

**Міністерство освіти і науки, молоді та спорту України
Черкаський національний університет
імені Богдана Хмельницького**

Босчко Ф.Ф., Босчко Л.О., Шмиголь І.В.

Лабораторний практикум з біохімії

Черкаси 2012

ББК 28.072Я73
УДК 577.1(075.8)+612.015(075.8)
Б 63

Рецензенти:

Кандидат хімічних наук, доцент кафедри якості, стандартизації та органічної хімії Черкаського національного університету ім. Б.Хмельницького *Карловська Н.Є.*

Доцент кафедри екології Черкаського державного технологічного університету *Загоруйко Н.В.*

Боєчко Ф.Ф., Боєчко Л.О., Шмиголь І.В.

Б63 Лабораторний практикум з біохімії: Навчально-методичний посібник. – Черкаси: Вид. від. ЧНУ імені Богдана Хмельницького, 2012. – 196 с.

Навчально-методичний посібник рекомендовано для студентів навчальних закладів III-IV рівня акредитації, галузь знань 0401- Природничі науки, напрям підготовки 6.040102 – Біологія та 6.040101 – Хімія.

Посібник включає лабораторно-практичні роботи з основних розділів біохімії, а також завдання для самоконтролю знань студентів та самостійної роботи. Основне завдання посібника – закріплення теоретичних знань студентів та формування практичних вмінь і навичок на основі застосування досягнень сучасної біохімічної науки.

ББК 28.072Я73
УДК 577.1(075.8)+612.015(075.8)

Рекомендовано до друку Вченою радою Черкаського національного університету імені Богдана Хмельницького (протокол № 3 від 31 січня 2012 року)

ISBN 978-966-353-251-6

© ЧНУ ім. Б.Хмельницького, 2012
© Ф.Ф. Боєчко, Л.О. Боєчко,
І.В. Шмиголь, 2012

Передмова

Основна мета посібника – закріплення теоретичних знань, формування практичних вмінь і навичок, розвиток творчого мислення та раціонального підходу до розуміння питань, що стосуються складу, будови і властивостей сполук, які є основою структури та обміну речовин у живих організмах. Представлені в посібнику лабораторно-практичні роботи охоплюють основні теми статичної і динамічної біохімії, які узгоджені з програмами і навчальними планами дисципліни.

Особливістю структури посібника є те, що він містить роботи, які належить виконати, питання для самоконтролю знань, тестові завдання та вправи. Крім того, в посібник включено методичні рекомендації та перелік теоретичних питань, необхідних для опрацювання і засвоєння окремих тем, винесених на самостійне вивчення. Лабораторні роботи по кожній окремій темі підібрано з таким розрахунком, щоб була можливість відбирати і компонувати їх залежно від наявності в лабораторії реактивів та обладнання.

В розробках лабораторних робіт наведено перелік реактивів і обладнання, необхідних для їх виконання, детально пояснено хімізм та принцип реакцій, на яких ґрунтуються методи якісного і кількісного визначення певних сполук. Наприкінці кожної роботи, студентам запропоновано питання, які дають змогу узагальнювати отримані результати, що сприятиме формуванню в майбутніх фахівців здатності до незалежного, самостійного і глибокого аналізу вивченого матеріалу, розвитку творчого мислення та співставлення даних експерименту з теоретичними положеннями. Окремі методики по якісному та кількісному визначенню різних складових компонентів рідин і тканин організму, можуть бути використані для проведення позанавчальної та наукової роботи студентів.

Запропонована структура посібника у значній мірі сприятиме покращенню засвоєння студентами теоретичного матеріалу та забезпечить формування належного рівня їхньої професійної компетентності.

Автори

Правила роботи в біохімічній лабораторії

1. До роботи в біохімічній лабораторії допускаються студенти, що пройшли медичний огляд і засвоїли правила техніки безпеки.
2. Всі студенти, які працюють в лабораторії повинні мати спецодяг – халати, гумові рукавички.
3. В лабораторії виконуються роботи, які передбачені навчальним планом дисципліни.
4. На робочих місцях студентів повинні бути посуд та реактиви, які необхідні для виконання лабораторних робіт.
5. Під час роботи з посудом, реактивами та приладами студенти повинні бути досить уважними і дотримуватися методики виконання дослідів.
6. Роботи, що супроводжуються виділенням летких речовин, а також досліди з речовинами, що мають подразнюючу дію, слід проводити під витяжною шафою.
7. Сипкі речовини необхідно відбирати шпателем, а рідини – піпетками або дозаторами.
8. Не можна пробувати реактиви на смак, проливати і розсипати їх. Насипати або наливати реактиви треба на столі (сухі над листком паперу, рідини – над кристалізатором). Випадково розсипаний або розлитий реактив, повертати назад у посуд з реактивами забороняється.
9. При використанні для дослідів будь-яких реактивів спочатку треба уважно прочитати етикетку.
10. При розведенні концентрованих кислот додають кислоту у воду, а не навпаки.
11. Під час нагрівання рідини у пробірках слід використовувати тримачі із зажимами, які їх фіксують. Отвори пробірок повинні бути спрямовані в бік протилежний від себе та осіб, що працюють поруч.
12. Нагрівання необхідно проводити обережно, не допускати викидів реактивів та потрапляння їх на шкіру і одяг. У випадку потрапляння на шкіру кислоти чи лугу, їх слід нейтралізувати та промити під струменем води. Луги нейтралізують 1% розчинном лимонної кислоти, а кислоти – 1% розчинном соди. Після нейтралізації вражену ділянку інтенсивно промити струменем води.

13. Посуд (стакани, колби) з рідиною нагрітою до температури кипіння, слід знімати з нагрівальних приладів обережно, захистивши руку рушником.
14. Легкозайmistі та вогнебезпечні речовини нагрівають на водяній бані.
15. Не можна виливати в раковину залишки кислот, лугів, органічних сполук, вогнебезпечних рідин, а також реакційні суміші отримані після проведення дослідів. Ці речовини і їх суміші, необхідно зливати у спеціальні ємності (зливні банки).
16. Користуватися приладами та обладнанням, без їх попередньої перевірки, забороняється.
17. При включенні приладів у електромережу слід перевірити наявність заземлення та відсутності пошкоджень.
18. Перед використанням вимірювальних приладів, треба ознайомитись з інструкціями їх експлуатації.
19. Включати центрифуги необхідно в присутності викладача чи лаборанта після попереднього врівноважування пробірок з досліджуванним біоматеріалом.
20. Не можна залишати без нагляду включені прилади, палаючі спиртівки, електроплитки, водяні бані, газові пальники.
21. При зберіганні реактивів слід дотримуватися правил їх сумісності.
22. Не можна тримати вогне- та вибухонебезпечні речовини поблизу відкритого вогню і нагрівальних приладів.
23. У випадку пожежі слід використовувати первинні засоби пожежогасіння (вогнегасники, пожежний інвентар).
24. Під час перерви, обов'язково провітрювати приміщення лабораторії.
25. Після закінчення роботи в лабораторії необхідно вимкнути всі електроприлади, загасити спиртівки, помити хімічний посуд, прибрати робоче місце, виключити воду і світло.

Умовні скорочення

АДФ – аденозин дифосфорна кислота
АК – амінокислота
АКТГ – аденокортикотропний гормон
АМФ – аденозин монофосфорна кислота
цАМФ – циклічна аденозин монофосфорна кислота
АсАТ – аспаратамінотрансфераза
АТФ – аденозин трифосфорна кислота
ВТМ – вірус тютюнової мозаїки
ГТХ – глікопротеїн Тайма і Хорсфалла
ДАФ – діоксиацетонмонофосфат
2,4-ДНФГ – 2,4-динітрофенілгідразин
ЕДТА – етилендіамінтетраацетатна кислота
ЛК – ліпоева кислота
НАД – нікотинамідаденіндинуклеотид
НАДФ – нікотинаміддинуклеотид фосфат
ПААГ – поліакриламідний гель
ПАЦ – плівки ацетату целюлози
ПВК – піровиноградна кислота
pI – ізоелектрична точка
 pK_{α} – негативний логарифм констант іонізації функціонаних груп амінокислот
Rf – коефіцієнт розподілу амінокислот
ТДФ – тіаміндифосфат
ТМФ – тіамінмонофосфат
ТРИС – трис-(оксиметил)-амінометан
ТХА – трихлорацетатна кислота
УДФГК – уридиндифосфоглюкуронова кислота
УДФ-глюкоза – уридиндифосфоглюкоза
УТФ – уридин трифосфатна кислота
УХ – убіхінон
ФАД – флавінаденіндинуклеотид
ФАФС – 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосульфат
ФА – фосфогліцериновий альдегід
ФЕК – фотоелектроколориметр
ФМН – флавінаденінмононуклеотид
Фн – неорганічний фосфат
ЦПХ – цитилпіридиній хлорид
ЦТК – цикл трикарбонних кислот
ЦТФ – цитидин трифосфатна кислота
ЩОК – шавлево-оцтова кислота

Список рекомендованої літератури

Основна

1. Боечко Ф.Ф. Біологічна хімія / Ф.Ф. Боечко. – К.: Вища школа, 1995. – 536 с.
2. Гонський Я.І. Біохімія людини. Підручник для студентів вищ. мед. навч. закладів III-IV рівнів акредитації / Я.І. Гонський, Т.Б. Максимчук. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – 735 с.
3. Губський Ю.І. Біохімія: Підручник / Ю.І. Губський. – Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 508 с.
4. Кучеренко М.Є. Біохімія: підручник / М.Є. Кучеренко, Ю.Д. Бабенюк, О.М. Васильєв та ін. – К.: ВПЦ “Київ. ун-т”, 2002 – 480 с.
5. Филипович Ю.Б. Основы биохимии: учебник / Ю.Б. Филипович. – М.: Изд-во “Агар”, 1999. – 512 с.

Додаткова

1. Андрейчин М.А. Рациональная витаминно-профилактика и витаминно-терапия / М.А. Андрейчин, Ю.Г. Антипкин, Г.Л. Апанасенко и др.; за ред. Г.В. Донченко, А.П. Викторова, О.В. Курченко. – К.: Здоров'я, 2008. – 408 с.
2. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія / О. Склярів, Я. Сольські та ін. – Львів: 2008. – 218 с.
3. Боечко Л.О. Основы биохимии витаминов и гормонов / Л.О. Боечко. – Черкаси: Вид-во ЧНУ, 2005. – 294 с.
4. Боечко Ф.Ф. Біохімічні методи дослідження. Лабораторний практикум / Ф.Ф. Боечко, Л.О. Боечко, Н.В. Чепчуренко, І.В. Шмиголь. – Черкаси: Вид-во ЧНУ, 2005. – 314 с.
5. Бойків Д.П. Клінічна біохімія / Д.П. Бойків, Т.І. Бондарчук, О.Л. Іванків; за ред. О.Я. Склярова. – К.: Медицина, 2006. – 430 с.
6. Биохимия. / под ред. Е.С. Северина, А.Я. Николаева. – М.: ГЭОТАР-МЕД. – 2002. – 448 с.
7. Горбачев В.В. Витамины, микро- и макроэлементы / В.В. Горбачев, В.Н. Горбачева. – Минск, 2002. – 544 с.
8. Зайчик А.Ш. Основы патобиохимии / А.Ш. Зайчик, Л.П. Чурилов – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2001. – 688 с.
9. Кучеренко М.Є. Сучасні методи біохімічних досліджень: Учбовий посібник / М.Є. Кучеренко, Ю.Д. Бабенюк, В.М. Войціцький – К.: Фітосоціоцентр, 2001. – 424 с.
10. Практикум з біологічної хімії / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 298 с.

Перелік лабораторно-практичних занять із біохімії

Галузь знань: 0401 – Природничі науки

Напрямок підготовки: 6.040102 – Біологія

6.040101 – Хімія

Розділ I. Статична біохімія

1. Лабораторно-практичне заняття.

Тема: Фізико-хімічні властивості білків та амінокислот

1. Дослідження властивостей амінокислот

Робота № 1. Розчинність амінокислот у полярних і неполярних розчинниках (С. 18).

Робота № 2. Реакції амінокислот у водних розчинах (С. 18-19).

Робота № 3. Вивчення амфотерних властивостей α -аланіну (С. 19).

2. Кольорові реакції.

Робота №1. Біуретова реакція (Реакція Піотровського) (С. 20-21).

Робота № 2. Нінгідринова реакція (С. 21-22).

Робота № 3. Ксантопротеїнова реакція (С. 22-23).

Робота № 4. Реакція Фоля (С. 23-24).

Робота № 6. Реакція Адамкевича (С. 24-25).

3. Властивості білків

а. Колоїдні властивості:

Робота № 1. Ефект Тіндалля (С. 25-26).

Робота № 2. Утворення гелю (С. 26).

б. Розчинність білків:

Робота № 1 Дослідження розчинності яєчного білка та кератину (С. 27).

в. Кислотно-основні властивості білків:

Робота № 1. Визначення ізоелектричної точки казеїну (С. 28-29).

г. Реакції осадження білків.

Робота № 1. Осадження білків нейтральними солями (С. 29-30)

Робота № 2. Осадження білків органічними розчинниками (С. 30-31).

Робота № 3. Осадження білків органічними кислотами (С. 31-32).

Робота № 4. Осадження білків мінеральними кислотами (С. 32-33).

Робота № 5. Осадження білків солями важких металів (С. 33).

Робота № 6. Осадження білків при нагріванні (С. 33-35).

2. Лабораторно-практичне заняття

Тема: Дослідження складу і властивостей складних білків

1. Дослідження складу і властивостей глікопротеїнів

Робота № 1. Добування муцину із слини та виявлення в його складі вуглеводного компоненту. (С. 38).

Робота № 2. Виявлення вуглеводного компоненту в овомукоїді яєчного білка. (С. 38-39).

2. Дослідження складу і властивостей фосфопротеїнів

Робота №1. Виділення казеїну з молока та дослідження його складових компонентів. (С. 39-40).

а. Якісна реакція на білок.

б. Якісна реакція на фосфатну кислоту.

3. Дослідження складу і властивостей хромопротеїнів

Робота № 1. Якісна реакція на гемінове угруповання (С. 41)

Робота № 2. Виявлення феруму у складі гемоглобіну. (С. 41-42).

3. Теоретичний практикум.

Тема: Структурна організація білків

Теоретичні питання (С. 42-43).

Тестові завдання (С. 43-44).

Вправи (С. 44-45).

4. Лабораторно-практичне заняття.

Тема: Вивчення складу та властивостей нуклеїнових кислот

Робота № 1. Кислотний гідроліз нуклеопротеїнів (С. 49-51).

а. Виявлення поліпептидів.

б. Виявлення пуринових основ.

в. Виявлення пентоз за реакцією Подобедова-Моліша.

г. Виявлення фосфатної кислоти.

5. Лабораторно-практичне заняття.

Тема: Вивчення властивостей ферментів

1. Вивчення дії ферментів.

Робота № 1. Вивчення дії амілази (С. 54-55).

Робота № 2. Вивчення дії ліпази (С. 55-56)

Робота № 3. Вивчення дії пероксидази крові (С. 56).

2. Вивчення властивостей ферментів.

Робота № 1. Вплив температури на активність амілази (С. 56-57).

Робота № 2. Вплив рН середовища на активність амілази (С. 57-58).

Робота № 3. Специфічність дії амілази і сахарози (С. 58-59).

Робота № 4. Специфічність дії уреазы (С. 59).

3. Дія активаторів та інгібіторів на активність ферментів.

Робота № 1. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази (С. 60).

Робота № 2. Гальмуюча дія хлорид-іонів на окиснювальні ферменти (С. 60-61).

6. Лабораторно-практичне заняття.

Тема: Вітаміни. Будова, властивості, біологічна роль

1. Якісні реакції на жиророзчинні вітаміни

Вітамін А (ретинол)

Робота № 1. Вітамін А. Реакція Друмонда (С. 66).

Робота № 2. Реакція з ферум (III) сульфатом (С. 66-67).

Робота № 3. Виявлення наявності каротиноїдів у біоматеріалі (С. 67-68).

Вітамін D₃ (холекальциферол)

Робота № 1. Реакція з аніліном (С. 68).

Робота № 2. Виявлення ергостеролу в дріжджах (С. 68-69).

Вітамін Е (токофероли)

Робота № 1. Реакція з концентрованою нітратною кислотою (С. 69-70).

Робота № 2. Реакція з ферум (III) хлоридом (С. 70).

Вітамін К (філохінони)

Робота № 1. Реакція вітаміну К₃ з аніліном (С. 70-71).

Робота № 2. Реакція з цистеїном (С. 71).

2. Якісні реакції на водорозчинні вітаміни.

Вітамін В₁ (тіамін)

Робота № 1. Реакція окиснення тіаміну до тіохрому (С. 72)

Вітамін В₂ (рибофлавін)

Робота № 1. Реакція відновлення рибофлавіну (С. 72-73).

Вітамін В₅ (нікотинова кислота)

Робота № 1. Реакція з купрум (II) ацетатом (С. 73-74).

Робота № 2. Реакція з натрій карбонатом (С74).

Робота № 3. Відмінність між нікотиною кислотою і нікотинамідом (С. 74-75).

Вітамін В₆ (піридоксин)

Робота № 1. Реакція з ферум (III) хлоридом (С. 75).

Вітамін В₁₂ (ціанокобаламін)

Робота № 1. Виявлення кобальту у складі вітаміну В₁₂ (С. 76-77).

Вітамін С (аскорбінова кислота)

Робота № 1. Реакція з метиленовим синім (С. 77).

Робота № 2. Реакція з калій гексаціанофератом (III) (С. 77-78).

Робота № 3. Реакція з розчином Люголя (С. 78-79).

3. Кількісне визначення вітамінів

Робота № 1. Кількісне визначення аскорбінової кислоти в рослинному біоматеріалі за методом Тільманса (С. 79-80).

Робота № 2. Кількісне визначення вітаміну С у молоці за методом Тільманса (С. 80-81).

Робота № 3. Кількісне визначення вітаміну С в сечі (С. 81-83).

Робота № 4. Кількісне визначення вітаміну Р (рутину) за методом Левенталя (С. 83-84).

Теми винесені на самостійне опрацювання

Тема 1. Склад, будова та властивості цукридів (С. 84-88).

Тема 2. Склад, будова та властивості ліпідів (С. 88-92).

Тема 3. Склад, будова і властивості гормонів (С. 92-96).

Розділ II. Динамічна біохімія

1. Лабораторно-практичне заняття.

Тема: Обмін речовин і енергії. Біологічне окиснення.

Робота № 1. Виділення препарату цитохромів та цитохромоксидази (С. 101-102).

Робота № 2. Відновлення цитохрому “С” (С. 102)

Робота № 3. Якісна реакція на цитохромоксидазу (С. 103-104).

Робота № 4. Дослідження процесу фосфорилуючого окиснення (С.104).

2. Лабораторно-практичне заняття.

Тема: Обмін білків.

Робота № 1. Визначення вмісту білка в сироватці (плазмі) крові біуретовим методом (С. 109-111).

Робота № 2. Визначення вмісту білка методом Лоурі (С. 111-112).

Кількісне визначення кінцевих продуктів білкового обміну

1. Загальний азот сечі

а. Азот сечовини

Робота № 3. Визначення вмісту азоту сечовини (С. 113-115).

б. Азот аміаку

Робота № 4. Визначення вмісту азоту аміаку в сечі (С. 115-116).

в. Азот амінокислот

Робота № 5. Визначення вмісту амінного азоту в сироватці крові за методом Г.А. Узбекова (С. 116-117).

г. Залишковий азот

Робота № 6. Визначення залишкового азоту у крові колориметричним методом з реактивом Несслера (С. 117-120).

Робота № 7. Визначення вмісту креатиніну в сечі за кольоровою реакцією Яффе (С. 120-121).

3. Лабораторно-практичне заняття.

Тема: Обмін нуклеїнових кислот.

Кількісне визначення кінцевих продуктів обміну нуклеїнових кислот

Робота № 1. Виділення сечової кислоти з сечі (С. 126-127)

Робота № 2. Якісні реакції на сечову кислоту (С. 127-129).

а. Дослідження відновних властивостей сечової кислоти.

б. Мурексидна проба.

Робота № 3. Кількісне визначення вмісту сечової кислоти в сечі (С. 129-132).

Робота № 4. Якісне визначення карбамінової кислоти в сечі (С. 132).

Робота №5. Визначення сечової кислоти в сироватці крові колориметричним методом (за Мюлер-Зейфером) (С. 133-134).

4. Лабораторно-практичне заняття.

Тема: Обмін вуглеводів.

1. Кількісне визначення цукру крові та сечі.

Робота № 1. Метод Хагедорна-Іенсена (С. 140-142).

Робота № 2. Метод Покровського-Крайко (С. 143-144).

Робота № 3. о-Толуїдиновий метод (з кров'ю) (С. 144-146).

Робота № 4. о-Толуїдиновий метод (з сечею) (С. 146-147).

Робота № 5. Глюкозооксидазний метод визначення вмісту глюкози у крові, сироватці крові та спінальній рідині (С. 147-149).

Робота № 6. Експрес-методи визначення цукру в біологічних рідинах (С. 149-150).

Робота № 7. Визначення глюкози в сечі за допомогою індикаторних смужок "Глюкотест" (С. 151).

2. Визначення метаболітів внутріклітинного обміну вуглеводів.

Робота № 1. Визначення вмісту піровиноградної кислоти у крові та сечі (модифікований метод Умбрайта) (С. 151-153)

Робота № 2. Визначення вмісту молочної кислоти в м'язовій тканині методом Уффельмана (С. 153-155).

Робота № 3. Визначення вмісту молочної кислоти у крові (за Баркером і Саммерсоном) (С. 155-156).

Робота № 4. Визначення вмісту молочної кислоти у крові з гідрохіноном (за Бюхнером) (С. 157-158).

3. Функціональні проби на патологію вуглеводного обміну

Робота № 1. Взаємодія ацетону з йодом (проба Лібена) (С. 158-159).

Робота № 2. Реакція на ацетон і ацетоацетатну кислоту (проба Ротера) (С. 159-160).

Робота № 3. Реакція на ацетон і ацетоацетатну кислоту (проба Легалья) (С. 160).

Робота № 4. Реакція на ацетон і ацетоацетатну кислоту (проба Ланге) (С. 161).

Робота № 5. Реакція на β -оксималяну кислоту (проба Гардта) (С. 161-162).

4. Дослідження циклу трикарбонікових кислот

Робота № 1. Виявлення CO_2 , що утворюється в ЦТК (С. 162-163).

Робота № 2. Виявлення атомів Гідрогену, що утворюються в ЦТК (С. 163-164).

Теми винесені на самостійне опрацювання

Тема 1. Обмін ліпідів (С. 164-171).

Тема 2. Водно-сольовий обмін (С. 171-173).

РОЗДІЛ I

СТАТИЧНА БІОХІМІЯ

1. ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ.

ТЕМА: ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ ТА АМІНОКИСЛОТ.

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 105-118]; [2, с. 103-105]; [3, с. 78-80]; [4, с. 19-25, 33-35]; [5, с. 158-20, 35-45].

Додаткова: [4]; [5]; [6]; [8-10].

Методичні вказівки

1. При опрацюванні теоретичного матеріалу звернути увагу на питання, що стосуються: класифікації амінокислот; особливостей фізико-хімічних властивостей білків як високомолекулярних сполук; кислотно-основних властивостей білків та їх здатності до осадження.
2. Засвоїти будову протеїногенних амінокислот та хімізм кольорових реакцій, характерних для радикалів амінокислот.
3. З'ясувати різницю між осадженням та денатурацією білків. Прослідкувати за особливостями осадження білків при різних значеннях рН.
4. При виконанні практичних робіт дотримуватись правил техніки безпеки.
5. Оформити роботи, пояснити результати, записати висновки і виконати завдання для самоконтролю знань.

Теоретичні питання

1. Елементний склад білків. Білки – матеріальні субстрати життя. Функції білків в організмі.
2. Амінокислотний склад білків. Характеристика амінокислот як амфолітів.
3. Будова амінокислот, поняття про радикали.
4. Кисотно-основні властивості амінокислот, ізоелектрична точка.
5. Константи іонізації функціональних груп амінокислот (pK_{α_1} і pK_{α_2}), їх значення.
6. Ізомерія амінокислот. Структурна ізомерія. Стереοізомерія. Енантіомери і діастереοізомери. Особливості алло-форм АК.

7. Фізико-хімічні властивості амінокислот.
8. Номенклатура амінокислот. Повні та скорочені назви (одно- та трьохлітерні).
9. Принципи та критерії класифікації амінокислот.
10. Фізико-хімічні властивості білків. Білки як амфотерні поліелектроліти.
11. Поняття про ізоелектричну точку білків.
12. Кольорові реакції на білки та амінокислоти.
13. Реакції осадження білків, фактори, що впливають на стабілізацію білків в розчинах.
14. Поняття про денатурацію та ренатурацію білків.
15. Осмотичні і колоїдні властивості білків. Ефект Тіндаля.
16. Розчинність білків.
17. Висолювання та засолування.
18. Зворотні та незворотні реакції осадження білків.

Тестові завдання:

1. Що являють собою білки:
 - А. Органічні високомолекулярні сполуки, які побудовані із залишків карбонових кислот;
 - Б. Органічні високомолекулярні сполуки, які побудовані із залишків амінокислот;
 - В. Органічні високомолекулярні сполуки, які побудовані із залишків оксикислот;
 - Г. Органічні високомолекулярні сполуки, які побудовані із залишків кетокислот.
2. Похідними якого класу сполук є амінокислоти:
 - А. Карбонових кислот; Б. Амінів; В. Вуглеводів; Г. Спиртів.
3. До складу якої амінокислоти входить гідроксильна група:
 - А. Аланіну; Б. Цистеїну; В. Лізину; Г. Серину.
4. Яка амінокислота має дисульфідний зв'язок:
 - А. Аланін; Б. Серин; В. Цистин; Г. Цистеїн.
5. Які амінокислоти мають дві карбоксильні групи:
 - А. Лізин, аланін; Б. Ізолейцин, валін; В. Аспарагінова кислота, глутамінова кислота; Г. Фенілаланін, цистин.
6. Які амінокислоти мають дві аміногрупи:
 - А. Лізин, аргінін; Б. Лейцин, тирозин; В. Гістидин, валін; Г. Триптофан, гліцин.
7. Вкажіть за допомогою якого хімічного зв'язку сполучаються амінокислоти, при утворенні первинної структури білка:
 - А. Водневого; Б. Йонного; В. Пептидного;

- Г. Дисульфідного.
8. За участю яких функціональних груп амінокислот утворюється пептидний зв'язок:
А. Груп $-\text{COOH}$ і $-\text{OH}$; Б. Груп $-\text{OH}$ і $-\text{NH}_2$;
В. Груп $-\text{SH}$ і $-\text{COOH}$; Г. Груп $-\text{COOH}$ і $-\text{NH}_2$.
 9. Вкажіть на властивості, характерні для білків:
А. Висока молекулярна маса, термолабільність;
Б. Здатність розчинятися в органічних розчинниках, термостабільність;
В. Низька молекулярна маса, погано розчиняються у воді;
Г. Проходять через напівпроникні мембрани, не осаджуються солями важких металів.
 10. Від чого залежить ступінь іонізації функціональних груп білкової молекули:
А. Від кількості функціональних груп; Б. Від значення рН середовища;
В. Від наявності карбоксильних груп; Г. Від наявності аміногруп.
 11. Ізоелектрична точка білків – це значення рН, при якому:
А. Молекула білка набуває позитивного заряду;
Б. Білок є електронейтральним;
В. Молекула білка набуває негативного заряду;
Г. Розчинність білка найбільша.
 12. Висолування – це зворотне осадження білків з розчину під дією:
А. Солей важких металів;
Б. Концентрованих мінеральних кислот;
В. Насичених та напівнасичених розчинів солей лужних і лужноземельних металів;
Г. Органічних кислот.
 13. Засолування білків це:
А. Осадження під дією солей;
Б. Зниження розчинності під дією високих концентрацій солей важких металів;
В. Підвищення розчинності під дією низьких концентрацій нейтральних солей;
Г. Осадження під дією органічних кислот.
 14. Вкажіть назву процесу, який зумовлює зміну структури та втрату властивостей білкової молекули:
А. Конденсація; Б. Ренатурація;
В. Денатурація; Г. Седиментація.

15. Що таке прості білки:
- А. Білки, які побудовані із залишків амінокислот і вуглеводів;
 - Б. Білки, які побудовані лише із залишків амінокислот;
 - В. Білки, які побудовані із залишків амінокислот і фосфорної кислоти;
 - Г. Білки, що містять у своєму складі йони металів.

Вправи:

1. Записати формули протейногенних амінокислот.
2. Записати в вигляді цвіттер іонів такі амінокислоти: А, V, Т, С.
3. Записати *D*- і *L*-форми амінокислот: А, V, S, М, F, Y. Записати формули незамінних амінокислот, зірочкою вказати асиметричний атом карбону.
4. Використовуючи табличні дані про значення констант іонізації функціональних груп, вказати сумарний заряд (-, 0, +) для гліцину, аспарагінової кислоти та гістидину при рН...1,0; 2,1; 4,0; 10 (див. додаток 1).
5. Суміш гліцину, аланіну, глутамінової кислоти, лізину і аргініну розділяли методом електрофорезу при рН...6,0. Які амінокислоти рухались до аноду чи до катоду, а які залишилися на старті?
6. Для більшості білків значення pI лежить у межах 4,5-6,5, який висновок можна зробити відносно їх амінокислотного складу.
7. Визначити pI амінокислот: гліцину, аланіну, серину, треоніну, користуючись значеннями $pK\alpha_1$ і $pK\alpha_2$.
8. Які амінокислоти (кислі, основні чи нейтральні) переважають у складі пептиду, якщо його ізоелектрична точка лежить у слабкокислому середовищі?
9. Записати структурні формули:
 - протейногенних амінокислот, які в розчині мають:
 - а) кислу реакцію; б) лужну реакцію.
 - протейногенних амінокислот, радикали яких містять:
 - а) сульфур; б) гетероцикл; в) гідроксигрупу;
 - оптичних ізомерів аланіну, валіну, ізолейцину, триптофану.

1. ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ АМІНОКИСЛОТ

РОБОТА № 1 РОЗЧИННІСТЬ АМІНОКИСЛОТ В ПОЛЯРНИХ І НЕПОЛЯРНИХ РОЗЧИННИКАХ

Матеріал для дослідження: набір амінокислот.

Реактиви: етиловий спирт, ацетон, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, спиртівка.

Хід роботи

У три пробірки внести по кілька кристаликів амінокислоти. У першу додати 2 мл води, у другу – 2 мл етилового спирту, у третю – 2 мл ацетону. Порівняти розчинність амінокислоти у різних розчинниках. Пробірки з розчинами амінокислот нагріти на спиртівці. Зробити висновок про зміну розчинності амінокислот при підвищенні температури.

Результати оформити в вигляді таблиці.

Аміно-кислота	Хім. формула	Розчинність			Колір	Запах	Агрегатний стан
		вода	спирт	ацетон			

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Яка залежність між будовою і властивостями радикалів амінокислот та їх розчинністю?
2. Як залежить розчинність амінокислот від полярності розчинника?
3. Яка особливість розчинності циклічних амінокислот?

РОБОТА № 2 РЕАКЦІЇ АМІНОКИСЛОТ У ВОДНИХ РОЗЧИНАХ

Матеріал для дослідження: 1% розчин аланіну, 1% розчин глутамінової кислоти, 1% розчин лізину.

Реактиви: універсальний індикатор.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи

В три пробірки внести по 5 крапель 1% розчину амінокислот (А, Е, К). В кожен пробірку додати по кілька крапель універсального індикатора. Спостерігати за розвитком забарвлення.

Записати рівняння реакцій, які дають уяву про іонізацію функціональних груп амінокислот у водних розчинах при різних значеннях рН.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Який заряд має глутамінова кислота в лужному, нейтральному і кислому середовищі? Відповідь пояснити.
2. Пояснити властивості лізину в лужному, нейтральному і кислому середовищі?
3. Визначити ізоелектричну точку та шкалу зарядів амінокислот.

РОБОТА № 3

ВИВЧЕННЯ АМФОТЕРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ L-АЛАНІНУ

Матеріал для дослідження: 1% розчин аланіну.

Реактиви: 0,1% розчин хлоридної кислоти, підфарбований індикатором Конго в синій колір (кисле середовище), 0,1% розчин натрій гідроксиду, підфарбований фенолфталеїном у рожевий колір (лужне середовище).

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки.

Хід роботи

У дві пробірки внести по 0,5 мл 1% розчину аланіну. В одну з них при перемішуванні додати по краплях 0,1% розчин хлоридної кислоти в присутності індикатора Конго, до зміни забарвлення. В іншу – внести по краплях 0,1% розчин натрій гідроксиду в присутності фенолфталеїну, до зникнення забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Чим зумовлені амфотерні властивості аланіну?
2. Які властивості виявляє аланін в кислому середовищі? Записати хімізм реакції.
3. Які властивості виявляє аланін у лужному середовищі? Записати хімізм реакції.
4. Визначити рІ аланіну при різних значеннях рН.

Хід роботи

В три пробірки внести: в першу 1 мл білкового розчину, у другу – 1 мл 1% розчину желатини, у третю – 1 мл 0,01% розчину гліцину. В кожну пробірку додати по 1 мл біуретового реактиву і перемішати. Порівняти забарвлення розчинів у пробірках.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

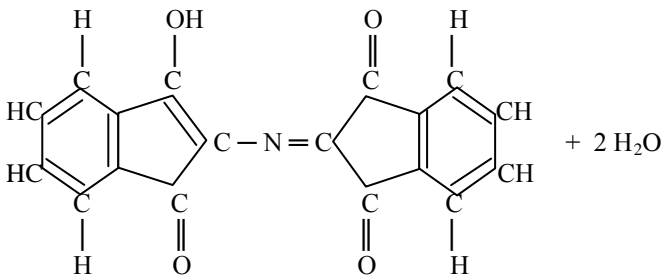
Дати відповіді на запитання

1. До якої групи якісних реакції слід віднести біуретову реакцію?
2. Чим зумовлена біуретова реакція в білках і пептидах?
3. Пояснити принцип біуретової реакції.
4. Записати хімізм утворення біуретового комплексу з біуретом і білком.

РОБОТА № 2 НІНГІДРИНОВА РЕАКЦІЯ

Принцип реакції. Білки, поліпептиди і вільні α -амінокислоти дають з нінгідрином синє або фіолетове забарвлення. Нінгідринова реакція виявляє в складі білків та амінокислот аміногрупу в α -положенні. Вона ґрунтується на окисно-відновних властивостях нінгідрину. Внаслідок окиснювального дезамінування і декарбоксилування від амінокислоти відщеплюється аміногрупа з утворенням аміаку, виділенням карбон (IV) оксиду та утворенням альдегіду, нінгідрин за цих умов відновлюється.

Відновлений нінгідрин, конденсується з аміаком і окисненою формою нінгідрину та утворює комплексну сполуку синьо-фіолетового кольору:



Ця реакція не є специфічною лише для амінокислот, оскільки її дають деякі аміни і амід.

Обережно: нінгідрин токсичний, тому слід уникати потрапляння його на шкіру і слизові оболонки.

Реактиви: 10% розчин натрій гідроксиду, концентрована нітратна кислота.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, спиртівка.

Хід роботи

В чотири пробірки внести: в першу 1 мл 1% білкового розчину, у другу – 1 мл 1% розчину желатини, у третю – 1 мл 0,01% розчину гліцину, в четверту – 1 мл 0,1% розчину фенолу. В кожну пробірку додати по 1 мл концентрованої нітратної кислоти і обережно нагріти на спиртівці. Спостерігати за розвитком забарвлення. Після охолодження в кожну пробірку додати по 1 мл 10% розчину натрій гідроксиду. Порівняти забарвлення розчинів у пробірках.

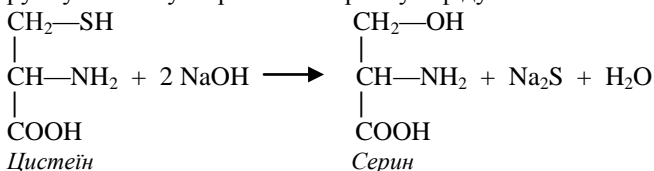
Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

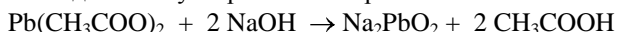
1. До якої групи кольорових реакцій слід віднести ксантопротеїнову реакцію?
2. На чому ґрунтується ксантопротеїнова реакція?
3. Пояснити причину різниці забарвлення в різних пробірках при проведенні ксантопротеїнової реакції.

РОБОТА № 4 РЕАКЦІЯ ФОЛЯ

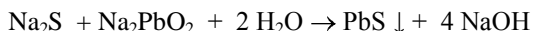
Принцип реакції. При нагріванні розчину білка з плюмбум ацетатом в присутності лугу, спостерігається буре або чорне забарвлення. Реакція зумовлена наявністю в білках амінокислот, що містять сульфур: цистину і цистеїну, які під впливом лугу руйнуються з утворенням натрій сульфїду:



Натрій сульфїд легко виявити за реакцією плюмбум ацетату з лугом, внаслідок чого утворюється натрій плюмбїт:



При взаємодії натрій сульфїду з натрій плюмбїтом утворюється плюмбум сульфїд (осад чорного кольору):



Матеріал для дослідження: 1% білковий розчин, 1% розчин желатини, 0,01% розчин цистеїну.

Реактиви: 30% розчин натрій гідроксиду, 5% розчин плюмбум ацетату.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, спиртівка.

Хід роботи

В три пробірки внести: в першу 1 мл 1% білкового розчину, у другу – 1 мл 1% розчину желатини, у третю – 1 мл 0,01% розчину цистеїну. В кожну пробірку додати по 1 мл 30% розчину натрій гідроксиду, 1 мл 5% розчину плюмбум ацетату і нагріти на спиртівці. Порівняти забарвлення розчинів у пробірках.

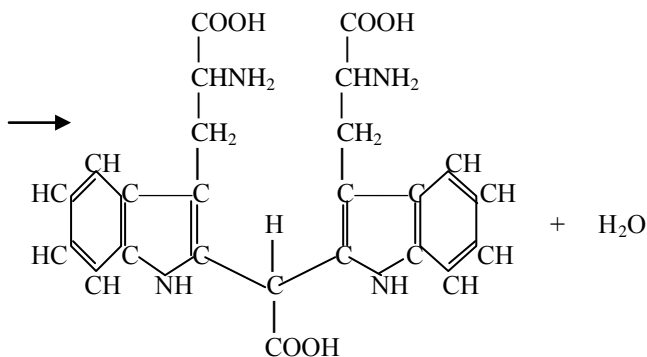
Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. До якої групи кольорових реакцій слід віднести реакцію Фоля?
2. Пояснити принцип реакції, записати хімізм.
3. Записати формули сульфурвмісних амінокислот.
4. Які амінокислоти у складі білків можна виявити за допомогою реакції Фоля?
5. Чому розчин желатини не дає позитивної реакції Фоля?

РОБОТА № 5 РЕАКЦІЯ АДАМКЕВИЧА

Принцип реакції. Триптофан у кислому середовищі взаємодіє з гліоксалевою кислотою, яка в невеликій кількості міститься в концентрованій ацетатній кислоті. Продукт конденсації, що утворюється за цих умов, забарвлений в червоно-фіолетовий колір.



Матеріал для дослідження: 1% білковий розчин, 1% розчин желатини, 0,01% розчин триптофану.

Реактиви: концентрована ацетатна кислота, концентрована сульфатна кислота.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки, спиртівка.

Хід роботи

В три пробірки внести: в першу 1 мл 1% білкового розчину, у другу – 1 мл 1% розчину желатини, у третю – 1 мл 0,01% розчин триптофану. В кожну пробірку додати по 0,5 мл концентрованої ацетатної кислоти і нагріти до розчинення осаду. Пробірки охолодити та обережно по стінці пробірок, додати по 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. Спостерігати за появою забарвленого кільця на межі поділу фаз. Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. До якої групи кольорових реакцій слід віднести реакцію Адамкевича?
2. Пояснити принцип реакції та записати хімізм реакції Адамкевича.
3. Які принципи номенклатури і класифікації амінокислоти триптофану?

3. ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ

а. Колоїдні властивості.

РОБОТА № 1 ЕФЕКТ ТІНДАЛЯ

Матеріал для дослідження: 1% розчин яєчного білка, 1% розчин желатини.

Реактиви: 1% розчин натрій хлориду, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, прилад для демонстрації ефекту Тіндаля.

Хід роботи

В чотири пробірки внести: в першу 5 мл води, у другу – 5 мл 1% розчину натрій хлориду, у третю – 5 мл 1% розчину желатини, в четверту – 5 мл 1% розчину яєчного білка. Всі розчини проглянути на приладі для демонстрації ефекту Тіндаля на відстані 20 см від джерела світла.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Чим зумовлені колоїдні властивості білків?
2. Пояснити причину ефекту Тіндаля. Про що він свідчить?
3. Чим колоїдні розчини відрізняються від істинних?

