амінофеназоном з утворенням хіноніміна червоно-фіолетового забарвлення, який визначається фотометрично.

Нормальні величини для людини 12 – 60 років складають 4,1 – 5,9 ммоль/л (сироватка), 0,1 – 0,8 ммоль/л (сеча).

#### Виконання роботи

Матеріали та реактиви. Сироватка крові або сеча; монореагент (пероксидаза (1100±110 U/л), β,D-глюкозооксидаза (9000±900 U/л), 4-амінофеназон (55±5 мг/л), фосфатний буфер із рН 7,2 – 7,4 (0,10±0,01 моль/л), фенол (190±19 мг/л), стабілізатори, активатори; калібрувальний розчин глюкози (10,0±0,5 ммоль/л, або 1802±90 мг/л).

Обладнання. Фотометричне обладнання (для вимірювання при довжині хвилі 500 – 550 нм, кювети завтовшки 5 мм або 10 мм, термостат, пробірки, піпетки.

Аналіз проводять згідно схеми, що наведена у таблиці.

Схема проведення досліду по визначенню вмісту глюкози у  
біологічних рідинах глюкозооксидазним методом

Відміряти у пробірку, мл	Холоста проба	Калібр. проба	Дослідна проба
Фізіологічний розчин	0,04	-	-
Калібрувальний розчин	-	0,04	-
Дослідний розчин	-	-	0,04
Монореагент (буферний р-н ферментів)	4,00	4,00	4,00

Вміст пробірок перемішують і витримують 20 хв при кімнатній температурі, або 12 хв при температурі 37<sup>0</sup>С. Спостерігають утворення червоно-фіолетового забарвлення.

Вимірюють оптичну густину калібрувальної ( $E_{\text{калібр}}$ ) та дослідної ( $E_{\text{досл}}$ ) проб проти холостої проби при довжині хвилі 500-550 нм. Забарвлення стабільне протягом 60 хв. Розрахунок концентрації глюкози ( $C$ , ммоль/л) проводять за формулою:

$$C = (E_{\text{досл}}/E_{\text{калібр}}) \times K \times 10, \text{ де}$$

$K$  – коефіцієнт розведення проби;

10 – концентрація глюкози у калібрувальному розчині, ммоль/л. Розрахунок вмісту глюкози у біологічній рідині та отриманий результат записують у зошит, порівнюють із нормальними величинами і роблять висновок.

### **Контрольні питання**

1. Основні методи кількісного визначення глюкози в крові.
2. Дати характеристику процесу гліколізу, його основні функції.
3. Дати характеристику процесу глюконеогенезу, його основна функція.
4. Охарактеризувати аеробне окиснення глюкози, його зв'язок із процесом окисного фосфорилування.
5. Пентозофосфатний шлях перетворення глюкози, особливості, основні функції.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7

### ВИЗНАЧЕННЯ ЙОДНОГО ТА КИСЛОТНОГО ЧИСЛА РОСЛИННИХ ЖИРІВ

**Мета роботи:** оволодіти методами визначення йодного та кислотного числа жирів.

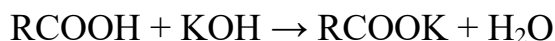
#### Загальні теоретичні відомості

Найбільш поширеними з усіх ліпідів і значущими в тваринному організмі є жири. Терміном "жири" позначають суміш різних гліцеридів у тому вигляді, в якому вони трапляються в природі. Жири або гліцериди – це складні ефіри триатомного спирту гліцеролу ( $\text{CH}_2\text{OH} - \text{CHOH} - \text{CH}_2\text{OH}$ ) і різних вищих жирних кислот. Частіше за все до складу жирів входять насичені кислоти – пальмітинова ( $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$ ) та стеаринова ( $\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COOH}$ ), а з ненасичених – олеїнова ( $\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOH}$ ), лінолева ( $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH}$ ) та ліноленова ( $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$ ). Разом з простими гліцеридами, що мають у своїй молекулі три однакові кислоти, трапляються ще змішані гліцериди, до складу яких входять різні жирні кислоти. Природні жири (нейтральні) являються змішаними тригліцеридами. Жири, що стоять на повітрі та світлі, гіркнуть – окиснюються та розщеплюються на леткі 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).

Хімічні методи контролю проводяться при визначенні якості, складу і структурних елементів жирів, олій та супроводжуваних їх речовин. При цьому найбільш важливими показниками є кислотне та йодне числа.

**Йодне число** жирів показує, скільки грамів іон-йоду може бути зв'язано в 100 г жиру.

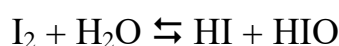
**Кислотне число** – це кількість міліграмів калій або натрій гідроксиду, необхідна для нейтралізації вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру:



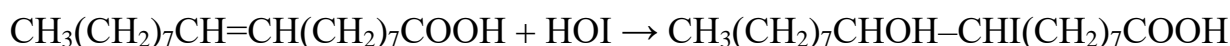
#### Виконання роботи

1. Визначення йодного числа жирів.

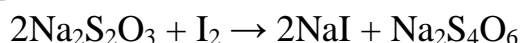
Метод ґрунтується на реакції ненасиченої кислоти жиру з йоднуватою кислотою, що утворюється під час взаємодії йоду з великою кількістю води за рівнянням:



Реакція жиру з йоднуватою кислотою відбувається за наступною схемою:



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.

На попередньо зважене з точністю до 0,0002 г годинникове скло наносять декілька крапель (3...5) досліджуваного жиру і зважують. Опускають скло з жиром в хімічний стакан і додають стократну (за об'ємом кількість 96 %-ного етанолу). Бажано, щоб маса жиру знаходилась в межах 0,2...0,3 г, тоді кількість спирту, що додається складе 20...30 см<sup>3</sup>. Суміш підігрівають для кращого розчинення на водяній бані за температури 45...50 °С, закривши стакан годинниковим склом або чашкою Петрі і перемішуючи вміст круговими рухами до отримання однорідного розчину (до зникнення жирових кульок). Далі відмірюють із бюретки 20 см<sup>3</sup> спиртового розчину йоду (25 г кристалічного йоду в 1 л 96 %-ного етанолу) і приливають циліндром 200 см<sup>3</sup> дистильованої води. Під час внесення води суміш постійно перемішують скляною паличкою, потім, закривши стакан, залишають у спокої на 5 хв, після чого відтитровують надлишок йоду, що не зв'язався з ненасиченими кислотами 0,1 н розчином Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> за присутності 1 %-ного розчину крохмалю до зникнення синього забарвлення. Паралельно проводять контрольний дослід (без жиру) зі збереженням всіх умов основного дослідження. Йодне число (в г на 100 г жиру або в %) розраховують за формулою:

$$\text{Й. ч.} = \frac{(V - V_1) \cdot K \cdot 0,01269}{m} \times 100\% \quad ,\text{де}$$

V – об'єм 0,1 н розчину Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, витраченого на титрування в контрольному досліді см<sup>3</sup>,

V<sub>1</sub> – об'єм 0,1 н розчину тіосульфату, що витрачається на титрування основного дослідження, см<sup>3</sup>;

0,01269 – кількість йоду, що відповідає 1 см<sup>3</sup> 0,1 н тіосульфату, г;

K – поправковий коефіцієнт до 0,1 н розчину тіосульфату;

m – маса наважки жиру, г.

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

2. Визначення кислотного числа жирів.

Особливістю методу є те, що не використовують розчинник для жиру. Для більш чіткого розділення фаз в олію або жир вводять насичений нейтральний водний розчин натрій хлориду. Титрування проводять в присутності індикатора фенолфталеїну. Після зв'язування всіх вільних жирних кислот, які знаходяться в олії, надлишок лугу з індикатором переходить в розчин натрій хлориду і забарвлює його в світло-рожевий колір. Присутність натрій хлориду стримує гідроліз мила і вилучає можливість утворення стійкої емульсії в процесі титрування.

В конічній колбі на технічних терезах зважують 10 г олії з точністю  $\pm 0,01$  г і потім приливають 50-60 см<sup>3</sup> насиченого нейтрального розчину натрій хлориду і 0,5 см<sup>3</sup> розчину фенолфталеїну. Колбу закривають пробкою, струшують і потім титрують 0,1 н. розчином КОН до тих пір доки після додання 1-2 крапель розчину лугу, не з'явиться стійкий рожевий колір нижнього шару. Кислотне число розраховують за формулою:

$$\text{К.ч.} = 5,611ak/m, \text{ де}$$

5,611 – титр 0,1 н. розчину КОН, мг/ см<sup>3</sup>;

a – кількість 0,1 н. розчину лугу, яка пішла на титрування, см<sup>3</sup>;

k – поправка до титру;

m – маса олії, г.

### Контрольні питання

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

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 8

### ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ХОЛЕСТЕРИН І ЛЕЦИТИН

**Мета роботи:** набути практичних навиків визначення холестерину і лецитину в зразках жирів.

#### Загальні теоретичні відомості

Холестерин – ліпід, який відноситься до класу стероїдів, має важливе біологічне значення для організму людини і тварин. У значних кількостях міститься в нервовій та жировій тканинах, печінці тощо. У хребетних тварин і людини — біохімічний попередник стероїдних гормонів, жовчних кислот, ліпопротеїнів (сполук, у формі яких ліпіди транспортуються по організму) та вітаміну D. Надлишок холестеролу в організмі людини призводить до утворення жовчних каменів, відкладанню холестеролу на стінках судин, порушень обміну речовин. Біосинтез холестеролу відбувається в цитозолі та мітохондріях клітин. Цей процес має важливе значення в організмі людини, оскільки холестерол виконує низку життєво необхідних функцій: є попередником в біосинтезі стероїдних гормонів, жовчних кислот, ліпопротеїнів та вітаміну D. В організмі холестерол підлягає біотрансформації, численним метаболічним перетворенням. Цей процес забезпечує синтез стероїдних сполук та забезпечує умови для екскреції надлишків стеролу. Першим етапом біотрансформації холестеролу є утворення його етерів з вищими карбоновими кислотами.