РОБОТА № 2 УТВОРЕННЯ ГЕЛЮ

Матеріал для дослідження: желатина.

Реактиви: дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, скляні палички, водяна і крижана бані, терези з набором різноважок.

Хід роботи

У пробірку внести 0,5 г желатини, додати 4 мл підігрітої води і залишити на 20 хв. періодично помішуючи за допомогою скляної палички. Вміст пробірки нагріти до повного розчинення желатини, після чого пробірку поставити на крижану баню.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Чому білки здатні утворювати гелі?
2. Що таке синерезис?
3. Чим зумовлені властивості гелю?

б. Розчинність білків.

Розчинність білків є важливою їх характеристикою, яка у значній мірі залежить від амінокислотного складу, молекулярної маси, властивостей радикалів, температури, розчинників та інших факторів.

Переважає більшість білків, подібно до гідрофільних колоїдів, за певних умов легко розчиняються в воді, водно-сольових розчинах та в розчинах деяких полярних розчинників (спирт та ін.).

При розчиненні білка в воді навколо іонізованих і полярних груп молекул білка ($-\text{OH}$, $-\text{NH}_3^+$, $-\text{COO}^-$ та ін.) утворюються гідратні оболонки, які складаються з орієнтованих у просторі диполів води. Гідратація молекул білків є важливим фактором стабілізації їх розчинів.

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

При додаванні до білків розчинів нейтральних солей високої концентрації білки випадають в осад, тобто за цих умов відбувається зменшення їх розчинності (*висолювання*).

РОБОТА № 1

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЗЧИННОСТІ ЯЄЧНОГО БІЛКА ТА КЕРАТИНУ

Матеріал для дослідження: яєчний білок, кератин.

Реактиви: 5% розчин натрій хлориду, 30% розчин амоній сульфату, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки, терези з набором різноважок.

Хід роботи

У пробірку внести 0,5 мл нерозбавленого яєчного білка, 2 мл води і перемішати. Спостерігати ефект осадження.

У дві пробірки внести по 0,5 мл яєчного білка. В одну додати 2 мл 5% розчину натрій хлориду, у другу – 2 мл 30% розчину амоній сульфату. Спостерігати за змінами у пробірках.

У дві інші пробірки внести по 0,5 г кератину. В одну з них додати 2 мл води, а у другу – 2 мл 5% розчину натрій хлориду.

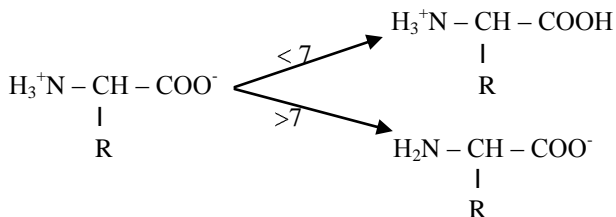
Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Чим зумовлена гетерогенність яєчного білка?
2. Який компонент яєчного білка розчиняється у воді, а який випадає в осад?
3. Чому при додаванні 5% розчину натрій хлориду осад у пробірці розчиняється?
4. Яку назву має процес підвищення розчинності білків при додаванні низьких концентрацій нейтральних солей?
5. Пояснити різницю між засолюванням і висолюванням.

в. Кислотно-основні властивості білків.

Радикали амінокислот, які входять до складу молекул білків, залежно від значення рН, можуть набувати позитивного чи негативного заряду і, відповідно, по різному поводити себе у кислому і лужному середовищі (як донори чи акцептори протонів):



Значення рН середовища, при якому загальний заряд молекули білка дорівнює нулю (містить однакову кількість позитивно і негативно заряджених груп), має назву *ізоелектричної точки* (див. додаток 2). Білок в ізоелектричній точці має мінімум іонізації, максимально нестійкий і легко випадає в осад.

РОБОТА №1 ВИЗНАЧЕННЯ ІЗОЕЛЕКТРИЧНОЇ ТОЧКИ КАЗЕЇНУ

Матеріал для дослідження: 0,4% розчин казеїну в 0,2 М розчині натрій ацетату.

Реактиви: 0,2 М розчин ацетатної кислоти, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 і 2 мл.

Хід роботи

У шість пронумерованих пробірок внести 0,2 М розчин ацетатної кислоти та дистильовану воду в кількостях, вказаних у таблиці, і по 0,2 мл 0,4% розчину казеїну в 0,2 М розчині натрій ацетату.

Номер пробірки	Об'єм 0,2М р-ну CH ₃ COOH	Об'єм H ₂ O, мл	Об'єм 0,4% р-ну казеїну, мл	рН суміші	Ефект осадження
1.	1,6	0,4	0,2	3,8	
2.	0,8	1,2	0,2	4,1	
3.	0,4	1,6	0,2	4,4	
4.	0,2	1,8	0,2	4,7	
5.	0,1	1,9	0,2	5,0	
6.	0,06	1,94	0,2	5,3	

Вміст пробірок ретельно перемішати і спостерігати за ефектом осадження. Після відстоювання протягом 5-10 хв. відмітити пробірку, в якій ефект осадження виражений найбільше.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Яка залежність існує між розчинністю білка та його ізоелектричною точкою ?
2. Чому ізоелектрична точка є індивідуальною характеристикою кожного білка?
3. Чому в ізоелектричній точці розчини білків нестійкі?
4. Визначити ізоелектричну точку кислого, лужного і нейтрального білка.

г. Реакції осадження білків.

Осадження білків може бути зворотним та незворотнім. До реакцій зворотного осадження можна віднести висолювання білків, а також осадження деякими органічними розчинниками (спиртом, ацетоном) при низькій температурі.

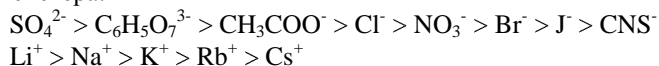
Незворотне осадження білків відбувається під впливом високої температури, солей важких металів, концентрованих кислот, лугів, реактивів на алкалоїди та інших факторів і має назву *денатурації*.

Денатурація – це втрата білками вищих рівнів структурної організації.

**РОБОТА № 1
ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ НЕЙТРАЛЬНИМИ СОЛЯМИ
(ВИСОЛЮВАННЯ)**

Висолювання – це зниження розчинності білків при додаванні концентрованих розчинів нейтральних солей лужних і лужноземельних металів, наслідок конкуренції за розчинник йонів солі та функціональних груп білкових молекул. За цих умов йони солі зв'язують велику кількість води, а тієї, що залишилась, не вистачає для розчинення білка. Осадження білків при висолюванні має зворотний характер.

Найчастіше для висолювання використовують Na_2SO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaCl , MgSO_4 . Висолююча здатність йонів солей (катіонів та аніонів) різна і визначається локалізацією їх в рядах Гофмейстера:



Матеріал для дослідження: яєчний білок або сироватка крові.

Реактиви: насичений розчин амоній сульфату, амоній сульфат кристалічний, натрій хлорид кристалічний, магній сульфат

кристалічний, 1% розчин ацетатної кислоти, етиловий спирт, біуретовий реактив.

Обладнання: штатив з пробірками, лійки, фільтри, піпетки, мірний циліндр.

ВИСОЛЮВАННЯ БІЛКІВ АМОНІЙ СУЛЬФАТОМ

Хід роботи

В три пробірки внести: в першу 1 мл білка і 1 мл біуретового реактиву. Спостерігати за розвитком забарвлення. У другу пробірку внести 3 мл яєчного білка та додати рівний об'єм насиченого розчину амоній сульфату, перемішати. Через 5 хв. вміст пробірки профільтрувати. З частиною фільтрату провести біуретову реакцію. До решти фільтрату додати кристалічний амоній сульфат до повного насичення і відфільтрувати. До фільтрату додати 1 мл біуретового реактиву, порівняти забарвлення з розчином у першій пробірці.

У третю пробірку внести 2 мл яєчного білка та додати рівний об'єм насиченого розчину амоній сульфату і перемішати. До розчину з осадом білка додати рівний об'єм дистильованої води, добре перемішати.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Що таке висолювання? Чим зумовлений цей ефект?
2. Які фракції яєчного білка можна розділити методом висолювання?
3. Який білок випадає в осад при 50% насиченні розчину білків амоній сульфатом?
4. Які білки осаджуються при повному насиченні розчину білків амоній сульфатом?
5. До якого виду реакцій осадження (зворотних чи незворотних) можна віднести висолювання?

РОБОТА № 2

ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ ОРГАНІЧНИМИ РОЗЧИННИКАМИ

Принцип реакції. Дія органічних розчинників ґрунтується на зв'язуванні молекул води і дегідратації білкових молекул, а також зниженні діелектричної сталої водних розчинів та ступеня іонізації молекул білків, внаслідок чого знижується їх стійкість у розчинах.

При додаванні води осаджений білок може бути знову переведений у розчин, тобто властивості його не змінюються.

Матеріал для дослідження: 1% розчин яєчного білка.

Реактиви: етиловий спирт, ацетон, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 мл.

Хід роботи

У дві пробірки внести по 1 мл білкового розчину. В першу додати 0,5 мл етилового спирту, у другу – 0,5 мл ацетону і перемішати. До утвореного осаду додати воду.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Яке явище спостерігається при додаванні до розчину білка ацетону чи спирту?
2. Пояснити механізм осадження білків органічними розчинниками?
3. Який ефект спостерігається при додаванні води?
4. На чому ґрунтується осаджуюча дія органічних розчинників?

РОБОТА № 3

ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ ОРГАНІЧНИМИ КИСЛОТАМИ

Принцип реакції. Механізм осадження білків органічними кислотами ґрунтується на зміні ступеня іонізації молекул білка внаслідок дегідратації білкової молекули та знятті електричного заряду.

Матеріал для дослідження: 1% розчин яєчного білка.

Реактиви: 10% розчин ТХА, 5% розчин сульфосаліцилової кислоти.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки.

Хід роботи

У дві пробірки внести по 1 мл білкового розчину. В першу додати 5 крапель 10% розчину ТХА, у другу – 5 крапель 5% розчину сульфосаліцилової кислоти і перемішати. До утвореного осаду додати воду.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Яка різниця в осадженні білків органічними кислотами та органічними розчинниками?
2. Пояснити механізм осадження білків органічними кислотами.
3. Яке практичне значення має осадження білків ТХА?
4. Чи втрачають білки нативні властивості при осадженні органічними кислотами?
5. Як залежить інтенсивність осадження білків від концентрації органічних кислот?

РОБОТА № 4
ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ МІНЕРАЛЬНИМИ КИСЛОТАМИ

Принцип реакції. Білки в присутності концентрованих мінеральних кислот (крім фосфатної) денатурують і випадають в осад не лише в результаті дегідратації та нейтралізації заряду молекул, але і внаслідок утворення хелатних комплексів, тому при додаванні води не відбувається повного поновлення гідратних оболонок та розчинення осаджених білкових молекул.

Матеріал для дослідження: 1% розчин яєчного білка.

Реактиви: концентрована хлоридна кислота, концентрована нітратна кислота, концентрована сульфатна кислота, 10% розчин хлорної кислоти, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 мл.

Хід роботи

У чотири пробірки внести по 1 мл білкового розчину. В першу пробірку додати 0,5 мл концентрованої хлоридної кислоти, у другу – 0,5 мл концентрованої нітратної кислоти, у третю – 0,5 мл концентрованої сульфатної кислоти і в четверту – 0,5 мл 10% розчину хлорної кислоти. Спостерігати за утворенням осадів. Потім у всі пробірки додати воду і спостерігати за змінами, які відбуваються за цих умов.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Пояснити механізм осадження білків мінеральними кислотами.
2. Яке практичне значення має осадження білків нітратною кислотою?
3. Яка різниця осадження білків мінеральними і органічними кислотами?

4. Чи можна віднести осадження білків мінеральними кислотами до зворотних реакцій осадження?

РОБОТА № 5 ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ СОЛЯМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Принцип реакції. Солі важких металів (купрум, ферум, плюмбум, гідраргірум, аргентум, цинку) зумовлюють незворотнє осадження білків, внаслідок утворення міцних комплексних сполук.

Солі більшості важких металів призводять до денатурації білка.

Матеріал для дослідження: 1% розчин яєчного білка.

Реактиви: 5% розчин плюмбум ацетату, 5% розчин купрум (II) сульфату, 3% розчин аргентум нітрату.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки.

Хід роботи

У три пробірки внести по 1 мл 1% білкового розчину. В першу додати 5 крапель 5% розчину плюмбум ацетату, у другу – 5 крапель 5% розчину купрум (II) сульфату, у третю – 5 крапель 3% розчину аргентум нітрату, перемішати і спостерігати за утворенням осадів.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Який механізм осадження білків солями важких металів?
2. Яка особливість осадження білків купрум (II) сульфатом?
3. Що таке денатурація білка?
4. Які властивості характерні для денатурованих білків?
5. За яких умов можлива ренатурація (ренативація) молекули білка?

РОБОТА № 6 ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ ПРИ НАГРІВАННІ

Принцип реакції. Більшість білків тваринного походження при нагріванні вище 45°C денатурують. Такий ефект пояснюється тим, що під впливом високої температури зв'язки, які стабілізують структуру нативної молекули білка руйнуються, внаслідок чого повністю порушується структурна організація білкових молекул (втрата не лише вищих рівнів структурної організації, але і

первинної структури). За цих умов проходить незворотна денатурація білка (деструкція).

Білки, що мають кислотні властивості, при підвищенні температури краще осаджуються у слабкокислому середовищі, а білки, які мають основні властивості – у слабколужному, що зумовлено значеннями їх ізоелектричної точки. В сильнокислому чи сильнолужному середовищі розчини білків при нагріванні осаджуються лише при додаванні достатньої кількості будь-якої нейтральної солі. Стійкість розчинів білків за цих умов зумовлена перезарядженням білкових молекул: у кислому середовищі білок набуває позитивного заряду, а в лужному – відповідно негативного. Оскільки заряд білкової молекули є одним із факторів стабілізації їх у розчині це, відповідно, підвищує їх стійкість внаслідок дії сил електростатичного відштовхування.

Найбільш повне і швидке осадження білка при нагріванні відбувається при значеннях рН, що відповідають їх ізоелектричній точці.

Матеріал для дослідження: 1% розчин яєчного білка.

Реактиви: 1% розчин ацетатної кислоти, 10% розчин ацетатної кислоти, 10% розчин натрій гідроксиду, насичений розчин натрій хлориду.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки, спиртівка.

Хід роботи

У п'ять пробірок внести по 2 мл 1% розчину яєчного білка. Вміст першої пробірки залишити без змін. У другу пробірку додати 1 краплю 1% розчину ацетатної кислоти, у третю – 1 мл 10% розчину ацетатної кислоти, в четверту – 1 мл 10% розчину ацетатної кислоти і 3-4 краплини насиченого розчину натрій хлориду, в п'яту – 1 мл 10% розчину натрій гідроксиду. Всі пробірки нагріти до кипіння і спостерігати за ефективністю осадження білків.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Які особливості температурного осадження білків?
2. У чому різниця між зворотним і незворотним осадженням білків під впливом температури?

3. Порівняти осадження білків при різних значеннях рН та пояснити причини явища.
4. Чому білки не осаджуються при низьких і високих значеннях рН?
5. При якому значенні рН відбувається найінтенсивніше осадження білків?
6. Чому при нагріванні скіпається молоко, яке зберігалось при кімнатній температурі?

2. ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ.

ТЕМА: ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ І ВЛАСТИВОСТЕЙ СКЛАДНИХ БІЛКІВ

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 118-133]; [2, с. 105-111]; [3, с. 80-94]; [5, с. 45-63].
Додаткова: [4]; [5]; [6]; [9].

Методичні вказівки

1. При опрацюванні теоретичного матеріалу звернути увагу на принципи класифікації білків, особливості будови і функцій простих та складних білків.
2. У процесі виконання практичних робіт записати хімізм і особливості кольорових реакцій, які дають змогу виявити наявність простетичних груп складних білків.
3. При виконанні практичних робіт дотримуватись правил техніки безпеки.
4. Оформити роботи, пояснити результати, записати висновки і виконати завдання для самоконтролю знань.

Теоретичні питання

1. Критерії класифікації білків. Класифікація білків за хімічним складом, формою білкових молекул, фізико-хімічними і біологічними властивостями.
2. Прості і складні білки, особливості їх будови.
3. Характеристика груп простих білків. Принципи класифікації.
4. Особливості амінокислотного складу та фізико-хімічних властивостей простих білків. Їх функції.
5. Альбуміни і глобуліни, особливості амінокислотного складу та функції.

6. Альбумін/глобуліновий коефіцієнт, значення в діагностиці захворювань.
7. Глутеліни і проламіни: склад, будова, властивості, біологічна роль.
8. Характеристика гістонів, їх значення в організмі.
9. Протеїноїди: будова, властивості, біологічна роль.
10. На основі яких критеріїв виділяють окремі групи складних білків?
11. Характеристика протеїдів.
12. Хромопротеїни: типи простетичних груп, властивості, біологічна роль.
13. Фосфопротеїни. Характеристика основних представників.
14. Ліпопротеїни і нуклеопротеїни. Типи зв'язку між білком і простетичною групою.
15. Глікопротеїни. Характеристика вуглеводного компоненту. Біологічна роль, властивості, функції.
16. Металопротеїни, їх функції в організмі (транспортна – церулоплазмін і трансферин; запасуюча – феритин та гемосидерин).

Тестові завдання:

1. Що таке складні білки?
 - А. Білки, які побудовані із простого білка і небілкової частини (простетичної групи): вуглеводів, ліпідів, нуклеїнових кислот, йонів металів та ін.;
 - Б. Білки, що побудовані з простого білка і окремих спиртів;
 - В. Білки, що побудовані з простого білка і дикарбонових кислот;
 - Г. Білки, що побудовані з простого білка і діамінів.
2. Класифікація простих білків базується на:
 - А. Компонентному складі;
 - Б. Особливостях структури;
 - В. За функціях і властивостях;
 - Г. Амінокислотному складі.
3. Глутеліни – це:
 - А. Рослинні білки;
 - Б. Рослинні і тваринні білки;
 - В. Тваринні білки;
 - Г. Білки цитоплазми.
4. Гістони входять до складу:
 - А. Мембран;
 - Б. Мітохондрій;
 - В. Цитоплазми;
 - Г. Ядерної ДНК.
5. Альбуміни і глобуліни відрізняються:
 - А. Будовою;
 - Б. Властивостями;
 - В. Властивостями і функціями;
 - Г. Структурою.

6. Протаміни містять високий вміст:

А. Моноаміномонокарбонових кислот;	Б. Цистеїну;
В. Гліцину;	Г. Аргініну і лізину.
7. Проламіни не містять в своєму складі:

А. Метіоніну;	Б. Цистеїну;	В. Тирозину;	Г. Лізину.
---------------	--------------	--------------	------------
8. Протеїноїди містять значну кількість:

А. Серину;	Б. Гліцину;	В. Тирозину;	Г. Цистеїну.
------------	-------------	--------------	--------------
9. Глікопротеїни складаються з білка та:

А. Цереброзидів;	Б. Вуглеводних компонентів;
В. Неорганічного фосфору;	Г. Нуклеотидів.
10. Які прості білки входять до складу нуклеопротейідів:

А. Альбуміни, глобуліни;	Б. Фібриноген, колаген;
В. Протаміни, пістони;	Г. Проламіни, глютеліни.
11. У фосфопротейінах залишки фосфату приєднуються до радикалів:

А. Цистеїну;	Б. Аргініну;	В. Серину;
Г. Серину і треоніну.		
12. Гемоглобін належить до:

А. Глікопротеїнів;	Б. Металопротеїнів;
В. Склеропротейнів;	Г. Хромопротейнів.

Вправи:

1. Записати фрагмент молекули казеїну, до складу якої входять незамінні амінокислоти.
2. Записати будову гему, вказати тип зв'язку між білковою частиною і протетичною групою.
3. Записати будову цитохромів "а", "в" і "с".
4. Записати амінокислоти, радикали яких здатні до утворення водневого, дисульфідного, іонного та гідрофобного зв'язків.
5. Визначити молекулярну масу гемоглобіну, якщо до складу молекули входять 574 амінокислотні залишки.
6. Записати будову вуглеводних компонентів глікопротеїнів (глюкозаміну, галактозаміну, сіалових кислот, фукози).
7. Записати утворення О- та N-глікозидних зв'язків між білковою частиною і олігосахаридним ланцюгом.
8. Записати будову зв'язку між білковою частиною і протетичною групою фосфопротейнів.
9. Записати схему утворення зв'язків в складі нуклеопротейнів.
10. Записати будову амінокислот, які входять до складу фосфо- та нуклеопротейнів.

11. Записати будову мінорних амінокислот, які входять до складу білків сполучної тканини.

1. ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ І ВЛАСТИВОСТЕЙ ГЛІКОПРОТЕЇНІВ

РОБОТА № 1

ДОБУВАННЯ МУЦИНУ ІЗ СЛИНИ ТА ВИЯВЛЕННЯ В ЙОГО СКЛАДІ ВУГЛЕВОДНОГО КОМПОНЕНТУ

Матеріал для дослідження: слина.

Реактиви: концентрована ацетатна кислота, 1% спиртовий розчин α -нафтолу, концентрована сульфатна кислота.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки.

Хід роботи

У пробірку зібрати 2 мл слини і додати 10 крапель концентрованої ацетатної кислоти. Муцин випадає у вигляді осаду. Надосадову рідину обережно злити, а до осаду додати 1 мл 1% спиртового розчину α -нафтолу та перемішати. Після цього обережно, по стінці пробірки, додати 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. На межі поділу рідин утворюється продукт конденсації фурфуролу з α -нафтолом у вигляді червоно-фіолетового кільця.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Яка будова глікопротеїнів?
2. Охарактеризувати тип зв'язку між білковою частиною і простетичною групою глікопротеїнів?
3. Яку роль виконують муцини і мукоїди?
4. Чому муцин випадає в осад при підкисленні середовища? Який висновок можна зробити про його амінокислотний склад?

РОБОТА № 2

ВИЯВЛЕННЯ ВУГЛЕВОДНОГО КОМПОНЕНТУ В ОВОМУКОЇДІ ЯЄЧНОГО БІЛКА

Матеріал для дослідження: розчин яєчного білка.

Реактиви: 1% спиртовий розчин α -нафтолу, концентрована сульфатна кислота.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, спиртівка.

Хід роботи

У пробірку внести 1 мл білкового розчину, нагріти на спиртівці до ледь помітного осадження білка. Вміст пробірки охолодити, додати 1 мл 1% розчину α -нафтолу і перемішати. Після цього обережно, по стінці пробірки, додати 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. На межі розподілу фаз утворюється червоно-фіолетове кільце.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Яку хімічну природу має овомукоїд яєчного білка?
2. Для чого проводять нагрівання білкового розчину?
3. Яке біологічне значення овомукоїду?

2. ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ І ВЛАСТИВОСТЕЙ ФОСФОПРОТЕЇНІВ

РОБОТА № 1

ВИДІЛЕННЯ КАЗЕЇНУ З МОЛОКА ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЙОГО СКЛАДОВИХ КОМПОНЕНТІВ

Принцип методу. Ізоелектрична точка казеїну відповідає рН...4,7, тому при підкисленні середовища він випадає в осад. Надлишок кислоти заважає осадженню, тому що при значеннях рН нижчих ізоелектричної точки, молекула білка перезаряджається і знову переходить у розчин.

Матеріал для дослідження: незбиране молоко.

Реактиви: концентрована ацетатна кислота, суміш Блура, 0,1% розчин натрій карбонату, 10% розчин натрій гідроксиду, біуретовий реактив, молібденовий реактив, 0,1% розчин фенолфталеїну, 10% розчин нітратної кислоти, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, центрифужні пробірки, піпетки, скляні палички, круглодонна колба із зворотним холодильником, водяна баня, спиртівка, центрифуга.

Хід роботи

У пробірку внести 4 мл молока, додати 4 мл води і 2 краплі концентрованої ацетатної кислоти. За цих умов казеїн випадає в осад. Вміст пробірки перенести в чисту центрифужну пробірку і

відцентрифугувати при 3000 об./хв. протягом 5 хв. Центрифугат злити, а до осаду додати 2 мл суміші Блура і добре перемішати скляною паличкою та повторно відцентрифугувати при 3000 об./хв. протягом 5 хв. Центрифугат злити і з невеликою його кількістю провести біуретову реакцію. До осаду додати 2 мл 0,1% розчину натрій карбонату, 4 мл 10% розчину натрій гідроксиду і перемішати. Вміст пробірки кількісно перенести у круглодонну колбу із зворотним холодильником і поставити на киплячу водяну баню для гідролітичного розкладу.

Через 30 хв. від початку кипіння нагрівання припинити. Колбу охолодити до кімнатної температури, після чого гідролізат перенести в мірний циліндр і додати рівний об'єм 0,1% розчину натрій карбонату. Гідролізат використати для виявлення складових компонентів казеїну.

а. Якісна реакція на білок.

Хід роботи

До 1 мл гідролізату додати 1 мл біуретового реактиву. Спостерігати за розвитком забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

б. Якісна реакція на фосфатну кислоту

Хід роботи

До 1 мл гідролізату додати одну краплю фенолфталеїну і по краплях 10% розчин нітратної кислоти до нейтральної реакції. Після цього у пробірку додати 2 мл молібденового реактиву та нагріти на спиртівці. Спостерігати за розвитком забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Що являє собою казеїн? Яка його будова і властивості?
2. Чому осадження казеїну проводять при підкисленні молока?
3. Що являє собою простетична група фосфопротейнів?
4. Який тип зв'язку між білковою частиною і простетичною групою фосфопротейнів?
5. Пояснити біологічну роль фосфопротейнів.

3. ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДУ І ВЛАСТИВОСТЕЙ ХРОМОПРОТЕЇНІВ

РОБОТА № 1

ЯКІСНА РЕАКЦІЯ НА ГЕМІНОВЕ УГРУПУВАННЯ ГЕМОГЛОБІНУ Бензидинова проба

Принцип реакції. Під впливом гемоглобіну бензидин окиснюється гідроген пероксидом в *n*-хінондиїмід, що дає синє забарвлення. З часом синє забарвлення змінюється на червоне:

Матеріал для дослідження: 1% розчин крові.

Реактиви: 1% свіжоприготовлений спиртовий розчин гваякової смоли, 0,2% спиртовий розчин бензидину, 3% розчин гідроген пероксиду.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи

У дві пробірки внести по 0,5 мл 1% розчину крові. В першу додати 1-2 крапель 1% спиртового розчину гваякової смоли, а у другу – 1-2 крапель 0,2% спиртового розчину бензидину. В кожен пробірку додати по 1-2 краплі 3% розчину гідроген пероксиду і спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Які біологічні функції гемоглобіну і міоглобіну?
2. Чим зумовлені кольорові реакції гемоглобіну з гваяковою смолою і бензидином?
3. Яке значення якісних реакцій на гем гемоглобіну?

РОБОТА № 2

ВИЯВЛЕННЯ ФЕРУМУ У СКЛАДІ ГЕМОГЛОБІНУ

Принцип реакції. Ферум, що входить до складу гемоглобіну, утворює з калій тіоціанатом за присутності хлоридної кислоти, ферум (III) тіоціанат рожевого або червоного кольору.

Матеріал для дослідження: кров.

Реактиви: концентрована нітратна кислота, 10% розчин хлоридної кислоти, 10% розчин калій тіоціанату.

Обладнання: фарфорова чашка, піпетки, електрична плитка.

Хід роботи

У фарфорову чашку внести 2 краплі крові, обережно додати 4 краплі концентрованої нітратної кислоти і випарити на киплячій водяній бані до утворення сухого залишку, який розчинити в 1-2 краплях 10% розчину хлоридної кислоти. Далі додати 1-2 краплі 10% розчину калій тіоціанату. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Що являє собою простетична група хромопротеїнів?
2. На чому ґрунтується визначення феруму у складі гемоглобіну?
3. Який тип зв'язку між білковою частиною та гемом гемоглобіну?

3. ТЕОРЕТИЧНИЙ ПРАКТИКУМ. ТЕМА: СТРУКТУРНА ОРГАНІЗАЦІЯ БІЛКІВ

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 118-133]; [2, с. 105-111]; [3, с. 80-94]; [5, с. 45-63].

Додаткова: [6]; [8]; [9]; [10].

Теоретичні питання

1. Поняття про структурну організацію білків. Сучасні уявлення про структуру білкових молекул.
2. Первинна структура білків, методи її вивчення.
3. Утворення пептидів. Особливості пептидного зв'язку. Назва пептидів. Роботи О.Я. Данілевського і Е. Фішера.
4. Зв'язки, що стабілізують первинну структуру білкових молекул.
5. Особливості первинної структури білків. Реалізація принципів структурної подібності та взаємозамінності амінокислот у поліпептидному ланцюгу.
6. Первинна структура та видова специфічність. Особливості первинної структури інсуліну.
7. Поліморфізм первинної структури. Варіабельні та інваріантні залишки амінокислот, їх значення.
8. Вторинна структура білків. Визначення та особливості. Критерії Л. Полінга і Р. Корі

9. Зв'язки, що стабілізують вторинну структуру. Параметри α -спіралі.
10. Слоїсто-складчасті структури, їх особливості.
11. Зверхвторинна структура, види та особливості формування.
12. Доменний принцип організації, його зв'язок з біологічною активністю білків.
13. Третинна структура білків, методи її вивчення. Роботи Дж. Кендрю, Д. Філіпса і П. Петрутца.
14. Типи зв'язків, що стабілізують третинну структуру.
15. Нативна конформація, особливості. Принцип взаємоперетворення конформацій.
16. Четвертинна структура білків. Типи зв'язків, що її стабілізують. Ізологічна та гетерологічна взаємодія. Характеристика білків, які мають четвертинну структуру (гемоглобін, ВТМ, аспаратамінотрансфераза).
17. Поняття про сили слабкої взаємодії, їх значення у стабілізації різних рівнів структури білкових молекул.

Тестові завдання:

1. Що являє собою первинна структура білка:
 - А. Певна послідовність залишків амінокислот в поліпептидному ланцюгу (ланцюгах);
 - Б. Просторова конфігурація поліпептидного ланцюга (ланцюгів);
 - В. Укладання поліпептидного ланцюга (ланцюгів) в клубки певної форми;
 - Г. Спіралізація поліпептидного ланцюга (ланцюгів).
2. Що таке вторинна структура білка:
 - А. Певна просторова конфігурація поліпептидного ланцюга;
 - Б. Взаємодія поліпептидних ланцюгів між собою;
 - В. Послідовність амінокислотних залишків в поліпептидному ланцюгу;
 - Г. Орієнтація амінокислот в просторі.
3. Який із вказаних методів дає можливість визначити послідовність розміщення всіх амінокислот у білковій молекулі:

А. Метод Сенгера;	Б. Метод Едмана;
В. Метод Акабборі;	Г. Ферментативний метод.
4. Які зв'язки стабілізують вторинну структуру білка:

А. Пептидні;	Б. Дисульфідні;
В. Водневі;	Г. Гідрофобні.

5. Що являє собою третинна структура білка:
 - А. Взаємодія кількох білкових глобул між собою;
 - Б. Спіралізація поліпептидних ланцюгів;
 - В. Загальна просторова орієнтація (конформація) поліпептидних ланцюгів;
 - Г. Асоціація білкових і небілкових субодиниць.
6. Які із вказаних зв'язків стабілізують третинну структуру білка:
 - А. Гідрофобні;
 - Б. Пептидні;
 - В. Водневі;
 - Г. Дисульфідні.
7. Для яких білків характерна четвертинна структура:
 - А. Які у своєму складі мають лише один протомер;
 - Б. Які складаються із двох і більшої кількості протомерів;
 - В. Які у своєму складі мають небілкову частину;
 - Г. Які побудовані з одного поліпептидного ланцюга.

Вправи:

1. Яка кількість субодиниць у молекулах гемоглобіну, вірусу тютюнової мозаїки, лактатдегідрогенази?
2. Розрахувати довжину (в нм) поліпептидного ланцюга білка, який складається з 159 амінокислотних залишків і має відсоток спіралізації 40%.
3. Білковий компонент вірусу тютюнової мозаїки складається з 2130 субодиниць, молекулярна маса кожної з яких складає 17500. Розрахувати загальну довжину всіх поліпептидних ланцюгів, якщо відсоток спіральної конфігурації складає 30%.
4. Вказати всі можливі види взаємодії між фрагментами поліпептидного ланцюга при стабілізації третинної структури: - Глі – Вал – Лей – Цис – Тир – Арг – Фен – Ала – Цис – Цис -. Записати однолітерні позначення амінокислот.
5. Які види взаємодії можливі між радикалами амінокислот: Глу, Тре, Гіс, Сер, Асп, Тир, Арг, Ілей, Лей, Фен, Ала.
6. Вказати можливі види взаємодії на контактних ділянках субодиниць білка, які містять залишки амінокислот Вал, Тре, Асп, Три, Лей, Арг, при формуванні четвертинної структури.
7. Визначити значення pI гліцину та аланіну, якщо значення $pK\alpha_1$ складає відповідно 2,40 і 2,34, а $pK\alpha_2 - 9,70$ і 9,68. Відповідь пояснити.
8. Визначити значення pI аспарагінової кислоти і лізину, якщо значення $pK\alpha_1$ складає відповідно 1,90 і 2,20, $pK\alpha_2 - 9,60$ і 8,96, $pK\alpha_3 - 3,86$ і 10,50.

12. Записати формули амінокислот, радикали яких при формуванні третинної структури білків забезпечують утворення водневих, іонних та гідрофобних зв'язків.
13. Записати всі можливі варіанти водневих зв'язків, які утворюються в білковій молекулі у зв'язку з наявністю в її складі залишків амінокислот, що містять ковалентно зв'язаний атом гідрогену з частковим позитивним зарядом і атомом кисню, який має частковий негативний заряд.
14. Записати будову глутатіону, офтальмової кислоти, карнозину.
15. Записати *L*- і *D*-форми амінокислот: Вал, Фен, Мет, Тир, Глу, Асп.
16. Визначити сумарний заряд та значення pI в кислому, лужному та нейтральному середовищі наступних пептидів:
 - а) H_2N – Глі – Ала – Асп – Про – ОН;
 - б) H_2N – Глу – Три – Про – Вал – ОН;

4. ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ.

ТЕМА: ВИВЧЕННЯ СКЛАДУ ТА ВЛАСТИВОСТЕЙ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 133-168]; [2, с. 56-82]; [3, с. 189-222]; [4, с. 41-56]; [5, с. 49-55, 91-100, 104-114].

Додаткова: [4]; [5]; [6]; [10].

Методичні вказівки

1. При опрацюванні теоретичного матеріалу звернути увагу на компонентний склад нуклеїнових кислот (РНК і ДНК), будову азотистих основ пуринового та піримідинового ряду, нумерацію атомів у пуринових і піримідинових циклах.
2. Чітко засвоїти особливості таутомерних форм азотистих основ.
3. Звернути увагу на будову нуклеозидів, моно- та полінуклеотидів.
4. Уважно розглянути схему гідролітичного розкладу нуклеопротеїнів. Звернути увагу на особливості компонентного складу рибо- та дезоксирибонуклеопротеїнів.
5. При виконанні практичних робіт дотримуватись правил техніки безпеки.
6. Оформити роботи, пояснити результати, записати висновки і виконати завдання для самоконтролю знань.

Теоретичні питання

1. Відкриття нуклеїнових кислот. Роботи Ф.Мішера, Р.Альтмана.
2. Генетична роль нуклеїнових кислот. Роботи О.Евері, М.Маккартні, А.Херші, М.Чейза, Г.Рисса, А.Мирського.
3. Хімічний склад нуклеїнових кислот, виділення з біоматеріалу.
4. Складові компоненти нуклеїнових кислот.
5. Характеристика пуринових основ. Таутомерні форми. Лактим-лактанні форми. Нумерація атомів карбону в пуринових циклах.
6. Характеристика піримідинових основ. Таутомерні форми. Лактим-лактанне перетворення. Нумерація вуглецевих атомів в піримідинових циклах.
7. Мінорні пуринові і піримідинові основи, будова і функції.
8. Вуглеводний компонент нуклеїнових кислот, нумерація вуглецевих атомів у фуранозному циклі.
9. Нуклеозиди. Зв'язок між їх складовими компонентами, будова, номенклатура.
10. Нуклеотиди. Рибонуклеотиди і дезоксирибонуклеотиди, будова, номенклатура.
11. Нуклеотидний склад ДНК і РНК.
12. ДНК і РНК, загальна характеристика. Різниця в молекулярній масі, складі, структурі, функціях та локалізації у клітині.
13. Види ДНК і РНК, їх характеристика.
14. Властивості та функції нуклеїнових кислот.
15. Видова специфічність ДНК і РНК. Роботи А.М. Білозерського.
16. Рівні структурної організації нуклеїнових кислот.
17. Первинна структура ДНК. Характеристика зв'язків.
18. Особливості чергування нуклеотидів в первинній структурі.
19. Принцип комплементарності, його реалізація у структурі ДНК. Правила Е. Чаргаффа. Коефіцієнт специфічності.
20. Вторинна структура ДНК. Модель Д. Уотсона і Ф. Кріка.
21. Основні параметри подвійної спіралі ДНК. А, В, С, SBS-форми ДНК.
22. Зв'язки, що стабілізують вторинну структуру ДНК.
23. Третинна структура ДНК. Нуклеосоми. Структурна організація ДНК у хромосомах.
24. Рибонуклеїнові кислоти: будова, функції, молекулярна маса.
25. Види РНК. Характеристика іРНК, тРНК та рРНК.
26. Рівні структурної організації РНК.
27. Вторинна структура тРНК. Мінорні основи у структурі тРНК, їх значення. Третинна структура тРНК.

Тестові завдання:

1. Нуклеїнові кислоти — лінійні полімери, в яких нуклеотидні залишки з'єднані між собою з допомогою:
А Водневих зв'язків; Б. Йонних зв'язків;
В. 3',5'-фосфодіефірних зв'язків; Г. Координаційних зв'язків;
2. У молекулі ДНК число залишків аденіну завжди дорівнює числу залишків:
А. Тиміну; Б. Гуаніну;
В. Цитозину; Г. Ксантину;
3. Один виток подвійної спіралі А-форми ДНК містить таку кількість пар основ:
А.5; Б.10; В.20; Г.100; Д.200.
4. Який з нижчевказаних вуглеводів входить до складу РНК:
А. β -Д-рибофураноза; Б. Рамноза;
В. β -Д-фруктофураноза; Г. β -Д дезоксирибофураноза.
5. Які азотисті основи є мінорними:
А Аденін; Б. Гуанін; В. Тимін; Г. Пурин;
Д. 6-метиладенін.
6. Нуклеозидами з перерахованих нижче сполук є:
А Аденозин; Б. 2'-дезокситимідин;
В. Аденінрибонуклеозидмонофосфат;
Г. Аденілова кислота;
7. З якою азотистою основою цитозин з'єднується водневими зв'язками?
А Аденін; Б. Ксантин;
В. Гуанін; Г. Гіпоксантин; Д. Урацил.
8. Який вуглеводний компонент входить до складу ДНК:
А. α -Д-дезоксирибофураноза; Б. Рамноза;
В. β -Д-фруктофураноза; Г. β -Д-рибофураноза;
Д. β -Д-галактопіраноза.
9. Скільки водневих зв'язків утворюється між аденіном і тиміном:
А. 2; Б. 5; В. 10; Г. 15; Д.3.
10. Скільки водневих зв'язків утворюється між цитозином та гуаніном:
А. 2; Б.3; В. 10; Г. 15; Д.5.
11. Закономірності чергування нононуклеотидів на структурі ДНК це:
А. Зворотні повтори; Б. Мінорні чергування;
В. Полідромі; Д. Правила Чаргаффа.

12. Вторинна структура ДНК це:

А. α -спіраль;	Б. β -структура;
В. Подвійна спіраль;	Г. L-спіраль.
13. Вторинна структура тРНК має форму:

А. Спіралі;	Б. Клубка;
В. Слоїстого листка;	Г Листка конюшини.