Лецитини – клас ліпідів, що представляють собою похідні триатомного спирту гліцеролу, дві гідроксильні групи якого естерифіковані залишками ненасичених жирних кислот, третя – залишком фосфатної кислоти, який сполучений із залишком холіну. Лецитин є одним із представників основних фосфоліпідів клітинних мембран. Фосфатидилхоліновий залишок надає молекулі фосфоліпиду заряджену ділянку, яка проявляє гідрофільні властивості, залишки молекул ненасичених жирних кислот мають гідрофобні властивості завдяки високій неполярності. В результаті формується фосфоліпідний бішар, який є основою усіх біологічних мембран. Лецитин широко розповсюджений в продуктах тваринного походження, особливо у таких як яйця, молоко, тощо.

#### Виконання роботи

1. Якісна реакція на холестерин.

1 г досліджуваного матеріалу (будь який представник тваринного жиру або рослинної олії) розчиняють в 3 см<sup>3</sup> хлороформу, ретельно перемішуючи до повного розчинення. При неповному розчиненні збільшують дозу хлороформу, або розчин профільтровують через паперовий фільтр. До 1 см<sup>3</sup> фільтрату додають обережно по стінкам пробірки 1 см<sup>3</sup> концентрованої



сульфатної кислоти. При наявності холестерину, утворюється сульфохолестерин червоного кольору. За інтенсивністю червоного кольору можна зробити висновок про відносну кількість холестерину в досліджуваному зразку.

#### 2. Якісна реакція на лецитин.

До 1 см<sup>3</sup> фільтрату, отриманого в попередньому досліді, додаємо 1 см<sup>3</sup> насиченого розчину солі Кадмію (+2). При наявності лецитину утворюється червоний осад. По рівню отриманого осаду робимо висновок про кількість лецитину в досліджуваних жирах.

### **Контрольні питання**

1. Функції холестерину в організмі людини і тварин.
2. Біосинтез холестерину.
3. Перетворення холестерину в організмі холестерину.
4. Формування в організмі ліпопротеїнів різної густини, роль холестерину в даному процесі.
5. Якісні реакції на холестерин.
6. Фосфоліпіди, особливості їх будови та функції.
7. Лецитин, його будова та біологічні функції. Добова норма лецитину та основні продукти харчування.
8. Роль лецитину у формуванні біологічних мембран.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 9

### ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ

**Мета роботи:** дослідити фізико-хімічні властивості білків.

#### Загальні теоретичні відомості

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

Виділяють наступні рівні структурної організації білків:

Назва структури	Характеристика зв'язків	Приклад білка
<b>Первинна</b>	Послідовність розміщення $\alpha$ -амінокислот у молекулі, сполучених пептидними зв'язками	
<b>Вторинна</b>	Впорядковане розміщення у просторі основного поліпептидного ланцюга у вигляді $\alpha$ -спіралі або $\beta$ -структури, фіксування структур здійснюється за рахунок водневих зв'язків	$\beta$ -кератин (волосся, рогова тканина) $\beta$ -кератин шовку, міоінозин (м'язова тканина)
<b>Третинна</b>	Компактне тривимірне пакування білкового ланцюга у просторі, у взаємодії бувають участь бічні групи амінокислот	Міоглобін, лізоцим
<b>Четвертинна</b>	Просторове розміщення декількох поліпептидних субодиноць, сполучених за рахунок водневих та гідрофобних взаємодій	Гемоглобін

Важливою властивістю білків є їх розчинність у воді, водно-солевих розчинах і в водних розчинах полярних розчинників (спирт). Процес розчинення білків тісно пов'язаний з гідратацією їх макромолекул, і будь-який фактор, що порушує цю гідратацію, буде в той же час знижувати розчинність білків у воді та сприяти випаданню їх в осад. Зменшення гідратації колоїдних часток білка легко досягається додаванням до їх розчинів водозабірних засобів. До таких дегідратуючих речовин відносять спирт, ацетон, розчини нейтральних солей лужних металів та ін. Ці речовини осаджують білки без явища денатурації, а солі важких металів, навпаки, осаджують білки з денатурацією, сутність якої зводиться до втрати білками гідрофільних та набуття гідрофобних властивостей.

**Денатурація білків** – це порушення нативної просторової структури білкової молекули під впливом різних зовнішніх дій, що супроводжується зміною їх фізико-хімічних і біологічних властивостей. В результаті цього порушується вторинна і третинна структури білкової молекули, а первинна, як правило, зберігається.

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

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

Білки мають велику молекулярну масу, чим особливо відрізняються від інших органічних сполук. Цим пояснюється виражений колоїдний характер їх водних розчинів.

Водні розчини білків представляють собою колоїдні розчини. Це означає, що діаметр білкових часток у розчині більше 0,001 мк.

Білки характеризуються гідрофільністю, тобто мають велику спорідненість до води. Колоїдні розчини білків опалесціують, у них спостерігаються явище Фарадея-Тиндаля, характерний броунівський рух частинок дисперсної фази, вони не проходять через ультрафільтри, мають низький осмотичний тиск та ін.

### **Виконання роботи**

#### **1. Реакції осадження білків без денатурації.**

При цих реакціях білки не підлягають глибоким змінам і утворені ними осадки (гель) знову можуть бути розчинені у вихідному розчиннику (переведені в золь).

Макромолекули білків при цьому зберігають свої первинні властивості та не підлягають істотним змінам (денатурації). Зворотне осадження білків досягається додаванням до водних розчинів нейтральних солей лужних металів.

До цих солей відносять такі сполуки:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{KCl}$ .

Механізм дії цих солей на колоїдну частку веде до адсорбції на останній іонів з протилежним зарядом і, таким чином, білкова частка стає електронейтральною, внаслідок чого знижується її стійкість у розчині.

Крім цього, солі лужних металів, розчиняючись, зв'язують велику кількість води, що при достатньо великих концентраціях веде до дегідратації колоїдних часток і позбавляє останні другого фактора стійкості – гідратаційної оболонки. Білки при цьому випадають в осад. Цей метод осадження білків має назву висолювання. Осади білків (гель), утворені висолюванням, можуть бути знову розчинені, якщо зменшити концентрацію солей діалізом або розведенням водою.

Висолювання білків, таким чином, є зворотним процесом.

У пробірку наливають 2-3 см<sup>3</sup> сироватки крові або розведеного яєчного білка. Додають рівний об'єм насиченого розчину амоній сульфату, збовтують. У осад випадають білки глобуліни. До розчину з осадом білків додають рівний об'єм дистильованої води, добре перемішують і спостерігають поступове зникнення осаду білків.

У дві пробірки додають по 2-3 см<sup>3</sup> сироватки крові або розчиненого яєчного білка. У першу додають до повного насичення кристали NaCl, а в другу – MgSO<sub>4</sub>. За 2 хв в обох пробірках з'являється осад глобулінів.

2. Осадження білків іонами важких металів.

Під впливом іонів важких металів (свинцю, міді, срібла, ртуті та ін.) білки зі стану золю незворотно коагулюють у гель. Солі важких металів необоротно осаджують білки внаслідок зшивання поліпептидних ланцюгів багатовалентними атомами металів. Йони 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. Для осадження білків солями важких металів достатньо низьких їх концентрацій.

При надлишку плюмбум ацетату, купрум сульфату спостерігається розчинення утвореного 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 натрій хлориду, який спричиняє розчинення осаду сполуки білка з важким металом.

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.

У дві пробірки додають по 1 – 2 см<sup>3</sup> розчину білка. Додають краплями до першої пробірки розчин плюмбум ацетату, а в другу – купрум сульфату. В пробірках утворюється осад білків.

### 3. Осадження білків мінеральними кислотам.

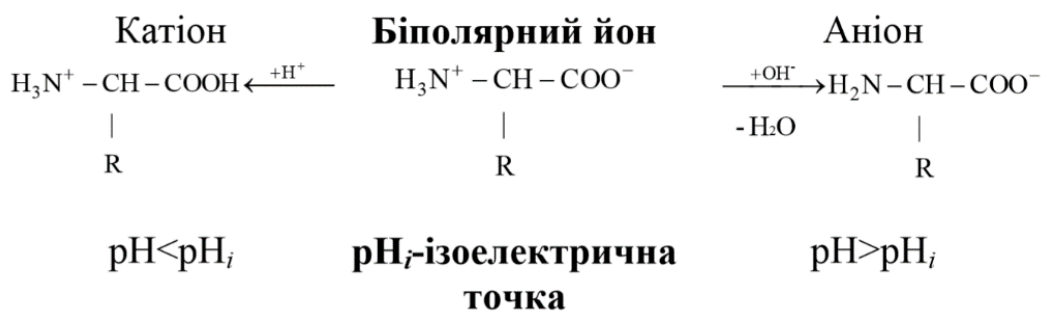
Концентровані мінеральні кислоти (крім фосфатної) спричиняють зворотне осадження білків із розчину. Це осадження пояснюється явищем дегідратації колоїдних часток білка, зняттям заряду, утворенням солей з білка та кислот. Надлишок мінеральних кислот (за винятком нітратної) розчиняє осад білків, що випадає при їх додаванні.

У три пробірки обережно додають по 1 см<sup>3</sup> кислот: у першу – хлоридну, в другу – сульфатну, в третю – нітратну. В ці пробірки обережно нашаровують на кислоту приблизно по 1 см<sup>3</sup> розчину білка. На межі двох рідин спостерігається поява осаду білків у вигляді невеликого білого кола. Кожну пробірку обережно збовтують. Спостерігають розчинення осаду в першій та другій пробірках, де є надлишок хлоридної та сульфатної кислот, а в третій пробірці осад не зникає при збовтуванні, оскільки за надлишку нітратної кислоти він не розчиняється.