Вправи:

1. Записати будову нуклеозидів аденіну, гуаніну, цитозину, тиміну, урацилу. Дати повні та скорочені назви.
2. Записати формули і дати повні та скорочені назви нуклеотидам, що містять аденін, гуанін, цитозин, тимін.
3. Динуклеотиди і полінуклеотиди, характеристика міжнуклеотидних зв'язків.
4. Показати міжнуклеотидні зв'язки на прикладі окремих пар основ: А – Т, Ц –У, Г – Ц, А – Г, Г – У, У – У.
5. Яка будова мінорних основ: 1-метилцитозину, 5-метилцитозину, 1-метиладеніну, 1-гідроксиметилцитозину, 7-метилгуаніну, 6-метиладеніну, 6-диметиладеніну.
6. Записати фрагмент первинної структури ДНК, показати напрям антипаралельних ланцюгів.
7. Записати фрагмент первинної структури РНК.
8. Один з ланцюгів ДНК має таку послідовність основ: 3'-АГГ ЦЦТ ТАА АГТ ТТТ ААГ ГТТ ЦБА ААТ-5'. Записати послідовність мононуклеотидів комплементарного ланцюга, пунктиром вказати зв'язки між азотистими основами.
9. Записати формули рибонуклеозид- і дезоксирибонуклеозид-5'-моно-, ди- і трифосфатів аденіну, гуаніну, цитозину, тиміну, урацилу. Дати повні і скорочені назви.
10. Записати формули β -D-рибофуранози і β -D-2-дезоксирибофуранози.
11. Яка будова аденілових кислот: 3,5-цАМФ, 2,3-цАМФ, АМФ, АДФ, АТФ. Вказати можливі варіанти приєднання залишків фосфорної кислоти.
12. Здійснити перетворення за поданими схемами:

β -D-рибофураноза + гуанін	→
β -D-рибофураноза + урацил	→
β -D-2-дезоксирибофураноза + аденін	→

РОБОТА № 1 КИСЛОТНИЙ ГІДРОЛІЗ НУКЛЕОПРОТЕЇНІВ

Принцип реакції. Для вивчення хімічного складу нуклеопротеїнів слід провести кислотний гідроліз дріжджів (кип'ятінням з розчином сульфатної кислоти). При нетривалому або частковому гідролізі нуклеопротеїни розщеплюються на білок і нуклеїнові кислоти; при повному гідролізі нуклеїнові кислоти розкладаються на окремі мононуклеотиди та їх складові компоненти: пуринові і піримідинові основи, рибозу чи дезоксирибозу та фосфатну кислоту. Білок також зазнає часткового гідролізу до низькомолекулярних пептидів і амінокислот, що можна виявити за допомогою специфічних кольорових реакцій.

Матеріал для дослідження: дріжджі.

Реактиви: 5% розчин сульфатної кислоти, біуретовий реактив, концентрований розчин аміаку, аміачний розчин аргентум нітрату, 1% спиртовий розчин α -нафтолу, концентрована сульфатна кислота, молібденовий реактив, 10% розчин натрій гідроксиду, реактив Фелінга.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки, лійка, марля для фільтрування, фарфорова ступка, плоскодонна колба із зворотним холодильником, спиртівка, водяна баня, терези з набором різноважок.

Хід роботи

У фарфорову ступку внести 1 г дріжджів, гомогенізувати у фарфоровій ступці при поступовому додаванні 25 мл 5% розчину сульфатної кислоти. 1 мл гомогенату перенести у пробірку і додати 1,0 мл 10% розчину натрій гідроксиду та 1,5 мл біуретового реактиву. Спостерігати за зміною забарвлення. Решту гомогенату перенести у плоскодонну колбу із зворотним холодильником і гідролізувати на киплячій водяній бані протягом 1 год. Після цього, гідролізат охолодити, довести дистильованою водою до початкового об'єму і профільтрувати через марлю, складену вдвоє.

Фільтрат використати для проведення якісних реакцій на наявність білка та складових компонентів нуклеїнових кислот.

а. Виявлення поліпептидів.

Хід роботи

До 1 мл фільтрату додати 1 мл 10% розчину натрій гідроксиду і 1,5 мл біуретового реактиву. Спостерігати за появою забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

б. Виявлення пуринових основ.

Принцип реакції. Пуринові основи при взаємодії з аміачним розчином аргентум нітрату утворюють осад срібних солей пуринових основ, забарвлений у світло-бурий колір:

Хід роботи

До 2 мл фільтрату по краплях додати концентрований розчин NH_4OH (до лужної реакції на лакмус) та 1 мл аміачного розчину аргентум нітрату. Спостерігати за утворенням осаду.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

в. Виявлення пентоз за реакцією Подобєдова-Моліша.

Принцип реакції. При взаємодії концентрованої сульфатної кислоти з пентозами проходить їх дегідратація з утворенням фурфуролу, який з тимолом або α -нафтолом за присутності концентрованої сульфатної кислоти дає продукти конденсації червоного або червоно-фіолетового кольору.

Хід роботи

У пробірку внести 1 мл фільтрату, додати 1 мл 1% спиртового розчину α -нафтолу і перемішати. Після цього обережно, не струшуючи, по стінці пробірки додати 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. Спостерігати за появою забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

г. Виявлення фосфатної кислоти.

Принцип реакції. Фосфатна кислота при нагріванні з молібденовим реактивом утворює триамонійфосфомолібдат, який при охолодженні випадає в вигляді жовтого осаду.

Хід роботи

До 1 мл фільтрату додати рівний об'єм молібденового реактиву. Суміш нагріти на спиртівці до кипіння. Спостерігати за розвитком забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Що являють собою нуклеопротейни?
2. Які компоненти утворюються при кислотному гідролізі рибо- і дезоксирибонуклеопротейнів?
3. З якою метою проводять гомогенізацію та кислотний гідроліз нуклеопротейнів?
4. На яких специфічних кольорових реакціях ґрунтується визначення складових компонентів нуклеопротейнів?

5. ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ. ТЕМА: ВИВЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ФЕРМЕНТІВ

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 178-188]; [2, с. 140-167]; [3, с. 102-113]; [4, с. 98-121]; [5, с. 74-93].

Додаткова: [2]; [4]; [5]; [6]; [8]; [9]; [10].

Методичні вказівки

1. При опрацюванні теоретичного матеріалу звернути увагу на хімічну природу ферментів, особливості їх як біокаталізаторів.
2. З'ясувати чим зумовлені загальні властивості ферментів.
3. Які особливості будови ферментів протеїнів і протеїдів?
4. Засвоїти поняття “субстрат”, види специфічності ферментів, вплив на активність ферментів температури та рН середовища.
5. При виконанні практичних робіт слідкувати за дотриманням умов проведення ферментативних реакцій (температура, концентрація ферменту, рН середовища та ін.) і правил техніки безпеки.
6. Оформити роботи, пояснити результати, записати висновки і виконати завдання для самоконтролю знань.

Теоретичні питання

1. Історія вивчення ферментів. Роботи К.С. Кірхгофа, О.Я. Данилевського, І.П. Павлова. Особливості ферментів як біокаталізаторів.

2. Спільні та відмінні риси між ферментами і неорганічними каталізаторами.
3. Хімічна природа ферментів. Докази їх білкової природи.
4. Прості та складні ферменти, особливості їх будови.
5. Поняття про активний та аллостеричний центр ферментів.
6. Одно- та багатоцентрові ферменти. Мультиферментні комплекси.
7. Ізоферменти. Особливості будови та функції.
8. Будова та функції кофакторів, їх особливості та роль у процесах біокаталізу.
9. Активатори ферментів та їх особливості.
10. Механізм дії ферментів.
11. Алостеричні ефектори, їх роль в метаболізмі.
12. Кінетика ферментативних реакцій.
13. Вплив температури на активність ферментів.
14. Вплив рН середовища на активність ферментів.
15. Процеси активації і гальмування ферментів. Утворення активних форм ферментів із проферментів, значення процесу.
16. Інгібітори та активатори ферментів. Конкурентне і неконкурентне гальмування ферментативної активності.
17. Специфічність ферментів, види специфічності.

Тестові завдання:

1. Доказом білкової природи ферментів є:

А. Здатність до осадження;	Б. Взаємодія з кислотами;
В. Висока молекулярна маса;	Г. Здатність до окиснення.
2. Спільними властивостями ферментів і неорганічних каталізаторів є:

А. Термолабільність;	Б. Залежність від ефекторів;
В. Специфічність дії;	
Г. Каталіз лише термодинамічно можливих реакцій;	
Д. Залежність від кількості субстрату.	
3. Прості ферменти складаються із:

А. Простетичної групи;	Б. Кофактора;
В. Поліпептидного ланцюга;	Г. Коферменту.
4. Який фермент володіє абсолютною специфічністю до субстрату:

А. Хімотрипсин;	Б. Папаїн;
В. Уреаза;	Г. Аргіназа;
Д. Лізоцим.	

4. Записати будову пантотенової кислоти та кофактора, до складу якого вона входить.
5. Записати будову флавінових кофакторів.
6. Записати будову кофакторів ферментів амінотрансфераз.
7. Визначити шифр ферментів гексокінази, ацетил-трансферази, аланін-амінотрансферази, піруватдегідрогенази.
8. Заповнити таблицю.

Назва кофактору	Будова кофактору	Біологічна роль	До складу яких ферментів входить	Приклади ферментативних реакцій

9. Записати схеми реакцій, які каталізують оксидоредуктази, трансферази, ліази, лігази, ізомерази.
10. Визначити шифр ферменту, який каталізує реакції за схемами та записати хімізм:
 - а) глюкоза → глюкозо-6-фосфат;
 - б) етиловий спирт → ацетальдегід.

1. ВИВЧЕННЯ ДІЇ ФЕРМЕНТІВ

РОБОТА № 1 ВИВЧЕННЯ ДІЇ АМІЛАЗИ

Принцип методу. α -Амілаза, що міститься у слині та секреті панкреатичної залози, це фермент, який каталізує реакцію гідролітичного розкладу крохмалю і глікогену до мальтози. Крохмаль з йодом дає синє забарвлення, а продукти його гідролізу (декстрини) залежно від ступеня гідролітичного розщеплення крохмалю за присутності йоду утворюють гаму забарвлення – від червоно-бурого до жовто-бурого. Мальтоза, як кінцевий продукт гідролітичного розкладу крохмалю і глікогену при дії α -амілази, з йодом не дає будь-якої кольорової реакції.

Матеріал для дослідження: розчин слини (1:5).

Реактиви: 0,5% розчин крохмалю, розчин Люголя, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки, мірний циліндр.

Хід роботи

У дві пробірки внести по 0,5 мл 0,5% розчину крохмалю. В першу (дослідну) додати 1 мл розчину слини, а у другу (контрольну) – 1 мл води. Через 15 хв. у кожен пробірку додати по 3 краплі розчину Люголя.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. До якого класу ферментів належить α -амілаза?
2. Які зв'язки в молекулі крохмалю розщеплює α -амілаза?
3. За допомогою якої якісної реакції виявляють наявність крохмалю?
4. Що таке декстрини? Яку кольорову реакцію вони дають з йодом?

РОБОТА № 2 ВИВЧЕННЯ ДІЇ ЛІПАЗИ

Принцип методу. Ліпаза прискорює розщеплення жиру на гліцерин і жирні кислоти, присутність яких можна виявити за зміною рН середовища.

Матеріал для дослідження: 5% розчин панкреатину в 1% розчині натрій гідрокарбонату, молоко.

Реактиви: 1% розчин натрій гідроксиду, 0,5% розчин фенолфталеїну, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки, термостат.

Хід роботи

У дві пробірки внести по 1 мл молока. В першу (дослідну) додати 0,5 мл 5% розчину панкреатину, у другу (контрольну) – 0,5 мл води. В кожен пробірку додати по 1-2 краплі 0,5% розчину фенолфталеїну і по краплях 1% розчин натрій гідроксиду до слабкорозового забарвлення (рН...8,0). Пробірки поставити в термостат при 38°C на 30 хв.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. До якого класу ферментів належить ліпаза?
2. На чому ґрунтується визначення дії ліпази?

3. Записати хімізм реакції розщеплення тристеарину під впливом ліпази.

РОБОТА № 3 ВИВЧЕННЯ ДІЇ ПЕРОКСИДАЗИ КРОВІ

Принцип методу. Пероксидаза прискорює реакцію окиснення органічних сполук за участю гідроген пероксиду. Зокрема, бензидин, під впливом пероксидази, окиснюється з утворенням сполуки помаранчевого кольору.

Матеріал для дослідження: кров.

Реактиви: 3% розчин гідроген пероксиду, 0,5% розчин бензидину в концентрованій ацетатній кислоті.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки.

Хід роботи

У дві пробірки внести по 1 мл 0,5% розчину бензидину і 2 мл 3% розчину гідроген пероксиду. В першу пробірку додати 1-2 краплі крові, у другу – 1-2 краплі води, перемішати. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. До якого класу ферментів належить пероксидаза?
2. Який механізм дії та біологічна роль пероксидази крові?
3. Яким чином можна виявити присутність ферменту?

2. ВИВЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ФЕРМЕНТІВ

РОБОТА № 1 ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРИ НА АКТИВНІСТЬ АМІЛАЗИ

Матеріал для дослідження: розчин слини (1:5).

Реактиви: 0,5% розчин крохмалю, розчин Люголя, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки, крижана баня, спиртівка, термостат.

Хід роботи

У чотири пронумеровані пробірки внести по 1 мл розчину слини. Першу пробірку залишити у штативі при кімнатній

температурі, другу поставити в термостат при 38°C, третю – на крижану баню, вміст четвертої прокип'ятити на спиртівці. Через 30 хв. в кожную пробірку додати по 2 мл 0,5% розчину крохмалю, перемішати і залишити в тих же умовах. Спостереження за ходом гідролітичного розкладу крохмалю провести за реакцією з розчином Люголя: проби з кожною пробірки брати на початку дослідження та через 2, 5, 10 і 15 хв. після додавання субстрату (на предметному скельці).

Результати спостереження записати в таблицю.

Номер пробірки	Температурний режим	Реакція з розчином Люголя через певні проміжки часу (у хв.)				
		0	2	5	10	15
1	15-20 °C					
2	38 °C					
3	0 °C					
4	100 °C					

Залежність активності амілази від температури показати на графіку.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. До якого класу ферментів належить амілаза?
2. Яким чином зміна температури впливає на активність амілази?
3. Як можна виявити зміну активності амілази?
4. Які значення температурного оптимуму для амілази?

РОБОТА № 2

ВПЛИВ рН СЕРЕДОВИЩА НА АКТИВНІСТЬ АМІЛАЗИ

Принцип методу. Вплив рН середовища на активність амілази визначають за зміною інтенсивності забарвлення розчину крохмалю з розчином Люголя внаслідок утворення декстринів.

Матеріал для дослідження: амілаза слини.

Реактиви: 0,5% розчин крохмалю, 1н розчин хлоридної кислоти, розчин Люголя.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки, термостат.

Хід роботи

У дві пробірки внести по 1 мл слини. В першу додати 1 мл 1н розчину хлоридної кислоти, у другу – 1 мл води. Через 5 хв. у кожную пробірку додати по 0,5 мл 0,5% розчину крохмалю і перемішати. Пробірки поставити в термостат при 37°C на 20 хв. Після чого додати по 3 краплі розчину Люголя. Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Чим пояснюється чутливість ферментів до рН середовища?
2. Яким чином зміна рН середовища впливає на активність амілази?
3. В яких межах значень рН лежить активність більшості ферментів? Чому?
4. При якому значенні рН активність ферментів мінімальна?

РОБОТА № 3 СПЕЦИФІЧНІСТЬ АМІЛАЗИ І САХАРАЗИ

Принцип методу. Амілаза каталізує гідролітичне розщеплення полісахариду крохмалю з утворенням мальтози, яка містить вільний глікозидний гідроксил, що зумовлює відновні властивості. На дисахариди амілаза не діє.

Фермент сахарازی каталізує гідролітичне розщеплення сахарози з утворенням β ,D-фруктози та α ,D-глюкози і не діє на полісахариди та інші дисахариди.

Матеріал для дослідження: розчин слини (1:5), препарат сахарازی.

Реактиви: 0,5% розчин крохмалю, 0,5% розчин сахарози, розчин Люголя, реактив Фелінга, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки, мірний циліндр, спиртівка, термостат.

Хід роботи

У дві пробірки внести по 3 мл 0,5% розчину крохмалю і додати: в першу – 1 мл розчину слини, що містить амілазу, у другу – 1 мл препарату сахарازی, перемішати і залишити у термостаті при 37°C на 10-15 хв.

У дві інші пробірки внести по 3 мл 0,5% розчину сахарози, в першу додати 1 мл препарату сахарازی, у другу – 1 мл розчину слини і залишити в тих же умовах.

Через 10-15 хв. у пробірки з крохмалем додати по 5-10 краплин розчину Люголя і спостерігати за зміною забарвлення.

У дві інші пробірки додати по 2 мл реактиву Фелінга і нагріти до кипіння. В цьому випадку дія ферменту виявляється за позитивною реакцією Фелінга: утворенням спочатку осаду жовтого кольору, який поступово змінює забарвлення на цегляно-червоне (реакція характерна для відновлюючих дисукрів).

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. До якого класу належать ферменти амілази і сахарози?
2. Який вид специфічності характерний для амілази і сахарози? Чому?
3. На чому ґрунтується виявлення дії амілази?
4. Яким чином виявляють дію сахарози?

РОБОТА № 4 СПЕЦИФІЧНІСТЬ ДІЇ УРЕАЗИ

Принцип методу. Фермент уреазы каталізує розщеплення сечовини на карбон (IV) оксид і аміак, що зумовлює зміну рН середовища, яке визначають за присутності фенолфталеїну.

На тіосечовину фермент уреазы не діє, тобто для нього характерною є абсолютна специфічність.

Матеріал для дослідження: препарат уреазы (соєва мука, подрібнене гарбузове насіння).

Реактиви: 5% розчин сечовини, 5% розчин тіосечовини, 0,1% розчин фенолфталеїну, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, шпатель, мірний циліндр, піпетки, термостат.

Хід роботи

У дві пробірки на кінчику шпателя внести препарат уреазы і по 5 крапель 0,1% розчину фенолфталеїну. В першу додати 1 мл 5% розчину сечовини, а у другу – 1 мл 5% розчину тіосечовини. Пробірки поставити в термостат при 20°С на 15 хв.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. До якого класу ферментів належить уреазы? Яка її біологічна роль?
2. Який вид специфічності характерний для уреазы? Чому?
3. Пояснити механізм дії уреазы.
4. Яким чином виявляють дію уреазы?

3. ДІЯ АКТИВАТОРІВ ТА ІНГІБІТОРІВ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ

РОБОТА № 1

ВПЛИВ АКТИВАТОРІВ ТА ІНГІБІТОРІВ НА АКТИВНІСТЬ АМІЛАЗИ

Активність амілази може змінюватися залежно від виду йонів присутніх у середовищі. Одні з них можуть активувати фермент, а інші пригнічувати його дію. Зокрема, протилежний вплив на активність амілази виявляють аніони хлоридної та сульфатної кислот.

Матеріал для дослідження: розчин слини (1:3).

Реактиви: 1% розчин натрій хлориду, 1% розчин купрум (II) сульфату, 1% розчин крохмалю, розчин Люголя, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки.

Хід роботи

У три пробірки внести по 3 мл розчину слини. В першу додати 2 краплі 1% розчину натрій хлориду, у другу – 2 краплі 1% розчину купрум (II) сульфату, у третю – одну краплю води. В кожну пробірку додати по 5 крапель 1% розчину крохмалю і залишити на 10-15 хв. при кімнатній температурі. Після цього у пробірки додати по 1-2 краплі розчину Люголя.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Які аніони є активаторами чи інгібіторами амілази?
2. Яким чином впливають активатори на активність ферментів?
3. Чому під впливом інгібіторів активність ферментів знижується?
4. Які є види гальмування ферментів?

РОБОТА № 2

ГАЛЬМУЮЧА ДІЯ ХЛОРИД-ІОНІВ НА ОКИСНЮВАЛЬНІ ФЕРМЕНТИ

До складу фруктів і овочів входять ферменти поліфенолоксидази, що каталізують реакції окиснення поліфенолів до хінонів, які зумовлюють потемніння зрізів рослинних тканин.

Матеріал для дослідження: свіже яблуко або картопля.

Реактиви: кристалічний натрій хлорид, кристалічний натрій йодид.

Обладнання: фільтрувальний папір, скальпель.

Хід роботи

Три шматочки яблука (картоплі) помістити на пронумеровані фільтрувальні папірці. На зріз першого нанести натрій хлорид, другого – натрій йодид, третій (контрольний) залишити без змін. Через 10-15 хв. спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. З якою метою на шматочки яблука (картоплі) наносили натрій хлорид і натрій йодид?
2. Які йони виявляють гальмуючу дію на окиснювальні ферменти?
3. Записати хімізм перетворення фенолів у хінони.

6. ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ. ТЕМА: ВІТАМІНИ. БУДОВА, ВЛАСТИВОСТІ, БІОЛОГІЧНА РОЛЬ

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 240-283]; [2, с. 173-199]; [3, с. 148-173]; [4, с. 399-417]; [5, с. 107-150].

Додаткова: [1]; [3]; [4]; [5]; [6]; [7]; [8]; [9]; [10].

Методичні вказівки

1. При опрацюванні теоретичного матеріалу звернути увагу на:
 - а) принципи класифікації вітамінів;
 - б) особливості будови і властивостей та біологічну роль водорозчинних і жиророзчинних вітамінів.
2. При виконанні практичних робіт дотримуватись правил техніки безпеки.
3. Оформити роботи, пояснити результати, записати висновки і виконати завдання для самоконтролю знань.

Теоретичні питання

1. Дати визначення поняття “вітаміни”, їх роль у процесах життєдіяльності.
2. Історія розвитку вчення про вітаміни. Роботи вітчизняних і зарубіжних вчених у галузі вітамінології.

3. Класифікація та номенклатура вітамінів. Особливості фізіологічної дії водорозчинних і жиророзчинних вітамінів.
4. Поняття про гіпо- та авітамінози, гіперавітамінози. Причини їх розвитку.
5. Поширення, хімічна природа і фізіологічна роль в організмі водорозчинних вітамінів та добова потреба людини в них.
6. Характеристика, будова і властивості водорозчинних вітамінів.
7. Будова, властивості та симптомокомплекси нестачі вітаміну В₁.
8. Арибофлавіноз, характерні ознаки.
9. Пелагра, причини розвитку, шляхи профілактики.
10. Ознаки відсутності вітаміну В₆. Будова і функції.
11. Антискорбутний вітамін. Історія вивчення, будова, функції.
12. Біотин. Будова і властивості.
13. Специфічні ознаки авітамінозів, викликані відсутністю або недостатньою кількістю в їжі водорозчинних вітамінів.
14. Поширення, хімічна природа та фізіологічна роль в організмі жиророзчинних вітамінів і добова потреба людини в них.
15. Характеристика, будова та властивості жиророзчинних вітамінів.
16. Специфічні ознаки авітамінозів, викликаних відсутністю або недостатньою кількістю в їжі жиророзчинних вітамінів.
17. Роль вітаміну А в акті зору.
18. Біологічно активні форми вітаміну А в організмі, їх роль в забезпеченні різноманітних функцій організму.
19. Утворення вітаміну А з попередників.
20. Форми вітаміну D, їх біологічна роль.
21. Утворення вітаміну D з попередників.
22. Вітамін К. Будова і властивості.
23. Токоферолі: будова, властивості, біологічна роль.
24. Убіхінон. Будова, біологічна роль.
25. Вітамін F: особливості будови, функції.
26. Вітаміноподібні сполуки: будова, властивості, функції.
27. Механізм впливу вітамінів на процеси обміну речовин в організмі.
28. Роль вітамінів у лікуванні захворювань.

Тестові завдання:

З наведених висловів вибрати правильні:

1. А.Вітамін В₁₂ широко поширений в тканинах вищих рослин;
Б. Вітамін В₂ – похідне каротинів;

- В. Вітамін Е – безбарвна масляниста рідина, добре розчинна в рослинних маслах, спирті, сірчаному та петролейному ефірах;
Г. Всі вітаміни групи К (без винятку) не розчинні у воді;
Д. Вікасол – безбарвний розчинний у воді дрібнокристалічний порошок.
2. А. Джерелом вітаміну Е для людини є рослинні масла, салат, зернові продукти, різні тваринні тканини, особливо жирова;
Б. Добова потреба у вітаміні В₆ для людини складає 2-4 мг;
В. Вітамін В₆ є похідним стеролів;
Г. Джерелом вітаміну С є переважно їжа рослинного походження.
3. А. Пангамова кислота – широко розповсюджена в природі сполука;
Б. Джерелом нікотинової кислоти є хліб, різні крупи, м'ясні продукти (особливо печінка), дріжджі;
В. Пангамова кислота являє собою маслянисту рідину;
Г. Головним джерелом вітаміну D є ягоди, овочі та фрукти;
Д. Природнім антагоністом вітаміну К є гепарин-гетерополісахарид, що продукується в тканинах печінки та легень, і затримує процес зворотного зв'язування крові.
4. А. Хімічну природу вікасолу встановлено в 1942 році А. В. Паладінім і його співробітниками;
Б. Антивітаміном пантотенової кислоти є пентоїлтаурин – антимікробна речовина;
В. Джерелом вітаміну Е є переважно фрукти;
Г. Вітаміни групи К, за винятком вікасолу, нерозчинні у воді, але добре розчиняються в петролейному ефірі, ацетоні, бензолі і спирті;
Д. Добова потреба у вітаміні А для дітей нижче, ніж для дорослих.
5. А. Вітамін К₃ – жовтуватий кристалічний порошок з температурою плавлення 150°C;
Б. Тіамін не вдалося одержати синтетично;
В. Добова потреба у вітаміні А для дорослих нижча, ніж для дітей;
Г. Антивітаміном тіаміну є дегідроксиіпрідоксин;
Д. Карнітин – похідне піридину.
6. А. Вітамерія полягає в тому, що фізіологічною дією, характерною для одного вітаміну, володіють декілька схожих за хімічною будовою сполук – вітамерів;
Б. Карнітин (вітамін В₇) – γ-триметиламінобутират;

- В. Біотин – похідне ізоалоксазину;
Г. Вітамін B_{12} – попередник ліпідів; д) вітамін F одержують з
льняної і соняшникової олії.
7. А. Всі вітаміни містять аміногрупу;
Б. Недостатнє надходження в організм вітамінів викликає
авітаміноз;
В. При відсутності вітамінів в їжі розвивається авітаміноз;
Г. Біотин в тканинах міститься переважно у зв'язаному з білком
стані;
Д. Інозит (біос I) – шестиатомний циклічний спирт – похідне
циклогексану (циклогексанол).
 8. А. Ендогенні гіповітамінози виникають при недостатньому
надходженні в організм того чи іншого вітаміну;
Б. На пантотенову кислоту багаті дріжджі, горох, рисові
висівки, молоко, яйця, печінка, серце, нирки;
В. Вітамін A_2 входить до складу зорового пурпуру родопсину;
Г. Вітамін A_1 входить до складу зорового пурпуру родопсину;
Д. Піритіамін – антивітамін тіаміну.
 9. А. Вітамін D широко використовується для підвищення
продуктивності птахів та великої рогатої худоби;
Б. Каротини широко розповсюджені і синтезуються в організмі
тварин;
В. Джерелом вітаміну D для людини є продукти рослинного
походження, в основному фрукти і ягоди;
Г. Інозит необхідний для росту мікроорганізмів, нормального
розвитку і життєдіяльності тварин;
Д. Вперше на важливу роль вітамінів як додаткових факторів
харчування вказав в 1881 році М. І. Лунін.
 10. А. Джерелом вітаміну D для людини є риб'ячий жир, вершкове
масло, жовток яйця, печінка тварин, молоко;
Б. Параамінобензойна кислота добре розчинна у воді, спирті,
ефірі;
В. Біотин міститься в продуктах рослинного і тваринного
походження;
Г. Вітамін U – похідне ізоалоксазину;
Д. Вітамін K – похідне піримідину.
 11. А. Головним джерелом вітаміну C є ягоди, фрукти та овочі;
Б. Антивітамін біотину – авідин;
В. Антивітамін вітаміну B_6 – піридин-3-сульфокислота;
Г. Вітамін A входить до складу зорового пурпуру прісноводних
риб – порфіропсину;

- Д. При недостатньому надходженні в організм вітамінів розвивається гіпоавітаміноз.
12. А. Вітамін D₂ можна отримати із плодів шипшини;
 - Б. Вітамін U міститься в листях капусти;
 - В. Основним депо вітаміну B₁₂ в організмі є печінка;
 - Г. Основне джерело вітаміну А – тваринні продукти;
 - Д. Фолієва кислота вперше була виділена із зерен пшениці.

Вправи :

1. Записати формулу ніотинової кислоти та її аміду. До складу якої біологічно активної сполуки входить нікотинамід? Будова і біологічна роль цієї речовини.
2. Будова і біологічна роль піридоксалю та піридоксаміну. З яким класом ферментів пов'язана їх біологічна роль, навести приклади.
3. Здійснити перетворення за схемою: аскорбінова кислота → дегідроаскорбінова кислота → щавлева кислота + треонова кислота .
4. Будова *n*-амінобензойної кислоти. До складу якої біологічно активної сполуки вона входить?
5. Записати рівняння реакції за поданою схемою:
β - каротин → 2 молекули ретинолу.
6. Записати будову ретинолу, ретиналю, ретиноєвої кислоти, ретинолацетату.
7. Здійснити перетворення: вітамін А – кислота → вітамін А – спирт; → вітамін А – альдегід, вітамін А – ефір.
8. Будова філохінонів (вітамін K₁, K₂ і K₃).
9. Яка будова α-, β- і γ-токоферолів.
10. Записати схеми реакцій, які пояснюють механізм участі убіхінону в окисно-відновних реакціях.
11. Будова 5,6,7,8-тетрагідрофолієвої кислоти. Пояснити роль фолатів в організмі.
12. Описати основні симптомокомплекси нестачі водорозчинних вітамінів (B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B_C, B₁₂, C і P).
13. Описати основні симптомокомплекси нестачі жиророзчинних вітамінів (A, D, E, K і F).
14. Добова потреба дорослої людини в ніотинової кислоті (7,5 мг) зменшується, якщо в їжі міститься велика кількість триптофану. Який з цього можна зробити висновок?

1. ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ЖИРОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ

Вітамін А (ретинол)

РОБОТА № 1 РЕАКЦІЯ ДРУММОНДА

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

Матеріал для дослідження: масляний розчин вітаміну А.

Реактиви: концентрована сульфатна кислота.

Обладнання: предметне скло, скляні палички.

Хід роботи

На сухе предметне скельце нанести 3 краплі масляного розчину вітаміну А і обережно додати 2 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Чим зумовлена реакція Друмонда?
2. Які властивості характерні для вітаміну А?
3. Що являє собою масляний розчин вітаміну А? Записати його будову.
4. Пояснити біологічну роль вітаміну А.
5. Записати біологічно активні форми вітаміну А.

РОБОТА № 2 РЕАКЦІЯ З ФЕРУМ (III) СУЛЬФАТОМ

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

Матеріал для дослідження: масляний розчин вітаміну А або риб'ячий жир.

Реактиви: концентрована ацетатна кислота насичена ферум (II) сульфатом, концентрована сульфатна кислота.

Обладнання: предметне скельце, скляні палички.

Хід роботи

На сухе предметне скельце нанести 2 краплі масляного розчину вітаміну А, обережно додати 3 краплі концентрованої ацетатної кислоти насиченої ферум (II) сульфатом і 1-2 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. За допомогою якої якісної реакції можна відрізнити каротин і вітамін А?
2. Які захворювання розвиваються при нестачі вітаміну А.
3. Чому добову потребу у вітаміні А виражають в інтернаціональних одиницях? Яке їх абсолютне значення?
4. Які межі рекомендованих норм добової потреби у вітаміні А.

РОБОТА № 3

ВИЯВЛЕННЯ НАЯВНОСТІ КАРОТИНОЇДІВ У БІОМАТЕРІАЛІ

Матеріал для дослідження: свіжа морква, пасерована в жирі морква, жовток курячого яйця.

Реактиви: ефір медичний, концентрована сульфатна кислота, дистильована вода.

Обладнання: фарфорова ступка, пробірки з пробками, піпетки, Шуттель-апарат, терези з набором різноважок.

Хід роботи

0,5 г подрібненої моркви внести у фарфорову ступку, додати 1 мл води і розтерти до гомогенного стану. Гомогенну масу перенести у пробірку, обережно (під тягою) додати 1 мл ефіру, закрити пробкою та поставити в Шуттель-апарат для струшування протягом 10 хв. Після розшарування суміші 0,5 мл верхнього ефірного шару перенести в чисту пробірку і провести реакцію Друмонда (обережно додати 3-4 краплі концентрованої сульфатної кислоти).

Реакцію Друмонда провести з морквою, пасерованою в жирі.

Виявити наявність вітаміну А в жовтку курячого яйця.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Що таке каротиноїди? Яка їх будова?
2. Яка будова α - і β -каротину? В чому різниця між ними?
3. Яким чином β -каротин перетворюється на вітамін А?
4. З якою метою проводили пасерування моркви в жирі?

Вітамін D₃ (холекальциферол)

РОБОТА № 1 РЕАКЦІЯ З АНІЛІНОМ

Принцип реакції. При нагріванні розчину вітаміну D₃ або риб'ячого жиру з сумішшю аніліну і концентрованої хлоридної кислоти розчин забарвлюється в червоний колір.

Матеріал для дослідження: масляний розчин вітаміну D₃ або риб'ячий жир.

Реактиви: хлороформ, анілінова суміш.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки, спиртівка.

Хід роботи

У суху пробірку внести 2 краплі масляного розчину вітаміну D або риб'ячого жиру, додати 10 крапель хлороформу, 2 краплі анілінової суміші, перемішати і нагріти. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Які властивості характерні для вітаміну D?
2. На чому ґрунтується якісне визначення вітаміну D в біоматеріалі?
3. Біологічна роль вітаміну D. Ознаки нестачі.

РОБОТА № 2 ВИЯВЛЕННЯ ЕРГОСТЕРОЛУ У ДРІЖДЖАХ

Принцип реакції. Ергостерол за будовою подібний до холестеролу, тому він дає характерну для нього реакцію з ацетангідридом і сульфатною кислотою, внаслідок чого утворюються сполуки синього або зеленого кольору.

Матеріал для дослідження: дріжджі.

Реактиви: хлороформ, концентрована сульфатна кислота, ацетангідрид.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи

У пробірку внести невелику кількість сухих дріжджів, додати 15-20 крапель хлороформу і ретельно перемішати. Отриманий екстракт профільтрувати. До фільтрату додати по 5 крапель ацетангідриду і концентрованої сульфатної кислоти. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Записати будову ергостеролу.
2. Назвіть відомі Вам рослинні стерини. Яка їх біологічна роль?
3. Записати хімізм реакцій утворення кальційтриолу. Пояснити його біологічну роль.

Вітамін Е (токофероли)

РОБОТА № 1

РЕАКЦІЯ З КОНЦЕНТРОВАНОЮ НІТРАТНОЮ КИСЛОТОЮ

Принцип реакції. α -токоферол з концентрованою нітратною кислотою утворює сполуку, забарвлену в червоний колір, так як продукт окиснення α -токоферолу має хіноїдну структуру. Цю реакцію використовують і для кількісного визначення α -токоферолу.

Матеріал для дослідження: 0,1% спиртовий розчин α -токоферолу.

Реактиви: концентрована нітратна кислота, кристалічна сахароза.

Обладнання: предметне скельце, штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи

Дослід 1. На сухе предметне скельце нанести 2 краплі розчину вітаміну Е, декілька кристалів сахарози і 2 краплі концентрованої нітратної кислоти. Спостерігати за появою забарвлення.

Дослід 2. В суху пробірку внести 5 крапель 0,1% спиртового розчину α -токоферолу і 1 мл концентрованої нітратної кислоти. При струшуванні утворюється емульсія, яка поступово змінює забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. На яких властивостях α -токоферолу ґрунтується його взаємодія з концентрованою нітратною кислотою?
2. Що являють собою вітамери вітаміну Е? Записати їх будову.
3. Які властивості характерні для вітаміну Е?

РОБОТА № 2
РЕАКЦІЯ З ФЕРУМ (III) ХЛОРИДОМ

Принцип реакції. α -токоферол окиснюється ферум (III) хлоридом до α -токоферилхінону, який має червоне забарвлення.

Матеріал для дослідження: 0,1% спиртовий розчин α -токоферолу.

Реактиви: 10% розчин ферум (III) хлориду.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 мл.

Хід роботи

У суху пробірку внести 0,5 мл 1% спиртового розчину α -токоферолу, додати 0,5 мл 10% розчину ферум (III) хлориду і старанно перемішати. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Пояснити принцип реакції взаємодії α -токоферолу з ферум (III) хлоридом?
2. Які якісні реакції характерні для токоферолу?
3. Чому вітамін Е називають антистерильним?
4. Які продукти харчування можуть забезпечити добову потребу в вітаміні Е?

Вітамін К (філохінони)

РОБОТА № 1
РЕАКЦІЯ ВІТАМІНУ К₃ З АНІЛІНОМ

Принцип реакції. Спиртовий розчин вітаміну К₃ (2-метил-1,4-нафтохінону) за присутності аніліну забарвлюється в червоний колір, що зумовлено утворенням 2-метил-3-феніламіно-1,4-нафтохінону та 2-метил-1,4-діоксинафталіну:

Матеріал для дослідження: 0,05% спиртовий розчин вікасолу.

Реактиви: розчин аніліну.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи

До 1 мл 0,05% розчину вікасолу додати 2 краплі розчину аніліну і перемішати. Рідина забарвлюється в червоний колір.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Чим зумовлена реакція взаємодії вітаміну К з аніліном?
2. Яка біологічна роль вітаміну К?
3. Які ознаки нестачі вітаміну К?

РОБОТА № 2
РЕАКЦІЯ З ЦИСТЕЇНОМ

Принцип методу. Вікасол за присутності цистеїну в лужному середовищі утворює комплекс, забарвлений у лимонно-жовтий колір.

Матеріал для дослідження: 0,1% водний розчин вікасолу.

Реактиви: 0,05% розчин цистеїну, 10% розчин натрій гідроксиду.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 мл.

Хід роботи

До 1 мл 0,1% водного розчину вікасолу додати 1 мл 0,05% розчину цистеїну і 0,5 мл 10% розчину натрій гідроксиду. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Які якісні реакції дають змогу виявити вітамін К в розчині?
2. Назвіть джерела вітаміну К. Яка добова потреба у цьому вітаміні?
3. Чим відрізняються вітамери вітаміну К? Запишіть їх будову.

2. ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВОДОРозчинні Вітаміни

Вітамін В₁ (тіамін)

РОБОТА № 1 РЕАКЦІЯ ОКИСНЕННЯ ТІАМІНУ ДО ТІОХРОМУ

Принцип реакції. Тіамін у лужному середовищі під впливом калій гексаціаноферату (III) перетворюється в тіохром, який за присутності ізобутилового спирту дає інтенсивно-синю флюоресценцію. Ця реакція дуже чутлива і специфічна. Вона використовується і для кількісного визначення тіаміну.

Матеріал для дослідження: 0,5% розчин тіаміну.

Реактиви: 1% розчин калій гексаціаноферату (III), 30% розчин натрій гідроксиду, ізобутиловий спирт.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр.

Хід роботи

До 1 мл розчину тіаміну додати 2 мл суміші 1% розчину калій гексаціаноферату (III) і 30% розчину натрій гідроксиду (1:1), добре перемішати та залишити на 3 хв. Тіохром екстрагувати 5 мл ізобутилового спирту енергійним і рівномірним струшуванням протягом 2 хв. Ізобутиловий екстракт тіохрому в ультрафіолетовій частині спектру дає інтенсивно-синю флюоресценцію.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Пояснити механізм реакції окиснення тіаміну до тіохрому?
2. Які ознаки нестачі вітаміну В₁?
3. В яких продуктах харчування міститься вітамін В₁ та які рекомендовані норми добової потреби в цьому вітаміні?

Вітамін В₂ (рибофлавін)

РОБОТА № 1 ВІДНОВЛЕННЯ РИБОФЛАВІНУ

Принцип реакції. Реакція зумовлена відновленням рибофлавіну спочатку в родофлавін (проміжну сполуку) червоного кольору, а потім у безбарвний лейкофлавін.

Матеріал для дослідження: 0,025% розчин рибофлавіну.

Реактиви: концентрована хлоридна кислота, цинк металічний.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи

У пробірку внести 1 мл розчину рибофлавіну, додати 0,5 мл концентрованої хлоридної кислоти і шматочок металічного цинку. У пробірці утворюються бульбашки водню, який відновлює рибофлавін, рідина поступово стає рожевою, а потім знебарвлюється.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Пояснити механізм участі рибофлавіну в реакціях оксидоредукції.
2. Записати хімізм утворення коферментної форми вітаміну В₂.
3. Вміст вітаміну В₂ в картоплі складає 0,15 мг%, у процесі приготування втрачається близько 1/3 вітаміну. Розрахувати кількість продуктів, яка може задовольнити добову потребу.

Вітамін В₅ (нікотинова кислота, нікотинамід)

РОБОТА № 1

РЕАКЦІЯ З КУПРУМ (II) АЦЕТАТОМ

Принцип реакції. При нагріванні нікотинової кислоти з розчином купрум (II) ацетату утворюється синій осад мідної солі нікотинової кислоти

Матеріал для дослідження: нікотинова кислота кристалічна.

Реактиви: 10% розчин ацетатної кислоти, 5% розчин купрум (II) ацетату.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, спиртівка, терези з набором ризноважок.

Хід роботи

У пробірку внести 5-10 мг нікотинової кислоти, довести до кипіння та розчинити при нагріванні у 2 мл 10% розчину ацетатної кислоти. Після чого додати рівний об'єм 5% розчину купрум (II) ацетату. Рідина стає каламутною і забарвлюється у блакитний колір, а при відстоюванні випадає осад синього кольору.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Пояснити механізм реакції взаємодії вітаміну РР з купрум (II) ацетатом.
2. Яка будова нікотинової кислоти та її біологічна роль?
3. В яких продуктах харчування міститься вітамін РР?

РОБОТА № 2 РЕАКЦІЯ З НАТРІЙ КАРБОНАТОМ

Принцип реакції. При нагріванні нікотинової кислоти з натрій карбонатом утворюється піридин, який має специфічний різкий запах.

Матеріал для дослідження: нікотинова кислота кристалічна.

Реактиви: безводний натрій карбонат.

Обладнання: фарфоровий тигель, електрична плитка.

Хід роботи

Роботу виконувати під тягою!

У фарфоровому тиглі змішати нікотинову кислоту з безводним натрій карбонатом і нагріти.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Чим зумовлена поява запаху піридину?
2. Яка систематична назва вітаміну РР?
3. Яким чином можна запобігти розвитку РР-авітамінозу?

РОБОТА № 3 ВІДМІННІСТЬ МІЖ НІКОТИНОВОЮ КИСЛОТОЮ І НІКОТИНАМІДОМ

Принцип реакції. При нагріванні нікотинаміду з лугом виділяється аміак, який змінює колір лакмусового папірця.

Матеріал для дослідження: нікотинова кислота кристалічна, нікотинамід кристалічний.

Реактиви: 10% розчин натрій гідроксиду, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки, спиртівка, лакмусовий папірець.

Хід роботи

Взяти дві пробірки: в одну внести невелику кількість нікотинової кислоти, у другу – нікотинамід. В кожную пробірку додати по 2 мл води та 1 мл 10% розчину натрій гідроксиду, перемішати і нагріти до кипіння. До отвору пробірок прилаштувати змочений водою лакмусовий папірець. Спостерігати за зміною його кольору.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Пояснити різницю в будові і властивостях нікотинової кислоти та нікотинамід.
2. Записати будову нікотинової кислоти і нікотинамід.
3. Записати хімізм реакції амідування нікотинової кислоти.

Вітамін В₆ (піридоксин)

РОБОТА № 1

РЕАКЦІЯ З ФЕРУМ (III) ХЛОРИДОМ

Принцип реакції. При взаємодії піридоксину з розчином ферум (III) хлориду утворюється комплексна сполука червоного кольору.

Матеріал для дослідження: 5% водний розчин піридоксину.

Реактиви: 5% розчин ферум (III) хлориду.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 мл.

Хід роботи

До 1 мл 5% розчину піридоксину додати 0,5 мл 5% розчину ферум (III) хлориду і перемішати. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Яка будова та властивості вітаміну В₆?
2. На чому ґрунтується участь вітаміну В₆ в метаболічних реакціях організму?
3. Які ознаки нестачі вітаміну В₆ та добова потреба у цьому вітаміні?

Вітамін В₁₂ (ціанкобаламін)

РОБОТА № 1 ВИЯВЛЕННЯ КОБАЛЬТУ У СКЛАДІ ВІТАМІНУ В₁₂

Принцип методу. При нагріванні вітаміну В₁₂ з калій гідросульфідом або при дії сильного окисника відбувається його руйнування. Кобальт, який вивільняється за цих умов, можна виявити за допомогою α -нітрузо- β -нафтолу, з яким він утворює комплексну сполуку оранжево-червоного кольору. При високій концентрації цієї солі вона може утворювати осад яскраво-червоного кольору.

Матеріал для дослідження: аптечний препарат вітаміну В₁₂.

Реактиви: I. Концентрована нітратна кислота, концентрована хлоридна кислота, 1% ацетоновий розчин α -нітрузо- β -нафтолу, 10% розчин натрій гідрофосфату, дистильована вода.

II. Концентрована сульфатна кислота, гідроген пероксид, 10% розчин тіосечовини, дистильована вода.

Обладнання: мірний циліндр, піпетки, фарфоровий тигель, піщана баня, спиртівка, лакмусовий папір, смужки фільтрувального паперу.

Хід роботи

Дослід 1. Половину вмісту ампули з розчином вітаміну В₁₂ внести у фарфоровий тигель, випарити до утворення сухого залишку і прожарити. Після охолодження додати 1 мл концентрованої нітратної кислоти, 3 мл концентрованої хлоридної кислоти та прокип'ятити до повного випаровування рідини. Після охолодження залишок розчинити у 2 краплях води, додати 1 краплю 1% ацетонового розчину α -нітрузо- β -нафтолу і по краплях 10% розчин калій гідрофосфату до слабколужної реакції (за лакмусом). За наявності кобальт-(3+)-іонів з'являється червоно-буре забарвлення, якщо вони відсутні – забарвлення жовто-зелене.

Дослід 2. Вміст ампули з розчином вітаміну В₁₂ внести у фарфоровий тигель, додати 10 крапель концентрованої сульфатної кислоти та поставити на піщану баню на 10 хв. Потім додати 2 краплі гідроген пероксиду – рідина знебарвлюється. Після знебарвлення рідини в тигель додати 1 мл води. Після цього на смужку фільтрувального паперу нанести краплю 10% розчину тіосечовини, підсушити і на те ж саме місце нанести 2 краплі одержаного мінералізату. Спостерігати появу забарвлення.

Пояснити результати дослідів та записати висновки.

Дати відповіді на запитання

1. Яка будова вітаміну B_{12} ? Чим він відрізняється від інших вітамінів?
2. Яка біологічна роль вітаміну B_{12} в організмі?
3. Які ознаки нестачі вітаміну B_{12} , причини?

Вітамін С (аскорбінова кислота)

РОБОТА № 1

РЕАКЦІЯ З МЕТИЛЕНОВИМ СИНІМ

Принцип реакції. Реакція ґрунтується на відновлюючих властивостях аскорбінової кислоти. Під дією аскорбінової кислоти розчин метиленового синього знебарвлюється.

Матеріал для дослідження: 0,1% розчин аскорбінової кислоти.

Реактиви: 0,01% розчин метиленового синього, 10% розчин натрій карбонату, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки, спиртівка.

Хід роботи

У дві пробірки внести по 1 краплі 0,01% розчину метиленової сині і 10% розчину натрій карбонату. В першу пробірку додати 5 крапель 0,1% розчину аскорбінової кислоти, у другу – 5 крапель води і одночасно нагріти обидві пробірки. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Похідним якої сполуки є вітамін С?
2. Записати схему зворотного і незворотного окиснення вітаміну С.
3. Які рекомендовані норми добової потреби у вітаміні С?

РОБОТА № 2

РЕАКЦІЯ З КАЛІЙ ГЕКСАЦІАНОФЕРАТОМ (III)

Принцип реакції. Аскорбінова кислота відновлює калій гексаціаноферат (III) в калій гексаціаноферат (II), який з ферум (3+)-іонами дає сіль $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$ синього або синьо-зеленого кольору:

Матеріал для дослідження: 0,1% розчин аскорбінової кислоти.

Реактиви: 1% розчин калій гексаціаноферату (III), 1% розчин ферум (III) хлориду.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 мл.

Хід роботи

До 1 мл розчину аскорбінової кислоти додати 1 мл 1% розчину калій гексаціаноферату (III) і 0,5 мл 1% розчину ферум (III) хлориду. Спостерігати зміну забарвлення, внаслідок утворення калій гексаціаноферату (II).

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. На яких властивостях аскорбінової кислоти ґрунтується реакція з калій гексаціанофератом (III)?
2. Записати хімізм реакції взаємодії аскорбінової кислоти з калій гексаціанофератом (III).
3. Яка кількість квашеної капусти може забезпечити добову потребу людини у вітаміні С, якщо вона містить 18,4 мг% цього вітаміну?

РОБОТА № 3

РЕАКЦІЯ З РОЗЧИНОМ ЛЮГОЛЯ

Принцип реакції. Аскорбінова кислота знебарвлює розчин Люголя в результаті відновлення йоду до гідроген йодиду.

Матеріал для дослідження: 1% розчин аскорбінової кислоти.

Реактиви: розчин Люголя, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки.

Хід роботи

У дві пробірки внести по 0,5 мл дистильованої води і 2-3 краплі розчину Люголя. В одну пробірку додати 0,5 мл дистильованої води, у другу – 0,5 мл 1% розчину аскорбінової кислоти. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Які властивості характерні для вітаміну С?
2. За яких умов проходить руйнування вітаміну С? Записати хімізм реакції.

3. Які продукти харчування можуть забезпечити добову потребу в вітаміні С і в якій кількості?

3. КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНІВ

РОБОТА № 1

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ В РОСЛИННОМУ БІОМАТЕРІАЛІ ЗА МЕТОДОМ ТІЛЬМАНСА

Принцип методу. Метод ґрунтується на здатності вітаміну С відновлювати 2,6-дихлорфеноліндофенол з утворенням безбарвної сполуки. Вміст вітаміну С визначають титриметричним методом. В еквівалентній точці надлишкова крапля розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу забарвлює суміш в рожевий колір.

Матеріал для дослідження: картопля, яблука, свіжа і кисла капуста, цибуля, лимон, хвоя, шипшина.

Реактиви: 0,001н розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу (реактив Тільманса), 2% розчин хлоридної кислоти, дистильована вода.

Обладнання: ступки, кварцевий пісок, скляні палички, колбочки на 50-100 мл, лійки, вата для фільтрування, хімічні стакани на 20 мл, піпетки на 5 мл, мікробюретка, терези з набором різноважок.

Хід роботи

5 г біоматеріалу розтерти у ступці з невеликою кількістю кварцевого піску при поступовому додаванні 9 мл 2% розчину хлоридної кислоти. Отриману витяжку профільтрувати через вату. До 3 мл фільтрату додати 2-5 мл води і відтитрувати з мікробюретки 0,001 н розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу до появи рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 30 сек.

Розрахунок вмісту аскорбінової кислоти в рослинному біоматеріалі провести за формулою, враховуючи що 1 мл 0,001н розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу відповідає 0,088 мг аскорбінової кислот:

$$X = \frac{0,088 \cdot a \cdot V \cdot 100}{v \cdot C} \text{ мг\%, де}$$

a – кількість 0,001н розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу, використаного на титрування, мл;

V – загальний об'єм фільтрату, мл;

V – кількість фільтрату, взятого для титрування, мл;

C – наважка біоматеріалу, г.

Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. У чому суть кількісного визначення аскорбінової кислоти за методом Тільманса?
2. Які етапи визначення кількості вітаміну С в рослинному біоматеріалі?
3. Що таке гомогенізація?

РОБОТА № 2
**КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНУ С У МОЛОЦІ
ЗА МЕТОДОМ ТІЛЬМАНСА**

Матеріал для дослідження: незбиране молоко.

Реактиви: 0,001н розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу (реактив Тільманса), 2% розчин хлоридної кислоти, дистильована вода.

Обладнання: колбочки на 50-100 мл, піпетки на 1 і 5 мл, мікробюретка.

Хід роботи

5 мл молока розвести водою у 3 рази (1ч. молока і 2ч. дистильованої води).

Взяти три конічні колби (дві дослідні і одну контрольну). В дослідні колби внести по 1 мл 2% розчину хлоридної кислоти і 5 мл розведеного молока, в контрольну – 1 мл 2% розчину хлоридної кислоти та 5 мл дистильованої води. Вміст колб перемішати і відтитрувати 0,001н розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу до появи рожевого забарвлення.

Розрахунок вмісту аскорбінової кислоти в молоці провести за формулою:

$$X = \frac{N \cdot k \cdot 0,088 \cdot k_1 \cdot 100}{C} \text{ мг\%, де}$$

N – кількість 0,001н розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу, використаного на титрування, мл;

k – коефіцієнт нормальності розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу;

k₁ – коефіцієнт розведення молока;

C – кількість розведеного молока, взятого для титрування, мл.

Приклад розрахунку.

$$X = \frac{\left(\frac{1,42 + 1,46}{2} - 0,04 \right) \cdot 0,988 \cdot 0,088 \cdot 3 \cdot 100}{5} = 7,3 \text{ мг \%}, \text{ де}$$

- 1,42 – кількість розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу, використаного на титрування 1-ої дослідної проби, мл;
 1,46 – кількість розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу, використаного на титрування 2-ої дослідної проби, мл;
 0,04 – кількість розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу, використаного на титрування контрольної проби, мл.
 Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Для чого проводять розведення молока?
2. Розрахувати яка кількість молока необхідна для задоволення добової потреби у вітаміні С.
3. На чому ґрунтується принцип методу?

РОБОТА № 3 КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНУ С В СЕЧІ

Принцип методу. Метод ґрунтується на здатності вітаміну С відновлювати реактив Тільманса в кислому середовищі. Уринарна екскреція вітаміну С дає уяву про забезпечення організму вітаміном С протягом певного періоду. Погодинна уринарна екскреція вітаміну С визначається за методом А.Железнякової.

І спосіб

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: 0,001н розчин натрієвої солі 2,6-дихлорфеноліндофенолу (реактив Тільманса), 5% розчин ацетатної кислоти, дистильована вода.

Обладнання: конічні колби на 50-100 мл, піпетки на 2 мл, мікробюретка.

Хід роботи

У дві колби внести по 2 мл 5% розчину ацетатної кислоти. В першу (дослідну) додати 2 мл профільтрованої сечі, у другу (контрольну) – 2 мл дистильованої води. Вміст колб відтитрувати 0,001н розчином натрієвої солі 2,6-дихлорфеноліндофенолу.

Розрахунок вмісту аскорбінової кислоти в сечі, зібраної натще, провести за формулою:

$$X = \frac{(a - b) \times K \times 0,088 \times v}{4 \times c} \text{ (мг), де}$$

X – кількість аскорбінової кислоти, що виділилася з сечею за 1 год., мг;

a – кількість індикатора, використаного на титрування сечі, мл;

b – кількість індикатора, використаного на титрування розчину в контрольному досліді, мл;

K – поправка до титру (див. додаток 10.);

v – об'єм зібраної сечі, мл;

0,088 – кількість аскорбінової кислоти (в мг), яка відповідає 1 мл 0,001M розчину натрієвої солі 2,6-дихлорфеноліндофенолу;

4 – об'єм розчину, що використовується на титрування;

c – проміжок часу між двома сечовиділеннями, год.

II спосіб

Досліджуваний матеріал: сеча.

Матеріали та реактиви: концентрована ацетатна кислота, 0,001n розчин натрієвої солі 2,6-дихлорфеноліндофенолу.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки, конічні колби, мікробюретки.

Хід роботи

Зафіксувати час першого ранішнього сечовиділення. Потім через 0,5-1 год. до прийому їжі зібрати сечу і визначити її об'єм.

У конічну колбу на 100 мл внести піпеткою 0,4 мл концентрованої ацетатної кислоти, 4 мл досліджуваної сечі, 10,6 мл дистильованої води та відтитрувати 0,001n розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу до появи рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 30 сек.

Паралельно з дослідною пробою обробити контрольну: до 0,4 мл концентрованої ацетатної кислоти додати 14,6 мл дистильованої води і відтитрувати до появи рожевого забарвлення.

Розрахунок вмісту аскорбінової кислоти в сечі провести за формулою:

$$X = \frac{(a - b) \cdot K \cdot 0,088 \cdot V}{V_1 \cdot t} \text{ (мг), де}$$

X – погодинна уринарна екскреція аскорбінової кислоти, мг/год.

- a – кількість індикатора, використаного на титрування сечі (середнє значення двох проб), мл;
 b – кількість індикатора, використаного на титрування контрольної проби, мл;
 K – поправка на титр розчину індикатора (див. додаток 5);
 V – об'єм зібраної сечі, мл;
 $0,088$ – кількість аскорбінової кислоти (в мг), що відповідає 1 мл 0,001н розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу;
 V_1 – об'єм сечі, взятої на титрування, мл;
 t – проміжок часу між двома сечовиділеннями, год.
Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Яке діагностичне значення має визначення вмісту вітаміну С в сечі?
2. Яке значення має визначення рівня погодинної уринарної екскреції вітаміну С?
3. Який рівень погодинної уринарної екскреції вітаміну С:
 - а) при забезпеченні організму вітаміном С;
 - б) при С-гіповітамінозах та С-гіпервітамінозах.

РОБОТА № 4
**КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНУ Р (РУТИНУ)
ЗА МЕТОДОМ ЛЕВЕНТАЛЯ**

Принцип методу. Визначення рутину ґрунтується на його здатності окиснюватись калій перманганатом. Як індикатор у цій реакції використовується індигокармін (білий індиго), який вступає в реакцію з калій перманганатом після того, як окисниться весь рутин. Доведено, що 1 мл 0,1н розчину калій перманганату окиснює 6,4 мкг рутину. При окисненні білий індиго змінює забарвлення, яке переходить в світло-жовте, червоно-фіолетове, фіалково-синє (синій індиго).

Матеріал для дослідження: екстракт чаю.

Реактиви: розчин індигокарміну, 0,05н розчин калій перманганату, гаряча дистильована вода.

Обладнання: конічні колби на 50-100 мл, піпетки на 10 мл, мікробюретка, терези з набором різноважок, електрична плитка.

Хід роботи

100 мг чаю екстрагувати в 50 мл гарячої води протягом 5 хв. У конічну колбу внести 10 мл екстракту, додати 10 мл води, 10 крапель розчину індигокарміну, перемішати і відтитрувати 0,05н розчином калій перманганату до появи стійкого жовтого забарвлення.

Розрахунок вмісту рутину провести за формулою:

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

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

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

0,1 – наважка чаю, г;

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

50 – загальний об'єм екстракту, мл;

100 – коефіцієнт переведення у відсотки;

1000 – коефіцієнт переведення мікрограмів у міліграми.

Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. До якої групи вітамінів належить рутин?
2. З яким іншим водорозчинним вітаміном пов'язана біологічна функція рутину?
3. Який препарат рутину використовується в медицині? Пояснити чому?

ТЕМИ ВИНЕСЕНІ НА САМОСТІЙНЕ ОПРАЦЮВАННЯ

ТЕМА 1. СКЛАД, БУДОВА ТА ВЛАСТИВОСТІ ЦУКРИДІВ

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 208-229]; [2, с. 17-42]; [3, с. 306-328]; [4, с. 57-71].

Додаткова: [4]; [5]; [6]; [8]; [9].

Методичні рекомендації

1. При опрацюванні теоретичних питань звернути увагу на особливості будови та функцій вуглеводів.

2. З'ясувати принципи класифікації вуглеводів на основі біологічних та фізико-хімічних властивостей і складу.
3. Розглянути будову моно-, ди- та поліцукрів.
4. Звернути увагу на особливості гомо- і гетерополіцукрів. Дати характеристику окремих представників гомо- та гетерополіцукрів.
5. Виконати тестові завдання і вправи.

Теоретичні питання

1. Загальна характеристика моноцукрів.
2. Які особливості характерні для моноцукрів?
3. Фізико-хімічні властивості та способи отримання моноцукрів.
4. Ізомерія моноцукрів.
5. Поняття про оптичну і структурну ізомерію.
6. Які сполуки називають епімерами?
7. Туатомерні форми цукрів, їх характеристика.
8. На яких властивостях цукрів ґрунтується їх класифікація?
9. Похідні моноцукрів.
10. Характеристика окремих представників моноцукрів. Їх біологічна роль.
11. Записати будову глюкози, галактози, фруктози. Вказати біологічну роль.
12. Охарактеризувати похідні моноцукрів.
13. Біологічна роль аміноцукрів.
14. Олігоцукри.
15. Які цукри називають дицукрами?
16. Яка властивість дицукрів покладена в основу їх класифікації?
17. Відновлюючі і невідновлюючі цукри, особливості будови, властивості.
18. Характеристика окремих представників олігоцукрів.
19. Записати будову сахарози, мальтози, лактози, трегалози, целобіози, рафінози та стахіози.
20. Поліцукри: будова, властивості, біологічна роль.
21. Що таке гомо- та гетерополіцукри?
22. Будова крохмалю і глікогену.
23. Біологічна роль глікогену.
24. Целюлоза: будова, властивості, функції.
25. Характеристика окремих представників гомо- та гетерополіцукрів.

Завдання для самоконтролю знань

1. Як виникла назва “вуглеводи”?
2. Яким чином розрахувати кількість оптичних ізомерів моноцукру?
3. Чи збігається напрям обертання променя поляризованого світла із стереоструктурою моноцукрів?
4. Що таке D- та L-форми моноцукрів?
5. Що являють собою проекційні формули Хеуорса? Який їх недолік?
6. Які формули моноцукрів компенсують недоліки проекційних формул Хеуорса?
7. Які типи конфігурації більш стійкі – крісла чи човна? Чому?
8. Як називаються типи циклічних структур моноцукрів?
9. Яку назву має гідроксил, що утворюється з альдегідної (альдоз) або кетогрупи (кетоз)?
10. Якими властивостями володіє глікозидний гідроксил?
11. Як називаються α - та β -форми моноцукрів?
12. Що таке амінопохідні моноцукрів? Їх значення.
13. Яким додатковим модифікаціям піддаються аміноцукри?
14. Чи відомі фосфорильовані похідні аміноцукрів?
15. Що характерно для дицукрів типу глікозидо-глюкозидів (трегалози)?
16. Пояснити поняття “інвертний цукор”.
17. Чи зброджується сахароза?
18. Пояснити що таке редукуючі і нередукуючі цукри. Якими властивостями вони володіють?
19. Пояснити найважливіші фізико-хімічні властивості фруктози і глюкози.
20. Охарактеризувати трегалозу, лактозу і целобіозу.
21. Яку будову має рафіноза? Біологічна роль.
22. Що являють собою аміноцукри?
23. Яким чином утворюються ацетилпохідні аміноцукрів?
24. Що являють собою сахарні кислоти?
25. Охарактеризувати глюконову кислоту.
26. Які ви знаєте найбільш поширені уронві кислоти?
27. Охарактеризувати альдарову кислоту.
28. Що являє собою галактуринова кислота? Її біологічна роль.
29. Охарактеризувати трицукор меліцитозу.
30. На яких властивостях цукрів ґрунтується їх взаємодія з купрум (II) гідроксидом?
31. В чому полягає суть реакції “срібного дзеркала”?

32. Що таке інулін; камеді?
33. Охарактеризувати геміцелюлозу. Як класифікують геміцелюлози?
34. Що таке пектинові речовини? Їх біологічна роль.
35. Охарактеризувати мукополісахариди.
36. Дати характеристику основним представникам мукополісахаридів.
37. Що таке агар-агар? Які його властивості?
38. Які функції виконує хондроїтинсульфатна кислота? Її будова.

Тестові завдання:

1. Вкажіть, на які три групи поділяють вуглеводи:
 - А. Моносахариди, полісахариди, кетогексози;
 - Б. Дисахариди, альдогексози, моносахариди;
 - В. Моносахариди, олігосахариди, полісахариди;
 - Г. Полісахариди, дисахариди, пентози.
2. Яка загальна формула відповідає моносахаридам:
 - А. $C_nH_{3n}O_n$;
 - Б. $C_nH_{2n}O_{3n}$;
 - В. $C_{2n}H_nO_n$;
 - Г. $C_nH_{2n}O_n$.
3. Яка із названих сполук належить до моносахаридів:
 - А. Глікоген;
 - Б. Лактоза;
 - В. Фруктоза;
 - Г. Сахароза.
4. Яка із названих сполук належить до пентоз:
 - А. Галактоза;
 - Б. Рибоза;
 - В. Маноза;
 - Г. Лактоза.
5. Яка із названих сполук належить до гексоз:
 - А. Ксилоза;
 - Б. Арабіноза;
 - В. Маноза;
 - Г. Ксилулоза.
6. Яка із названих сполук належить до альдогексоз:
 - А. Маноза;
 - Б. Фруктоза;
 - В. Рибоза;
 - Г. Ксилоза.
7. Яка із названих сполук належить до кетогексоз:
 - А. Глюкоза;
 - Б. Маноза;
 - В. Галактоза;
 - Г. Фруктоза.
8. Вкажіть назву сполуки, яка побудована лише із залишків глюкози:
 - А. Сахароза;
 - Б. Лактоза;
 - В. Мальтоза;
 - Г. Хітин.
9. Вкажіть назву сполуки, до складу якої входить фруктоза:
 - А. Лактоза;
 - Б. Мальтоза;
 - В. Сахароза;
 - Г. Крохмаль.
10. Вкажіть групу вуглеводів, яку відносять до дисахаридів:
 - А. Маноза, крохмаль, фруктоза;
 - Б. Глікоген, клітковина, рибоза;
 - В. Лактоза, мальтоза, сахароза;
 - Г. Галактоза, рибоза, дезоксирибоза.
11. Які моносахариди утворюються при гідролізі сахарози?
 - А. Глюкоза і галактоза;
 - Б. Фруктоза і маноза;
 - В. Дві молекули глюкози;
 - Г. Глюкоза і фруктоза.

12. Вкажіть групу вуглеводів, яка належать до полісахаридів:
А. Крохмаль, сахароза, лактоза;
Б. Мальтоза, фруктоза, клітковина;
В. Целобіоза, клітковина, сахароза;
Г. Клітковина, крохмаль, глікоген.
13. Вкажіть групу полісахаридів, мономером яких є лише глюкоза:
А. Крохмаль, гіалуринова кислота, гепарин;
Б. Хондроїтинсірчана кислота, клітковина, гіалуринова кислота;
В. Клітковина, крохмаль, глікоген;
Г. Гепарин, клітковина, гіалуринова кислота.
14. Який із перерахованих полісахаридів має розгалужену будову:
А. Целюлоза; Б. Амілопектин; В. Амілоза; Г. Глікоген.
15. Які із вказаних вуглеводів є гетерополісахаридами:
А. Глікоген; Б. Гепарин; В. Клітковина; Г. Крохмаль.

Вправи:

1. Записати структурні формули моноцукрів (глюкоза, галактоза, маноза, фруктоза).
2. Записати структурні формули дицукрів (лактоза, мальтоза, сахароза).
3. Записати будову поліцукридного ланцюга крохмалю і глікогену.
4. Записати будову оптичних ізомерів моноцукрів (енантіомери, діастереоізомери).
5. Записати схему утворення глікозидних зв'язків у молекулах ди- і поліцукрів.
6. Будова аномерів глюкози.
7. Особливості структурної ізомерії, приклади.

ТЕМА 2. СКЛАД, БУДОВА І ВЛАСТИВОСТІ ЛІПІДІВ

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 230-240]; [2, с. 43-55]; [3, с. 370-386]; [4, с. 72-85]; [5, с. 348-357].

Додаткова: [4]; [5]; [6]; [8]; [10].

Методичні рекомендації

1. При опрацюванні теоретичного матеріалу звернути увагу на особливості компонентного складу та особливості будови ліпідів.

2. З'ясувати принципи класифікації ліпідів на основі біологічних та фізико-хімічних властивостей і складу.
3. Розглянути будову простих ліпідів, жироподібних сполук та складних ліпідів.
4. Звернути увагу на особливості моноацидних і гетероацидних жирів та роль жирних кислот у визначенні фізико-хімічних властивостей жирів.
5. Дати характеристику основних представників простих і складних ліпідів.
6. Виконати тестові завдання і вправи.

Теоретичні питання

1. Загальна характеристика класу ліпідів, їх біологічна роль.
2. Класифікація ліпідів за біологічними та фізико-хімічними властивостями.
3. Характеристика жирних кислот, які входять до складу ліпідів. Особливості жирнокислотного складу рослинних і тваринних жирів.
4. Моноацидні та гетероацидні жири. Будова і функції.
5. Фізичні властивості жирів (розчинність, щільність, емульгування, температура плавлення).
6. Хімічні властивості жирів (омилення, гідроліз, гідрування, полімеризація).
7. Характеристика простих жирів, будова, властивості і біологічна роль.
8. Діольні ліпіди, будова, властивості.
9. Характеристика складних ліпідів. Класифікація, будова, властивості та біологічна роль складних ліпідів.
10. Стерини і стериди: будова, властивості та біологічна роль.
11. Воски.
12. Орнітоліпіди.
13. Характеристика природних жирів та олій. Висихаючі і невисихаючі масла.
14. У чому відмінність між твердим і рідким жиром?

Тестові завдання

1. Що являють собою ліпіди (жири і жироподібні речовини):
 А. Високомолекулярні органічні сполуки добре розчинні у воді;
 Б. Високомолекулярні органічні сполуки добре розчинні в органічних розчинниках;

- В. Низькомолекулярні органічні сполуки добре розчинні в органічних розчинниках;
Г. Низькомолекулярні органічні сполуки добре розчинні у воді.
2. На які три групи поділяють ліпіди:
 - А. Прості, складні, похідні ліпідів;
 - Б. Складні, жироподібні, воски;
 - В. Тригліцериди, фосфоліпіди, стериди;
 - Г. Гліколіпіди, фосфоліпіди, жирні кислоти.
 3. Гліцериди (нейтральні жири) побудовані з:
 - А. Двохатомного спирту етиленгліколю і вищих жирних кислот;
 - Б. Трьохатомного спирту гліцерину і вищих жирних кислот;
 - В. Трьохатомного спирту гліцерину і фосфорної кислоти;
 - Г. Одноатомного спирту етанолу і вищої жирної кислоти.
 4. Які із вказаних жирних кислот є ненасиченими:
 - А. Пальмітинова, масляна, капронова;
 - Б. Арахідонова, олеїнова, лінолева;
 - В. Арахісова, пальмітинова, стеаринова;
 - Г. Бегенова, капронова, пальмітинова.
 5. Що показує йодне число жиру?
 - А. Вміст насичених жирних кислот;
 - Б. Вміст вільних жирних кислот;
 - В. Кислотність жиру;
 - Г. Кількість ненасичених жирних кислот.
 6. Що показує кислотне число жиру?
 - А. Кількість зв'язаних жирних кислот;
 - Б. Кількість вільних жирних кислот;
 - В. Кількість ненасичених жирних кислот;
 - Г. Кількість насичених жирних кислот.
 7. Вкажіть назву сполук, які належать до фосфоліпідів:
 - А. Лецитини, кефаліни;
 - Б. Стерини, стериди;
 - В. Цереброзиди, гангліозиди;
 - Г. Гліколіпіди, гліцериди.
 8. До складу яких ліпідів входять азотисті основи холін і коламін (етаноламін)?
 - А. Гліцеридів, стеринів;
 - Б. Лецитинів, кефалінів;
 - В. Гліколіпідів, цереброзидів;
 - Г. Гангліозидів, стеридів.

9. Які тканини організму містять найбільшу кількість фосфоліпідів?
- Печінка, мозок;
 - Кров, шкіра;
 - Сполучна тканина, лімфа;
 - М'язи, ліквор.
10. До складу яких груп ліпідів входять вуглеводи?
- Кардіоліпіни, сфінгомієліни;
 - Фосфатидилхоліни, ацетальфосфатиди;
 - Фосфатидилколаміни, тригліцериди;
 - Цереброзиди, гангліозиди.
11. Вкажіть, які сполуки відносять до стеридів?
- Сполуки гліцерину і фосфорної кислоти;
 - Сполуки стеринів і гліцерину;
 - Сполуки стеринів і вищих жирних кислот;
 - Сполуки гліцерину і вищих жирних кислот.
12. Які складні білки утворюються при взаємодії ліпідів з простими білками?
- Глікопротеїни;
 - Фосфопротеїни;
 - Металопротеїни;
 - Ліпопротеїни.

Вправи:

- Записати будову жирних кислот: а) насичених; б) ненасичених з одним подвійним зв'язком; в) ненасичених з кількома подвійними зв'язками.
- Записати рівняння реакцій за поданими схемами і дати назву сполукам:
 - гліцерин + три молекули пальмітинової к-ти → ?
 - гліцерин + стеаринова к-та + пальмітинова к-та + олеїнова к-та → ?
 - гліцерин + дві молекули пальмітинової к-ти + олеїнова к-та → ?
 - гліцерин + три молекули стеаринової к-ти → ?
- Записати будову моноацидного і гетероацидного жиру. Дати назву.
- Записати будову триолеату, олеодистеарату, стеародипальмітату та пальмітодиолеату.
- Пояснити будову стерину та стериду.
- Записати реакцію утворення та будову холестеролпальмітату, холестеролстеарату і холестерололеату.

7. Записати будову лецитину, розрахувати масову частку холіну в його молекулі.
8. Записати будову кефаліну і визначити масову частку фосфату в його молекулі.
9. Записати формулу фосфатидилсерину та визначити масову частку серину.
10. До складу свинного жиру входять: трипальмітат, пальмітодиолеат та пальмітостеароолеат. Записати формули вказаних тригліцеридів.
11. До складу кокосового і пальмового масла входять: стеародипальмітат, олеодипальмітат, міристоридипальмітат та пальмітодиміристат. Записати формули вказаних тригліцеридів.
12. Записати формули лауринової, міристинової, пальмітинової і арахідонової кислот.
13. Записати формули холестеролпальмітату і ергостеролстеарату.

ТЕМА. 3 СКЛАД, БУДОВА ТА ВЛАСТИВОСТІ ГОРМОНІВ

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 284-321]; [2, с. 423-437]; [3, с. 441-467]; [4, с. 330-385]; [5, с. 154-210].

Додаткова: [3]; [4]; [5]; [6]; [8], [9]; [10].

Методичні рекомендації

1. При опрацюванні теоретичного матеріалу звернути увагу на особливості гормонів як специфічних регуляторів метаболічних функцій організму.
2. З'ясувати принципи класифікації і номенклатури гормонів.
7. Розглянути будову ендокринної системи організму.
8. Звернути увагу на особливості нейрогуморальної регуляції.
9. Дати характеристику гіпер- та гіпофункції ендокринних залоз.
10. З'ясувати механізми дії гормонів пептидної і стероїдної природи.
11. Виконати тестові завдання і вправи.

Теоретичні питання

1. Дати визначення поняття “гормони”, їх роль у процесах життєдіяльності.
2. Історія вивчення гормонів. Внесок А.М. Утєвського, С.М. Лейтеса, О.В. Палладіна та зарубіжних вчених у розвиток ендокринології.

3. Особливості гормонів як універсальних регуляторів метаболізму. Залози внутрішньої секреції. Поняття про ендо- та екзокринну функції.
4. Характеристика ендокринних залоз: гіпофізу, епіфізу, гіпоталамусу, щитоподібної залози, паращитоподібної залози, тимусу, надниркових залоз, підшлункової залози, статевих залоз.
5. Тропні фактори. Особливості впливу на ендокринну систему.
6. Залози ЦНС, їх функції.
7. Периферійні ендокринні залози.
8. Нейроендокринна регуляція процесів життєдіяльності.
9. Номенклатура гормонів.
10. Класифікація гормонів: а) анатомічна; б) хімічна; в) фізіологічна.
11. Гіпер- та гіпофункції ендокринних залоз.
12. Гормони білкової природи, приклади, назва, будова, механізм дії.
13. Гормони – похідні амінокислот, приклади, будова.
14. Гормони пептидної природи, приклади, будова.
15. Стероїдні гормони, приклади, біологічна роль, механізм дії.
16. Катехоламіни, біологічні ефекти та їх реалізація.
17. Парагормони, будова і біологічна роль.
18. Будова та біологічна роль простагландинів.
19. Гормони гіпофізу. Структура, біологічна роль, гіпо- і гіперфункції гіпофізу.
20. Гормони щитоподібної залози. Будова, властивості, гіпо- та гіперфункція щитоподібної залози.
21. Підшлункова залоза. Гормони підшлункової залози, будова, властивості, гіпо- і гіперфункції підшлункової залози.
22. Інсулін: будова, функції, механізм дії.
23. Тимус. Роль у регулюванні імунного стану організму.
24. Надниркові залози. Біологічна роль гормонів надниркових залоз. Механізм дії.
25. Статеві залози. Гормони статевих залоз.
26. Паращитоподібні залози.
27. Гормони гастроінтестинального тракту та ЦНС.

Тестові завдання:

1. Вкажіть, що являють собою гормони:
А. Органічні біологічно активні речовини, що продукуються залозами внутрішньої секреції;

- Б. Органічні біологічно активні речовини, що утворюються в клітинах печінки;
- В. Жироподібні речовини крові з високою біологічною активністю;
- Г. Неорганічні речовини різної хімічної будови з високою біологічною активністю.
2. Вкажіть, куди надходять гормони, які продукуються залозами внутрішньої секреції:

А. Кишечник;	Б. Кров'яне русло;
В. Тканинну рідину;	Г. Нервові клітини.
 3. Вкажіть залозу внутрішньої секреції, яка керує гормональними процесами організму:

А. Підшлункова залоза;	Б. Щитоподібна залоза;
В. Гіпоталамус;	Г. Надниркові залози.
 4. Вкажіть, які гормони продукує гіпофіз:

А. Тироксин, інсулін;	Б. Соматотропін, вазопресин;
В. Глюкагон, кортикостерон;	Г. Адреналін, глюкагон.
 5. Нестача якого гормону призводить до карликовості, а надлишок – до гігантизму і акромегалії:

А. Інсуліну;	Б. Соматотропіну;
В. Тироксину;	Г. Адреналіну.
 6. Вкажіть, який з наведених гормонів регулює водний обмін:

А. Соматотропін;	Б. Окситоцин;
В. Тироксин;	Г. Вазопресин.
 7. Вкажіть, який з гормонів виробляє щитоподібна залоза:

А. Адреналін;	Б. Тироксин;
В. Глюкагон;	Г. Соматотропін.
 8. Вкажіть, який з наведених гормонів містить йод:

А. Окситоцин;	Б. Тироксин;
В. Вазопресин;	Г. Адреналін.
 9. Вкажіть захворювання пов'язані з порушенням функції щитоподібної залози:

А. Цукровий діабет, карликовість;...Б. Карликовість, гігантизм;	
В. Гіпоглікемія, глюкозурія;	Г. Мікседема, Базедова хвороба.
 10. Вкажіть, які гормони продукує підшлункова залоза:

А. Вазопресин, кортикотропін;	Б. Соматотропін, адреналін;
В. Тироксин, окситоцин;	Г. Інсулін, глюкагон.
 11. Нестача якого гормону призводить до розвитку цукрового діабету:

А. Інсуліну;	Б. Адреналіну;
В. Глюкагону;	Г. Тироксину.

12. Які основні процеси в організмі регулює інсулін:
 - А. Синтез білків;
 - Б. Розщеплення ліпідів;
 - В. β -Окиснення жирних кислот;
 - Г. Вміст цукру в крові.
13. Які гормони синтезуються в мозковій частині надниркових залоз:
 - А. Глюкагон, гормон росту;
 - Б. Інсулін, окситоцин;
 - В. Тироксин, соматотропін;
 - Г. Адреналін, норадреналін.
14. Як впливає підвищене виділення адреналіну на вміст цукру в крові?
 - А. Знижує вміст цукру в крові;
 - Б. Підвищує вміст цукру в крові;
 - В. Не впливає на вміст цукру в крові;
 - Г. Сприяє засвоєнню цукру клітинами тканин.
15. При патології якої ендокринної залози розвивається Аддісонова хвороба?
 - А. Підшлункової;
 - Б. Кори наднирників;
 - В. Щитоподібної;
 - Г. Гіпоталамуса.
16. Вкажіть гормони, які синтезуються в яєчниках людини:
 - А. Естрогени, андрогени;
 - Б. Андрогени, фолітропін;
 - В. Тироксин, інсулін;
 - Г. Соматотропін, адреналін.
17. Вкажіть гормони, які синтезуються переважно в сім'яниках людини:
 - А. Кортикостероїди, глюкагон;
 - Б. Андрогени, естрогени;
 - В. Естрогени, соматомедини;
 - Г. Простагландини, пролактин.
18. Вкажіть гормони, які впливають на розвиток вторинних статевих ознак:
 - А. Інсулін, адреналін;
 - Б. Тироксин, соматотропін;
 - В. Окситоцин, вазопресин;
 - Г. Естрогени, андрогени.

Вправи:

1. Записати будову гормонів щитоподібної залози.
2. Здійснити перетворення за поданою схемою:

фенілаланін \rightarrow тирозин \rightarrow моноидтирозин \rightarrow $\begin{matrix} \nearrow & \text{трийодтиронін} \\ \text{дійодтирозин} \\ \searrow & \text{тетрайодтиронін} \end{matrix}$
3. Записати схему синтезу адреналіну з фенілаланіну, вказати ферменти.
4. Записати схему реакцій окиснення адреналіну, вказати ферменти.
5. Записати будову гормонів кори надниркових залоз.
6. Записати будову ліберинів і статинів.