### 4. Осадження білків кип'ятінням.

Більшість білків при нагріванні осаджуються, перетворюючись незворотно на гель. Для різних білків температура їх коагуляції неоднакова. Деякі білки коагулюють при температурі 50-55<sup>0</sup>С, а інші можуть витримувати нетривале кип'ятіння. Механізм температурної коагуляції та денатурації білків пов'язаний з перебудовою структури макромолекул білка, зокрема колоїдної частки білка під впливом підвищеної температури: вони з гідрофільних стають гідрофобними.

При цьому проходить глибока та незворотна зміна третинної та вторинної структури молекул білка – вони вивертаються "навиворіт". Температурна денатурація білків проходить повільно і прискорюється з підвищенням температури. Швидкість коагуляції залежить від присутності в розчині іонів солей та іонів гідрогену. Особливо швидко і повно осаджуються білки при нагріванні в ізоелектричній точці, тобто при такому значенні рН, коли колоїдні частки набувають нейтрального заряду і стають нестійкими в розчині. У дуже кислих розчинах білкові частки перезаряджаються внаслідок їх амфотерних властивостей та несуть позитивний заряд, що збільшує їх стійкість. Аналогічно поведуть себе білкові міцели в дуже сильних лугах. У лужних розчинах стабільність білкового колоїду зумовлена негативним зарядом колоїдних часток.



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

Додають у п'ять пробірок по 2 см<sup>3</sup> розчину білка. Нагрівають вміст першої пробірки та спостерігають поступове випадіння білку в осад. В другу пробірку додають одну краплю 1 % оцтової кислоти та нагрівають. Осад білка випадає швидше і повніше, оскільки білок в цьому випадку знаходиться в ізоелектричній точці. В третю пробірку додають 0,5 см<sup>3</sup> 10 % оцтової кислоти та нагрівають. Осад білка не утворюється навіть при кип'ятінні. В четверту пробірку додають 0,5 см<sup>3</sup> 10 % оцтової кислоти та 3-4 краплі насиченого розчину натрій хлориду та нагрівають. Осад білка утворюється швидше. В п'яту пробірку додають 0,5 см<sup>3</sup> 10 % розчину натрій гідроксиду та нагрівають. Осад білка не утворюється навіть при кип'ятінні.

### Контрольні питання

1. Дайте визначення поняттю «білки»? Охарактеризуйте хімічний склад білків.
2. Сучасні уявлення про структуру білків.
3. Фізико-хімічні властивості білків.
4. Чим денатурація білків відрізняється від висолювання?
5. Механізм коагуляції білка.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 10 КОЛЬОРОВІ РЕАКЦІЇ НА БІЛКИ

**Мета роботи:** ознайомитись з кольоровими реакціями на білки.

### Загальні теоретичні відомості

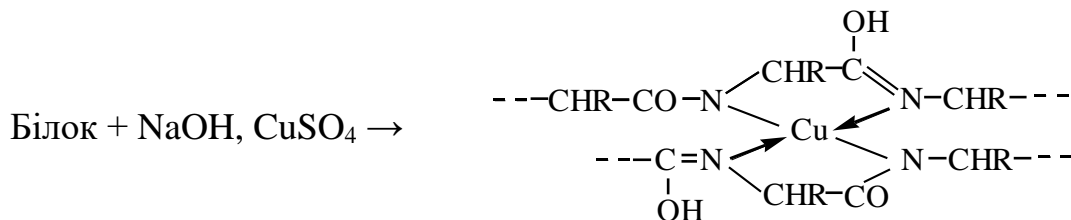
Біуретова реакція (взаємодія білку із купрум гідроксидом в лужному середовищі) вказує на наявність пептидних зв'язків у сполучці. За рахунок таутомерних перетворень пептидного зв'язку білок може проявляти себе як багатоатомний спирт, взаємодіючи із нерозчинним  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ , утворюючи біуретовий комплекс темно-синього кольору.

Ксантопротеїнова реакція (взаємодія білку із концентрованою нітратною кислотою) є якісною на ароматичні амінокислоти (тирозин, фенілаланін) у складі білка. Реакція базується на заміщенні атомів Гідрогену у бензольному циклі ароматичних амінокислот з утворенням осаду білку жовтого кольору.

Реакція Фоля – якісна на вміст у білку залишків сульфуровмісних амінокислот (метіоніну, цистеїну, цистину). Базується на взаємодії солей свинцю із атомами Сульфуру сульфуровмісних амінокислот. В результаті утворюється чорний осад плумбум сульфїду.

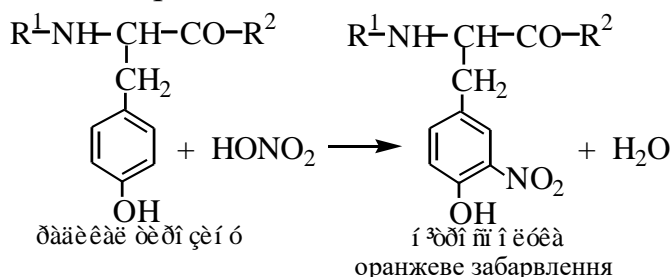
### Виконання роботи

1. Біуретова реакція на білок.



До пробірки додають  $1 \text{ см}^3$  5-10 % розчину натрій гідроксиду і декілька краплин насиченого розчину купрум сульфату. Утворюється осад блакитно-синього кольору. До утвореного осаду додають  $3 \text{ см}^3$  10 % розчину яєчного білку. Відбувається розчинення осаду і утворення темно-синього комплексу – біурету.

2. Ксантопротеїнова реакція на білок.



До  $2 \text{ см}^3$  10 % розчину яєчного білку додати  $1-2 \text{ см}^3$  концентрованої нітратної кислоти. Відбувається утворення жовтого осаду білку. До

утвореного жовтого осаду додаємо концентрований розчин амоніаку. Жовтий колір осаду повинен змінитись на оранжевий.

### **Контрольні питання**

1. Чим зумовлена біуретова реакція в білках і пептидах?
2. Пояснити принцип біуретової реакції.
3. На чому ґрунтується ксантопротеїнова реакція?
4. Пояснити принцип реакції Фоля, записати хімізм.
5. Які амінокислоти у складі білків можна виявити реакцією Фоля?



## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 11

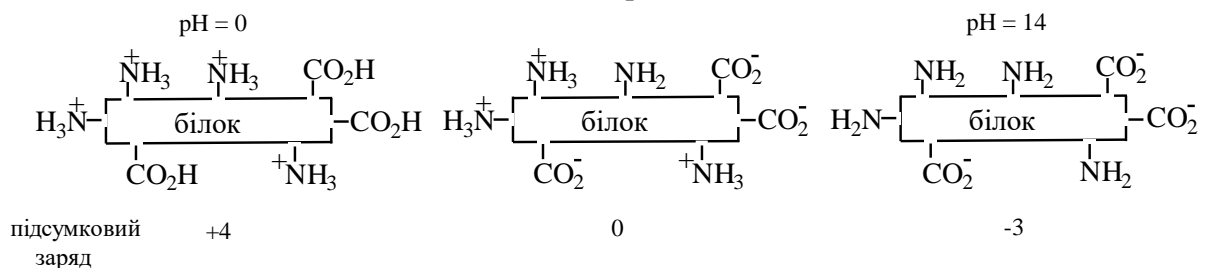
### ВИЗНАЧЕННЯ ІЗОЕЛЕКТРИЧНОЇ ТОЧКИ БІЛКІВ

**Мета роботи:** формувати вміння визначати ізоелектричну точку білків.

#### Загальні теоретичні відомості

Кислотно-основні властивості білків визначаються згідно з розташуванням на поверхні білкових молекул аніоногенних ( $-\text{COOH}$  і меншою мірою  $-\text{OH}$ ,  $-\text{SH}$ ) та катионогенних ( $-\text{NH}_2$ , 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*.

#### 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.

#### Виконання роботи

Готують серію буферних розчинів:

Розчин	№ пробірки					
	1	2	3	4	5	6
	Об'єм, см <sup>3</sup>					
CH <sub>3</sub> COONa, 0,1 н.	2	2	2	2	2	2
CH <sub>3</sub> COOH 0,1 н	0,25	0,5	1	2	4	–
CH <sub>3</sub> COOH 1 н	–	–	–	–	–	0,8
Дистильована вода	3,75	3,50	3	2	–	3,2
Желатин, 1 %	2	2	2	2	2	2

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

Вміст пробірок збовтують.

У пробірку № 4 додають з піпетки повільно (при помішуванні) стільки етилового спирту, щоб через деякий час залишилася ледве помітне помутніння. Для цього потрібно, як правило, 2-3 см<sup>3</sup> спирту.

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

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

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

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

### **Контрольні питання**

1. Що називають ізоелектричним станом білків? Значення ізоелектричного стану у формуванні структури білкових молекул.
2. Від чого залежить заряд білків?
3. Ізоелектрична точка білка дорівнює 4,7. Який заряд має цей білок, при рН = 3, рН = 6,9?

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 12

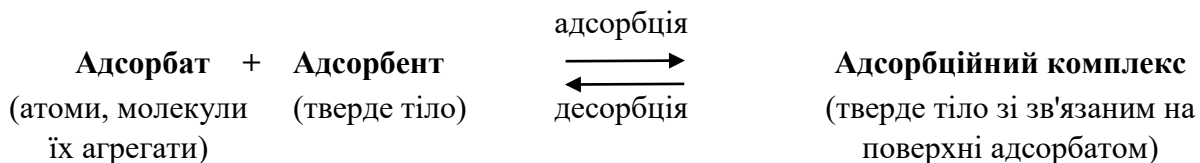
### РОЗПОДІЛЬЧА ХРОМАТОГРАФІЯ АМІНОКИСЛОТ

**Мета роботи:** оволодіти методом розподільної хроматографії як одним з методів якісного аналізу на прикладі розділення суміші амінокислот паперовою хроматографією.