7. Здійснити перетворення за поданою схемою:
Адреналін → дегідрoadреналін → адренохром.
8. Записати реакції перетворення за поданою схемою:
фенілаланін → адреналін.
9. Записати будову естрадіолу, естріолу і прогестерону, вказати їх біологічні функції.
10. Охарактеризувати біологічну дію ацетилхоліну, записати його будову.
11. Записати схему утворення серотоніну, вказати його біологічну роль.
12. Записати схему утворення тиреоїдних гормонів.

РОЗДІЛ II

ДИНАМІЧНА БІОХІМІЯ

1. ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ.

ТЕМА: ОБМІН РЕЧОВИН І ЕНЕРГІЇ. БІОЛОГІЧНЕ ОКИСНЕННЯ

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 322-346]; [2, с. 358-389]; [3, с. 178-188, 411-430]; [4, с. 115-136]; [5, с. 244-282].

Додаткова: [4]; [5]; [6]; [8]; [9]; [10].

Методичні вказівки

1. При розгляді теоретичних питань звернути увагу на: особливості загального, проміжного та внутрішньоклітинного обміну речовин; шляхи вилучення, перетворення і використання енергії у клітині, біологічне окиснення та його етапи; будову макроергічних сполук, їх класифікацію і шляхи утворення; схему перенесення протонних еквівалентів від первинного донора до кінцевого акцептора; будову мітохондрій та роль ферментних систем внутрішньої мембрани в генерації енергії АТФ.
2. Розмежовувати поняття “анаболічні та катаболічні реакції”, “асиміляція і дисиміляція”, “специфічні та амфіболічні шляхи метаболізму”, їх особливості.
3. При виконанні практичних робіт дотримуватись правил техніки безпеки.

4. Оформити роботи, пояснити результати, записати висновки і виконати завдання для самоконтролю знань.

Теоретичні питання

1. Предмет і завдання динамічної біохімії.
2. Охарактеризувати живі організми як відкриті системи.
3. Характерні ознаки живого. Суть обміну речовин, особливості його в живих організмах і неживих системах.
4. Характеристика складових обміну. Асиміляція та дисиміляція.
5. Поняття про загальний, проміжний і внутрішньоклітинний обмін.
6. Специфічні функції обміну речовин.
7. Поняття про анаболічні та катаболічні реакції, їх особливості.
8. Ендергонічні і екзергонічні реакції, приклади, особливості.
9. Поняття про специфічні та амфіболічні шляхи метаболізму.
10. Обмін енергії в живих системах, значення, функції.
11. Характеристика механізмів вилучення енергії. Поділ живих організмів залежно від джерел енергії і джерел атомів карбону.
12. Фото- і хемотрофи, їх характеристика та особливості.
13. Аутотрофні та гетеротрофні організми.
14. Поняття про вільну і зв'язану енергію. Характеристика джерел енергії для організму. Пояснити особливості використання енергії в живих організмах та неживих системах.
15. Етапи звільнення енергії, їх характеристика. Енергетичні сходинки.
16. Взаємний зв'язок між процесами звільнення і використання енергії. Енергетичне sprzęження як спосіб використання енергії в живих організмах.
17. Макроергічні сполуки, їх види, будова та функції.
18. Роль АТФ в енергетичному обміні.
19. УТФ, ЦТФ та їх роль у біоенергетичних процесах.
20. Фосфорилуюче окиснення, його біологічна роль. Види фосфорилуючого окиснення залежно від рівня sprzęження.
21. Фосфорилуюче окиснення на рівні субстрату. Механізм, приклади реакцій, значення.
22. Біологічне окиснення, значення для організму.
23. Розвиток уявлень про процеси біологічного окиснення. Пероксидна теорія О.Н. Баха.
24. Внесок О. Варбурга в формування уявлень про біологічне окиснення.
25. Сучасна теорія біологічного окиснення Палладіна-Віланда.

26. Шляхи використання кисню у процесах окиснення в організмі.

Тестові завдання:

1. Енергетичним матеріалом в організмі є:
А. Фосфоліпіди; Б. Воски.
В. Стерини. Г. Триацилглицерини.
Д. Гліколіпіди.
2. Призначення дихального ланцюга у мітохондріях:
А. Перетворення речовин і енергії.
Б. Окиснення речовин до CO₂ і H₂O.
В. Забезпечення клітин НАД⁺ і ФАД.
Г. Перенесення атомів водню із НАДН₂ на кисень з утворенням АТФ і H₂O.
Д. Перенесення е на цитохроми.
3. У склад дихального ланцюга входять всі нижчеперелічені речовини, за винятком:
А. НАД, ФМН. Б. Залізо-сірчані білки.
В. Убіхінон; Г. Піруват. Д. Цитохроми.
4. У тканинному диханні беруть участь всі речовини, за винятком:
А. Тіамінпірофосфату. Б. Рибофлавіну.
В. Пантотенової кислоти; Г. Ніацину.
Д. Піридоксальфосфату.
5. Ферменти тканинного дихання розміщені в:
А Цитоплазмі. Б. Лізомах. В. Пероксисомах.
Г. Матриксі і внутрішній мембрані мітохондрій.
Д. Ядрі.
6. Субстратами тканинного дихання є всі перелічені речовини, крім однієї:
А Ізоцитрат. Б. Малат.
В. α-кетоглутарат. Г. Сукцинат. Д. Лактат.
7. Найбільш енергетичним субстратом дихального ланцюга є:
А. КоQН₂. Б. НАДН₂. В. Сукцинат.
Г. ФАДН₂. Д. Аскорбат.
8. Порушення постачання кисню в кризових ситуаціях організму спричиняє енергопостачання за рахунок:
А Глюконеогенезу. Б. Окиснення жирних кислот.
В. Кетолізу. Г. Пентозофосфатного циклу.
Д. Гліколізу.
9. Коферментом НАДН₂-дегідрогенази в дихальному ланцюзі є:
А. ФАД. Б. НАД⁺. В. ПАЛФ. Г. ФМН. Д. НАДФ.

10. Призначенням бурого жиру в міжлопатковій ділянці новонароджених є:
- Служити пластичним матеріалом.
 - Служити теплоізоляційним матеріалом.
 - Служити джерелом тепла за рахунок роз'єднання дихання і фосфорилування.
 - Здійснювати механічний захист тканин і органів.
 - Джерело для утворення кетонних тіл.
11. АТФ-синтетаза утворює АТФ під час окисного фосфорилування. Вона розміщена в:
- Цитозолі клітини.
 - Пероксисомах.
 - Зовнішній мембрані мітохондрій;
 - Мікросомах.
 - Матриксі мітохондрій.
12. Головний дихальний ланцюг включає такі компоненти:
- $\text{НАДН}_2 \rightarrow \text{ФМН-КоQ} \rightarrow \text{цит. (b-c}_1\text{c-aa}_3) \rightarrow \text{O}_2$
- Послідовність їх розташування зумовлена:
- Розчинністю в ліпідах мембран мітохондрій.
 - Подібністю в структурі сусідніх переносників е.
 - Вибірковою здатністю акцептувати і передавати е.
 - Зростанням величини окисно-відновного потенціалу між сусідніми переносниками е.
 - Прагненням окисно-відновних пар перенесення електронів до розсіювання вільної енергії.
13. Вилучення енергії від субстратів тканинного дихання в дихальному ланцюзі відбувається за рахунок:
- Розкладу субстратів до CO_2 і H_2O .
 - Зростання окисно-відновного потенціалу компонентів дихального ланцюга.
 - Перенесення е по дихальному ланцюзі.
 - Перетворення енергії відщеплених електронів у протонний потенціал внутрішньої мембрани мітохондрій.
 - Відновлення кисню до води.
14. Де відбувається утворення АТФ під час окисного фосфорилування?
- В мітохондріях.
 - В цитозолі.
 - В дихальному ланцюзі.
 - На цитохромах.
 - На АТФ-синтетазі, що знаходиться в матриксі і пронизує внутрішню мембрану.
15. В якому місці дихального ланцюга призупиняється транспорт електронів під впливом антимицину?
- Між НАДН_2 і ФМН.
 - Між КоQH_2 і цитохромом b.

- В. Між цитохромом b і c. Г. Між цитохромом aa₃ і O₂.
 Д. ФАДН₂ і КоQ.
16. Як впливають на енергетичний вихід АТФ іони K⁺, якщо потрапляють у мітохондрію?
 А Не змінюють вихід АТФ.
 Б. Частина енергії дихання використовується на транспорт іонів.
 В. Збільшується утворення АТФ, бо зростає позитивний потенціал.
 Г. Вихід АТФ зменшується, бо іони K⁺ як іонофори зменшують величину мембранного електрохімічного потенціалу.
 Д. Величина зміни АТФ буде залежати від кількості іонів K⁺.
17. Макроергічними зв'язками називаються:
 А. Хімічні зв'язки, на утворення яких потрібно багато енергії.
 Б. С. Хімічні зв'язки, при розриві яких виділяється 40 кДж енергії.
 В. Зв'язки, при гідролізі яких виділяється 15 кДж енергії.
 Г. Зв'язки, що утворені вугільною кислотою.
18. Енергія макроергічних зв'язків використовується для всіх процесів, крім:
 А Біосинтезу речовин.
 Б. Механічної роботи.
 В. Активного транспорту іонів.
 Г. Транспорту сечовини, гліцерину.
 Д. Генерації нервового імпульсу.

Вправи:

1. Записати хімізм реакцій окиснення субстратів за участю НАД⁺ та ФАД-залежних дегідрогеназ, цитохромної системи.
2. Записати схему перенесення протонних еквівалентів від субстрату, що окиснюється, до кінцевого акцептора.
3. Записати будову універсального акумулятора, донора та трансформатора енергії в організмі. Пояснити участь сполуки в енергообміні.
4. Записати механізм окиснення субстрату за участю: а) піридин-протеїнів (ПП); б) флавінпротеїнів (ФП); в) убіхінонів (УХ); г) цитохромної системи.
5. Записати будову кофакторів, які входять до складу ферментних систем дихального ланцюга.
6. Записати будову кофакторів первинних і вторинних дегідрогеназ.

7. Записати кінцеві продукти біологічного окиснення субстрату:
 - а) при перенесенні гідрогену на кисень за участю усіх компонентів дихального ланцюга;
 - б) безпосередньо на кисень.Вказати ферменти, що каталізують ці процеси.
8. Записати повну схему перенесення електронів і протонів від молочної кислоти до кінцевого акцептора (O_2).
9. Записати повну схему окиснення субстрату в системі дихального ланцюга. Вказати ділянки спряження окиснення і фосфорилування, якщо в якості первинної дегідрогенази виступають: а) ЛК; б) ПП; в) ФП.
10. Навести приклади фосфорилуючого окиснення на рівні субстрату. Записати хімізм.

РОБОТА № 1
**ВИДІЛЕННЯ ПРЕПАРАТУ ЦИТОХРОМІВ ТА
ЦИТОХРОМОКСИДАЗИ**

Матеріал для дослідження: свіжа м'язова тканина.

Реактиви: дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, ножиці, ступки, лійки, фільтри, скляний або кварцевий пісок, терези з набором різноважок.

Хід роботи

5 г свіжої м'язової тканини звільнити від жиру і добре подрібнити ножицями. Подрібнену тканину гомогенізувати в фарфоровій ступці при поступовому додаванні чотирикратного об'єму дистильованої води до утворення гомогенної маси (для кращої гомогенізації можна використати кварцевий пісок).

Одержаний гомогенат профільтрувати через марлю складену вдвоє. Осад, що залишився на фільтрі, який містить цитохромоксидазу, комплекс цитохромів та інші дегідрогенази, промити водою до отримання прозорої рідини, після чого розділити його на три частини. Першу частину використати для відновлення цитохрому "с", а дві інші – для проведення якісної реакції на цитохромоксидазу (для виявлення цитохромоксидазної активності).

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Записати схему транспорту електронів по цитохромній системі.
2. Яку окисно-відновну реакцію забезпечує цитохром "с"?

3. Вказати пункти спряження процесів окиснення і фосфорилування, локалізовані на цитохромній системі.

РОБОТА № 2 ВІДНОВЛЕННЯ ЦИТОХРОМУ “с”

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

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

Матеріал для дослідження: препарат цитохрому “с” або 100 мг% розчин цитохрому “с”.

Реактиви: 0,5М розчин аскорбінової кислоти.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр.

Хід роботи

У пробірку, з одержаним у попередній роботі препаратом цитохрому “с” або 100 мг% розчином цитохрому “с”, додати 2 мл 0,5М розчину аскорбінової кислоти, спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

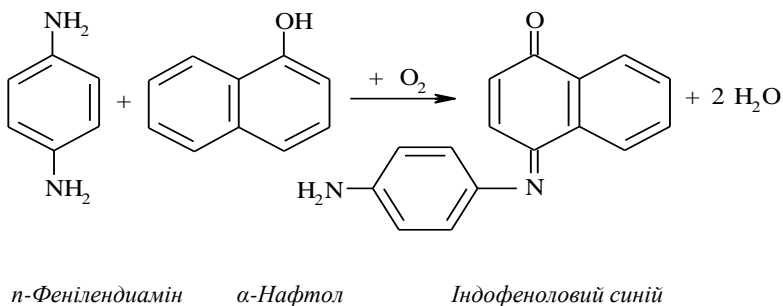
Дати відповіді на запитання

1. Яке значення має здатність цитохрому “с” переходити з окисненої у відновлену форму?
2. У чому подібність і відмінність у будові та функціях цитохромів і гемоглобіну?
3. Які компоненти цитохромної системи безпосередньо контактують з цитохромом “с”? Записати будову цитохромної системи.

РОБОТА № 3
ЯКІСНА РЕАКЦІЯ НА ЦИТОХРОМОКСИДАЗУ

Цитохромоксидаза (цитохром “aa₃”) – фермент, який завершує дихальний ланцюг, переносить два електрони, зняті з цитохрому “а”, безпосередньо на кисень. За хімічною природою цитохромоксидаза – це складний білок, до складу протетичної групи якого, крім йонів феруму, входять йони купруму.

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



Матеріал для дослідження: препарат цитохромоксидази (з роб. № 1).

Реактиви: дистильована вода, реактив НАДІ.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, скляні палички, спиртівка.

Хід роботи

У дві пробірки з препаратом цитохромоксидази додати по 1 мл води та добре перемішати. Вміст першої (контрольної) пробірки прокип'ятити на спиртівці протягом 2-3 хв. Після охолодження в кожну з них внести по 2 мл реактиву НАДІ та перемішати. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Розрахувати зміни рівня стандартної вільної енергії у процесі перенесення протонів і електронів по системі дихального ланцюга.
2. Вказати пункти спряження в системі дихального ланцюга.
3. Записати хімізм реакцій, що відбуваються на завершальному етапі тканинного дихання, пояснити їх значення.

РОБОТА № 4

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОЦЕСУ ФОСФОРИЛЮЮЧОГО ОКИСНЕННЯ

Матеріал для дослідження: суспензія мітохондрій.

Реактиви: інкубаційна суміш, АДФ, розчин субстрату (0,3М розчини ізоцитрату, малату, сукцинату, глутамінової кислоти (рН...7,4)), 10% розчин ТХА, 2,5% розчин амоній молібдату, 0,3М розчин аскорбінової кислоти в 0,1н розчині хлоридної кислоти, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 мл, мірний циліндр, лійки, фільтри, термостат.

Хід роботи

У дві пробірки внести по 1 мл інкубаційної суміші і 0,02 мл АДФ. У першу (дослідну) пробірку додати 0,5 мл субстрату та 0,5 мл суспензії мітохондрій, а у другу (контрольну) – 0,5 мл води і 0,5 мл суспензії мітохондрій. Вміст пробірок перемішати та поставити в термостат при 37°C на 15 хв. У кожну пробірку додати по 0,1 мл 10% розчину ТХА (для припинення реакції) і профільтрувати через складчастий фільтр.

У фільтратах визначити фосфатну кислоту: до фільтрату додати по 2 мл 2,5% розчину амоній молібдату і 0,5 мл розчину аскорбінової кислоти в 0,1н розчині хлоридної кислоти. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Яке значення процесу фосфорилюючого окиснення?
2. Дати визначення понять: “фосфорилююче окиснення на рівні субстрату”, “фосфорилююче окиснення на рівні електронно-транспортного ланцюга”.
3. Вказати основні шляхи утворення АТФ у гетеротрофних організмів.

2. ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ.

ТЕМА: ОБМІН БІЛКІВ.

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 347-388]; [2, с. 304-351]; [3, с. 261-305]; [4, с. 234-269, 300-309]; [5, с. 397-432, 474-487].

Додаткова: [4]; [5]; [6]; [8]; [10].

Методичні вказівки

1. При розгляді теоретичних питань звернути увагу на особливості перетворення білків під впливом ферментів у шлунково-кишковому тракті; кінцеві продукти обміну білків; особливості γ -глутаміл-трансферазного циклу, пояснити його значення.
2. Пояснити механізми знешкодження продуктів гниття білків у шлунково-кишковому тракті.
3. Охарактеризувати реакції перетворення амінокислот після всмоктування (дезамінування, переамінування, декарбоксілювання та ін.).
4. З'ясувати особливості утворення кінцевих продуктів білкового обміну.
5. Розмежовувати поняття уреотелітичні, урікотелітичні та амонійтелітичні організми.
6. Ознайомитися з особливостями методів визначення кінцевих продуктів білкового обміну.
7. При виконанні практичних робіт дотримуватись правил техніки безпеки.
8. Оформити роботи, пояснити результати, записати висновки і виконати завдання для самоконтролю знань.

Теоретичні питання

1. Обмін білків – центральна ланка метаболізму. Значення білків у харчуванні, повноцінні і неповноцінні білки.
2. Поняття про білковий мінімум та коефіцієнт зношування.
3. Баланс азоту в організмі. Добова потреба в білках.
4. Шляхи розкладу білків у травному каналі. Характеристика ферментів, що забезпечують цей процес.
5. Транспорт амінокислот через клітинні мембрани (γ -глутаміл-трансферазний цикл).
6. Гниття білків у кишках.
7. Механізми знешкодження продуктів гниття білків.
8. Внутрішньоклітинний обмін амінокислот.

9. Перетворення амінокислот по аміногрупі, характеристика ферментів.
10. Перетворення амінокислот по карбоксильній групі.
11. Перетворення амінокислот по радикалах, особливості, значення.
12. Характеристика кінцевих продуктів обміну амінокислот. Транспортні форми аміаку в організмі.
13. Шляхи зв'язування аміаку. Орнітиновий цикл.
14. Новоутворення амінокислот в організмі. Первинні і вторинні амінокислоти.

Тестові завдання:

1. Під впливом яких ферментів проходить розщеплення білків в шлунку:
 А. Пепсиногену; Б. Трипсину; В. Пепсину;
 Г. Ентерокинази; Д. Хімозину.
2. Які ферменти розщеплюють білки до поліпептидів в кишківнику:
 А. Трипсиноген; Б. Амінопептидази;
 В. Карбоксипептидази; Г. Хімотрипсиноген;
 Д. Дипептидази.
3. Перенесення амінокислот через клітинні мембрани забезпечується за рахунок:
 А. Циклу Кребса; Б. Карнітинового циклу;
 В. Лимонного циклу; Г. γ -глутамілтрансферазного циклу.
4. Які амінокислоти підлягають найбільш інтенсивному окиснювальному дезамінуванню:
 А. Лейцин; Б. Валін; В. Глутамат;
 Г. Серин; Д. Аспарат.
5. Яка сполука є коферментом трансаміназ:
 А. Піридоксаль-фосфат; Б. Піридоксамінфосфат;
 В. Тіамін; Г. Тіамін-фосфат.
6. В результаті внутрішньомолекулярного дезамінування амінокислот утворюються:
 А. Кетокислоти; Б. Гідроксикислоти;
 В. Насичені кислоти; Г. Ненасичені кислоти.
7. Які аміни утворюються при декарбоксилюванні гістидину (А), тирозину (Б), лізину (В), орнітину (Г):
 А. Тирамін; Б. Гістамін; В. Путресцин; Г. Кадаверин.
8. При декарбоксилюванні якої амінокислоти утворюється β -аланін:

- А. Аспартату; Б. Глутамату; В. Валіну; Г. Лейцину.
9. При декарбоксілюванні якої амінокислоти утворюється γ -амінобутират:
А. Аспартату; Б. Глутамату; В. Треоніну; Г. Лейцину.
10. Які амінокислоти є акцепторами аміаку при утворенні його транспортних форм:
А. Аланін; Б. Глутамат; В. Гліцин; Г. Аспартат.
11. Які амінокислоти або їх похідні є джерелом азоту, який легко мобілізується:
А. Глутамат; Б. Аспарагін; В. Треонін;
Г. Глутамін; Д. Аспартат.
12. Похідне якої амінокислоти забезпечує процеси метилювання субстратів:
А. Ізолейцину; Б. Метіоніну; В. Треоніну.
13. Яка амінокислота може перетворюватись в β -гідрокси- β -метилглутарил-S-CoA, один із проміжних продуктів біосинтезу стеринів:
А. Лейцин; Б. Валін; В. Глутамат; Г. Треонін
14. Яка амінокислота є субстратом для синтезу нікотинової кислоти:
А. Орнітин; Б. Лізин; В. Триптофан; Г. Гістидин.
15. Яка амінокислота використовується при біосинтезі порфіринового ядра:
А. Серин; Б. Аланін; В. Гліцин; Г. Триптофан.
16. Яка амінокислота є проміжним продуктом при біосинтезі сечовини і розщеплюється з утворенням орнітину і сечовини:
А. Лейцин; Б. Цитрулін; В. Аргінін; Г. Валін.
17. Яка сполука є кінцевим продуктом азотистого обміну у птахів:
А. Креатин; Б. Аміак; В. Сечова кислота.
18. Які види перетворень характерні по радикалах амінокислот:
А. Переамінування; Б. α -декарбоксілювання;
В. Дезамінування; Г. Оксидоредукція;
Д. Переметилювання; Е. Гідроліз.
19. Яка сполука є головним кінцевим продуктом азотистого обміну у ссавців:
А. Сечова кислота; Б. Сечовина; В. Аміак.
20. Знешкодження продуктів гниття білків забезпечується за рахунок:
А. S-аденозил-метіоніну; Б. CoASH; В. УДФГК;
Г. Глюкозаміну; Д. ФАФС;
Е. Гліцерофосфату.

21. Реакція переамінування є одною із стадій біосинтезу різних сполук, вказати яких саме:
 - А. Більшості амінокислот;
 - Б. Дикарбонових кислот;
 - В. Замінних амінокислот.
22. В чому суть реакції активування амінокислот:
 - А. В утворенні аміноациладенілатів;
 - Б. В утворенні аміноацилфосфатів;
 - В. В утворенні аміноацил-КоА.

Вправи:

1. Записати хімізм гідролітичного розкладу білка за схемою: білок → поліпептиди → амінокислоти. Вказати ферменти.
2. Записати схему гідролізу гексапептиду довільної будови під впливом аміно- і карбоксипептидаз.
3. Здійснити гідроліз поліпептиду довільної будови під впливом пепсину, трипсину та хімотрипсину.
4. Написати рівняння реакцій дезамінування серину, лейцину і треоніну за участю флавінвмісного білка (оксидази амінокислот).
5. Записати окиснювальне дезамінування глютамінової та аспарагінової кислоти під впливом НАД⁺-залежної оксидоредуктази.
6. Записати схему переамінування аланіну та α-кетоглутарової кислоти.
7. Записати схему декарбоксілювання аспарагінової кислоти під впливом β-аспартатдекарбоксилази.
8. Записати схему утворення гістаміну, тираміну, триптаміну.
9. Здійснити перетворення за схемою: глютамінова кислота → 4-аміно-бутират + CO₂.
10. Записати схему декарбоксілювання аргініну, лізину, орнітину.
11. Шляхи зв'язування та перенесення аміаку в організмі.
12. Записати орнітиновий цикл, хімізм, значення.
13. Здійснити перетворення за схемами: а) цистеїн → таурин; б) метіонін → цистеїн.
14. Вказати можливі шляхи біосинтезу аланіну, охарактеризувати ферменти, які каталізують ці реакції.
15. Записати рівняння реакцій за схемою: гомосерин → цистотіонін → гомоцистеїн → метіонін.
16. В обміні речовин важлива роль належить реакції трансметилового за участю S-аденозилметіоніну. Записати рівняння реакцій, що проходять за схемою: метіонін →

- S-аденозилметіонін → N-диметил-гліцин (саркозин) → гомоцистеїн.
17. Записати реакції орнітинового циклу, вказати ферменти, що каталізують окремі його етапи.
 18. Записати реакції: а) дезамінування амінокислот Сер, Вал, Тре, Глі; б) декарбоксілювання амінокислот Орн, Арг, Асп, Глу, Тир, Фен.
 19. Які діаміни утворюються в результаті декарбоксілювання амінокислот Ліз, Орн, Арг? Записати реакції, вказати ферменти.
 20. Записати повні схеми реакцій переамінування між:
 - а) α -кетоглутаровою кислотою і аланіном,
 - б) ЩОК та гліцином,
 - в) ЩОК і глютаміновою кислотою.

РОБОТА №1
**ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ БІЛКА В СИРОВАТЦІ (ПЛАЗМІ) КРОВІ
БІУРЕТОВИМ МЕТОДОМ**

Принцип методу. Білки сироватки (плазми) крові в лужному середовищі при взаємодії з купрум (II) сульфатом утворюють комплексні сполуки фіолетового кольору. Інтенсивність забарвлення комплексу купрум-іонів з функціональними групами пептидного зв'язку пропорційна вмісту білка.

Для визначення білків не слід використовувати сироватку, яка містить сліди гемолізу, оскільки гемоглобін, що звільняється при гемолізі еритроцитів, також дає позитивну біуретову реакцію.

Матеріал для дослідження: сироватка крові.

Реактиви: стандартний розчин білка (10% розчин альбуміну концентрації 100 (або 98) г/л.), робочий розчин біуретового реактиву.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм.

Хід роботи

Взяти дві пробірки: в першу (дослідну) внести 0,1 мл сироватки крові, а у другу (стандартну) – 0,1 мл стандартного розчину білка. В кожну пробірку додати по 5 мл робочого розчину біуретового реактиву (уникати піноутворення).

Через 30 хв. визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (зелений світлофільтр, 540-560 нм, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм) відносно контролю (вода).

Розрахунок вмісту білка в сироватці крові провести:

1. За формулою:

$$C_{\text{д.}} = \frac{C_{\text{ст.}} \cdot E_{\text{д.}}}{E_{\text{ст.}}}, \text{ де}$$

$C_{\text{д.}}$ – вміст білка в дослідній пробі (г/л);

$C_{\text{ст.}}$ – вміст білка у стандартній пробі (г/л);

$E_{\text{д.}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{ст.}}$ – екстинкція стандартної проби.

Приклад розрахунку. Якщо екстинкція стандартної проби складає 0,30, а дослідної – 0,18, то:

$$C = \frac{100 \cdot 0,18}{0,30} = 60 \text{ (г/л)}$$

2. За калібрувальною кривою, для побудови якої приготувати серію розведень стандартного розчину білка (100 г/л) концентрацією від 20 до 100 г/л як вказано в таблиці:

№ п/п	Стандартний розчин білка (100 г/л), мл	H ₂ O дист. (або 0,9% розчин натрій хлориду), мл	Концентрація білка, г/л
1.	0,2	0,8	20
2.	0,4	0,6	40
3.	0,6	0,4	60
4.	0,8	0,2	80
5.	1,0	–	100

З кожного розведення відібрати по 0,1 мл робочого розчину і провести визначення вмісту білка (див. хід роботи).

За отриманими результатами побудувати криву: на осі абсцис відкласти значення концентрації білка, а на осі ординат – відповідні їм значення екстинкції та визначити вміст білка в дослідній пробі (див. рис.1.).

Провести розрахунки та зробити висновок.

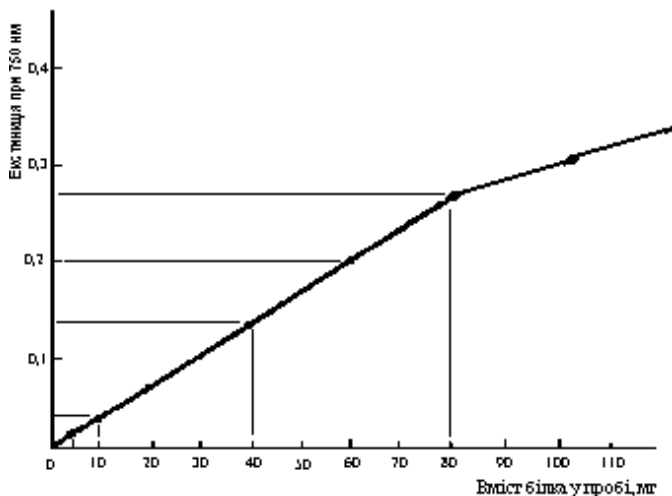


Рис. 1. Калібрувальна крива для визначення вмісту білка.

Дати відповіді на запитання

1. Які білки входять до складу рідин організму?
2. Чому сироватка крові, яку використовують для визначення вмісту білка, не повинна містити слідів гемолізу?
3. Пояснити принцип реакції, на якій ґрунтується кількісне визначення білка, записати хімізм.

РОБОТА № 2 ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ БІЛКА МЕТОДОМ ЛОУРІ

Принцип методу. При додаванні біуретового реактиву і реактиву Фоліна до біоматеріалу розвивається специфічне забарвлення, інтенсивність якого пропорційна вмісту білка.

Поєднання двох реакцій (біуретової та реакції Фоліна) значно підвищує чутливість методу. Це дає змогу визначати слідові кількості білка (20-50 мкг). Метод широко застосовують при визначенні вмісту білків у спінальній рідині, низки специфічних білків у крові, зокрема, фібриногену та ін.

Матеріал для дослідження: сироватка крові, розведена у 100 разів.

Реактиви: біуретовий реактив, реактив Фоліна, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 і 2 мл, скляні палички, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм.

Хід роботи

Взяти три пробірки: у першу (дослідну) внести 0,2 мл сироватки крові, у другу (стандартну) – 0,2 мл стандартного розчину білка, у третю (контрольну) – 0,2 мл води. В кожну пробірку додати по 2 мл біуретового реактиву, перемішати і через 10 хв. внести по 0,2 мл реактиву Фоліна.

Через 30 хв. визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (зелений світлофільтр, 540-560 нм, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм) відносно контролю.

Розрахунок вмісту білків у сироватці крові провести за формулою чи калібрувальною кривою (див. попередню роботу).

Вміст білка в сироватці крові практично здорових людей складає: в дорослих – 65-85 г/л (у віці після 60 років вміст білка у плазмі знижується); у новонароджених: доношених – 46-70 г/л, недоношених – 36-60 г/л (у крові з пуповини – 40-80 г/л); у дітей віком 1 тиждень – 44- 76 г/л, 7 міс. – 1 рік – 51-73 г/л, 1-2 роки – 56-75 г/л, 3-6 років – 56-85 г/л.

Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Чому метод Лоурі чутливіший порівняно з іншими?
2. Яке значення має кількісне визначення вмісту білка?
3. Чи однаковий білковий склад сироватки, плазми та цільної крові?

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КІНЦЕВИХ ПРОДУКТІВ БІЛКОВОГО ОБМІНУ

1. Загальний азот сечі

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

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

загального азоту). За добу з сечею виділяється 10-20 г загального азоту, основну частину якого складає азот сечовини.

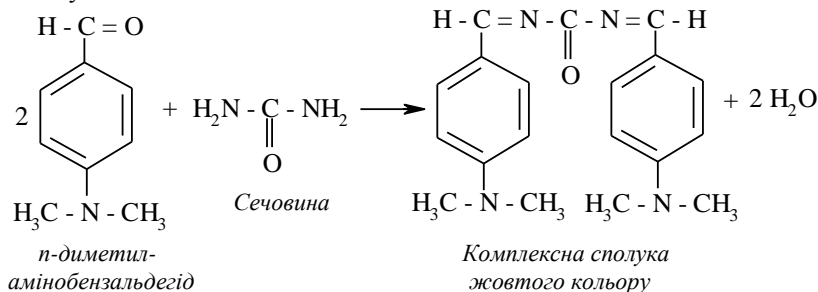
За вмістом загального азоту сечі можна визначити кількість білка, що надходить до організму, та розрахувати стан азотистого балансу. Для цього кількість визначеного азоту слід помножити на коефіцієнт перерахунку 6,25, розрахованого виходячи з того, що в білках міститься в середньому 16% азоту.

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

а. Азот сечовини

РОБОТА № 3 ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ АЗОТУ СЕЧОВИНИ

Принцип методу. Аміногрупи сечовини в кислому середовищі з *n*-диметиламінобензальдегідом утворюють комплексну сполуку жовтого кольору, інтенсивність забарвлення якої пропорційна вмісту сечовини в сечі:



Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: стандартний розчин сечовини (10 мг%), дистильована вода, 2% розчин *n*-диметиламінобензальдегіду.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 і 2 мл, скляні палички, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 3 мм.

Хід роботи

Піпетки і пробірки обов'язково повинні бути сухими!

Взяти три пробірки: в одну (дослідну) внести 0,2 мл сечі, у другу (стандартну) – 0,2 мл стандартного розчину сечовини, у

третю (контрольну) – 0,2 мл дистильованої води. В кожену пробірку додати по 1,2 мл 2% розчину *n*-диметиламінобензальдегіду, добре перемішати.

Через 15 хв. визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (синій світлофільтр, кювета довжиною оптичного шляху 3 мм) відносно контролю.

Кількість сечовини розрахувати у грамах на добу (коефіцієнт перерахунку в одиниці СІ (мМоль/доб.) складає 16,65).

Приклад розрахунку. Якщо екстинкція стандартного розчину – 0,9, а дослідного – 0,6, то розрахунок проводимо за схемою:

1. Визначаємо вміст (в г%) сечовини сечі:

0,9 відповідає 1 г% сечовини

$$0,6 \frac{\text{-----}}{\text{-----}} X \\ X = 0,7 \text{ г\%}$$

2. Визначаємо вміст сечовини в добовій кількості сечі:

0,7 г сечовини міститься в 100 мл сечі

$$X \text{ г} \frac{\text{-----}}{\text{-----}} \text{ в } 1500 \text{ мл сечі} \\ X = 10,5 \text{ г}$$

3. Розраховуємо загальну кількість азоту, що виділяється з сечовиною:

10,5 г азоту відповідає 95%

$$X \text{ г} \frac{\text{-----}}{\text{-----}} 100\% \\ X = 11,05 \text{ г}$$

4. Визначаємо кількість білка, що надходить до організму:

$$11,05 \text{ г} \cdot 6,25 = 69,07 \text{ г}$$

5. Розраховуємо кількість білка, яка повинна надходити до організму теоретично, враховуючи масу тіла:

$$65 \text{ кг} \cdot 1,2 = 78 \text{ г.}$$

Провести розрахунки і записати висновок про стан азотистого балансу та збалансованість раціону.

Дати відповіді на запитання

1. За яких умов при збалансованому харчуванні може спостерігатися негативний азотистий баланс? Відповідь обґрунтувати.

2. Пояснити поняття “азотистий баланс організму.”
3. Які рекомендовані норми добової потреби в білку та критерії її визначення?
4. Яким чином за вмістом азоту сечовини можна визначити стан азотистого балансу?

б. Азот аміаку

РОБОТА № 4 ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ АЗОТУ АМІАКУ В СЕЧІ

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

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: 0,1% розчин фенолфталеїну, 0,1н розчин натрій гідроксиду, свіжонеутралізований 20% розчин формальдегіду.

Обладнання: конічна колба на 50 мл, бюретка для титрування, мірний циліндр, піпетки.

Хід роботи

У конічну колбу на 50 мл внести 10 мл сечі, додати 1-2 краплі фенолфталеїну та нейтралізувати 0,1н розчином натрій гідроксиду до появи рожевого забарвлення. Після цього додати рівний об'єм свіжонеутралізованого розчину формальдегіду (реакція середовища змінюється і червоний колір індикатора зникає). Вміст колби відтитрувати 0,1н розчином натрій гідроксиду до появи стійкого рожевого забарвлення.

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

Приклад розрахунку.

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

1 мл 0,1н NaOH еквівалентний вмісту 1,7 мг аміаку,
на титрування використано 2,2 мл 0,1н NaOH – x мг аміаку
 $x = 3,74$ мг

2. Яка кількість аміаку виділяється з сечею за добу?

В 10 мл сечі ————— 3,74 мг аміаку

В 1500 мл сечі ————— x_1 мг аміаку

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

Провести розрахунки та зробити висновок.

Дати відповіді на запитання

1. На чому ґрунтується принцип методу визначення вмісту аміаку в сечі?
2. У вигляді яких сполук аміак виділяється з сечею?
3. Записати хімізм утворення транспортних форм аміаку в організмі.

в. Азот амінокислот

РОБОТА № 5

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ВІЛЬНОГО АМІННОГО АЗОТУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЗА МЕТОДОМ Г.А. УЗБЕКОВА

Принцип методу. Вміст амінного азоту визначають колориметрично за інтенсивністю забарвлення, яке утворюється внаслідок взаємодії амінокислот сироватки крові з нінгідриновим реактивом.

Матеріал для дослідження: сироватка крові.

Реактиви: 1% водний розчин нінгідрину, 0,04н розчин ацетатної кислоти, дистильована води.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 мл, водяна баня, скляні палички, мірні пробірки на 10 мл, фільтри, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм.

Хід роботи

У пробірку внести 0,5 мл сироватки крові та 0,5 мл 0,04н розчину ацетатної кислоти, закрити пробкою, поставити на водяну баню і повільно довести до кипіння та прокип'ятити протягом 5 хв. (відлік часу вести з моменту закипання). Після охолодження до вмісту пробірки додати 1 мл дистильованої води, перемішати скляною паличкою і профільтрувати через паперовий фільтр. Пробірку та осад на фільтрі промити 2 рази водою (по 1 мл), після чого фільтрат і промивні води об'єднати.

До отриманого фільтрату додати 0,5 мл 1% водного розчину нінгідрину, перемішати та помістити на киплячу водяну баню на 20 хв. Після охолодження загальний об'єм суміші довести дистильованою водою до 10 мл і залишити на 5 хв. при кімнатній температурі.

Паралельно приготувати контрольну пробу: в мірну пробірку внести 3 мл води, 0,5 мл 0,04н розчину ацетатної кислоти, 0,5 мл 1% водного розчину нінгідрину. Після перемішування поставити на киплячу водяну баню на 20 хв., охолодити і довести водою до 10 мл.

Визначити екстинкцію дослідної проби на ФЕК (зелений світлофільтр, 500-560 нм, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм) відносно контролю (можна брати звичайну дистильовану воду).

Розрахунок вмісту амінного азоту в сироватці крові провести:

1. За калібрувальною кривою, на якій слід знайти кількість мкг азоту, що відповідає отриманій екстинкції. Для переведення результатів у мг% використати формулу:

$$C = \frac{a \times 100}{b \times 1000}, \text{ де}$$

C – вміст азоту в дослідній пробі (мг%);

a – кількість азоту, знайдена за калібрувальною кривою (мкг);

b – об'єм сироватки крові, взятої для досліду (0,5 мл);

1000 – коефіцієнт перерахунку мкг в мг.

2. Вміст амінного азоту можна визначити за градувальною таблицею залежно від значень екстинкції (див. додаток б).

У нормі вміст амінного азоту в сироватці крові складає 2,0-4,3 мг%.

Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Чому для визначення вмісту амінного азоту використовують нінгідринову реакцію?
2. Пояснити поняття “аміний азот”.
3. Яке діагностичне значення визначення вмісту амінного азоту в сироватці крові?

г. Залишковий азот

РОБОТА № 6

ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКОВОГО АЗОТУ КРОВІ КОЛОРИМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ З РЕАКТИВОМ НЕССЛЕРА

Принцип методу. Залишковий азот визначають у безбілковому фільтраті з використанням реактиву Несслера.

Матеріал для дослідження: кров.

Реактиви: основний стандартний розчин амоній сульфату (0,1 мг азоту в 1 мл), 10% розчин ТХА, концентрована сульфатна кислота, 0,5н розчин сульфатної кислоти, 30% розчин гідроген пероксиду, 50% розчин натрій гідроксиду, реактив Несслера.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 мл, мірний циліндр, водяна баня, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм.

Хід роботи

У пробірку внести 1,8 мл дистильованої води і 0,2 мл крові, додати 0,3 мл 10% розчину ТХА та 0,2 мл 0,5н розчину сульфатної кислоти. Суміш ретельно перемішати і через 15 хв. профільтрувати в суху пробірку.

1 мл безбілкового фільтрату перенести в термостійку пробірку і додати 3 краплі концентрованої сульфатної кислоти та 3 краплі 30% розчину гідроген пероксиду і обережно прогріти до отримання безбарвного мінералізату.

Після охолодження до мінералізату додати 10 мл води, 6 крапель 50% розчину натрій гідроксиду (для нейтралізації кислоти) та 0,5 мл реактиву Несслера.

Паралельно приготувати контроль і стандартну пробу. Для приготування контролю до 10 мл води додати 6 крапель 50% розчину натрій гідроксиду та 0,5 мл реактиву Несслера. Стандартну пробу готувати додаванням до 10 мл основного стандартного розчину амоній сульфату 6 крапель 50% розчину натрій гідроксиду і 0,5 мл реактиву Несслера.

Визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (синій світлофільтр, 590 нм, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм) відносно контролю.

Розрахунок вмісту залишкового азоту у крові провести:

1. За формулами:

а) у безбілковому фільтраті:

$$C_{\text{д.}} = \frac{C_{\text{ст.}} \times E_{\text{д.}}}{E_{\text{ст.}}}, \text{ де}$$

$C_{\text{д.}}$ – вміст залишкового азоту в дослідній пробі;

$C_{\text{ст.}}$ – вміст азоту у стандартній пробі (0,1 мг/мл);

$E_{\text{д.}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{ст.}}$ – екстинкція стандартної проби.

б) у крові:

$$C = \frac{C_d \times v \times 100}{1 \times 0,2}, \text{ де}$$

C – вміст залишкового азоту крові (мг%);

C_d – вміст залишкового азоту в дослідній пробі (або знайдений за калібрувальною кривою);

v – загальний об'єм суміші, отриманий після осадження білків (2,5 мл);

0,2 – кількість крові, взятої для аналізу (мл).

2. За калібрувальною кривою, для побудови якої приготувати серію розведень основного стандартного розчину амоній сульфату як вказано в таблиці:

№ п/п	Основний стандартний розчин амоній сульфату (0,1 мг азоту в 1 мл), мл	H ₂ O дист., мл	Концентрація азоту в розчині, мг/10мл	Реактиви на визначення азоту
1.	1	9	0,01	6 крапель 50% розчину натрій гідроксиду, 1 крапля концентрованої сульфатної кислоти і 0,5 мл реактиву Несслера
2.	2	8	0,02	
3.	3	7	0,03	
4.	4	6	0,04	
5.	5	5	0,05	
6.	6	4	0,06	
7.	7	3	0,07	
8.	8	2	0,08	
9.	9	1	0,09	

Визначити екстинкцію проб як вказано вище. На основі отриманих результатів побудувати калібрувальну криву: на осі абсцис відкласти значення концентрації азоту, а на осі ординат – відповідні їм значення екстинкції.

Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Що означає поняття “залишковий азот крові”?
2. Чому визначення залишкового азоту проводять у безбілковому фільтраті?

3. Чому підвищення вмісту залишкового азоту у крові є небезпечним для організму?
4. Перерахувати компоненти, які складають залишковий азот. Вказати їх значення.

РОБОТА № 7

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ КРЕАТИНІНУ В СЕЧІ ЗА КОЛЬОРОВОЮ РЕАКЦІЄЮ ЯФФЕ (метод Поппера та співроб.)

Принцип методу. Креатинін при взаємодії з пікриновою кислотою в лужному середовищі утворює креатинін пікрат оранжевого кольору.

У вигляді стандартного розчину замість 0,1% розчину креатиніну можна використовувати 0,5н розчин калій біхромату.

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: 0,5н розчин калій біхромату (забарвлення якого відповідає 0,01 мг креатиніну в 1 мл розчину) або основний стандартний розчин креатиніну (100 мг% або 8,8 мМоль/л), 10% розчин натрій гідроксиду (придатний протягом тижня), 2% (насичений) розчин пікринової кислоти, дистильована вода.

Обладнання: конічні колби на 50 і 100 мл, мірний циліндр, піпетки на 1 мл, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм.

Хід роботи

Дослід 1. Взяти три конічні колби на 100 мл: в першу (дослідну) внести 0,5 мл сечі, у другу (стандартну) – 0,5 мл основного стандартного розчину креатиніну. В кожну колбу додати по 3 мл насиченого розчину пікринової кислоти, ретельно перемішати, додати по 0,2 мл 10% розчину натрій гідроксиду і знову перемішати. У третю (контрольну) колбу внести 3 мл насиченого розчину пікринової кислоти та 0,2 мл 10% розчину натрій гідроксиду. Через 10 хв. загальний об'єм у колбах довести дистильованою водою до позначки.

Визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (зелений світлофільтр, 500-560 нм, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм) відносно контролю.

Розрахунок вмісту креатиніну в сечі провести за формулою:

$$C_{\text{д}} = \frac{E_{\text{ст.}} \times E_{\text{д}} \times D}{E_{\text{ст.}} \times a \times 1000}, \text{ де}$$

$C_{\text{д}}$ – вміст креатиніну в добовому об'ємі сечі;

$C_{ст.}$ – вміст креатиніну у стандартній пробі (100 мг% або 8,8 мМоль/л);

$E_{д.}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{ст.}$ – екстинкція стандартної проби;

D – добовий об'єм сечі, мл;

a – об'єм сечі, взятої для аналізу (0,5 мл);

1000 – коефіцієнт перерахунку міліграм у грами.

Дослід 2. У колбу на 50 мл внести 0,4 мл сечі, додати 1 мл насиченого розчину пікринової кислоти та 0,4 мл 10% розчину натрій гідроксиду і ретельно перемішати. Через 10 хв. вміст колби довести водою до позначки та перемішати.

Визначити екстинкцію дослідної і стандартної (0,5 н розчин калій біхромату) проби на ФЕК (зелений світлофільтр, 530 нм, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм) відносно контролю.

Розрахунок вмісту креатиніну в сечі провести за формулою:

$$C_{д.} = \frac{C_{ст.} \times E_{д.} \times D}{E_{ст.} \times 100}, \text{ де}$$

$C_{д.}$ – вміст креатиніну в добовому об'ємі сечі;

$C_{ст.}$ – вміст креатиніну у стандарті;

$E_{д.}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{ст.}$ – екстинкція стандартної проби;

D – добовий об'єм сечі (мл).

За вмістом креатиніну можна отримати інформацію про стан фізичного навантаження людини.

Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Яка біологічна роль креатиніну?
2. Записати схему утворення креатину і креатиніну.
3. Як проходить обмінна реакція між креатином та АТФ?

3. ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ. ТЕМА: ОБМІН НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 389-415]; [2, с. 262-303]; [3, с. 189-260]; [4, с. 270-300, 310-329]; [5, с. 446-473, 498-505].

Додаткова: [4]; [5]; [6]; [8]; [10].

Методичні вказівки

1. При розгляді теоретичних питань звернути увагу на особливості ферментного гідролізу нуклеїнових кислот.
2. Дати характеристику специфічних ендо- та екзонуклеаз, нуклеотидаз і нуклеозидаз.
3. Вивчити хімізм реакцій утворення кінцевих продуктів розкладу пуринів і піримідинів.
4. Охарактеризувати ферменти, які забезпечують синтез пуринових та піримідинових нуклеотидів.
5. При виконанні практичних робіт дотримуватись правил техніки безпеки.
6. Оформити роботи, пояснити результати, записати висновки і виконати завдання для самоконтролю знань.

Теоретичні питання

1. Охарактеризувати шляхи розкладу нуклеїнових кислот за участю специфічних ферментів.
2. Розклад полінуклеотидів. Характеристика основних груп нуклеаз, специфіка їх дії.
3. Катаболізм нуклеотидів, характеристика нуклеотидаз.
4. Розклад нуклеозидів, характеристика нуклеозидаз.
5. Шляхи розкладу основ пуринового ряду до кінцевих продуктів, характеристика ферментів.
6. Особливості катаболізму пуринів у людини та інших видів тварин.
7. Шляхи розкладу до кінцевих продуктів основ піримідинового ряду, характеристика ферментів.
8. Роль 5-фосфорибозил-1-пірофосфату в синтезі пуринових і піримідинових нуклеотидів.
9. Характеристика зв'язуючої ланки в синтезі нуклеозидмонофосфатів пуринового ряду.
10. Утворення нуклеозидмонофосфатів, нуклеозиддифосфатів та нуклеозидтрифосфатів пуринового ряду.

11. Синтез піримідинових нуклеотидів, характеристика ферментів.
12. Характеристика зв'язуючої ланки в синтезі нуклеозидмонофосфатів піримідинового ряду.
13. Утворення нуклеозидмонофосфатів, нуклеозиддифосфатів і нуклеозидтрифосфатів піримідинового ряду.

Тестові завдання:

1. Нуклеази – це ферменти, які розщеплюють:
 - А. Міжнуклеотидні зв'язки; Б. Міжнуклеозидні зв'язки;
 - В. Нуклеотиди; Г. Нуклеозиди.
2. Нуклеотидази – це ферменти, які розщеплюють:
 - А. Міжнуклеозидні зв'язки;
 - Б. Полінуклеотиди до мононуклеотидів;
 - В. Мононуклеотиди до нуклеозидів;
 - Г. Міжнуклеозидні зв'язки;
 - Д. Нуклеозиди до пуринових і піримідинових основ та β -D-рибофуранози.
3. Нуклеозидази – це ферменти, які розщеплюють:
 - А. нуклеозиди до пуринових і піримідинових основ та β -D-рибофуранози;
 - Б. Полінуклеотиди до мононуклеотидів;
 - В. Міжнуклеозидні зв'язки;
 - Г. Міжнуклеозидні зв'язки;
 - Д. Мононуклеотиди до нуклеозидів.
4. Яка сполука є кінцевим продуктом обміну пуринових основ у людини:
 - А. Сечовина і гліюксалева кислота, Б. Сечова кислота,
 - В. Ксантин, Г. Гіпоксантин, Д. Алантоїн.
5. Яка сполука є кінцевим продуктом обміну пуринових основ у риб і амфібій:
 - А. Сечовина і гліюксалева кислота, Б. Сечова кислота,
 - В. Ксантин, Г. Алантоїнова кислота,
 - Д. Алантоїн.
6. Які сполуки утворюються при розкладі урацилу:
 - А. Карбамінова і β -аміноізомасляна кислоти;
 - Б. Карбамінова кислота і β -аланін;
 - В. Алантоїн;
 - Г. β -аланін і β -аміноізомасляна кислота;
 - Д. Сечова кислота.
7. Які сполуки утворюються при розкладі тиміну:
 - А. α -аланін і карбамінова кислота;

- Б. Карбамінова і β-аміноізомаляна кислоти;
 В. Сечова кислота;
 Г. β-аланін і β-аміноізомаляна кислота;
 Д. Алантоїн.
8. Які ферменти беруть участь в синтезі сечової кислоти з пуринових основ:
 А. Урикооксидаза, Б. Ксантиноксидаза,
 В. Аденинаміногідролаза, Г. Гуанінаміногідролаза.
9. Які амінокислоти беруть участь в біосинтезі пуринових основ:
 А. Аланін, Б. Гліцин, В. Аспарагін,
 Г. Лізин, Д. Глутамін Е. Аспарагінова кислота.
10. Попередником якої сполуки є оротова кислота:
 А. Уридинової кислоти, Б. Цитидинової,
 В. Піримідинової, Г. Аденилової,
 Д. Гуанілової.
11. Попередником якої сполуки є інозинова кислота:
 А. Цитидинової кислоти, Б. Аденилової,
 В. Гуанілової, Г. Уридилової, Д. Пуринової.
12. Присутність яких сполук необхідна для функціонування ДНК-полімерази:
 А. Йонів Mg^{2+} ; Б. ДНК-матриці;
 В. Затравної РНК з 3'-ОН-кінцем;
 Г. Чотирьох дезоксирибонуклеотид-5'-трифосфатів;
 Д. Оротової кислоти.
13. Які сполуки необхідні для нормальної діяльності РНК-полімерази (транскриптази):
 А. Чотири рибонуклеозид- 5'-фосфата;
 Б. ДНК-затравка; В. Йони Mg^{2+} ; Г. РНК-затравка.
14. Попередником яких сполук є інозинова кислота:
 А. Цитидинової; Б. Аденилової;
 В. Гуанілової; Г. Уридилової.
15. Яка з перерахованих нуклеїнових кислот є матрицею для біосинтезу рРНК:
 А. рДНК; Б. рРНК; В. мРНК; Г. вРНК; Д. тРНК.
16. Яка з перерахованих нуклеїнових кислот забезпечує кодування амінокислот при біосинтезі білка:
 А. рДНК; Б. рРНК; В. мРНК; Г. вРНК; Д. тРНК.
17. Який процес відбувається при перетворенні: УМФ → ЦМФ:
 А. Фосфорилювання; Б. Метилування;
 В. Відновлення; Г. Амінування; Д. Дезамінування.
18. Який процес відбувається при перетворенні: дУМФ → дТМФ:

А. Фосфорилування;
В. Відновлення;
Д. Дезамінування.

Б. Метилування;
Г. Амінування;

Вправи:

1. Записати сполуки, які утворюються при дії на олігонуклеотид такої первинної структури: АЦЦ ЦЦА ГГГ УУУ ЛГУ УЦФ:
а) ендонуклеази змінної отрути; б) РНКази I;
в) фосфодіестерази селезінки; г) РНКази II;
2. Здійснити перетворення: аденін \rightarrow сечова кислота; урацил \rightarrow Х; сечова кислота \rightarrow Х; аденозин-3'-фосфат \rightarrow аденозин \rightarrow інозит \rightarrow гіпоксантин.
3. Записати схему дезамінування цитозину, аденіну, гуаніну. Назвати ферменти, які каталізують ці реакції.
4. Здійснити перетворення: гуанозин-3'-фосфат \rightarrow гуанозин \rightarrow гуанін \rightarrow ксантин \rightarrow ?
5. Записати схему перетворення нуклеотиду довільної будови, який складається з шести нуклеотидних залишків під впливом екзо- і ендонуклеаз.
6. Специфіка дії рибонуклеаз (гідролаз і фосфодіестераз). Записати розщеплення тетрарибонуклеотидного фрагменту за участю цих ферментів.
7. Записати схему розщеплення: а) динуклеотиду при дії 3'- і 5'-нуклеаз, б) нуклеотиду за участю гідролаз та рибозилтрансфераз.
8. Записати формулу сечової кислоти в таутомерних формах.
9. Здійснити перетворення за схемами: а) гуанозин \rightarrow ксантин, б) аденозин \rightarrow інозин, в) гіпоксантин \rightarrow сечова к-та.
10. Розклад мононуклеотидів до кінцевих продуктів: АМФ \rightarrow сечова к-та, ГМФ \rightarrow сечова к-та, ТМФ \rightarrow кінцеві продукти розкладу.
11. Записати схеми перетворення до нуклеозидів таких фрагментів ДНК під впливом нуклеаз, нуклеотидаз і нуклеозидаз: 5'-АЦТГ-3'; 5'-ГТАТЦ-3'.
12. Записати повну схему розкладу до кінцевих продуктів фрагменту РНК такої будови: 3'-АГЦ ЦУУ-5'.
13. Які ферменти приймають участь у перетворенні аденіну в гіпоксантин та ксантин, а гуаніну у ксантин? Записати хімізм реакцій.
14. Записати будову та схему утворення кінцевих продуктів розкладу пуринів і піримідинів у нижчих організмів.

15. Записати будову та схему утворення кінцевих продуктів розкладу основ пуринового і піримідинового ряду в організмі людини та вищих ссавців.
16. Здійснити перетворення: $\text{NH}_3 + \text{CO}_2 + \text{АТФ} \rightarrow$ уридинмонофосфат.
17. Записати хімізм реакцій синтезу оротової кислоти.
18. Записати початкові реакції синтезу пуринових основ, вказати ферменти.
19. Які особливості синтезу нуклеозидмонофосфатів пуринового і піримідинового ряду.
20. Записати перетворення за схемою: УМФ \rightarrow ЦМФ \rightarrow ЦДФ \rightarrow ЦТФ.
21. Які продукти утворюються при частковому гідролізі олігорибонуклеотиду 5'-ГЦА ГУА УУГ-3' за участю панкреатичної рибонуклеази?
22. Пояснити роль 5-фосфорибозил-1-пірофосфату в біосинтезі пуринових та піримідинових нуклеозидмонофосфатів. Записати відповідні реакції.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КІНЦЕВИХ ПРОДУКТІВ ОБМІНУ НУКЛЕІНОВИХ КИСЛОТ

РОБОТА № 1 ВИДІЛЕННЯ СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ З СЕЧІ

У людини сечова кислота є кінцевим продуктом пуринового обміну. Джерелом сечової кислоти є нуклеопротейни їжі та тканин організму. При гідролізі нуклеопротейнів у тканинах організму утворюються амінопурини – аденін та гуанін, які зазнають гідролітичного дезамінування з утворенням гіпоксантину і ксантину. Під впливом ферменту оксидази гіпоксантин та ксантин окиснюються до сечової кислоти.

Принцип методу. Сечову кислоту виділяють при підкисленні сечі з наступним фільтруванням або випаровуванням.

І спосіб

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: концентрована хлоридна кислота.

Обладнання: мірний циліндр, лійка, конічні колби на 50 мл, фільтри.

Хід роботи

До 20 мл сечі додати 2 мл концентрованої хлоридної кислоти і залишити в холодильнику протягом доби. На дні та стінках посудини утворюються кристали сечової кислоти, забарвлені пігментами сечі в темно-бурий колір. З отриманим осадом провести якісні реакції на сечову кислоту.

П спосіб

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: 2% розчин хлоридної кислоти.

Обладнання: фарфорова чашка, мірний циліндр, водяна баня.

Хід роботи

У фарфорову чашку внести 5 мл сечі і випарити на водяній бані (при температурі не вище 70°C) до утворення сухого залишку, додати ще 5 мл сечі та повторно випарити. До сухого залишку додати 10 мл 2% розчину хлоридної кислоти і залишити на деякий час для кристалізації. Кристали сечової кислоти, що утворилися, використати для проведення якісних реакцій.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Які сполуки є попередниками утворення сечової кислоти?
2. Чому для виділення сечової кислоти необхідне кисле середовище?
3. Який вид патології пов'язаний з порушенням метаболізму пуринів?

РОБОТА № 2 ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА СЕЧОВУ КИСЛОТУ

а. Дослідження відновних властивостей сечової кислоти

Принцип методу. Сечова кислота при нагріванні в лужному середовищі відновлює купрум (II) гідроксид до купрум (I) оксиду, який має цегляно-червоне забарвлення.

Матеріал для дослідження: сечова кислота.

Реактиви: 10% розчин натрій гідроксиду, 1% розчин купрум (II) сульфату.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки, спиртівка.

Хід роботи

Кристали сечової кислоти з попередньої роботи внести в чисту пробірку, додати 2 мл 10% розчину натрій гідроксиду і по краплях 1% розчин купрум (II) сульфату до утворення блакитного осаду купрум (II) гідроксиду, який при перемішуванні не зникає. Пробірку прогріти на спиртівці та спостерігати за зміною забарвлення.

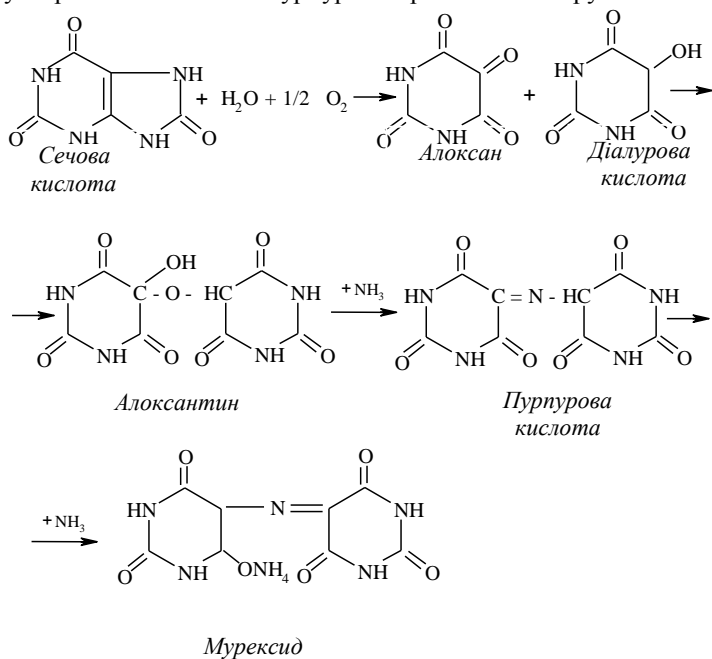
Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Чим зумовлені відновні властивості сечової кислоти?
2. Який фермент забезпечує перетворення кантину в сечову кислоту?
3. Записати хімізм реакції за схемою: сечова кислота \rightarrow NH_3 + CO_2 .

б. Мулексидна проба

Принцип методу. Сечова кислота за присутності нітратної кислоти розкладається з утворенням алоксану і діалурової кислоти, які далі утворюють комплекси пурпурно-червоного кольору:



Мурекидну пробу використовують для визначення сечової кислоти в сечових каменях.

Матеріал для дослідження: сечова кислота.

Реактиви: концентрована нітратна кислота, 25% розчин аміаку, 10% розчин натрій гідроксиду.

Обладнання: фарфорова чашка, водяна баня, піпетки.

Хід роботи

У фарфорову чашку внести кілька кристалів сечової кислоти, додати 2-3 краплі концентрованої нітратної кислоти і обережно випарити на водяній бані (при температурі не вище 70°C). Після охолодження до сухого коричнево-червоного залишку, який містить продукти окиснення і гідратації сечової кислоти, на один бік додати 1 краплину 25% розчину аміаку, на інший – 1 краплину 10% розчину натрій гідроксиду. За цих умов з аміаком утворюється пурпурно-червоне забарвлення мурекиду, а з розчином лугу – фіолетове забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Які властивості сечової кислоти зумовлюють позитивну мурекидну пробу?
2. Яке клінічне значення мурекидної проби?
3. Пояснити принцип мурекидної проби.

РОБОТА № 3

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ В СЕЧІ

І спосіб

Принцип методу. Сечова кислота відновлює фосфорно-вольфрамовий реактив, внаслідок чого утворюються оксиди вольфраму з нижчим ступенем окиснення, комплекси яких забарвлені в синій колір. Інтенсивність забарвлення пропорційна вмісту сечової кислоти.

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: насичений розчин натрій карбонату, реактив Фоліна, дистильована вода.

Обладнання: мірні пробірки на 10 мл, піпетки, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм.

Хід роботи

Взяти дві мірні пробірки на 10 мл: в першу (контрольну) внести 1,5 мл води, а у другу (дослідну) – 1,5 мл розведеної в 50 разів сечі. В кожну пробірку додати по 0,7 мл насиченого розчину натрій карбонату і 0,05 мл реактиву Фоліна, перемішати. Загальний об'єм рідини довести дистильованою водою до 10 мл.

Визначити екстинкцію дослідної проби на ФЕК (червоний світлофільтр, 600-650 нм, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм) відносно контролю.

Розрахунок вмісту сечової кислоти, яка виділяється з сечею за добу, провести за формулою:

$$C = \frac{a \cdot b \cdot v}{1,5 \cdot 1000} \text{ мг, де}$$

a – вміст сечової кислоти у пробі, яку знаходять за калібрувальною кривою (мкг);

b – розведення сечі;

v – об'єм сечі, що виділяється за добу (мл);

1,5 – об'єм сечі, взятої для аналізу (мл);

1000 – коефіцієнт перерахунку мікрограмів у міліграми.

Для побудови калібрувальної кривої необхідно приготувати серію робочих розчинів сечової кислоти різної концентрації.

Для приготування робочого стандартного розчину, який в 1 мл містить 0,02 мг сечової кислоти, необхідно 5 мл основного стандартного розчину сечової кислоти (20 мг%) внести в мірну колбу на 50 мл і довести дистильованою водою до позначки.

У 7 пронумерованих пробірок на 10 мл внести: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 і 2 мл робочого стандартного розчину сечової кислоти, що відповідає 2, 4, 8, 12, 16, 20 і 40 мкг сечової кислоти. В кожну пробірку додати по 0,7 мл насиченого розчину натрій карбонату і 0,05 мл реактиву Фоліна. Об'єм у пробірках довести дистильованою водою до 10 мл.

Визначити екстинкцію стандартних проб на ФЕК за тих же умов, що і дослідної проби.

На основі отриманих результатів побудувати калібрувальну криву: на осі абсцис відкласти значення концентрації сечової кислоти, а на осі ординат – відповідні їм значення екстинкції.

Провести розрахунки та записати висновок.

П спосіб

Принцип методу. Сечова кислота в лужному середовищі відновлює фосфорновольфрамівий реактив до фосфорновольфрамівної сині, інтенсивність забарвлення якої пропорційна вмісту сечової кислоти. Кількість відновленого фосфорновольфрамівого реактиву визначають титриметрично.

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: 20% розчин натрій гідроксиду, реактив Фоліна, 0,01н розчин калій гексаціаноферату (III).

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 2 мл, бюретка для титрування.

Хід роботи

До 1,5 мл сечі додати 1 мл 20% розчину натрій гідроксиду і 1 мл фосфорновольфрамівого реактиву Фоліна, перемішати та відтитрувати 0,01н розчином калій гексаціаноферату (III) до зміни забарвлення (синього на жовто-зелене).

Розрахунок. Для визначення сечової кислоти в сечі необхідно знати, яка кількість її відповідає 1 мл калій гексаціаноферату (III).

Якщо на титрування стандартної проби, що містить 0,25 мг сечової кислоти в 0,5 мл, використано 0,34 мл калій гексаціаноферату (III), то 1 мл реактиву відповідає $0,25 : 0,34 = 0,73$ мг сечової кислоти.

Розрахунок вмісту сечової кислоти (в мг) в добовій кількості сечі провести за формулою:

$$C = \frac{0,73 \cdot a \cdot b}{1,5} \text{ мг, де}$$

a – об'єм калій гексаціаноферату (III), використаного на титрування (мл);

b – добовий об'єм сечі (1500-2000 мл);

1,5 – об'єм сечі, використаної для аналізу (мл).

У сечі здорової людини протягом доби при звичайному харчовому раціоні виділяється близько 270-600 мг сечової кислоти.

Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Які особливості титриметричного методу визначення вмісту сечової кислоти?

2. Чи залежить рівень екскреції сечової кислоти від характеру дієти?
3. Яке діагностичне значення має визначення вмісту сечової кислоти в біоматеріалі?

РОБОТА № 4

ЯКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ КАРБАМІНОВОЇ КИСЛОТИ В СЕЧІ

Принцип методу. Карбамінова кислота є продуктом катаболізму пуринових основ. При нагріванні карбамінової кислоти з натрій дифеніл-*n*-сульфонатом, діацетилмонооксимом і калій персульфатом у кислому середовищі утворюються сполуки рожевого кольору, інтенсивність забарвлення яких пропорційна вмісту карбамінової кислоти.

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: 50% розчин сульфатної кислоти, 1% розчин натрій дифеніл-*n*-сульфонату, 3% розчин діацетилмонооксиму, 1% розчин калій персульфату.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 мл, мірний циліндр, пробка із зворотним холодильником, водяна баня.

Хід роботи

У колбу із зворотним холодильником внести 3 мл сечі, 6 мл 50% розчину сульфатної кислоти, 0,1 мл 1% розчину натрій дифеніл-*n*-сульфонату та 0,25 мл 3% розчину діацетилмонооксиму і поставити на киплячу водяну баню на 10 хв.

Після охолодження до суміші додати 0,25 мл 1% розчину калій персульфату та поставити на киплячу водяну баню на 1 хв. Охолодити і спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. При розкладі яких компонентів нуклеїнових кислот утворюється карбамінова кислота? Записати хімізм.
2. Пояснити принцип методу визначення карбамінової кислоти.
3. Записати хімізм утворення карбамінової кислоти.

РОБОТА № 5
**ВИЗНАЧЕННЯ СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ В СИРОВАТЦІ КРОВІ
КОЛОРИМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ (за Мюлер-Зейфером)**

Принцип методу. Вміст сечової кислоти визначають колориметрично в безбілковому фільтраті за реакцією з реактивом Фоліна.

Матеріал для дослідження: сироватка крові.

Реактиви: стандартний розчин сечової кислоти, 20% розчин ТХА, насичений розчин натрій карбонату, реактив Фоліна, дистильована вода.

Обладнання: мірні пробірки на 10 мл, піпетки на 1 мл, центрифужні пробірки, центрифуга, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм.

Хід роботи

У центрифужну пробірку внести 1 мл сироватки крові, додати 1 мл 10% розчину ТХА та 1 мл дистильованої води. Вміст пробірки ретельно перемішати і через 30 хв. відцентрифугувати при 3000 об./хв. протягом 15 хв.

Взяти три мірні пробірки на 10 мл: в одну (дослідну) внести 1 мл центрифугату, у другу (стандартну) – 0,5 мл стандартного робочого розчину сечової кислоти, 0,5 мл 20% розчину ТХА і 0,5 мл дистильованої води, а у третю (контрольну) – 1 мл води. В кожну пробірку додати по 0,7 мл насиченого розчину натрій карбонату та 1 краплі (0,05 мл) реактиву Фоліна.

Через 10 хв. визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (червоний світлофільтр, 600-650 нм, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм) відносно контролю.

Розрахунок вмісту сечової кислоти в сироватці крові провести:

1. За формулою:

$$C_{\text{д}} = \frac{C_{\text{ст.}} \cdot E_{\text{д.}}}{E_{\text{ст.}}}, \text{ де}$$

$C_{\text{д}}$ – вміст сечової кислоти в дослідній пробі;

$C_{\text{ст.}}$ – вміст сечової кислоти у стандартній пробі;

$E_{\text{д.}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{ст.}}$ – екстинкція стандартної проби.

2. За калібрувальною кривою, для побудови якої основний стандартний розчин сечової кислоти (200 мг/л) розвести

дистильованою водою у 2 рази та приготувати серію його розведень як вказано в таблиці:

№ пробірки	Робочий стандартний розчин, 100 мг/л, (мл)	Дистильована вода, (мл)	Концентрація сечової кислоти	
			мг/л	мМоль/л
1.	0,5	9,5	5	0,029
2.	1,0	9,0	10	0,059
3.	2,0	8,0	20	0,118
4.	3,0	7,0	30	0,177
5.	4,0	6,0	40	0,236
6.	5,0	5,0	50	0,295
7.	6,0	4,0	60	0,354

Отримані розчини обробити як дослідні проби.

На основі отриманих результатів побудувати калібрувальну криву: на осі абсцис відкласти значення концентрації сечової кислоти (в мг/л), а на осі ординат – відповідні їм значення екстинкції.

Зауваження до методу

1. При дослідженні вмісту сечової кислоти сироватку крові не слід зберігати більше 6 год. та використовувати біоматеріал з слідами гемолізу.
2. Перед визначенням вмісту сечової кислоти бажано не вживати медпрепарати – похідних пурина (кофеїну, теоброміну, теофіліну), фенолу (креазоту, саліцилатів та ін.), вітаміну С, похідних тіазолу.

Вміст сечової кислоти в сироватці крові практично здорових людей віком від 20 до 49 років знаходиться в межах 45-82 мг/л (0,27-0,48 мМоль/л) у чоловіків і 30-65 мг/л (0,18-0,38 мМоль/л) у жінок, а в віці після 60 років – 42-80 мг/л (0,25-0,47 мМоль/л) у чоловіків і 32-73 мг/л (0,19-0,43 мМоль/л) у жінок.

Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. З якою метою до біоматеріалу додають ТХА?
2. Який вплив на організм виявляє значне підвищення чи зниження рівня сечової кислоти у крові?
3. Пояснити вираз “гіперурікемія”. Причини її розвитку.

4. ЛАБОРАТОРНО-ПРАКТИЧНЕ ЗАНЯТТЯ. ТЕМА: ОБМІН ВУГЛЕВОДІВ.

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1] С. 416-458; [2] С. 200-224; [3] С. 328-369; [4] С. 143-189; [5] С. 287-345.
Додаткова: [4], [5], [6]; [8]; [10].

Методичні вказівки

1. При розгляді теоретичних питань звернути увагу на: шляхи розкладу вуглеводів та ферменти, які приймають участь у цих процесах; особливості внутрішньоклітинного обміну вуглеводів; шляхи утворення глюкозо-6-фосфату.
2. З'ясувати особливості дихотомічного та апотомічного розкладу вуглеводів.
3. Розмежовувати поняття “цукор крові” і “істинна глюкоза”. З'ясувати механізм нейрогуморальної регуляції цих показників та особливості їх кількісного визначення.
4. При виконанні практичних робіт дотримуватись правил техніки безпеки.
5. Оформити роботи, пояснити результати, записати висновки і виконати завдання для самоконтролю знань.

Теоретичні питання

1. Вміст вуглеводів у продуктах харчування. Рекомендовані норми добової потреби організму в вуглеводах залежно від віку, виду діяльності людини, фізичного навантаження і кліматичних умов.
2. Основні етапи обміну вуглеводів. Особливості перетворення вуглеводів у травному каналі. Біологічна роль травлення.
3. Значення вуглеводного обміну. Добова потреба в вуглеводах.
4. Що включає поняття “проміжний обмін вуглеводів”?
5. Які ферменти забезпечують проміжний обмін вуглеводів?
6. Які вуглеводи надходять з продуктами харчування? Особливості їх розщеплення у процесі проміжного обміну.
7. Дати визначення поняття “цукор крові” та “істинна глюкоза крові”.
8. Пояснити механізм нейрогуморальної регуляції цукру у крові.
9. Шляхи розкладу полісахаридів та олігосахаридів. Ферменти, що каталізують розщеплення полісахаридів: α -, β - та γ -амілази,

- α -глюкозидаза, α -аміло-1,6-глюкозидаза, β -галактозидаза, β -фруктофуранозидаза.
10. Фосфороліз поліцукрів. Фосфорилази, їх будова і механізм дії.
 11. Всмоктування та транспорт вуглеводів. Їх резерви і використання у тканинах.
 12. Цукор крові. Шляхи поповнення крові глюкозою.
 13. Механізми нейрогуморальної регуляції обміну вуглеводів.
 14. Метаболізм моносахаридів. Роль реакції фосфорилування в активації моносахаридів.
 15. Взаємоперетворення фосфорних ефірів моносахаридів. Ізомери фосфорних ефірів моносахаридів. Роль нуклеозиддифосфатцукрів у цьому процесі.
 16. Обмін глюкозо-6-фосфату: шляхи утворення та використання.
 17. Дихотомічний та апотомічний шляхи розкладу, їх співвідношення в організмі.
 18. Біосинтез глікогену (глікогенез). Резервування глікогену, фізіологічне значення цього процесу.
 19. Основні шляхи перетворення вуглеводів до кінцевих продуктів. Анаеробний шлях обміну вуглеводів.
 20. Гліколіз і глікогеноліз, характеристика ферментів. Енергетичний ефект та баланс цих процесів.
 21. Хімізм спиртового бродіння, характеристика ферментів, енергетичний ефект.
 22. Аеробний шлях обміну вуглеводів, характеристика ферментів. Співвідношення між анаеробним та аеробним процесами перетворення вуглеводів в організмі (ефект Кребтрі і Пастера).
 23. Хімізм окиснення пировиноградної кислоти до кінцевих продуктів (окиснювальне декарбоксілювання ПВК).
 24. Цикл трикарбонових кислот, характеристика ферментів, енергетичний ефект.
 25. Апотомічний (пентозний) цикл перетворення вуглеводів, характеристика ферментів. Енергетичний ефект.
 26. Загальний енергетичний баланс та ефект обміну вуглеводів. Значення вуглеводного обміну.
 27. Біосинтез вуглеводів. Механізм первинного біосинтезу вуглеводів у процесі фотосинтезу і хемосинтезу.
 28. Трансглікозилювання та його роль у біосинтезі оліго- і поліцукрів.
 29. Роль нуклеозиддифосфатцукрів у глікозилтрансферазних реакціях, забезпечення специфічного біосинтезу оліго- та полісахаридів.

30. Поняття про глюконеогенез і його регуляцію.
31. Синтез моно-, ди- та поліцукрів. Характеристика ферментів.

Тестові завдання:

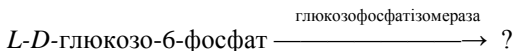
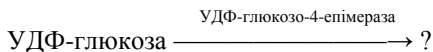
1. Які моносахариди утворюються при кислотному гідролізі лактози:
А. Два залишки D-глюкози; Б. α -D-глюкоза і β -D-галактоза;
В. D-глюкоза і D-фруктоза; Г. D-глюкоза і D-маноза;
Д. Два залишки D-манози.
2. Який моносахарид є продуктом повного гідролізу глікогену:
А. D-фруктоза; Б. Глюкозо-1-фосфат;
В. Глюкозо-6-фосфат; Г. D-глюкоза.
3. Який моносахарид утворюється при повному гідролізі крохмалю:
А. D-галактоза; Б. α -D-глюкоза;
В. D-фруктоза; Г. D-фруктозо-6-фосфат.
4. Який моносахарид утворюється при повному гідролізі целюлози:
А. β -D-глюкоза; Б. α -D-глюкоза;
В. D-фруктоза; Г. D-галактоза.
5. При повному гідролізі крохмалю утворюється:
А. Амілоза; Б. Фруктоза;
В. Глюкоза; Г. Рибоза;
Д. Глюкозо-1-фосфат.
6. Яка кількість макроергічних зв'язків утворюється при окисненні молекули D-глюкози до лактату:
А. Три; Б. Чотири;
В. Два; Г. Шість.
7. Яка кількість макроергічних зв'язків утворюється при повному окисненні молекули D-галактози до CO_2 і H_2O :
А. 12; Б. 24; В. 30; Г. 36; Д. 38.
8. Яка кількість макроергічних зв'язків утворюється при повному окисненні фруктозо-6-фосфату:
А. 24; Б. 36; В. 12; Г. 38; Д. 39.
9. Яка кількість макроергічних зв'язків утворюється при повному окисненні гліцерол-3-фосфату:
А. 5; Б. 20; В. 12; Г. 25.
10. Яка кількість Моль АТФ утвориться при повному окисненні сахарози:
А. 38; Б. 70; В. 76; Г. 100.
11. Що таке ефект Пастера:

- Б. Окиснення ацетону до CO_2 і H_2O ;
 В. Окиснення пірувату до CO_2 і H_2O ;
 Г. Окиснення лактата до CO_2 і H_2O з виділенням енергії.
20. Що є кінцевим продуктом гліколізу:
 А. Піруват; Б. Лактат; В. Піруват і лактат;
 Г. Етанол і CO_2 ; Д. Пропіонат.
21. Який із перерахованих ферментів каталізує реакцію біосинтезу глікогену:
 А. α -1,6-глюкозидаза; Б. Глікоген-фосфорилаза;
 В. Глікогенсинтаза;
 Г. Глікоген-фосфорилаза і фосфоглюкомутаза.
22. Який фермент каталізує розщеплення фруктозо-1,6-дифосфату на дві тріози:
 А. Триозофосфатізомераза; Б. Фруктозодифосфатальдолаза;
 В. Гексокіназа; Г. Фосфо-фруктокіназа.
23. Який фермент каталізує перетворення ПВК у молочну кислоту:
 А. Лактатдегідрогеназа; Б. Сукцинатдегідрогеназа;
 В. Піруватдегідрогеназа; Г. Малатдегідрогеназа;
 Д. Ізоцитратдегідрогеназа.
24. Який фермент каталізує перетворення фруктозо-6-фосфату в глюкозо-6-фосфат:
 А. Фосфоглюкокіназа, Б. Фосфоглюкомутаза,
 В. Фосфоглюкоізомераза, Г. Триозо-фосфатізомераза,
 Д. Енолаза.
25. Які ферменти шлунково-кишкового тракту приймають участь в перетворенні глікогену і крохмалю до молекул глюкози:
 А. β -амілаза; Б. α -амілаза, мальтаза;
 В. α -амілаза; Г. γ -амілаза, β -галактозидаза;
 Д. β -амілаза, β -фруктозидаза.

Вправи:

- Записати хімізм реакцій гідролізу та фосфоролізу крохмалю за участю відповідних ферментів.
- Записати реакції гідролізу дицукрів: мальтози, сахарози, лактози. Вказати ферменти, які забезпечують ці процеси.
- Здійснити перетворення за схемами, вказати ферменти, які приймають участь у цих реакціях:
 $\text{ATP} + D\text{-глюкоза} \rightarrow$ $\text{ATP} + D\text{-фруктоза} \rightarrow$
 $\text{ATP} + D\text{-маноза} \rightarrow$ $\text{ATP} + D\text{-рибоза} \rightarrow$
- Записати схему перетворення фруктозо-1,6-дифосфату до 2-фосфо-енолпіровиноградної кислоти.