#### Загальні теоретичні відомості

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

Процес адсорбції описується схемою:



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

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

Залежно від способу подачі розчинника розрізняють:

- 1) висхідну хроматографію (розчинник рухається знизу вгору);
- 2) низхідна (розчинник рухається зверху вниз, при цьому внесок у рух вносить гравітаційна сила);
- 3) радіальна хроматографія.

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

## Виконання роботи

### 1. Низхідна хроматографія.

Готують камеру для хроматографії. На дно камери наливають невелику кількість розчинника (суміш н-бутанолу, оцтової кислоти, води (4:1:5)), який при випаровуванні насичує камеру парами, що запобігають висиханню фільтрувального паперу. Висота шару розчинника не повинна бути вище на 1 см від дна циліндра. До верхньої частини камери прикріплюють ванночку в точно горизонтальному положенні та заповнюють її розчинником.

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

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

Капілярами нанести в намальовані кільця краплі розчинів сумішей, що досліджуються, та “свідків”. Крапля, яку наносять не повинна розтікатися за межі намальованого кільця. Утворену пляму швидко просушують. Смужку хроматографічного паперу помістити в хроматографічну камеру так, щоб нижній край пластинки був занурений у розчинник. Інший кінець смужки повинен вільно звисати донизу. Слід запам'ятати, що смуга паперу повинна звисати точно вертикально і не торкатися своїм вільним кінцем ні стінок, ні дна камери, а також до розчинника на дні камери. В ванночці смужка паперу фіксується предметним склом або скляною паличкою (рис. 1).

Підготовлена таким чином камера герметично закривається скляною кришкою. В процесі хроматографії розчинник повинен пройти вздовж усієї смуги паперу, потягнувши за собою амінокислоти. Через різний коефіцієнт розподілу суміш амінокислот розділяється на окремі амінокислоти, які адсорбуються на різних ділянках смуги фільтрувального паперу. Коли розчинник дійде до кінця смуги (10 см), папір дістають з камери та висушують на повітрі або у витяжній шафі. Для кращого розподілу суміші пропускання розчинника можна повторити.

Коли розчинник повністю випариться, хроматограму проявляють. Як проявник для  $\alpha$ -амінокислот використовувати розчин нінгідрину ( $\omega$ (нінгідрину) = 0,5 %) в ацетоні. Цим розчином оприснути хроматограму декілька разів з пульверизатора так, щоб папір ставав тільки слабо вологий та на ньому не утворювались би розмиваючі струмені розчину. Потім висушити

папір на повітрі та прогріти у сушильній шафі при 110 °С до появи лілових плям.

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

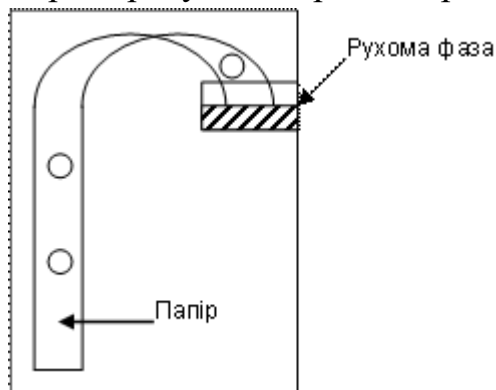


Рис. 1. Низхідна хроматографія

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

$$R_f = \frac{l(\text{плями})}{10}$$

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

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

## 2. Висхідна хроматографія.

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

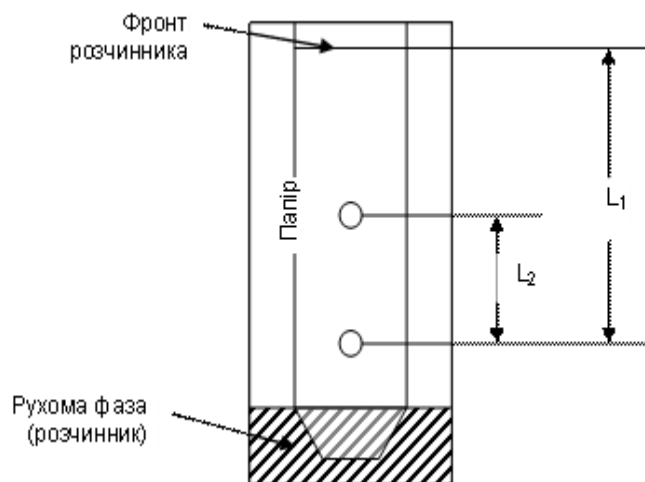


Рис. 2. Висхідна паперова хроматографія

### Контрольні питання

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

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 13

### ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВОДОРозчинні Вітаміни

**Мета роботи:** формувати уміння визначати водорозчинні вітаміни за допомогою якісних реакцій.

#### Загальні теоретичні відомості

**Вітаміни** – біоорганічні сполуки різної будови, що є життєво необхідними компонентами обміну речовин.

Вітаміни входять до складу простетичних груп багатьох ферментів, мають великий вплив на ріст, розвиток, продуктивність та здоров'я тварин.

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

За фізико-хімічними властивостями вітаміни поділяють на дві групи: вітаміни, що розчиняються у воді та вітаміни, що у воді нерозчинні.

У воді розчиняються наступні вітаміни:

$B_1$  – тіамін, антиневритний;

$B_2$  – рибофлавін, вітамін росту;

$B_3$  – пантотенова кислота, антидерматичний;

$B_5$  (PP) – нікотинамід та нікотинова кислота, антипеларгійний;

$B_6$  ( $B_6$ ,  $B_{10}$ ,  $B_{11}$ ) – фолієва кислота, фактор росту;

$B_{12}$  – ціанокобаламін, антианемічний;

H – біотин, антисеборейний;

C – аскорбінова кислота, антицинговий;

P – біофлавоноїди, фактор проникності.

#### Виконання роботи

##### 1. Якісна реакція на вітамін $B_2$ .

Виявлення засноване на відновленні жовтого рибофлавіну спочатку в родофлавін (проміжна сполука) червоного кольору, а потім у безбарвний лейкофлавін.

У пробірку вносять 10 крапель розчину рибофлавіну у воді, додають 5 крапель концентрованої хлоридної кислоти і занурюють шматочок металевого цинку. Починається виділення бульбашок водню і рідина поступово забарвлюється в рожевий колір, а потім знебарвлюється.

##### 2. Якісна реакція на вітамін C.

У дві пробірки додають по 10 крапель дистильованої води і по 1-2 краплі 0,1 % розчину йоду в калій йодиді. В першу пробірку додають 10 крапель води, в другу – 10 крапель аскорбінової кислоти. У другій пробірці розчин йоду знебарвлюється.

## **Контрольні питання**

1. Дати класифікацію вітамінів.
2. Хімічна структура вітамінів.
3. У чому полягає біологічна дія водорозчинних вітамінів?
4. Біохімічна характеристика водорозчинних вітамінів: хімічна будова, біологічні властивості, добова потреба, джерела, роль в обміні речовин, метаболізм та механізм дії.
4. Хвороби недостатності водорозчинних вітамінів, гіпервітамінози.
5. Біоантиоксидантні властивості водорозчинних вітамінів.



## **ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 14**

### **ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ЖИРОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ**

**Мета роботи:** формувати уміння визначати жиророзчинні вітаміни у біооб'єктах за допомогою якісних реакцій.

#### **Загальні теоретичні відомості**

До жиророзчинних вітамінів відносяться вітаміни:

A – ретинол, антиксерофтальмічний;

D – кальциферол, антирахітичний;

E – токоферол, антиоксидант;

F – антисклеротичний;

K – нафтохінони, антигеморагічний, філохінони.

#### **Виконання роботи**

1. Якісна реакція на вітамін A.

До 1-2 крапель риб'ячого жиру або 0,05 % розчину вітаміну A у хлороформі додають 5-10 крапель льодяної оцтової кислоти, насиченої ферум сульфатом, і 1-2 краплі концентрованої сульфатної кислоти. З'являється блакитне забарвлення, яке поступово змінюється на рожевий колір.

2. Якісна реакція на вітамін E.

Спиртовий розчин  $\alpha$ -токоферолу окиснюється ферум хлоридом в токоферилхінон червоного кольору.

У суху пробірку додають 4-5 крапель 0,1 % спиртового розчину  $\alpha$ -токоферолу, додають 0,5 см<sup>3</sup> 1 % розчину ферум хлориду, інтенсивно перемішують. Вміст пробірки набуває червоного забарвлення.

#### **Контрольні питання**

1. У чому полягає біологічна дія жиророзчинних вітамінів?
2. У чому полягає біологічна дія водорозчинних вітамінів?
3. Біохімічна характеристика жиророзчинних вітамінів (A, D, E, K, F): хімічна будова, біологічні властивості, добова потреба, джерела, роль в обміні речовин, метаболізм та механізм дії.
4. Хвороби недостатності жиророзчинних вітамінів, гіпервітамінози.
5. Біоантиоксидантні властивості жиророзчинних вітамінів.

**МОДУЛЬ III. БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ ТКАНИН І ОРГАНІВ**  
**ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 15**  
**ЗАГАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ**

**Мета роботи:** дослідити термолабільність ферментів, а також вплив рН на їх активність.

**Загальні теоретичні відомості**

В основі життєдіяльності організму – хімічні процеси. Майже всі вони відбуваються за участі природних біокаталізаторів – *ензимів (ферментів)*.

Усі ферменти можна поділити на два великих класи:

- 1 – ферменти-протеїни, що являють собою білок;
- 2 – ферменти-протеїди, що містять білок і активну речовину небілкової природи.