5. Здійснити перетворення за схемами: D -фруктоза \rightarrow ПВК; D -глюкоза \rightarrow 2-фосфоенолпіровиноградна кислота.
6. Здійснити перетворення за схемами, вказати в яких процесах проходять вказані реакції: УТФ \rightarrow УДФ-глюкоза

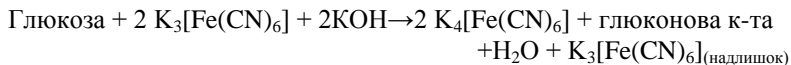


7. Які шляхи утворення глюкозо-6-фосфату в організмі?
8. Записати реакції перетворення глюкозо-6-фосфату до молочної кислоти.
9. Записати схему перетворення піровиноградної кислоти.
10. Записати реакції розкладу глікогену, вказати ферменти.
11. Біосинтез глікогену, вказати ферменти.
12. Розрахувати енергетичний баланс гліколізу і глікогенолізу.
13. Записати реакції утворення фосфорних ефірів моноцукрів та шляхи утворення глюкозо-6-фосфату.
14. Записати реакції глікогенолізу до утворення фруктозо-1,6-дифосфату.
15. Реакції гліколізу, енергетичний ефект.
16. Записати рівняння і розрахувати енергетичний ефект реакцій за такими схемами: а) глюкоза \rightarrow 3-фосфогліцириновий альдегід; б) діоксиацетонмонофосфат \rightarrow піруват; в) лактат \rightarrow ацетил-КоА; г) ацетил-КоА \rightarrow $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$; д) піруват \rightarrow оксалоацетат.
17. Яка кількість молекул АТФ утворюється при повному окисненні таких субстратів: а) пірувату; б) НАД H_2 ; в) фруктозо-1,6-дифосфату; г) фосфоенолпірувату; д) дигідроксиацетонмонофосфату.
18. Записати хімізм ЦТК.
19. Апотомічний розклад глюкози, хімізм реакцій, енергетичний ефект.

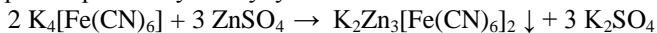
1. КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЦУКРУ КРОВІ ТА СЕЧІ

РОБОТА № 1 МЕТОД ХАГЕДОРНА-ІЄНСЕНА

Принцип методу. При кип'ятінні в лужному середовищі глюкоза відновлює калій гексаціаноферат (III) до калій гексаціаноферату (II):

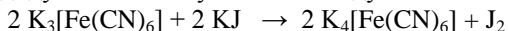


Оскільки ця реакція зворотна, то для зміщення рівноваги вправо додають цинк сульфат, який з калій гексаціанофератом (II) утворює нерозчинну сполуку.



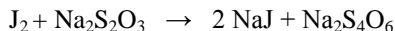
Невикористаний залишок калій гексаціаноферату (III) визначається йодометрично.

У кислому середовищі калій гексаціаноферат (III) витісняє з калій йодиду еквівалентну кількість йоду:



Для зміщення рівноваги реакції вправо додають цинк сульфат у складі потрібного розчину.

Кількість вільного йоду визначають титруванням натрій гіпосульфідом.



Між вмістом цукру у крові та кількістю натрій гіпосульфїту, використаного на титрування, існує обернена залежність.

Матеріал для дослідження: кров.

Реактиви: 0,45% розчин цинк сульфату, 0,1н розчин натрій гідроксиду, хлор-цинк-йодний потрібний розчин, 3% розчин ацетатної кислоти, 1% розчин крохмалю в насиченому розчині натрій хлориду, 0,005н розчин натрій гіпосульфїту, 0,005н розчин калій гексаціаноферату (III), дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1, 2 і 5 мл, бюретка для титрування на 2 мл, штатив з “цукровими” пробірками, лійки, вата для фільтрування, вимочена в гарячій дистильованій воді і висушена, водяна баня.

Хід роботи

У дві пробірки (контрольну та дослідну) внести по 5 мл 0,45% розчину цинк сульфату і 1 мл 0,1н розчину натрій гідроксиду. В дослідну пробірку додати 0,1 мл крові.

Пробірки поставити на киплячу водяну баню на 3 хв. Приготувати дві “цукрові” пробірки з ватними фільтрами, попередньо промитими гарячою дистильованою водою.

Вміст пробірок, що знаходилися на водяній бані, профільтрувати в підготовлені “цукрові” пробірки. Пробірки, в яких проводили осадження білків, двічі промити гарячою водою (по 3 мл), яку виливати на фільтри.

По закінченні фільтрування фільтри зняти, а у пробірки з великою точністю внести по 2 мл 0,005н розчину калій гексаціаноферату (III) і знову поставити на киплячу водяну баню на 15 хв., після чого охолодити. В кожен пробірку додати по 2 мл хлор-цинк-йодного потрійного розчину, 2 мл 3% розчину ацетатної кислоти і 2-3 краплі крохмалю.

Виділений йод відтитрувати з бюретки 0,005н розчином натрій гіпосульфїту до зникнення синього забарвлення.

Вміст цукру в 0,1 мл крові визначити по таблиці (див. додаток 7).

Приклад розрахунку. Якщо на титрування дослідної проби використано 1,45 мл 0,005н натрій гіпосульфїту, то в першому вертикальному стовпчику таблиці знайти число 1,4, у верхньому горизонтальному – 0,05. На місці перетину отримуємо число 0,097 мг. Таким же чином визначаємо вміст “цукру” в контрольному досліді. Якщо на титрування контрольної проби використано 1,96 мл 0,005н розчину натрій гіпосульфїту, то це відповідає 0,007 мг.

1. Проводимо розрахунок цукру в дослідній пробі:

$$0,097 - 0,007 = 0,09 \text{ мг цукру в } 0,1 \text{ мл крові.}$$

2. Перераховуємо на 100 мл крові:

$$\begin{array}{l} 0,09 \text{ мг цукру в } 0,1 \text{ мл крові} \\ X \text{ ————— в } 100 \text{ мл} \\ X = 90 \text{ мг або } 90 \text{ мг\%} \end{array}$$

Для перерахунку мг% в мМоль/л необхідно кількість мг перемножити на 10 і поділити на 180.

Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Які шляхи поповнення крові глюкозою?
2. Пояснити поняття “гіперглікемія”, “глюкозурія”, “кетонемія” і “кетонурія”.
3. Який вміст глюкози у крові відповідає фізіологічній нормі?

РОБОТА № 2 МЕТОД ПОКРОВСЬКОГО-КРАЙКО

Принцип методу. Глюкоза при взаємодії з пікриновою кислотою в лужному середовищі утворює комплексні сполуки помаранчевого кольору, інтенсивність забарвлення яких пропорційна вмісту глюкози.

Матеріал для дослідження: кров

Реактиви: насичений розчин пікринової кислоти, стандартний розчин глюкози (3,5 мМоль/л), 10% розчин натрій гідроксиду, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, мірний циліндр, центрифужні пробірки, мікропіпетки, центрифуга, водяна баня, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм.

Хід роботи

У центрифужну пробірку внести 1 мл води і 0,05 мл крові (піпетку промити цією ж водою) та залишити на 5 хв. для гемолізу. У другу пробірку внести 1 мл води і 0,05 мл стандартного розчину глюкози. В кожну пробірку додати по 5 крапель насиченого розчину пікринової кислоти, ретельно перемішати. Вміст першої пробірки відцентрифугувати при 4000 об./хв. протягом 10 хв. Центрифугат перенести в іншу пробірку. У пробірки з центрифугатом і стандартним розчином глюкози додати по 5 крапель 10% розчину натрій гідроксиду та поставити на киплячу водяну баню на 3 хв.

Після охолодження визначити екстинкцію дослідної і стандартної проби на ФЕК (зелений світлофільтр, 500-560 нм, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм) відносно води.

Розрахунок вмісту цукру у крові провести за формулою:

$$C_{\text{д}} = \frac{C_{\text{ст.}} \cdot E_{\text{д}}}{E_{\text{ст.}}}, \text{ де}$$

$C_{\text{д}}$ – вміст глюкози в дослідній пробі (мМоль/л);

$C_{\text{ст.}}$ – вміст глюкози у стандартній пробі (мМоль/л);

$E_{\text{д}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{ст.}}$ – екстинкція стандартної проби.

Провести розрахунки та записати висновок.

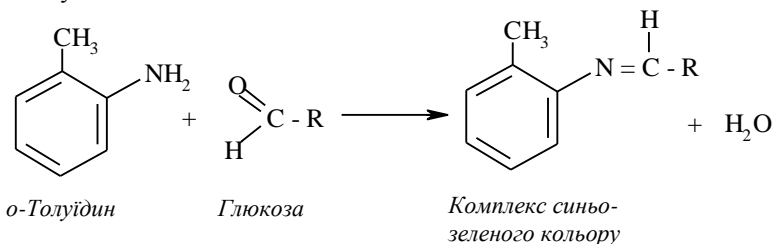
Дати відповіді на запитання

1. Що таке гемоліз? Які особливості цього процесу?

2. Які механізми нейрогуморальної регуляції цукру у крові?
3. Пояснити поняття “цукровий діабет”. Причини його розвитку.

РОБОТА № 3 о-ТОЛУЇДИНОВИЙ МЕТОД (з кров'ю)

Принцип методу. При нагріванні глюкози з о-толуїдином за присутності ацетатної кислоти утворюються сполуки синьо-зеленого кольору, інтенсивність забарвлення яких пропорційна вмісту глюкози:



Метод високоспецифічний і дає можливість у суміші цукрів визначити лише глюкозу.

Матеріал для дослідження: кров

Реактиви: о-толуїдиновий реактив, 3% розчин ТХА, робочий стандартний розчин глюкози (5,55 мМоль/л), дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, центрифужні пробірки, піпетки на 1 і 5 мл, центрифуга, водяна баня, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм.

Хід роботи

У три пробірки (одна з яких центрифужна) внести по 0,9 мл 3% розчину ТХА. В першу (центрифужну) додати 0,1 мл крові, у другу – 0,1 мл стандартного розчину глюкози, у третю – 0,1 мл води. Вміст пробірок перемішати і дослідну пробірку (з кров'ю) відцентрифугувати при 3000 об./хв. протягом 10 хв. Центрифугат злити в чисту суху пробірку.

З кожної пробірки відібрати по 0,5 мл розчину і перенести в чисті пронумеровані пробірки та додати по 4,5 мл о-толуїдинового реактиву. Пробірки закрити шматочком фольги і поставити на киплячу водяну баню на 8 хв. (!).

Після охолодження визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (червоний світлофільтр, 600-650 нм, або

жовто-оранжевий, 595 нм, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм) відносно контролю.

Розрахунок вмісту глюкози у крові провести:

1. За формулою:

$$C_{\text{д}} = \frac{C_{\text{ст.}} \cdot E_{\text{д.}}}{E_{\text{ст.}}}, \text{ де}$$

$C_{\text{д}}$ – вміст глюкози в дослідній пробі (мМоль/л);

$C_{\text{ст.}}$ – вміст глюкози у стандартній пробі (мМоль/л);

$E_{\text{д.}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{ст.}}$ – екстинкція стандартної проби.

2. За калібрувальною кривою, для побудови якої із основного стандартного розчину глюкози (10 г/л) приготувати серію робочих розчинів як вказано в таблиці:

№ пробірок	Стандартний розчин глюкози (10 г/л або 55,5 мМоль/л), мл	0,2% розчин бензойної кислоти, мл	Концентрація глюкози, мМоль/л
1.	8	92	4,44
2.	10	90	5,55
3.	20	80	11,10
4.	30	70	16,65
5.	40	60	22,20

З кожної пробірки по 0,5 мл отриманих робочих розчинів перенести в інші пробірки, додати по 4,5 мл о-толуїдинового реактиву і обробити як дослідні.

На основі отриманих результатів побудувати калібрувальну криву: на осі абсцис відкласти значення концентрації глюкози, а на осі ординат – відповідні їм значення екстинкції.

Лінійна залежність між величинами екстинкції і концентрації глюкози в розчині зберігається в інтервалі 1,78-22,20 мМоль/л.

Зауваження до методу

1. Цільну кров необхідно досліджувати відразу після відбирання. При зберіганні крові концентрація глюкози в ній швидко зменшується внаслідок гліколізу (швидкість зниження 7% за годину). Запобігти цьому можна внесенням у пробу натрій фториду.
2. Не слід залишати кров невідцентрифугованою більше ніж на 30 хв.

3. Сироватку, яку зберігали тривалий час, не бажано використовувати для аналізу.
4. У сироватці крові чи плазмі концентрація глюкози стабільна при температурі 2-8 °С протягом 3 дів (72 год.).
5. Концентрація глюкози не знижується при стабілізації ТХА.
6. За 3 доби до проведення аналізу необхідно виключити вживання аскорбінової кислоти та антибіотиків тетрациклінового ряду.
7. Якщо після кип'ятіння вміст пробірок став непрозорим, проби слід відцентрифугувати протягом 10 хв. і визначити екстинкцію центрифугату.
Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Що означає термін “істинна глюкоза крові”? При яких захворюваннях рекомендується визначення цього показника?
2. Які причини розвитку гіперглікемії? Її види.
3. Пояснити принцип методу визначення глюкози у крові з о-толуїдином.

РОБОТА № 4
о-ТОЛУЇДИНОВИЙ МЕТОД (з сечею)

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: о-толуїдиновий реактив, 3% розчин ТХА, робочий стандартний розчин глюкози (5,55 мМоль/л), дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, центрифужні пробірки, піпетки на 1 і 5 мл, центрифуга, водяна баня, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм.

Хід роботи

Перед проведенням дослідження необхідно провести якісну реакцію на вміст глюкози в сечі і залежно від цього сечу розводять у 2- 10 разів.

У три пробірки (одна з яких центрифужна) внести по 0,9 мл 3% розчину ТХА. В першу (дослідну) додати 0,1 мл розведеної сечі, у другу (стандартну) – 0,1 мл робочого стандартного розчину глюкози, у третю (контрольну) – 0,1 мл води. Вміст пробірок перемішати і дослідну пробірку відцентрифугувати при 1500 об./хв. протягом 15 хв.

З кожної пробірки відібрати по 0,5 мл розчину і перенести в чисті пронумеровані пробірки, в кожен додати по 4,5 мл о-толуїдинового реактиву. Пробірки закрити шматочком фольги і поставити на киплячу водяну баню на 8 хв. (!).

Після охолодження визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (червоний світлофільтр, 600-650 нм, або жовто-оранжевий, 595 нм, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм) відносно контролю.

Розрахунок вмісту глюкози в сечі провести:

1. За формулою:

$$C_{\text{д.}} = \frac{C_{\text{ст.}} \cdot E_{\text{д.}} \cdot a}{E_{\text{ст.}}}, \text{ де}$$

$C_{\text{д.}}$ – вміст глюкози в сечі (мМоль/л);

$C_{\text{ст.}}$ – вміст глюкози у стандартній пробі (мМоль/л);

$E_{\text{д.}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{ст.}}$ – екстинкція стандартної проби;

a – розведення сечі.

2. За калібрувальною кривою (див. попередню роботу).

Провести розрахунки та записати висновок.

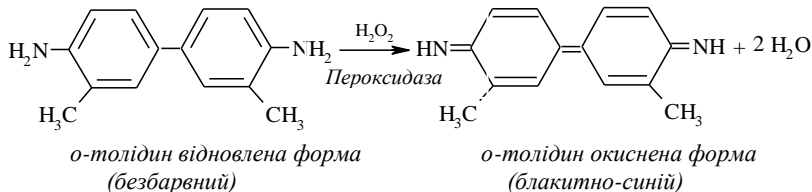
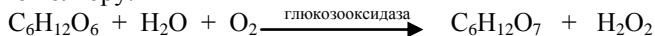
Дати відповіді на запитання

1. За яких умов в сечі можлива поява цукру?
2. Охарактеризувати ознаки, які є проявом цукрового діабету.
3. Що означає поняття “нирковий поріг для глюкози”.

РОБОТА № 5

ГЛЮКОЗООКСИДАЗНИЙ МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ГЛЮКОЗИ У КРОВІ, СИРОВАТЦІ КРОВІ, СПІНАЛЬНІЙ РІДИНІ

Принцип методу. Фермент глюкозооксидаза окиснює глюкозу з утворенням глюконової кислоти і гідроген пероксиду, який окиснює *o*-толідін, внаслідок чого утворюється сполука блакитно-синього кольору:



Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації глюкози в розчині та визначається колориметрично.

Метод високоспецифічний і чутливий. Дає змогу визначати вміст глюкози від 0,2 до 4,0 г/л.

Матеріал для дослідження: кров, сироватка крові, спінальна рідина.

Реактиви: стандартний розчин глюкози (1 г/л), ізотонічний розчин натрій хлориду, 5% розчин цинк сульфату, 0,3М розчин натрій гідроксиду, ензимо-хромогенний реактив, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, центрифужні пробірки, піпетки на 1 і 5 мл, центрифуга, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм.

Хід роботи

У центрифужну пробірку внести 0,1 мл крові (сироватки крові, спінальної рідини) і 1,1 мл ізотонічного розчину натрій хлориду, перемішати. Додати 0,4 мл 5% розчину цинк сульфату та 0,4 мл 0,3М розчину натрій гідроксиду. Суміш ретельно перемішати і через 10 хв. відцентрифугувати при 2500 об./хв. протягом 10 хв.

Взяти три пробірки: в першу (дослідну) внести 1 мл центрифугату, у другу (стандартну) – 1 мл стандартного розчину глюкози, у третю (контрольну) – 1 мл води. В кожну пробірку додати по 3 мл ензимо-хромогенного реактиву, перемішати.

Через 20 хв. (!) визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (червоний світлофільтр, 600-650 нм, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм) відносно контролю.

Розрахунок вмісту глюкози в біоматеріалі провести за формулою:

$$C_{\text{д.}} = \frac{C_{\text{ст.}} \cdot E_{\text{д.}}}{E_{\text{ст.}}}, \text{ де}$$

$C_{\text{д.}}$ – вміст глюкози в дослідній пробі (мМоль/л);

$C_{\text{ст.}}$ – вміст глюкози у стандартній пробі (мМоль/л);

$E_{\text{д.}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{ст.}}$ – екстинкція стандартної проби;

У цільній крові практично здорових людей вміст глюкози складає 3,32-5,55 мМоль/л, а у плазмі – 3,32-6,10 мМоль/л. Сеча практично здорових людей містить сліди глюкози. В добовому об'ємі сечі може міститися до 125-130 мг глюкози.

Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Які переваги ензиматичного методу визначення глюкози?
2. Записати хімізм реакції окиснення глюкози за участю ферменту глюкозооксидази.
3. Пояснити принцип глюкозооксидазного методу визначення вмісту глюкози. Записати хімізм реакції.

РОБОТА № 6 ЕКСПРЕС-МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ЦУКРУ В БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ

Для визначення рівня глюкози в цільній крові пацієнтів з діагностованим діабетом часто використовують глюкометри різної модифікації, в яких застосовують тест-смужки просочені ферментним препаратом.

Принцип методу. Кров наносять на тест-смужку, компоненти якої реагують з глюкозою крові з утворенням забарвленого комплексу, інтенсивність якого пропорційна вмісту глюкози у крові. Оптична система приладу фіксує забарвлення та висвітлює результат на моніторі.

Матеріал для дослідження: кров.

Обладнання: глюкометр.

Хід роботи

Порядок роботи на глюкометрі системи «ONE TOUCH II»

Перевірка приладу:

1. Включити прилад. На моніторі з'являється напис "КОД 7" (приклад) (номер коду на моніторі не слід змінювати при тестуванні) і після цього – ВВЕДЕННЯ СМУЖКИ. Ввести індикаторну смужку розрізаним кінцем вперед, забарвленою стороною догори. Через деякий час з'являється напис: ЗАЧЕКАТИ і далі: "УСТАН. ПРОБИ", після цього слід вийняти смужку та після появи напису "ВВЕДЕННЯ STOP.2" ввести її у паз розрізаним кінцем вперед іншою стороною догори. Прилад відряхує від 4 до 0, потім з'являється напис 70 – ДОБРЕ (приклад), якщо число потрапляє в межі нормального рівня для смужки. Якщо результати тесту з смужкою не потрапляють у такі межі, на екрані з'являється напис: 38 – НЕДОБРЕ, ПОВТОР. За цих умов необхідно повторити тест. Перевіряти прилад слід, як

мінімум, один раз на день, а також у випадку, коли результати приладу на відповідають самопочуттю хворого.

Перед проведенням визначення встановити код (проводити щоразу коли використовують новий набір тест-смужок). Номер коду на упаковці тест-смужок може бути від 1 до 16 і повинен відповідати коду, встановленому на приладі.

1. Натиснути кнопку включення. На моніторі з'являється напис "КОД 7" (приклад), а через декілька секунд – ВВЕДЕННЯ СМУЖКИ. Якщо номер коду співпадає з номером тест-смужки, можна переходити до тестування.
2. Якщо номер коду на екрані не співпадає з номером тест-смужки, слід натиснути і відпустити кнопку коду «С» на боковій панелі приладу - номер коду збільшується на одиницю. Таким чином виставити потрібний код.

Визначення вмісту глюкози у крові:

1. Натиснути кнопку включення. На екрані з'являється напис "КОД 7" (приклад), який змінюється написом "ВВЕДЕННЯ СМУЖКИ". Обережно вийняти тест-смужку із упаковки, не торкаючись місця нанесення крові, ввести у тримач розрізаним кінцем вперед, точкою тесту догори. Через деякий час з'являється напис: ЧЕКАТИ і далі: УСТАНОВКА ПРОБИ.
2. Нанести краплю крові на відповідне місце тест-смужки. При нанесенні крові необхідно слідкувати за тим, щоб:
 - торкнутися лише кінчиком краплі до точки тесту;
 - нанести достатньо крові, щоб сформувалася кругла блискуча крапля, яка повністю закриває точку тестової смужки;
 - не зрушувати тест-смужку.
3. Прилад відраховує від 45 до 0 і видає результат, який з'являється на моніторі: 5,5 мМоль/л (приклад).

Дати відповіді на запитання

1. З якою метою використовують глюкометри?
2. Пояснити принцип методу визначення вмісту глюкози у крові за допомогою глюкометрів.
3. Яка перевага експрес-методів визначення вмісту глюкози?

РОБОТА № 7
**ВИЗНАЧЕННЯ ГЛЮКОЗИ В СЕЧІ ЗА ДОПОМОГОЮ
ІНДИКАТОРНИХ СМУЖОК “ГЛЮКОТЕСТ”**

Принцип методу. Висновок про вміст глюкози роблять за зміною забарвлення барвника нанесеного на індикаторну смужку, яке порівнюють з кольоровою шкалою.

“Глюкотест” – це смужка паперу, насичена розчином ферментів (глюкозооксидозою і пероксидазою), о-толїдином, цитратним буфером, желатиною та жовтим барвником аураміном, який змінює забарвлення від жовтого до темно-синього залежно від вмісту глюкози в сечі.

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: набір глюкотестів – тест-смужки і кольорова шкала.

Хід роботи

Смужку “Глюкотесту” змочити у свіжозібраній сечі і залишити на 2 хв. для розвитку забарвлення. Після цього провести візуальну оцінку порівнянням забарвлення тест-смужки з кольоровою шкалою. За відсутності глюкози в сечі колір тест-смужки не змінюється.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

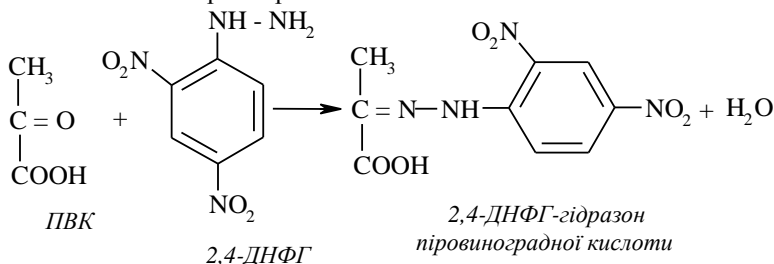
1. Який вміст глюкози в сечі у практично здорових людей?
2. За яких умов можлива поява глюкози в сечі?
3. Пояснити принцип методу визначення вмісту глюкози в сечі за допомогою індикаторних смужок “Глюкотесту”.

**2. ВИЗНАЧЕННЯ МЕТАБОЛІТІВ ВНУТРІКЛІТИННОГО
ОБМІНУ ВУГЛЕВОДІВ**

РОБОТА № 1
**ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ПІРОВИНОГРАДНОЇ КИСЛОТИ
У КРОВІ ТА СЕЧІ (модифікований метод Умбрайта)**

Принцип методу. Піровиноградна кислота в кислому середовищі при дії 2,4-динітрофенілгідразину осаджується в вигляді 2,4-динітрофенілгідразону піровиноградної кислоти, який з лугом утворює сполуку червоно-коричневого кольору. Інтенсивність

забарвлення пропорційна концентрації пірвіноградної кислоти і визначається колориметрично.



Матеріал для дослідження: сеча, кров.

Реактиви: стандартний розчин натрій пірвату (5 мг%), 0,1% розчин ДНФГ, 12% розчин натрій гідроксиду, 10% ТХА (термін зберігання не більше 1 міс.), дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 мл, центрифужні пробірки, центрифуги, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм.

Хід роботи

Визначення ПВК у крові. В центрифужну пробірку внести 0,3 мл крові та 0,7 мл води і після перемішування додати 1 мл 10% розчину ТХА та відцентрифугувати при 1500 об./хв. Протягом 15 хв.

Взяти три пробірки: в першу (дослідну) внести 0,3 мл надосадової рідини, у другу (стандартну) – 0,3 мл стандартного розчину натрій пірвату, у третю (контрольну) – 0,3 мл води. В кожну пробірку додати по 0,4 мл 0,1% розчину ДНФГ, перемішати та поставити в темне місце на 20 хв., після чого додати по 1 мл 12% розчину натрій гідроксиду.

Через 5 хв. визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (синій світлофільтр, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм) відносно контролю.

Визначення ПВК у сечі. Взяти три пробірки: в першу (дослідну) внести 0,3 мл розведеної у 3 рази сечі, у другу (стандартну) – 0,3 мл стандартного розчину натрій пірвату, у третю (контрольну) – 0,3 мл води. В кожну пробірку додати по 0,5 мл 0,1% розчину ДНФГ, перемішати і поставити в темне місце на 20 хв. Після цього додати по 1 мл 12% розчину натрій гідроксиду.

Через 5 хв. визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (синій світлофільтр, кювета з довжиною оптичного шляху 5 мм) відносно контролю.

Розрахунок вмісту пірвіноградної кислоти провести:

1. За формулою:

$$C_{\text{д}} = \frac{C_{\text{ст.}} \cdot E_{\text{д.}}}{E_{\text{ст.}}}, \text{ де}$$

$C_{\text{д}}$ – вміст ПВК у дослідній пробі (мг%);

$C_{\text{ст.}}$ – вміст ПВК у стандартній пробі (мг%);

$E_{\text{д.}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{ст.}}$ – екстинкція стандартної проби.

У випадку визначення вмісту ПВК сечі необхідно врахувати її розведення.

2. За калібрувальною кривою, для побудови якої з основного стандартного розчину (200 мг/л) пірвіноградної кислоти приготувати серію розведень.

Взяти шість пробірок, в які внести відповідно 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 та 0,6 мл основного стандартного розчину ПВК і загальний об'єм розчину довести дистильованою водою до 10 мл.

Після цього з кожної пробірки відібрати по 0,3 мл розчину і перенести в інші пронумеровані пробірки із врахуванням концентрації в них ПВК. Проби обробити як дослідні.

На основі отриманих результатів побудувати калібрувальну криву: на осі абсцис відкласти значення концентрації ПВК, а на осі ординат – відповідні їм значення екстинкції.

У крові практично здорових людей вміст ПВК складає 0,114 мМоль/л (10 мг/л). Концентрація ПВК у крові немовлят у тричі вища. За добу з сечею практично здорових людей виділяється 200 мг пірвіноградної кислоти.

Провести розрахунки та записати висновок.

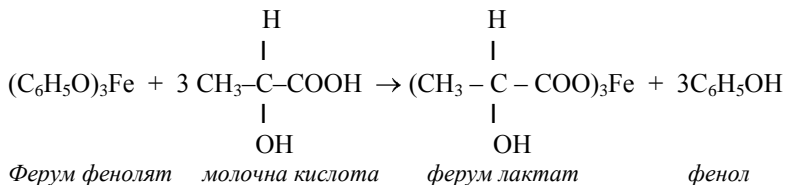
Дати відповіді на запитання

1. Записати схему утворення ПВК з глюкози.
2. Які шляхи перетворення ПВК в організмі?
3. Пояснити принцип методу визначення ПВК в біоматеріалі.

РОБОТА № 2

ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ МОЛОЧНОЇ КИСЛОТИ В М'ЯЗОВІЙ ТКАНІНІ МЕТОДОМ УФФЕЛЬМАНА

Принцип методу. Ферум фенолят (реактив Уффельмана) при взаємодії з молочною кислотою утворює ферум лактат жовто-зеленого кольору, інтенсивність якого пропорційна вмісту молочної кислоти і визначається колориметрично:



Матеріал для дослідження: свіжа м'язова тканина.

Реактиви: 1% розчин фенолу, 1% розчин ферум (III) хлориду, стандартний розчин літій лактату (100 мг%), дистильована вода.

Обладнання: фарфорова ступка, ножиці, марля, штатив з пробірками, мірний циліндр, піпетки, конічні колби, водяна баня, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм, терези з набором різноважок.

Хід роботи

2 г подрібнених м'язів гомогенізувати з 5 мл дистильованої води і профільтрувати через марлю, складену вдвос. Фільтрат поставити на киплячу водяну баню на 1 хв. та повторно профільтрувати.

У три пробірки внести по 5 мл 1% розчину фенолу і по краплях 1% розчин ферум (III) хлориду до утворення фіолетового забарвлення. Після цього в першу (дослідну) пробірку додати 1 мл фільтрату, у другу (стандартну) – 1 мл стандартного розчину літій лактату, у третю (контрольну) – 1 мл води.

Визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (синій світлофільтр, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм) відносно контролю.

Розрахунок вмісту молочної кислоти провести за формулою:

$$C_{\text{д.}} = \frac{C_{\text{ст.}} \cdot E_{\text{д.}}}{E_{\text{ст.}}}, \text{ де}$$

$C_{\text{д.}}$ – вміст молочної кислоти в дослідній пробі (мг%);

$C_{\text{ст.}}$ – вміст молочної кислоти у стандартній пробі (мг%);

$E_{\text{д.}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{ст.}}$ – екстинкція стандартної проби.

Провести розрахунки та записати висновок.

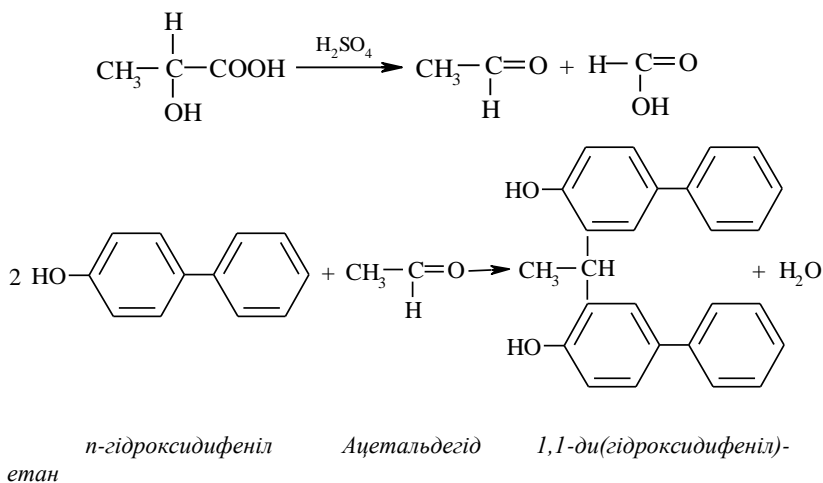
Дати відповіді на запитання

1. Записати схему утворення молочної кислоти з глюкози.

2. За який умов вміст молочної кислоти в м'язовій тканині значно зростає?
3. Розрахувати енергетичний ефект перетворення за схемою: глюкозо-6-фосфат → молочна кислота.

РОБОТА № 3
**ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ МОЛОЧНОЇ КИСЛОТИ У КРОВІ
 (ЗА БАРКЕРОМ І САММЕРСОНОМ)**

Принцип методу. Молочна кислота при кип'ятінні з концентрованою сульфатною кислотою розкладається з утворенням мурашиної кислоти і ацетальдегіду, який з *n*-гідроксидифенілом утворює продукт конденсації фіолетового кольору, інтенсивність якого пропорційна вмісту молочної кислоти і визначається колориметрично:



Матеріал для дослідження: кров.

Реактиви: 10% розчин ТХА, 20% розчин купрум (II) сульфату, кальцій гідроксид, стандартний розчин літій лактату (100 мг%), концентрована сульфатна кислота, лужний розчин *n*-гідроксидифенілу, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 і 5 мл, центрифужні пробірки, водяна і крижана бані, термостат, центрифуга, терези з набором різноважок, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм.

Хід роботи

У центрифужну пробірку внести 0,5 мл дистильованої води, 0,1 мл крові і 1 мл 10% розчину ТХА та відцентрифугувати при 3000 об./хв. протягом 5 хв.

Центрифугат перенести в чисту центрифужну пробірку, додати 0,5 мл насиченого розчину купрум (II) сульфату і 0,5 г кальцій гідроксиду, перемішати до появи блакитного забарвлення (якщо забарвлення зеленувате, то пробу далі не обробляти), залишити на 30 хв. для осадження вуглеводів, осад відцентрифугувати.

Приготувати три чисті пробірки: в першу (дослідну) внести 1 мл центрифугату, у другу (стандартну) – 1 мл стандартного розчину літій лактату, у третю – 1 мл води. В кожну пробірку при охолодженні обережно, по стінках, додати по 3 мл концентрованої сульфатної кислоти, перемішати і поставити на киплячу водяну баню на 5 хв. Після цього пробірки охолодити, додати по 1 краплі лужного розчину *n*-гідрокси-дифенілу та поставити в термостат при 30°C на 30 хв., помішуючи суміш до розчинення осаду, що утворився.

Після появи блакитного забарвлення пробірки поставити на киплячу водяну баню на 90 с. (!).

Після охолодження визначити екстинкцію стандартної і дослідної проби на ФЕК (зелений світлофільтр, 500-560 нм, кювета довжиною оптичного шляху 10 мм) відносно сульфатної кислоти.

Розрахунок вмісту молочної кислоти у крові провести за формулою:

$$C_{\text{д.}} = \frac{C_{\text{ст.}} \cdot E_{\text{д.}}}{E_{\text{ст.}}}, \text{ де}$$

$C_{\text{д.}}$ – вміст молочної кислоти в дослідній пробі (мг%);

$C_{\text{ст.}}$ – вміст молочної кислоти у стандартній пробі (мг%);

$E_{\text{д.}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{ст.}}$ – екстинкція стандартної проби.

Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Яку назву має процес перетворення глюкози до молочної кислоти? Які його особливості та енергетичний баланс і ефект?
2. Записати схему циклу Корі. Пояснити його значення.
3. Пояснити принципи методу визначення вмісту молочної кислоти.

РОБОТА № 4
**ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ МОЛОЧНОЇ КИСЛОТИ У КРОВІ
З ГІДРОХІНОНОМ (за Бюхнером)**

Принцип методу. Молочна кислота при кип'ятінні з концентрованою сульфатною кислотою розкладається з утворенням ацетангідриду, який з гідрохіноном утворює продукт конденсації червоно-коричневого кольору, інтенсивність якого пропорційна вмісту молочної кислоти і визначається колориметрично.

Матеріал для дослідження: кров.

Реактиви: 5% розчин метафосфатної кислоти, 25% розчин купрум (II) сульфату, кальцій гідроксид (порошок), стандартний розчин літій лактату (100 мг%), концентрована сульфатна кислота, 20% спиртовий розчин гідрохінону.

Обладнання: центрифужні пробірки, пробірки з притертими пробками, піпетки на 1 і 5 мл, скляні палички, водяна баня, центрифуга, терези з набором різноважок, ФЕК, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм.

Хід роботи

У центрифужну пробірку внести 1 мл крові і 6 мл води та додати 1 мл 5% розчину метафосфатної кислоти, перемішати і через кілька хвилин відцентрифугувати при 3000 об./хв. протягом 5 хв.

Центрифугат перенести у чисту центрифужну пробірку, додати 1 мл 25% розчину купрум (II) сульфату та 0,5 г кальцій гідроксиду, ретельно перемішати скляною паличкою до появи синього забарвлення і залишити на 30 хв. для осадження вуглеводів, осад відцентрифугувати при 3000 об./хв. протягом 3 хв.

Взяти дві пробірки з притертими пробками: в одну (дослідну) внести 1 мл прозорого центрифугату, у другу (стандартну) – 1 мл стандартного розчину літій лактату. В кожну пробірку додати по 0,1 мл 25% розчину купрум (II) сульфату і 4 мл концентрованої сульфатної кислоти. Поставити на киплячу водяну баню на 1,5 хв. Після охолодження додати по 0,1 мл 20% спиртового розчину гідрохінону, ретельно перемішати та поставити на киплячу водяну баню на 15 хв.

Після охолодження визначити екстинкцію дослідної і стандартної проби на ФЕК (синій світлофільтр, кювета довжиною оптичного шляху 5 мм) відносно сульфатної кислоти.

Розрахунок вмісту молочної кислоти провести за формулою:

$$C_{\text{д.}} = \frac{C_{\text{ст.}} \cdot E_{\text{д.}}}{E_{\text{ст.}}}, \text{ де}$$

$C_{\text{д.}}$ – вміст молочної кислоти в дослідній пробі (мг%);

$C_{\text{ст.}}$ – вміст молочної кислоти у стандартній пробі (мг%);

$E_{\text{д.}}$ – екстинкція дослідної проби;

$E_{\text{ст.}}$ – екстинкція стандартної проби.

Вміст молочної кислоти у крові практично здорових людей складає: 0,56-1,67 ммоль/л в венозній крові, 0,33-0,78 ммоль/л в артеріальній.

Провести розрахунки та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Записати схему перетворень: глікоген → молочна кислота.
2. Пояснити значення глікогенолізу для організму.
3. Записати хімізм реакцій фосфоролізу глікогену, охарактеризувати ферменти.

3. ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПРОБИ НА ПАТОЛОГІЮ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ

РОБОТА № 1 ВЗАЄМОДІЯ АЦЕТОНУ З ЙОДОМ (Проба Лібена)

Принцип реакції. При додаванні розчину йоду до підлужненої сечі, яка містить ацетон, рідина мутніє внаслідок утворення йодоформу, що має специфічний запах:

CH_3

|

$\text{C}=\text{O} + \text{I}_2 + 2\text{NaOH} \rightarrow \text{CH}_3\text{I} + \text{CH}_3\text{COONa} + \text{NaI} + \text{H}_2\text{O}$

|

CH_3

Ця реакція неспецифічна оскільки при взаємодії йоду з ацетальдегідом і етанолом також утворюється йодоформ.

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: 10% розчин натрій гідроксиду, 10% розчин йоду в калій йодиді.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки, мірний циліндр.

Хід роботи

У пробірку внести 5 мл сечі, додати 1 мл 10% розчину натрій гідроксиду і по краплях 10% розчин йоду в калій йодиді до появи жовтуватого забарвлення. Спостерігати за змінами у пробірці.

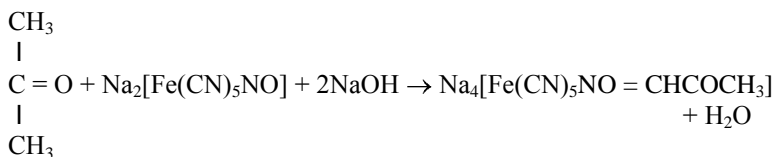
Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Пояснити поняття “ацетон сечі”. Яке діагностичне значення проби на ацетон?
2. Записати хімізм реакції взаємодії ацетону з йодом.
3. Що означають назви “кетонемія” і “кетонурія”?

РОБОТА № 2 РЕАКЦІЯ НА АЦЕТОН І АЦЕТОАЦЕТАТНУ КИСЛОТУ (Проба Ротера)

Принцип реакції. При взаємодії ацетону чи ацетоацетатної кислоти з натрій нітропрусидом у лужному середовищі утворюються комплексні сполуки оранжево-червоного кольору:



Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: амоній сульфат кристалічний, концентрований аміак, 5% розчин натрій нітропрусиду.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки, мірний циліндр.

Хід роботи

У пробірку внести 5 мл сечі, додати амоній сульфат до повного насичення, 1-2 краплі концентрованого аміаку і 2-3 краплі 5% розчину натрій нітропрусиду, перемішати. Спостерігати за появою забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Що являє собою ацетон і за яких умов він утворюється в організмі?

2. Яке діагностичне значення має визначення ацетону та ацетоацетатної кислоти?
3. Записати схему утворення кетонів тіл.