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

Білковий компонент складних ферментів називають апоферментом, а небілковий – простетичною групою, або коферментом. Міцність зв'язку між білком і простетичною групою в різних складних ферментах неоднакова. Втративши простетичну групу, складні ферменти дезактивуються. Білковий компонент впливає на ефективність дії складних ферментів і зумовлює специфічність взаємодії між ферментом і субстратом.

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

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

**Виконання роботи**

**1. Термолабільність ферментів.**

Для ферментативного каталізу характерним є те, що підвищення температури спочатку приводить до збільшення швидкості реакції, а потім до швидкого її зниження. Температурний оптимум більшості ферментів тваринного організму лежить у межах 37-40 °С. Особлива чутливість ферментів до температури є однією з властивостей, що якісно відрізняє їх від неорганічних каталізаторів, адже ферменти – це білки, які за високої температури можуть незворотно денатурувати. При низькій температурі припиняється ферментативна діяльність. Цей процес є зворотним.

У чотири пробірки додають по 5 см<sup>3</sup> розчину крохмалю. В пробірки № 1, № 2, № 3 додають по 2-3 см<sup>3</sup> розбавленої слини. У пробірку № 4 додають 2-3 см<sup>3</sup> прокип'яченої слини.

Перемішують вміст кожної пробірки. Першу пробірку ставлять у посуд з кригою (0<sup>0</sup>C), другу – залишають у штативі при кімнатній температурі, третю і четверту – поміщають у водяну баню при температурі 38-40 <sup>0</sup>C. Через 10 хв пробірки, які були в бані, охолоджують і до них додають розчин йоду в калій йодиді (0,02 н) (із першої пробірки для реакції з йодом відібрати пробу рідини). У першій пробірці рідина забарвлюється в синій колір, у другій – у фіолетовий або червоно-бурий, у третій пробірці – в жовтий, у четвертій – у синій.

Якщо помістити пробірку № 1 у водяну баню при 38-40 <sup>0</sup>C на 10 хв, відбудеться гідроліз крохмалю, що і покаже реакція з йодом. Таким чином може бути показана зворотна гальмуюча дія низької температури на активність ферменту.

## 2. Вплив рН на активність ферменту.

Активність ферменту змінюється залежно від величини рН. Для різних ферментів оптимум рН різний.

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

Реактиви	№ пробірки					
	1	2	3	4	5	6
0,15 М розчин КН <sub>2</sub> РО <sub>4</sub>	9,5	9,0	7,0	5,0	3,0	1,0
0,15 М розчин Na <sub>2</sub> НРО <sub>4</sub>	0,5	1,0	3,0	5,0	7,0	9,0
Спостереження	.....	.....	.....	.....	.....	.....
рН буферної суміші	5,59	5,91	6,47	6,81	7,17	8,1

Потім у шість інших пронумерованих пробірок додають по 5 см<sup>3</sup> свіжоприготованого 0,5 % розчину крохмалю. В кожну пробірку додають по 1 см<sup>3</sup> фосфатної буферної суміші з різним значенням рН. Потім у кожну пробірку додають по 1 см<sup>3</sup> розбавленої слини, перемішують і ставлять у водяну баню при 38-40 <sup>0</sup>C. Через 3-5 хв із вмісту пробірки № 3 відбирають кілька крапель розчину і проводять реакцію з розчином йоду в калій йодиді, причому цю операцію повторюють кілька разів (через кожні 2 хв) до того часу, поки в пробірці № 3 не відбудеться повне розщеплення крохмалю (з'являється жовто-червоне забарвлення). Після цього в інші пробірки додають по кілька крапель розчину йоду в калій йодиді. Вміст пробірок

забарвлюється в різні кольори відповідно до повноти проходження ферментативного гідролізу крохмалю:

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

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

### Контрольні питання

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

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 16

### СПЕЦИФІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ АМІЛАЗИ СЛИНИ

**Мета роботи:** дослідити специфічні властивості амілази слини.

#### Загальні теоретичні відомості

Специфічність є характерною рисою, що відрізняє ферменти від усіх інших небіологічних каталізаторів. Так, дрібно розпушені платина, залізо чи нікель можуть виступати каталізаторами розкладу перекису водню на воду і кисень. Серед ферментів таку дію проявляє в основному каталаза. Таким чином, ферментам притаманна виражена специфічність дії. Кожен фермент діє на певний субстрат або на певну групу близьких за структурою субстратів чи на певний тип зв'язку в молекулі.

#### Виконання роботи

##### 1. Специфічність дії ферменту амілази.

Беруть чотири пробірки; в пробірки № 1 і № 3 додають по 4-5 см<sup>3</sup> розчину крохмалю, а в пробірки № 2 і № 4 – по 4-5 см<sup>3</sup> розчину сахарози. Потім у пробірки № 1 і № 2 додають по 2 см<sup>3</sup> розчину ферменту сахарази, а в пробірки № 3 і № 4 – по 2 см<sup>3</sup> розведеної слини. Вміст кожної пробірки старанно перемішують і ставлять у водяну баню при температурі 38<sup>0</sup>С. Через 20 хв вміст кожної пробірки ділять на 2 частини: з однією із них проводять реакцію Фелінга, а з іншою – пробу з йодом. Отримані результати занести в таблицю:

№ пробірки	Субстрат	Фермент	Реакція Фелінга	Проба з йодом
1	Крохмаль	амілаза		
2	Сахароза	амілаза		
3	Крохмаль	сахараза		
4	Сахароза	сахараза		
Висновок:				

##### 2. Активатор та паралізатор амілази слини.

Великий вплив на активність ферментів здійснює наявність у тканинах ряду хімічних сполук. Одні з них підвищують активність ферментів (активатори), інші, навпаки, значно зменшують її (паралізатори, або інгібітори). Активатори необхідні для проявлення максимальної активності ферменту, вони є необхідною умовою дії ферменту. Ізольований та очищений від домішок активатора фермент часто буває неактивним. Після додавання активатора активність ферменту відновлюється. Роль активаторів можуть відігравати як органічні (жовчні кислоти), так і неорганічні речовини (іони металів).

Інгібітори гальмують ферментативні реакції, викликаючи структурні зміни білкової молекули ферменту. Деякі інгібітори ферментів є отрутами для живих організмів (наприклад, ціаніди, сірководень, монооксид вуглецю). Ряд лікарських засобів також має виражені інгібуючі властивості щодо певних ферментних систем.

У три пробірки додають по 1 см<sup>3</sup> таких розчинів: у першу – дистильовану воду, в другу – розчин натрій хлориду, в третю – розчин купрум (II) сульфату. В усі пробірки додають по 2 см<sup>3</sup> розчину крохмалю і по 1 см<sup>3</sup> розбавленої слини. Одночасно поміщають всі пробірки у водяну баню, нагріту до температури 38<sup>0</sup>С, і через 10-15 хвилин усі пробірки разом переносять в склянку з льодом. В усі пробірки додають розчин йоду в калій йодиді.

### **Контрольні питання**

1. Дати визначення амілази, класифікаційну приналежність амілази.
2. Механізм дії амілази.
3. Розкрити поняття активатора та паралізатора амілази.
4. Будова молекули амілази, активні центри амілази.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 17

### ВИЗНАЧЕННЯ ДІАСТАЗИ В СЕЧІ ЗА ВОЛЬГЕМУТОМ

**Мета роботи:** формувати вміння визначати діастазу в сечі за Вольгельмутом.

#### Загальні теоретичні відомості

Метод Вольгемута ґрунтується на здатності амілази сечі (діастазу) розщеплювати (гідролізувати) крохмаль. В ході роботи виявляють мінімальну кількість ферменту, здатного повністю розщеплювати 1 см<sup>3</sup> 0,1 % розчину крохмалю. Цю кількість ферменту приймають за одиницю амілазної активності.

#### Виконання роботи

У вісім пробірок вносять по 1 см<sup>3</sup> 0,85 % розчину натрій хлориду. В першу пробірку додають 1 см<sup>3</sup> досліджуваної сечі і ретельно перемішують. Далі 1 см<sup>3</sup> суміші переносять в другу пробірку, з неї таким же чином – в третю і т.д. З восьмої пробірки 1 см<sup>3</sup> рідини виливають. Таким чином готуються розведення сечі, представлені в таблиці. У всі пробірки додають по 2 см<sup>3</sup> 0,1 % розчину крохмалю, перемішують і ставлять в термостат при 38 °С на 30 хвилин. Після закінчення часу інкубації пробірки виймають, охолоджують і додають в кожену по 2 краплі 0,1 % розчину йоду в 0,2 % розчині калій йодиду. Вміст пробірок перемішують і вибирають для розрахунку розведення останньої пробірки з розчином жовтого кольору після проведення йодної проби (де відбулося повне розщеплення крохмалю).

Результати заносять в таблицю.

Показник	№ пробірки							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Розведення сечі	2	4	8	16	32	64	12	25
1мл 0,85% розчину NaCl							8	6
2 мл 0,1% розчину крохмалю								
Забарвлення йодної проби								

Розрахунок проводиться по формулі:

$$X (\text{од}) = 1 \cdot 2 \cdot \text{розведення, де}$$

X – активність амілази слини в умовних одиницях (од);

1 – кількість сечі в см<sup>3</sup>;

2 – кількість 0,1 % розчину крохмалю, в см<sup>3</sup>.

***Клініко-діагностичне значення визначення активності амілази (діастази) сечі за методом Вольгемута:***

Нормальні значення активності амілази сечі (по Вольгемуту) знаходяться в межах 16-64 одиниць. При гострому панкреатиті активність амілази сечі і сироватки крові зростає в 10-30 разів.

### **Контрольні питання**

1. Як класифікують ферменти? Назвати основні класи ферментів.
2. Яку будову мають ферменти?
3. Чим відрізняються складні ферменти від простих?



## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 18 ВИЗНАЧЕННЯ АМІАКУ В СЕЧІ

**Мета роботи:** формувати вміння визначати аміак в сечі.

### Загальні теоретичні відомості

Вміст амонієвих солей у сечі визначають титриметричним методом після реакції з формальдегідом. Метод базується на взаємодії солей амонію з формальдегідом, у результаті чого утворюється гексаметилентетрамін (уротропін), і вивільняється еквівалентна кількості аміаку кількість кислоти, яку відтитрують розчином основи:



Вміст аміаку в сечі є важливим показником кислотно-основного стану.

### Виконання роботи

У колбу додають 10 см<sup>3</sup> сечі, додають 1-2 краплі фенолфталеїну і нейтралізують 0,1 М розчином натрій гідроксиду. Додають рівний об'єм свіжонейтралізованого розчину формальдегіду. Внаслідок виділення кислоти рожеве забарвлення зникає. Суміш титрують 0,1 М розчином натрій гідроксиду до появи рожевого забарвлення. За об'ємом основи, витраченої на титрування, розраховують вміст аміаку в добовій кількості сечі:

$$X = \frac{a \times 0,0017 \times D}{10}, \text{ де}$$

X – кількість аміаку в добовій сечі, г;

a – об'єм основи, витраченої на титрування, см<sup>3</sup>;

0,0017 – кількість аміаку, що відповідає 1 см<sup>3</sup> 0,1 М розчину натрій гідроксиду (титр аміаку), г;

D – добова кількість сечі, см<sup>3</sup>;

10 – кількість сечі для аналізу, см<sup>3</sup>.

Розрахунок вмісту аміаку в сечі та отриманий результат записують у зошит, порівнюють із нормальними величинами і роблять висновок.

### Контрольні питання

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

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 19

### АНАЛІЗ СКЛАДУ НУКЛЕОПРОТЕЇДІВ

**Мета роботи:** формувати вміння визначати складові молекул нуклеопротеїдів.

#### Загальні теоретичні відомості

Нуклеопротеїди – складні білки, комплекси нуклеїнових кислот (ДНК або РНК) з білками.

У хімічному відношенні нуклеїнові кислоти – це полінуклеотиди. 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.

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

#### Виконання роботи

1. Одержання нуклеопротеїдів з дріжджів.

5 г дріжджів поміщають у ступку, додають 10 краплин ефіру і 10 краплин води. Вносять трохи скляного піску і ретельно розтирають. До гомогенату доливають 30 см<sup>3</sup> розчину NaOH (0,4 %) і продовжують розтирання протягом 15 хвилин. Вміст ступки розливають у три центрифужні пробірки, доводячи об'єм до 10 см<sup>3</sup>, центрифугують протягом 5-10 хвилин при 2500 обертах.

Центрифугат з усіх пробірок зливають в одну склянку, постійно перемішуючи паличкою, додають 5 % розчин оцтової кислоти (12 см<sup>3</sup>) до повного осадження нуклеопротеїду.

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

2. Гідроліз нуклеопротеїду.

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

3. Аналіз продуктів гідролізу нуклеопротейдів.

3.1. Виявлення простих білків.

У пробірку додають 0,5 см<sup>3</sup> профільтрованого гідролізату, нейтралізують за лакмусом NaOH (10 %) і додають ще 0,5 см<sup>3</sup>, потім 2-3 краплі купрум сульфату. Пробірку збовтують.

3.2. Виявлення пентоз.

У пробірку додають 0,5-1 см<sup>3</sup> гідролізату та нейтралізують за лакмусом 10 % розчином NaOH. До нейтралізованого гідролізату додають рівний об'єм реактиву Фелінга, пробірку збовтують та нагрівають.

3.3. Виявлення пуринових основ.

У пробірку додають 2 см<sup>3</sup> гідролізату нуклеопротейду, додають 5-6 краплин концентрованого розчину амоніаку до лужної реакції на лакмус. Потім додають 0,5 см<sup>3</sup> аміачного розчину срібла. Утворюється сріблястий осад пуринових основ, який поступово осідає на дно пробірки.

3.4. Виявлення фосфатної кислоти.

У пробірку додають 2 см<sup>3</sup> кислого гідролізату, додають 3 см<sup>3</sup> молібденовокислого амонію та 0,4 см<sup>3</sup> ейконогену. Добре перемішують. Спостерігають появу синього забарвлення суміші.

### 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.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 20

### ЯКІСНЕ ТА КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БІЛКА В СЕЧІ

**Мета роботи:** формувати вміння проводити біохімічний аналіз сечі на наявність білка та інтерпретувати отримані результати.

#### Загальні теоретичні відомості

У нормі в сечі дуже невелика кількість білка. При патологічних змінах (запалення нирок, порушення серцевої діяльності та ін.) кількість білка в сечі збільшується. Білок сечі складається з сироваткового альбуміну та сироваткового глобуліну. Сеча, що містить кров, також дає реакцію на білок. Кількість білка в сечі в нормі не повинна перевищувати 1 %, дуже рідко доходить до 4 %, однак бувають випадки, коли вміст білка у сечі доходить до 8 %.

#### Виконання роботи

##### 1. Проба з кип'ятінням.

У пробірку додають 3-5 см<sup>3</sup> сечі. Сечу, що кисла за лакмусом, кип'ятять відразу, а сечу з лужною реакцією перед цим трохи підкислюють 1 % розчином оцтової кислоти, перемішують і потім нагрівають до кипіння. Якщо у сечі є білок, залежно від його кількості у нагрітій зоні будуть спостерігатись опалесценція, або помутніння, або осад коагульованого білка. При кип'ятінні пробірку утримують нахиленою таким чином, щоб полум'я горілки охоплювало верхній шар рідини. Забороняється пробірку підігрівати знизу, бо закипіла знизу сеча викидається з пробірки. Не треба пробірку утримувати таким чином, щоб полум'я охоплювало скло вище рідини – тоді пробірка від такого нагрівання може тріснути.

##### 2. Проба з нітратною кислотою.

У пробірку додають 1-2 см<sup>3</sup> 50 % розчину нітратної кислоти, на яку обережно нашаровують, доливаючи по стінці пробірки профільтровану сечу так, щоб утворилося два відокремлених шари: знизу – нітратна кислота, зверху – сеча. По лінії зіткнення рідин за наявності в сечі білка утворюється каламутний білий шар, або, як його звичайно називають, біле коло, що складається з денатурованого білка. Якщо рівень білку в сечі знаходиться у межах норми, то на межі двох рідин може з'явитися червоне коло внаслідок зміни сечових пігментів під впливом нітратної кислоти.

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

##### 3. Кількісне визначення білка.

Метод базується на реакції осадження білків концентрованою нітратною кислотою (осад не розчиняється в надлишку кислоти), яка дає

позитивний результат при наявності у сечі не менш як  $0,033 \text{ г/дм}^3$  сечі білка (проба Геллера).

В 6 пробірок додають по  $2 \text{ см}^3$  води. В першу добавляють  $2 \text{ см}^3$  сечі. Рідину перемішують і  $2 \text{ см}^3$  її переносять у другу пробірку. Із другої пробірки  $2 \text{ см}^3$  суміші переносять у третю пробірку і т.д. Із останньої (шостої) пробірки  $2 \text{ см}^3$  суміші виливають. Таким чином одержують розбавлення сечі в 2, 4, 8, 16, 32, 64 рази. У 6 інших пробірок додають по  $1 \text{ см}^3$  50 % розчину нітратної кислоти. Потім піпеткою нашаровують (додають по стінках нахиленої пробірки, щоб не перемішувалась рідина)  $1 \text{ см}^3$  розбавленої сечі із першої пробірки в пробірку з нітратною кислотою. Визначають час появи кільця. Аналогічно проводять дослід з наступними пробірками з розбавленою сечею. Проба, в якій біле кільце з'являється між другою і третьою хвилинами, містить  $0,033 \text{ г/дм}^3$  білка. Показник розбавлення множать на 0,033 і дістають показник кількості білка в сечі. Наприклад, при розбавленні сечі у 4 рази концентрація білка складає  $0,132 \text{ г/дм}^3$  ( $0,033 \times 4 = 0,132$ ).

За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

### Контрольні питання

1. Дати класифікацію білків, навести приклади.
2. Як проходить перетравлення білків у шлунково-кишковому тракті?
3. У чому особливості перетравлення білків у жуйних тварин?
4. Як відбувається біосинтез білка у клітинах?
5. Які білки вважаються повноцінними та неповноцінними?
6. Дайте визначення поняттям «позитивний», «негативний», «нейтральний азотний баланс».

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 21

### ВІДКРИТТЯ ПЕРОКСИДАЗИ В РОСЛИННИХ І ТВАРИННИХ ТКАНИНАХ

**Мета роботи:** формувати вміння проводити біохімічний аналіз рослинних і тваринних тканин на наявність пероксидази та інтерпретувати отримані результати.

#### Загальні теоретичні відомості

Пероксидаза – фермент-редуктаза, який каталізує реакцію розкладу гідроген пероксиду в організмі людини, тварин та рослин.

Фермент виконує антиоксидантну функцію, тобто захищає організм від негативного впливу активних форм кисню, які безперервно виникають внаслідок процесів електронного переносу окисного фосфорилування у мітохондріях клітин. Під дією пероксидази гідроген пероксид розкладається на воду і молекулярний кисень, який має значно нижчу окисну здатність у порівнянні з активними формами кисню:



Пероксидаза міститься майже у всіх тканинах рослин і тварин, особливо тих, які безпосередньо контактують з киснем (кров, лімфа, тканини листя рослин тощо). Про наявність пероксидази в тканині роблять висновок під час утворення кисню після додавання розчину гідроген пероксиду до тканини.

#### Виконання роботи

Для дослідження беруть зразки тваринних тканин – кров, м'язова тканина, лімфа, рослинних – тканини бульби картоплі, листя молоді цибулі, яблука. Зважують на аналітичних терезах хімічний стакан, додають в нього 10 г гідроген пероксиду (9 % розчин) і 1 г досліджуваної тканини. При проходженні реакції аналітичні ваги будуть показувати зменшення маси розчину. Записати значення маси розчину через 10, 20, 30, 40, 50 і 60 с. За зміною маси в часі розраховують масу гідроген пероксиду, що розклався за відповідний проміжок часу:

$$m_{10\text{ с}} = m_0 - m_{10}$$
$$m_{20\text{ с}} = m_{10} - m_{20} \text{ і так далі.}$$

Результати заносять до таблиці:

Тканина	m <sub>0</sub>	m					
		10 с	20 с	30 с	40 с	50 с	60 с

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

### **Контрольні питання**

1. Навести класифікаційну приналежність пероксидази.
2. Особливості будови молекули пероксидази, її активних центрів.
3. Механізм дії пероксидази при розкладі гідроген пероксиду.
4. Фактори, які посилюють або пригнічують дію пероксидази.
5. Гени, які відповідають за синтез пероксидазию Які хвороби виникають при мутації даного гену?

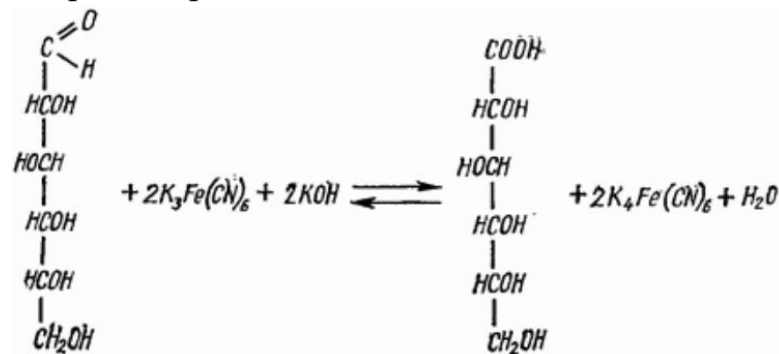
## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 22 ВИЗНАЧЕННЯ ЦУКРУ В КРОВІ

**Мета роботи:** формувати вміння проводити біохімічний аналіз крові на наявність цукру та інтерпретувати отримані результати.

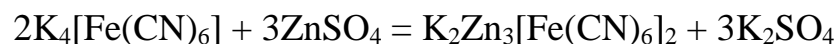
### Загальні теоретичні відомості

Цукор є постійною складовою крові. *Глюкоза* – це найважливіший компонент живлення клітин організму.

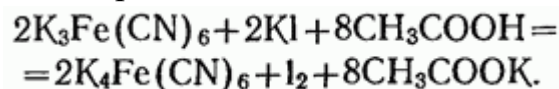
Найбільш точним і зручним методом визначення цукру в крові є мікрометод Хагедорна-Ієнсена. Цей метод заснований на відновленні глюкозою калій гексаціаноферату (III)  $K_3[Fe(CN)_6]$  до калій гексаціаноферату (II)  $K_4[Fe(CN)_6]$  при нагріванні в лужному середовищі з безбілковим фільтратом крові:



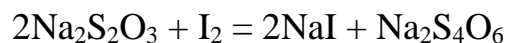
Залишок калій гексаціаноферату (III) визначають йодометрично в кислому середовищі. Але для того, щоб реакція відбулася повністю, її проводять за наявності йонів цинку, завдяки яким калій гексаціаноферат (II), що утворився, виходить із реакційної суміші, випадаючи в осад:



Надлишок калій гексаціаноферату (III), не використаний на окиснення глюкози, визначається йодометричним шляхом



Вільний йод відтитровують тіосульфатом:



Кількість цукру в крові визначають за результатами титрування за допомогою таблиці за кількістю витраченого тіосульфату:



**Таблиця для визначення глюкози (в мМ/л)**

Натрій тіосуль- фат, мл	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
0,0	21,	21,20	21,03	20,87	20,62	20,54	20,37	20,20	20,04	
0,1	19,70	19,54	19,43	19,31	19,15	19,04	19,93	18,76	18,65	18,48
0,2	18,37	18,26	18,15	18,04	17,93	17,82	17,65	17,54	17,43	17,32
0,3	17,21	17,09	16,98	16,87	16,76	16,65	16,54	16,43	16,32	16,21
0,4	16,10	15,98	15,87	15,76	15,65	15,54	15,43	15,32	15,21	15,10
0,5	14,99	14,87	14,76	14,65	14,54	14,43	14,32	14,26	14,09	14,04
0,6	13,93	13,82	13,71	13,60	13,49	13,38	13,32	13,21	13,09	12,99
0,7	12,88	12,77	12,65	12,54	12,43	12,32	12,27	12,15	12,04	11,93
0,8	11,82	11,71	11,60	11,54	11,43	11,32	11,21	11,04	10,99	10,93
0,9	10,82	10,71	10,60	10,54	10,43	10,32	10,21	10,10	9,99	9,93
1,0	9,82	9,71	9,60	9,55	9,44	9,32	9,21	9,10	9,05	8,84
1,1	8,82	8,71	8,60	8,55	8,44	8,33	8,21	8,10	8,05	7,94
1,2	7,83	7,71	7,66	7,54	7,44	7,33	7,27	7,10	7,06	6,94
1,3	6,87	6,77	6,66	6,60	6,49	6,38	6,27	6,16	6,11	5,99
1,4	5,88	5,77	5,66	5,61	5,49	5,38	5,27	5,16	5,11	4,99
1,5	4,88	4,77	4,66	4,61	4,49	4,38	4,27	4,16	4,11	3,99
1,6	3,90	3,77	3,70	3,60	3,49	3,38	3,27	3,20	3,10	2,99
1,7	2,88	2,78	2,66	2,61	2,50	2,39	2,28	2,16	2,11	1,10
1,8	1,89	1,78	1,72	1,61	1,50	1,39	1,33	1,22	1,11	1,05
1,9	0,94	0,83	0,78	0,67	0,56	0,44	0,39	0,28	0,177	0,11

Фізіологічні гіперглікемії спостерігаються при емоційних стресах, споживанні великої кількості вуглеводів з їжею. Патологічні гіперглікемії найчастіше пов'язують із захворюваннями ендокринної системи.

### Виконання роботи

1. Вилучення білків з крові.

Для осадження білків крові, які також мають відновні властивості, готують цинк гідроксид. Для цього в три пробірки додають по 5 см<sup>3</sup> 0,45 % розчину цинк сульфату і по 1 см<sup>3</sup> 0,1М розчину натрій гідроксиду. В першу пробірку вносять мікропіпеткою 0,1 см<sup>3</sup> сироватки крові здорової тварини (донорська), а в другу – 0,1 см<sup>3</sup> сироватки крові (штучної) хворої. Третя пробірка є контролем для перевірки редуруючих властивостей реактивів, куди сироватка крові не вноситься. Дослідні та контрольну пробірки ставлять в киплячу водяну баню на 3 хвилини для осадження білків крові. Після цього вміст пробірок фільтрують в широкі ("цукрові") пробірки через попередньо змочену дистильованою водою кип'ячену вату. Для того, щоб змити залишки глюкози, пробірки промивають двічі 2 см<sup>3</sup> дистильованої води, яку фільтрують через ту ж вату і в ті ж "цукрові пробірки". Після фільтрування вату віджимати не потрібно. Безбілковий фільтрат повинен бути безбарвним та прозорим.

## 2. Виявлення глюкози в крові.

В три пробірки до фільтрату додають точно по 2 см<sup>3</sup> 0,005М розчину червоної кров'яної солі (гексаціаноферат калію (III)) і кип'ятять 15 хвилин, охолоджують. Додають по 2 см<sup>3</sup> розчину солей (цинк сульфат + натрій хлорид + калій йодид), по 3 см<sup>3</sup> 3 % розчину оцтової кислоти і по 2-3 краплі 1 % розчину крохмалю. З'являється синє забарвлення. Титрують 0,005М розчином тіосульфату до зникнення синього забарвлення. Вміст глюкози обчислюють за таблицею Хагедорна-Ієнсена в мМ на 1 л крові.

Наприклад, на титрування вмісту дослідної пробірки витрачено 1,34 см<sup>3</sup> 0,005М розчину натрій тіосульфату. За таблицею на перетині граф 1, 3 та 4 стоїть число 6,49 мМ глюкози. На титрування вмісту контрольної пробірки пішло 1,97 см<sup>3</sup> натрій тіосульфату. За таблицею на перетині граф 1, 9 та 7 стоїть число 0,28 мМ. Від показника досліду 6,49 мМ віднімають показник контролю – 0,28 мМ. Отже, в крові міститься 6,21 мМ/л глюкози.

## Контрольні питання

1. Визначення вуглеводів, їх класифікація, біологічна роль.
3. Перетравлювання вуглеводів в шлунково-кишковому тракті. Характеристика ферментів, які приймають участь в гідролізі вуглеводів.
4. Всмоктування продуктів гідролізу вуглеводів. Джерела глюкози крові.
5. Синтез глікогену, регуляція.
6. Розпад глікогену. Аденілатциклазний механізм регуляції розпаду глікогену.

7. Анаеробний гліколіз і глікогеноліз: механізм, регуляція. Гліколітична оксидоредукція. Субстратне фосфорилування. Енергетичний баланс гліколізу і глікогенолізу.

8. Ефект Пастера. Етапи аеробного окислення глюкози.

9. Енергетичний баланс аеробного окислення глюкози.

10. Пентозофосфатний шлях обміну вуглеводів: біологічне значення, локалізація, механізм.

11. Глюконеогенез: визначення, значення, механізм обхідних реакцій, регуляція.

12. Обмін глюкози та фруктози, їх значення. Взаємоперетворення моносахаридів.

13. Фізико-хімічні властивості глюкози та інших вуглеводів, на яких базуються основні методи їх якісного та кількісного визначення в біологічних рідинах.

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 23 ВИЗНАЧЕННЯ ЦУКРУ В СЕЧІ

**Мета роботи:** формувати вміння проводити біохімічний аналіз сечі на наявність цукру та інтерпретувати отримані результати.

### Загальні теоретичні відомості

При підвищенні концентрації цукру в крові до 170 – 180 мг % (для людини) глюкоза з'являється в сечі. Це явище називається глюкозурією. Вміст цукру в сечі досягає 8 – 10 %, а іноді й більше. Гіперглікемія і пов'язана з нею глюкозурія не завжди є патологічним явищем. Вміст цукру в крові і сечі може підвищуватися і внаслідок психічного збудження або введення в організм за один раз великої кількості цукру. Такі форми харчової глюкозурії незагрозливі і швидко минають самі по собі.

Поява цукру в сечі спостерігається при сказі, нервовій формі чуми собак, порушенні функції печінки, підшлункової залози та ін.

### Виконання роботи

1. Виявлення цукру в сечі за допомогою якісної проби Троммера.

До 2-3 см<sup>3</sup> сечі потрібно додати приблизно 1/3 об'єму 10 % розчину NaOH, а потім обережно, краплями, – розведений розчин купрум сульфату до появи невеликого незникаючого при збовтуванні блакитного помутніння купрум гідроксиду. Потім рідину в верхній її частині нагрівають до початку кипіння і появи жовто-червоного осаду купрум (I) оксиду. Зміна кольору без появи осаду може мати місце, якщо в сечі є муцин, сечова кислота.

2. Кількісне визначення цукру в сечі за методом Фелінга.

У невелику фарфорову чашку піпеткою відміряють 10 см<sup>3</sup> реактиву Фелінга та циліндром – 40 см<sup>3</sup> дистильованої води. Чашку ставлять на кільце, що закріплене на залізному штативі. Під чашкою поміщають пальник та гріють рідину до кипіння. Над чашкою закріплюється бюретка. Як тільки рідина у чашці почне кипіти, з бюретки краплями додають сечу, весь час помішуючи суміш. Коли йде титрування, треба щоб кипіння рідини не припинялося. Титрування проводять до того часу, поки рідина над утвореним червоним осадом Cu<sub>2</sub>O стане безбарвною (але не жовтою). Витрачена для досягнення цього моменту кількість сечі містить 0,05 г глюкози. Оскільки 1 см<sup>3</sup> розчину Фелінга відновлює 0,005 г глюкози, то на відновлення 10 см<sup>3</sup> розчину необхідно 0,05 г глюкози.

Приклад розрахунку: на відновлення 10 см<sup>3</sup> розчину Фелінга витрачено 6,5 см<sup>3</sup> сечі. Це означає, що її 6,5 см<sup>3</sup> містять 0,005 г глюкози. Звідси вираховують відсоток глюкози в сечі:

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

### **Контрольні питання**

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

## ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 24 ВИЗНАЧЕННЯ КАЛЬЦІЮ В МОЛОЦІ

**Мета роботи:** формувати вміння проводити біохімічний аналіз молока на наявність кальцію та інтерпретувати отримані результати.

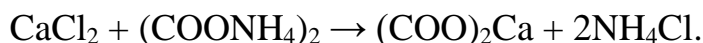
### Загальні теоретичні відомості

Із загальної кількості мінеральних речовин молока до 20 % припадає на частку кальцію. Кількість кальцію у молоці залежить від видів тварин, характеру харчування, пори року та інших факторів. Нормальний розвиток молодих тварин і, в першу чергу, їх ріст і розвиток кістяка значною мірою зумовлений надходженням кальцію з молоком. У молоці кальцій перебуває в оптимальному співвідношенні з фосфором і тому добре засвоюється організмом. Визначення кальцію в молоці проводять за методом Де-Ваарда.

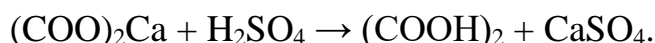
Принцип методу:

Кальцій осаджують безпосередньо насиченим розчином амоній оксалату. Осад кальцій оксалату, що випадає, відокремлюють, промивають і розчиняють у концентрованій мінеральній кислоті. Вільну щавлеву кислоту титрують калій перманганатом. Якщо відома кількість витраченого на титрування калій перманганату, визначають кількість щавлевої кислоти, отже, і зв'язаного з нею кальцію.

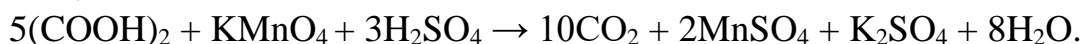
Хімізм процесу:



Отриманий осад кальцій оксалату не розчиняється у лугах, але добре розчиняється у слабких кислотах. Тому осад промивають 2 % розчином амоніаку і розчиняють у розчині  $\text{H}_2\text{SO}_4$ :



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



З реакції можна зробити висновок, що кількість калій перманганату, витраченого на титрування, еквівалентна кількості кальцію. 1 см<sup>3</sup> 0,01 н розчину калій перманганату відповідає 0,2 мг кальцію.

### Виконання роботи

У циліндр на 10 см<sup>3</sup> додають 1 см<sup>3</sup> молока і 9 см<sup>3</sup> дистильованої води. Вміст ретельно перемішують. 1 см<sup>3</sup> розведеного молока переносять у центрифужну пробірку. В обидві пробірки додають по 0,5 см<sup>3</sup> амоній оксалату. Вміст пробірок ретельно перемішують і залишають на 30 хвилин (можна на добу). Через 30 хвилин (або добу) вміст пробірок центрифугують 10-15 хвилин при 2500 – 3000 об./хв. Надосадову рідину (обережно, не перемішуючи осад) виливають; до осаду додають 4 см<sup>3</sup> 2 % розчину амоніаку

і вміст пробірки центрифугують знову. Надосадову рідину виливають таким же способом. Промивання осаду розчином амоніаку повторюють ще раз. Остання порція надосадової рідини виливається якомога повніше, а осад використовується в інших реакціях.

Осад розчиняють у  $1 \text{ см}^3$   $1\text{н}$  розчині сульфатної кислоти, потім пробірки ставлять в гарячу водяну баню; через 3-5 хвилин гарячий розчин титрують  $0,01\text{н}$  розчином калій перманганату при постійному перемішуванні скляною паличкою до появи блідо-рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 1 хвилини.

Розрахунок:

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

X – вміст кальцію в мг %;

0,2 – кількість міліграмів кальцію, що відповідає  $1 \text{ см}^3$   $0,01\text{н}$  розчину калій перманганату;

A – кількість калій перманганату, витрачена на титрування дослідної проби;

B – кількість калій перманганату, витрачена на титрування контролю;

100 – перерахунок на мг %.

Наприклад: на титрування досліді було витрачено  $0,66 \text{ см}^3$   $0,01 \text{ н}$  розчину калій перманганату, на титрування контролю (холостий дослід) –  $0,13 \text{ см}^3$ , тоді:

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

### Контрольні питання

1. Яке значення мають макроелементи у житті тварин?
2. Яке значення мають мікроелементи у житті тварин?
3. Фізико-хімічна характеристика води в організмі.
4. Механізм всмоктування води у кишечнику.
5. Значення і обмін в організмі тварин макро- і мікроелементів.

## РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

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



## ЗМІСТ

ВСТУП	3
ПРАВИЛА РОБОТИ В ХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ	5
МОДУЛЬ I. ОСНОВИ ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ	
Лабораторна робота № 1 Вплив розчинів з різним осмотичним тиском на еритроцити та рослинні клітини	7
Лабораторна робота № 2 рН-метрія питних продуктів харчування	11
Лабораторна робота № 3 Буферні розчини	13
Лабораторна робота № 4 Способи одержання та властивості колоїдних розчинів	17
МОДУЛЬ II. БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ	
Лабораторна робота № 5 Хімічні властивості глюкози	24
Лабораторна робота № 6 Визначення глюкози в біологічних рідинах глюкозооксидазним методом	27
Лабораторна робота № 7 Визначення йодного та кислотного числа рослинних жирів	29
Лабораторна робота № 8 Якісні реакції на холестерин і лецитин	32
Лабораторна робота № 9 Фізико-хімічні властивості білків	34
Лабораторна робота № 10 Кольорові реакції на білки	39
Лабораторна робота № 11 Визначення ізоелектричної точки білків	41
Лабораторна робота № 12 Розподільча хроматографія амінокислот	43
Лабораторна робота № 13 Якісні реакції на водорозчинні вітаміни	47
Лабораторна робота № 14 Якісні реакції на жиророзчинні вітаміни	49
МОДУЛЬ III. БІОЛОГІЧНА ХІМІЯ ТКАНИН І ОРГАНІВ	
Лабораторна робота № 15 Загальні властивості ферментів	50
Лабораторна робота № 16 Специфічні властивості амілази слини	53
Лабораторна робота № 17 Визначення діастази в сечі за вольгемуттом	55
Лабораторна робота № 18 Визначення аміаку в сечі	57
Лабораторна робота № 19 Аналіз складу нуклеопротейдів	58
Лабораторна робота № 20 Якісне та кількісне визначення білка в сечі	60
Лабораторна робота № 21 Відкриття пероксидази в рослинних і тваринних тканинах	62
Лабораторна робота № 22 Визначення цукру в крові	64
Лабораторна робота № 23 Визначення цукру в сечі	68
Лабораторна робота № 24 Визначення кальцію в молоці	70
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА	72

**Для нотаток**

**Для нотаток**

**Для нотаток**

**Для нотаток**

**Навчальне видання**

**Біологічна, фізична та колоїдна хімія**

**Методичні рекомендації**

**Укладач:**

**Качук Дар'я Сергіївна**

Формат 60 x 84 / 16. Ум. друк. арк. 3,0.  
Тираж 15 прим. Зам. № \_\_\_\_\_

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

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