РОБОТА № 3
РЕАКЦІЯ НА АЦЕТОН І АЦЕТОАЦЕТАТНУ КИСЛОТУ
 (Проба Легаля)

Принцип реакції. При взаємодії ацетону чи ацетоацетатної кислоти з натрій нітропрусидом в лужному середовищі утворюються комплексні сполуки оранжево-червоного кольору, які за присутності концентрованої ацетатної кислоти набувають темно-червоного забарвлення:



Ця реакція неспецифічна для ацетону та ацетоацетатної кислоти, оскільки креатинін сечі також взаємодіє з нітропрусидом з утворенням подібного забарвлення, однак при додаванні концентрованої ацетатної кислоти рідина не набуває темно-червоного кольору.

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: 10% розчин натрій гідроксиду, 10% розчин натрій нітропрусиду, концентрована ацетатна кислота.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 мл, мірний циліндр.

Хід роботи

У пробірку внести 2,5 мл сечі, додати 0,5 мл 10% розчину натрій гідроксиду та 0,5 мл 10% розчину натрій нітропрусиду і перемішати. Спостерігати за розвитком забарвлення. Після цього у пробірку додати 1 мл концентрованої ацетатної кислоти та спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. За яких умов вміст ацетону і ацетоацетатної кислоти в рідинах організму зростає?
2. Записати будову ацетоацетатної кислоти.
3. Вказати головні ознаки цукрового діабету.

РОБОТА № 4
РЕАКЦІЯ НА АЦЕТОН І АЦЕТОАЦЕТАТНУ КИСЛОТУ
(Проба Ланге)

Принцип реакції. При взаємодії ацетону чи ацетоацетатної кислоти з натрій нітропрусидом за присутності концентрованого аміаку утворюються комплексні сполуки пурпурово-фіолетового кольору.

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: 10% розчин натрій нітропрусиду, концентрована ацетатна кислота, концентрований аміак.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 мл.

Хід роботи

У пробірку внести 1 мл сечі підкисленої ацетатною кислотою і додати по кілька крапель 10% розчину натрій нітропрусиду та концентрованого аміаку, перемішати. Спостерігати за появою забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Що включає в себе поняття “кетонів тіла”?
2. Чим зумовлена поява кетонових тіл у сечі?
3. Який вміст кетонових тіл у сечі при діабеті?

РОБОТА № 5
РЕАКЦІЯ НА β -ОКСИМАСЛЯНУ КИСЛОТУ
(Проба Гардта)

Принцип реакції. Продукти окиснення β -оксимасляної кислоти гідроген пероксидом взаємодіють з натрій нітропрусидом з утворенням комплексної сполуки червоного кольору. Ацетон і ацетоацетатну кислоту видаляють при нагріванні сечі.

Матеріал для дослідження: сеча.

Реактиви: концентрована ацетатна кислота, 3% розчин гідроген пероксиду, 10% розчин натрій нітропрусиду, 25% розчин аміаку, дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки, мірний циліндр, водяна баня.

Хід роботи

До 10 мл сечі додати 10 мл води і 2-3 краплі концентрованої ацетатної кислоти, перемішати та випарити до половини об'єму.

У пробірку внести 5 мл отриманої сечі, додати 1 мл гідроген пероксиду, прокип'ятити протягом 1 хв. і охолодити. За цих умов β -оксимаєляна кислота окиснюється.

До отриманої суміші додати 10-15 крапель 10% розчину натрій нітропрусиду, перемішати та додати 2 мл 25% розчину аміаку. Спостерігати за зміною забарвлення.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Записати будову β -оксимаєляної кислоти.
2. Продуктом обміну яких сполук є кетоніві тіла?
3. Який наслідок для організму може мати значне підвищення вмісту кетонівих тіл у крові?

4. ДОСЛІДЖЕННЯ ЦИКЛУ ТРИКАРБОНОВИХ КИСЛОТ

РОБОТА № 1

ВИЯВЛЕННЯ CO_2 , ЩО УТВОРЮЄТЬСЯ В ЦТК

Принцип методу. Ацетил-КоА, що міститься в матриксі мітохондрій, в циклі Кребса розкладається з утворенням карбон (IV) оксиду і води. Джерелом ацетил-КоА, що вступає в ЦТК, є ПВК, яка під впливом ферментного комплексу мітохондрій зазнає окиснювального декарбоксілювання. Для зв'язування карбон (IV) оксиду, який виділяється в інкубаційне середовище, додають кальцій гідроксид. Утворений карбон (IV) оксид визначають (за виділенням бульбашок газу) після додавання в інкубаційне середовище сульфатної кислоти.

Матеріал для дослідження: суспензія мітохондрій.

Реактиви: фосфатний буфер з рН...7,4, 5% розчин натрій пірувату, 1% нейтралізований (до рН...7,4) розчин малонової кислоти, фізіологічний розчин, суспензія кальцій гідроксиду, 0,1н розчин сульфатної кислоти.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 і 2 мл, спиртівка, термостат.

Хід роботи

У три пробірки внести реактиви згідно даних таблиці:

Вміст пробірок	Об'єм, мл		
	Контрольна пробірка	Дослід 1	Дослід 2
Фосфатний буфер (рН...7,4)	2,0	2,0	2,0
Розчин натрій пірувату	0,5	0,5	0,5
Розчин маленової кислоти	-	-	0,5
Фізіологічний розчин	-	0,5	-
Дистильована вода	0,5	-	-
Суспензія кальцій гідроксиду	0,5	0,5	0,5
Суспензія мітохондрій	0,5	0,5	0,5

Вміст контрольної пробірки прокип'ятити, після чого всі пробірки поставити в термостат при 37°C на 15 хв. Після інкубації в кожну пробірку додати по 1 мл 0,1н розчину сульфатної кислоти і спостерігати виділення бульбашок газу.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Чому ЦТК дістав назву амфіболічного шляху метаболізму?
2. Який фермент каталізує початкові етапи ЦТК?
3. Що є субстратом ЦТК?

РОБОТА № 2

ВИЯВЛЕННЯ АТОМІВ ГІДРОГЕНУ, ЩО УТВОРЮЮТЬСЯ В ЦТК

Принцип методу. При окисненні ацетил-КоА в ЦТК утворюються відновні еквіваленти, які відновлюють метиленову синь, що зумовлює зміну забарвлення розчину.

Матеріал для дослідження: суспензія мітохондрій.

Реактиви: фосфатний буфер з рН...7,4, 5% розчин натрій пірувату, 1% розчин маленової кислоти, нейтралізований 0,1М розчином натрій гідроксиду до рН...7,4, 0,01% водний розчин метиленової сині, вазелінове масло.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки на 1 і 2 мл, спиртівка, термостат.

Хід роботи

У три пробірки внести реактиви згідно даних таблиці:

Вміст пробірок	Об'єм реактиву, мл		
	Контрольна пробірка	Дослід 1	Дослід 2
Фосфатний буфер (рН...7,4)	2,0	2,0	2,0
Розчин натрій пірувату	0,5	0,5	0,5
Розчин малонової кислоти	-	-	0,5
Дистильована вода	0,5	0,5	-
Суспензія мітохондрій	0,5	0,5	0,5

Вміст контрольної пробірки прокип'ятити і в кожному додати по 0,5 мл розчину метиленової сині та 1-2 краплі вазелінового масла. Після цього всі пробірки поставити в термостат при 37°С на 15 хв.

Зафіксувати час, за який вміст пробірок знебарвиться.

Пояснити результати досліду та записати висновок.

Дати відповіді на запитання

1. Яке значення ЦТК в організмі?
2. Пояснити енергетичний баланс ЦТК.
3. Записати хімізм реакцій ЦТК.

ТЕМИ ВИНЕСЕНІ НА САМОСТІЙНЕ ОПРАЦЮВАННЯ

ТЕМА 1: ОБМІН ЛІПІДІВ.

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 458-487]; [2, с. 225-261]; [3, с. 387-410]; [4, с. 190-233]; [5, с. 357-393].

Додаткова: [4]; [5]; [6]; [8]; [9]; [10].

Методичні вказівки

1. При розгляді теоретичних питань звернути увагу на: особливості ферментативного розкладу окремих груп ліпідів, вплив різних факторів на цей процес.
2. З'ясувати значення холевих кислот та холейнових комплексів в емульгуванні жиру.

3. Звернути увагу на ферментативний розклад тригліцеридів, стеридів та фосфоліпідів.
4. З'ясувати питання, що стосуються транспортних форм ліпідів та процесів ре синтезу тригліцеридів і фосфоліпідів.
5. Розглянути основні етапи синтезу простих і складних ліпідів.

Теоретичні питання

1. Біологічна роль ліпідів. Класифікація ліпідів за хімічними та біологічними особливостями.
2. Ліпіди, їх значення в харчуванні. Рекомендовані норми добової потреби.
3. Поняття про харчову цінність ліпідів, роль окремих компонентів.
4. Співвідношення між рослинними та тваринними жирами в раціоні.
5. Характеристика факторів, що забезпечують перетворення ліпідів.
6. Будова жовчних кислот: холевої, 7-дезоксихолевої, таурохолевої, літохолевої і хенодезоксизолевої.
7. Гідроліз тригліцеридів, характеристика продуктів гідролізу.
8. Характеристика основних факторів перетравлювання жирів. Ферменти, які забезпечують катаболізм ліпідів.
9. Всмоктування продуктів гідролізу ліпідів. Роль холеїнових комплексів. Парні жовчні кислоти, їх характеристика, роль у процесах емульгування та міцелоутворення.
10. Травлення і всмоктування ліпоїдів. Продукти гідролізу фосфогліцеридів (лецетинів, кефалінів, серинфосфоліпідів). Характеристика A₁-, A₂-, C- і D-фосфоліпаз.
11. Дія фосфоліпаз на прикладі гідролізу лецитину.
12. Обмін стеринів і стеридів.
13. Ферментативний гідроліз стеридів. Характеристика холестеринестераз.
14. Реакції окиснення та відновлення стеролів в організмі. Утворення стероїдів.
15. Нагромадження у стінці кишок продуктів гідролізу ліпідів і ліпоїдів: гліцерину, жирних кислот, холестерину, фосфатної кислоти та нітрогенвмісних сполук. Ресинтез жирів.
16. Транспортні форми ліпідів: хіломікрони, α- і β-ліпопротеїни, неестерифіковані жирні кислоти. Рухомий резерв енергетичного і пластичного матеріалу.
17. Перетворення нейтральних жирів у тканинах. Розщеплення тригліцеридів.

18. Розклад гліцерину, характеристика ферментів.
19. Перетворення вищих жирних кислот. Суть сучасної теорії β -окиснення жирних кислот. Локалізація процесу у клітині. Роль карнітину в перенесенні жирних кислот через мембрани мітохондрій.
20. Обмін ацетил-КоА. Гліоксалевий цикл.
21. Механізм біосинтезу вищих жирних кислот. Малоніл-КоА як акцептор ацильних залишків.
22. Характеристика ферментів, які забезпечують перебіг реакцій на окремих етапах подовження радикалів жирних кислот.
23. Будова і механізм дії синтетази вищих жирних кислот.
24. Механізм синтезу тригліцеридів. Характеристика фосфатидного і моногліцеридного шляху біосинтезу тригліцеридів.
25. Біосинтез фосфоліпідів, характеристика ферментів.
26. Біосинтез холестерину, характеристика ферментів.

Тестові завдання:

1. В результаті дії яких ферментів утворюються вільні жирні кислоти:

А. Фосфоліпаз;	Б. Ацетилхолінестерази;
В. Неспецифічної естерази;	Г. Ліпази;
Д. Аліестерази.	
2. Яка сполука використовується для синтезу кетонових тіл у печінці:

А. Бутирил-КоА;	Б. Ацил-КоА;
В. Сукциніл-КоА;	Г. Ацетил-КоА;
Д. Тропіоніл-КоА.	
3. Під впливом яких сполук відбувається емульгування жиру в кишечнику:

А. Ненасичених жирних кислот;	Б. Насичених жирних кислот;
В. Фосфатів;	Г. Жовчевих кислот;
Д. Бікарбонатів.	
4. Дія якого ферменту призводить до утворення лізофосфоліпідів:

А. Фосфоліпази А ₁ ;	Б. Фосфоліпази А ₂ ;
В. Фосфоліпази С;	Г. Фосфоліпази В;
Д. Фосфоліпази D.	
5. Жовчеві кислоти у складі жовчі знаходяться у кон'югованому стані з:

А. Холестерином;	Б. Білірубіном;
В. Гліцином і аланіном;	Г. Гліцином і таурином;
Д. Таурином і валіном.	
6. Яка кислота належить до жовчевих:

- А. Арахідонова; Б. Ліолева;
В. Холева; Г. Олеїнова; Д. Ліоленова.
7. Жовчеві кислоти є продуктом обміну:
А. Фосфоліпідів; Б. Гліколіпідів;
В. Холестерину; Г. Тригліцеридів; Д. Глікогену.
8. За допомогою чого вищі жирні кислоти транспортуються з гіялоплазми у мітохондрії:
А. Альбумінів; Б. ЩОК; В. Малату;
Г. Карнітину; Д. Холестерину.
9. В яких клітинних компонентах відбувається окиснення жирних кислот:
А. В ядрі; Б. В мітохондріях; В. В рибосомах;
Г. В мікросомах; Д. В цитоплазмі.
10. Які низькомолекулярні азотисті основи приймають участь в перенесенні залишку жирної кислоти через мембрану мітохондрій:
А. Карнозин; Б. Карнітин;
В. Креатинін; Г. Анзерин.
11. Яку назву мають ферменти, що каталізують утворення КоА-ефірів жирних кислот:
А. Ацилтрансфераза; Б. Ацетил-КоА-синтетаза;
В. Тіокіназа жирних кислот; Г. Ацил-КоА-дегідрогеназа;
Д. β -кетотіолаза.
12. Які кінцеві продукти утворюються в результаті β -окиснення жирних кислот з непарним числом атомів вуглецю:
А. Сукциніл-КоА; Б. Пропіоніл-КоА;
В. Ацетил-КоА; Г. Метилмалоніл-КоА;
Д. β -гідроксидутират.
13. Які шляхи окиснення жирних кислот, крім β -окиснення, відбуваються в живих клітинах:
А. Окиснювальне фосфорилування;
Б. α -окиснення; В. ω -окиснення?
14. Яка сполука є продуктом першої реакції β -окиснення жирних кислот:
А. Ацетил-КоА; Б. Ацил-КоА;
В. Ацето-ацетат; Г. Сукциніл-КоА; Д. Гліцерофосфат.
15. Яка сполука є кінцевим продуктом розпаду вищих жирних кислот:
А. α -гліцеролфосфат; Б. β -гідрокси-бутират;
В. Ацетил-КоА; Г. Метилмалоніл-КоА; Д. Ацил-КоА.

16. Скільки молекул ацетил-КоА утворюється в результаті β -окиснення стеаринової кислоти:
 А. 8; Б. 9; В. 9; Г. 10; Д. 7.
17. Яку назву має мультиферментний комплекс, здатний здійснювати весь цикл реакцій біосинтезу вищих жирних кислот:
 А. Ацетил-КоА-карбоксилаза;
 Б. Гідратаза вищих жирних кислот;
 В. Ацил-трансфераза;
 Г. Трансацилаза;
 Д. Синтетаза вищих жирних кислот.
18. В якій реакції використовується CO_2 при біосинтезі вищих жирних кислот:
 А. Синтезу ацетил-КоА із одновуглецевих фрагментів;
 Б. АТФ-залежного синтезу малоніл-КоА із ацетил-КоА;
 В. Утворення пірувату;
 Г. Перетворення малоніл-КоА в β -кетобутирил-КоА;
 Д. Переходу β -кетоацилпохідних в β -гідроксиацил похідні.
19. Що є джерелом НАДФ \bullet H_2 для синтезу жирних кислот:
 А. Окиснення цитоплазматичного глюкозо-6-фосфату пентозофосфатним шляхом;
 Б. Окиснення малату до пірувату і CO_2 ;
 В. Фотоокиснення НАДФ \bullet H_2 в листях рослин?
20. Яка сполука є попередником для всіх фосфогліцеридів:
 А. Фосфатидна кислота;
 Б. Діацилгліцерол;
 В. Фосфатидил-гліцерол;
 Г. Цитидиндифосфатидилгліцерол;
 Д. Дигід-роксиацетонфосфат?
21. Попередником яких сполук є ацетил-КоА:
 А. Гліцеролу; Б. Жирних кислот; В. Стероїдів;
 Г. Терпенів; Д. Інозиту.
22. Яка кислота утворюється на початкових стадіях синтезу холестерину з ацетил-КоА:
 А. Малонова; Б. Молочна; В. Фосфатидна;
 Г. Пірвіноградна; Д. Мевалонова.

Вправи:

- Записати рівняння гідролізу тригліцеридів: пальмітодистеарату, тристеарату, олеопальмітостеарату.
- Здійснити перетворення: гліцерин \rightarrow діоксиацетонмонофосфат.

3. Записати схему перетворення гліцерину до пірвіноградної кислоти, розрахувати енергетичний баланс.
4. Синтез тригліцеридів: стеародипальмітату, пальмітодистеарату, тристеарату. Розрахувати кількість молекул АТФ, що використовується в цих процесах.
5. Вказати на особливості гідролітичного розкладу лецитину, серинфосфатиду, триацетилгліцеролу.
6. β -окиснення жирних кислот: механізм, ферменти, енергетичний ефект.
7. Записати схему утворення цитидинфосфатхоліну, вказати його роль в обміні ліпідів.
8. Моноацидний і фосфатидний шляхи синтезу тригліцеролів.
9. Записати сполуки, які є зв'язуючою ланкою в синтезі простих та складних ліпідів.
10. Як проходить синтез кефаліну з дипальмітостеарату і ЦДФ-коламіну. Вказати ферменти.
11. Записати початкові реакції перетворення лінолевої кислоти перед включенням її у процес β -окиснення.
12. Записати хімізм реакцій β -окиснення стеаринової кислоти. Розрахувати енергетичний баланс.
13. Які особливості гідролізу лецитину до гліцерофосфохоліну?
14. Записати хімізм реакцій гідролізу холестеролпальмітату. Розрахувати енергетичний баланс.
15. Здійснити перетворення за схемами, вказати ферменти: ацетил-КоА \rightarrow малоніл-КоА; щавелевоацетатна к-та \rightarrow цитрил-КоА; лецитин \rightarrow гліцерин + ?; гліцерол \rightarrow діоксиацетонмонофосфат.
16. Записати схему окиснення гліцерину до пірвіноградної кислоти.
17. Записати хімізм реакцій ферментативного гідролізу до кінцевих продуктів: тристеарату, лецитину, трипальмітату та фосфатидилхоліну. Розрахувати енергетичний ефект.
18. Розрахувати енергетичний баланс розкладу до кінцевих продуктів: гліцерину, фосфогліцерину, діоксиацетонфосфату.
19. Розрахувати енергетичний ефект розкладу до кінцевих продуктів (CO_2 і H_2O): а) триолеату; б) стеародипальмітату; в) стеародиолеату; г) пальмітодистеарату.
20. Записати хімізм реакцій β -окиснення стеаринової, олеїнової і пальмітинової кислот. Розрахувати енергетичний баланс.
21. Здійснити перетворення за схемою: гліцерин \rightarrow пірвіноградна к-та. Розрахувати енергетичний ефект.

22. Синтез кефаліну з дипальмітату і УДФ-коламіну. Вказати ферменти, які приймають участь у цьому процесі.
23. Здійснити перетворення за схемами:
 - а) лецитин \rightarrow гліцерофосфохолін;
 - б) β -моностеарат \rightarrow тристеарат;
 - в) ацетил-КоА \rightarrow малоніл-КоА.
 - г) β -монопальмітат \rightarrow трипальмітат;
 - д) 3-фосфогліцерат \rightarrow тристеарат;
 - е) гліцерин \rightarrow триолеат.
 - ж) стеарил-КоА \rightarrow тристеарат;
 - з) малоніл-КоА \rightarrow бутирил-КоА;
 - і) фосфогліцерат \rightarrow лецитин.
24. Записати схеми синтезу: а) пальмітинової кислоти; б) лецитину; в) стеаринової кислоти; г) УДФ-холіну.
25. Записати хімізм реакцій, які каталізує синтетаза жирних кислот. Дати характеристику ферменту.
26. Записати реакції активації пальмітинової, стеаринової і олеїнової кислот.
27. Записати реакції, які каталізують: ацетилхолінестераза, фосфоліпаза А, фосфоліпаза С, фосфоліпаза D, фосфогліцератфосфомутаза, ацетил-КоА-карбоксілаза.
28. Здійснити перетворення за схемами: тригліцерол \rightarrow гліцерин + жирні кислоти; тригліцерид \rightarrow β -моногліцерид; лецитин \rightarrow лізолецитин; кефалін \rightarrow кінцеві продукти розкладу; лецитин \rightarrow фосфатидна кислота.
29. Яка частина молекули триацетилгліцеролів містить більшу кількість біологічно доступної енергії (з розрахунку на 1 атом карбону), залишки жирних кислот чи залишок гліцеролу? Відповідь обґрунтувати.
30. Визначити кількість води, яка утворюється в організмі верблюда з 1 кг жиру, якщо він утворений трипальмітатом.
31. Пояснити роль карбоксілазної реакції в біосинтезі жирних кислот. Записати хімізм і вказати ферменти.
32. Виходячи з сумарного рівняння біосинтезу трипальмітату з гліцеролу та пальмітинової кислоти, розрахувати кількість АТФ, яка необхідна для синтезу 200 г трипальмітату.
33. Розрахувати кількість молекул АТФ, необхідних для синтезу фосфатидхоліну, до складу якого входять залишки олеїнової і пальмітинової кислоти.
34. Розрахувати кількість молекул АТФ, яка необхідна для синтезу 100 г тристеарату.

35. Здійснити перетворення за схемою і вказати ферменти: серин → коламін → холін.
36. Розрахувати енергетичний ефект окиснення а) стеаринової кислоти, б) пальмітинової кислоти.
37. Яка кількість молекул ацетил-КоА утворюється за один цикл β -окиснення жирних кислот?

ТЕМА 2: ВОДНО-СОЛЬОВИЙ ОБМІН

Опрацювати теоретичний матеріал, використовуючи літературу

Основна: [1, с. 488-508]; [3, с. 431-440]; [5, с. 470-478].

Додаткова: [5]; [7].

Методичні вказівки

1. При вивченні теоретичного матеріалу звернути увагу на значення водно-сольового обміну, роль окремих мікро- і макроелементів у життєдіяльності організмів, функції та форми води в організмі, регуляцію водно-мінерального обміну.
2. Звернути увагу на особливості класифікації біогенних елементів, їх фізіологічні функції.
3. Дати характеристику органогенних елементів.
4. Пояснити причини розвитку метаболічних розладів в організмі при дефіциті чи надлишку мікро- і макроелементів.
5. Охарактеризувати специфічні ознаки, зумовлені порушенням обміну води та мікро- і макроелементів.

Теоретичні питання

1. Хімічний склад живих організмів.
2. Неорганічні та органічні складові тканин та органів.
3. Поняття про водно-сольовий обмін.
4. Значення води та інших мінеральних сполук в організмі.
5. Охарактеризувати будову молекули води.
6. Аномальні властивості води.
7. Значення води для перебігу метаболічних процесів.
8. Форми води в організмі. Поняття про вільну, мобільну та зв'язану воду.
9. Функції води в живих організмах.
10. Добова потреба у воді. Ендогенна вода, значення.
11. Механізми регуляції водного обміну.

12. Поняття про біогенні елементи.
13. Класифікація біогенних елементів.
14. Органогенні елементи та їх значення.
15. Поняття про макро-, мікро- та ультрамікроелементи.
16. Охарактеризувати біологічну дію окремих хімічних елементів.
17. Поняття про гіпо- та гіпермікроелементози.
18. Органогенні елементи, їх відсотковий вміст у складі живої речовини.
19. “Макро-, мікро- і ультрамікроелементи”, їх кількісний вміст в організмі.
20. Охарактеризувати механізми регуляції водно-мінерального обміну.
21. Які сполуки складають мінеральну основу кісткової тканини?
22. В якому співвідношенні в організмі містяться кальцій та фосфор?
Вказати відсотковий вміст води в органах і тканинах живих організмів.

Тестові завдання:

1. До біофілів належать такі елементи:
 - А. Цинк, купрум, магній, аргентум;
 - Б. Манган, кобальт, хром, магній;
 - В. Гідраргірум, арсен, плюмбум, аурум;
 - Г. Кобальт, нікол, цинк, арсен.
2. До органогенів належать такі елементи:
 - А. Кальцій, магній, цинк, хром;
 - Б. Арсен, натрій, аргентум, нікол;
 - В. Кальцій, натрій, фосфор, нітроген;
 - Г. Сіліцій, купрум, кадмій, хром.
3. Мікроелементи виконують такі функції:

А. Енергетичну;	Б. Структурну;
В. Каталітичну;	Г. Генно-регуляторну.
4. Макроелементи виконують такі функції:

А. Енергетичну;	Б. Структурну;
В. Каталітичну;	Г. Генно-регуляторну.
5. Відсотковий вміст мікроелементів в організмі складає:

А. Більше 10%;	Б. Менше 90%;
В. Менше 0,001%;	Г. Більше 0,001%.
6. Яка кількість мілілітрів ендогенної води утворюється в організмі людини за добу:

А. 50;	Б. 100;	В. 200;	Г. 350;	Д. 400.
--------	---------	---------	---------	---------

7. До якої групи хімічних елементів відносять: фосфор, калій, купрум, нітроген, флуор, селен, сульфур, цинк, бор, залізо, магній:
 - А. Органогенних.
 - Б. Макроелементів.
 - В. Життєво необхідних для організму людини (есенціальних).
 - Г. Неесенціальних для організму людини мікроелементів.
8. Елементи: калій, кальцій, магній належать до:
 - А. Екстацелюлярних; Б. Інтрацелюлярних;
 - В. Загальнозміцнюючих; Г. Структурних.
9. Вміст води в тканинах організму вищих тварин і людини складає:
 - А. 40%; Б. 35%; В. 90%; Г. 75%.
10. До мікроелементів належать метали і неметали, вміст яких в організмі складає:
 - А. 1%; Б. 0,1%; В. Менше 0,01%; Г. Менше 0,001%.
11. Одним із чинників розвитку подагри є надлишкове надходження в організм:
 - А. Міді; Б. Молібдену; В. Магнію; Г. Марганцю; Д. Селену.
12. До складу якого із наступних ферментів не входить мідь:
 - А. Цитохромоксидази; Б. Алкогольдегідрогенази;
 - В. Тирозинази; Г. Лізілоксидази.;
 - Д. Амінооксидази.
13. Хвороба Вільсона-Коновалова (гепатоцеребральна дегенерація) є наслідком спадкової недостатності:
 - А. Трансферину; Б. Глутатіонпероксидази;
 - В. Цитохромоксидази; Г. Церулоплазмину;
 - Д. Гаптоглобіну.

Вправи:

1. Об'єм вологої рибосоми дріжджів складає $15 \cdot 10^{-3} \text{ нм}^3$, а сухої – $5 \cdot 10^{-3} \text{ нм}^3$. Розрахувати вміст іmobilізованої води в рибосомі.
2. Визначити число атомів магнію, які містяться в одній 80S рибосомі проростків гороху, якщо на 1 г сухої речовини рибосом припадає 10 мг магнію. Відносна молекулярна маса 80S рибосоми складає $4,5 \cdot 10^{-6} \text{ Да}$ ($1 \text{ Да} = 1,67 \cdot 10^{-24} \text{ г}$).
3. Визначити число атомів магнію, які знаходяться в одній рибосомі бактерії E. Coli, якщо на 1 г сухої речовини рибосом припадає 20 мг магнію. Відносна молекулярна маса 70S рибосоми складає $2,65 \cdot 10^{-6} \text{ Да}$.

ДОДАТКИ

Додаток 1.

Значення pK_{α} іонізованих груп деяких амінокислот

№ п/п	Амінокислоти	pK_1 – COO ⁻	pK_2 – NH ₃ ⁺	pK_R
1.	Гліцин	2,34	9,60	
2.	Аланін	2,34	9,69	
3.	Лейцин	2,36	9,60	
4.	Ізолейцин	2,36	9,68	
5.	Серин	2,21	9,15	
6.	Треонін	2,63	10,43	
7.	Глутамін	2,17	9,13	
8.	Аспарагінова к-та	2,19	9,82	3,86
9.	Глутамінова к-та	2,19	9,67	4,25
10.	Аспарагін	2,02	8,80	
11.	Глутамін	2,17	9,13	
12.	Гістидин	1,82	9,67	6,00
13.	Цистеїн	1,71	9,17	6,00
14.	Тирозин	2,20	9,11	10,07
15.	Лізин	2,18	8,95	10,53
16.	Треонін	2,71	9,62	
17.	Тирозин	2,20	9,11	10,07 (-ОН)
18.	Триптофан	2,38	9,39	
19.	Аргінін	2,17	9,04	12,48

pK_1 – константа іонізації COOH-груп;

pK_2 – константа іонізації NH₂-груп;

$pI = 1/2 (pK_1 + pK_2)$.

Додаток 2.

Значення pH , що відповідає ізоелектричній точці деяких білків

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

Додаток 3.

ДЕЯКІ ФІЗИЧНІ КОНСТАНТИ АМІНОКИСЛОТ

№ п/п	Амінокислота	Температура розкладу	Розчинність у воді		pI
			25°C	100°C	
1.	Гліцин	292	24,99	67,17	5,97
2.	Аланін	297	16,65	37,30	6,01
3.	Валін	315	8,85	18,80	5,96
4.	Лейцин	337	2,43	5,64	5,98
5.	Ізолейцин	284	4,12	8,26	6,02
6.	Серин	228	5,00	32,20	5,68
7.	Цистеїн	178			
8.	Метіонін	283	3,50	13,6	5,74
9.	Пролін	222	16,23	23,9	6,30
10.	Лізин	224			9,82
11.	Аргінін	238			10,76
12.	Аспарагінова к-та	270	0,50	6,9	2,77
13.	Глутамінова к-та	249	0,86	14,00	3,24
14.	Аспарагін	236	2,98	55,10	5,41
15.	Глутамін	185	3,6		5,65
16.	Фенілаланін	284	2,96	9,90	5,48
17.	Треонін	253	20,5		6,16
18.	Тирозин	344	0,045	0,56	5,66
19.	Триптофан	282	1,14	4,99	5,89

Додаток 4.

Оптимальні значення рН, характерні для дії деяких ферментів

Фермент	Значення рН	Фермент	Значення рН
Пепсин	1,5-2,2	Амілаза солоду	4,4-4,5
Трипсин	7,0-7,8	Ліпаза (насіння рицини)	4,7-5,0
Уреаза	7,0	Сахараза (дріжджова)	4,6-5,0
Аргіназа	9,5-9,9	Мальтаза (дріжджова)	6,7-7,2
Амілаза слини	6,8	Каталаза	7,0

**ВСТАНОВЛЕННЯ КОЕФІЦІЕНТУ ПОПРАВКИ ДО ТИТРУ
(коефіцієнту нормальності розчину 2,6-
дихлорфеноліндофенолу).**

Коефіцієнт поправки встановлюють за титруванням 0,01н розчином солі Мора. Для цього в колбу на 100 мл внести 10 мл розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу, додати 5 мл насиченого розчину амоній оксалату і титрувати із мікробюретки 0,01н розчином солі Мора до різкої зміни синього забарвлення на солом'яно-жовте. Якщо зміна забарвлення проходить поступово або утворюється бурувато-коричневе забарвлення – це свідчить про непридатність розчину індофенолу.

Розрахунок коефіцієнту нормальності розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу проводити за формулою:

$$K = \frac{a \cdot v}{c}, \text{ де}$$

K – коефіцієнт нормальності розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу;
 a – кількість мілілітрів 0,01н розчину солі Мора, використаних на титрування 10 мл розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу;
 v – кількість мілілітрів 0,01н розчину калій перманганату, використаних на титрування 10 мл 0,01н розчину солі Мора;
 c – кількість мілілітрів 0,01н розчину калій перманганату, використаних на титрування 10 мл 0,01н розчину амоній оксалату.

Розрахунок: Нехай на титрування 10 мл 2,6-дихлорфеноліндофенолу використано 0,98 мл розчину солі Мора, на титрування 10 мл солі Мора – 11,2 мл розчину калій перманганату, а на титрування 10 мл 0,01н розчину амоній оксалату – 11 мл розчину калій перманганату, то титр розчину індофенолу потрібно розраховувати з коефіцієнтом, рівним:

$$\frac{0,98 \cdot 11,2}{11} \approx 0,99782$$

Розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу нестійкий, тому його слід готувати в невеликих кількостях і зберігати в темній склянці з притертою пробкою. Термін зберігання приготовленого розчину 7 днів.

При зберіганні титр розчину змінюється, тому його слід перевіряти щодня перед проведенням визначення.

**Градувальна таблиця для визначення аміноного азоту
(ФЕК, кювета з довжиною оптичного шляху 5 мм, зелений
світлофільтр)**

Екстинкція	мкг	мг%	Екстинкція	мкг	мг%
0,005	6,30	1,26	0,255	18,48	3,70
0,010	6,58	1,32	0,260	18,76	3,75
0,015	6,79	1,36	0,265	18,97	3,79
0,020	7,00	1,40	0,270	19,18	3,84
0,025	7,28	1,46	0,275	19,39	3,88
0,030	7,49	1,50	0,280	19,67	3,93
0,035	7,77	1,55	0,285	19,88	3,98
0,040	7,98	1,60	0,290	20,16	4,03
0,045	8,26	1,65	0,295	20,37	4,07
0,050	8,54	1,71	0,300	20,65	4,13
0,055	8,75	1,75	0,305	20,86	4,17
0,060	8,96	1,79	0,310	21,14	4,23
0,065	9,24	1,85	0,315	21,35	4,27
0,070	9,52	1,90	0,320	21,56	4,31
0,075	9,73	1,95	0,325	21,84	4,37
0,080	9,94	1,99	0,330	22,12	4,42
0,085	10,22	2,04	0,335	22,33	4,47
0,090	10,43	2,09	0,340	22,61	4,52
0,095	10,71	2,14	0,345	22,82	4,56
0,100	10,92	2,18	0,350	23,10	4,62
0,105	11,20	2,24	0,355	23,31	4,66
0,110	11,41	2,28	0,360	23,52	4,70
0,115	11,69	2,34	0,365	23,80	4,76
0,120	11,90	2,38	0,370	24,08	4,82
0,125	12,18	2,44	0,375	24,29	4,86
0,130	12,39	2,48	0,380	24,50	4,90
0,135	12,60	2,52	0,385	24,78	4,96
0,140	12,88	2,58	0,390	25,06	5,01
0,145	13,09	2,62	0,395	25,27	5,05
0,150	13,37	2,67	0,400	25,48	5,10
0,155	13,65	2,73	0,405	25,76	5,15
0,160	13,86	2,77	0,410	26,04	5,21

0,165	14,07	2,81	0,415	26,25	5,25
0,170	14,28	2,86	0,420	26,56	5,29
0,175	14,56	2,91	0,425	26,70	5,34
0,180	14,84	2,97	0,430	27,02	5,40
0,185	15,05	3,01	0,435	27,23	5,45
0,190	15,26	3,05	0,440	27,44	5,49
0,195	15,54	3,11	0,445	27,65	5,53
0,200	15,82	3,16	0,450	27,93	5,59
0,205	16,03	3,21	0,455	28,14	5,63
0,210	16,24	3,25	0,460	28,42	5,68
0,215	16,52	3,30	0,465	28,70	5,74
0,220	16,73	3,35	0,470	28,91	5,78
0,225	17,01	3,40	0,475	29,12	5,82
0,230	17,22	3,44	0,480	29,40	5,88
0,235	17,50	3,50	0,485	29,68	5,94
0,240	17,78	3,56	0,490	29,89	5,98
0,245	17,99	3,60	0,495	30,10	6,02
0,250	18,20	3,64	0,500	30,38	6,08

Додаток 7.

**Таблиця для визначення вмісту цукру у крові
за методом Хагедорна-Ієнсена**

Кількість гіпосульфїту, мл	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0,0	0,385	0,382	0,379	0,376	0,374	0,370	0,367	0,364	0,316	0,358
0,1	0,355	0,352	0,350	0,348	0,345	0,343	0,341	0,338	0,336	0,333
0,2	0,331	0,329	0,327	0,325	0,323	0,321	0,318	0,316	0,314	0,312
0,3	0,310	0,308	0,306	0,304	0,302	0,300	0,298	0,296	0,294	0,292
0,4	0,290	0,288	0,286	0,284	0,282	0,280	0,278	0,276	0,274	0,272
0,5	0,270	0,268	0,266	0,264	0,262	0,260	0,259	0,257	0,255	0,253
0,6	0,251	0,249	0,247	0,245	0,243	0,241	0,240	0,238	0,236	0,234

0,7	0,232	0,230	0,228	0,226	0,224	0,222	0,221	0,219	0,217	0,215
0,8	0,213	0,211	0,209	0,208	0,206	0,204	0,202	0,200	0,199	0,197
0,9	0,195	0,193	0,191	0,190	0,188	0,186	0,184	0,182	0,181	0,179
1,0	0,177	0,175	0,173	0,172	0,170	0,168	0,166	0,164	0,163	0,161
1,1	0,159	0,157	0,155	0,154	0,152	0,150	0,148	0,146	0,145	0,143
1,2	0,141	0,139	0,138	0,136	0,134	0,132	0,131	0,129	0,127	0,125
1,3	0,124	0,122	0,120	0,119	0,117	0,115	0,113	0,111	0,110	0,108
1,4	0,106	0,104	0,102	0,101	0,099	0,097	0,095	0,093	0,092	0,090
1,5	0,088	0,086	0,084	0,083	0,081	0,079	0,077	0,075	0,074	0,072
1,6	0,070	0,068	0,066	0,065	0,063	0,061	0,059	0,057	0,056	0,054
1,7	0,052	0,050	0,048	0,047	0,045	0,043	0,041	0,039	0,038	0,036
1,8	0,034	0,032	0,031	0,029	0,027	0,025	0,024	0,022	0,020	0,019
1,9	0,017	0,015	0,014	0,012	0,010	0,008	0,007	0,005	0,003	0,002

Додаток 8.

Біохімічні показники крові, сироватки та плазми

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

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

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

♀ - жінки
♂ - чоловіки

Біохімічні показники сечі

Показник	Значення у традиційних одиницях	Значення в одиницях СІ
Адреналін	3-15 мкг/добу	16,4-81,9 мМоль/добу
Азот - загальний	6-17 г/добу	428,3-1213,6 мМоль/добу
- амінний	0,1-0,42 г/добу	7,139-29,99 мМоль/добу
- аміаку	0,5-1 г/добу	35,7-71,4 мМоль/добу
Аміак		10-107 мМоль/добу
Амілаза	16-64 од.	20-160 г/год.л
Амінокислоти	1 г/добу	1 г/добу
Ацетон	негативна	негативна
Білок загальний	25-75 мг/добу	
Вітамін В ₂	300-1000 мкг/добу	
Вітамін С	20-30 мг/добу	113,6-170,3 мкМоль/добу
Індикан	10-12 мг/добу	46,99-56,39 мкМоль/добу
Калій	1,5-3,2 г/добу	38,4-81,8 мкМоль/добу
Кальцій	0,1-0,25 г/добу	2,5-6,25 мМоль/добу
Кетонові тіла	50 мг/добу	861 мкМоль/добу
17-кетостероїди		♂ 42-47 мкМоль/добу ♀ 34-39 мкМоль/добу
Креатинін	0,5-2,0 г/добу	4,4-17,7 мМоль/добу
Купрум	6-100 мкг/добу	94,4-1573,3 нМоль/добу
Магній	6-8,5 мг%/добу	3-4,25 мМоль/добу
Натрій	130,5-261 мг%/добу	130,5-261 мМоль/добу
Норадреналін	10-40 мкг/добу	59-256,4 нМоль/добу
ПВК	10-25 мг%	113,7-283,9 мкМоль/добу
Серотонін		0,5-1,2 мкМоль/добу
Сечова кислота	270-600 мг/добу	1,6-3,54 мМоль/добу
Сечовина	20-35 г/добу	333,0-582,8 мМоль/добу
Сіалові кислоти	♂ 84-89 мг%/добу ♀ 79-85 мг%/добу	
Сульфати	1,2-4,5 г/добу	
Уробіліноген	0-6 мг/добу	
Уроглікопротеїни	♂ 154-163 мг/добу ♀ 137,5-145,1 мг/добу	
Уропесин	150-300 у.о.	
Фосфат неорганічний	0,9-1,3 г/добу	10-30 мМоль/добу
Хлор		170-210 мМоль/л

ПРИГОТУВАННЯ РЕАКТИВІВ

Аміачний буфер, рН...10,0: 1 г амоній хлориду розчинити в 5-10 мл бідистильованої води, додати 5 мл 25% розчину аміаку і загальний об'єм суміші довести бідистильованою водою до 1 л.

3М аміачний буфер, рН...8: змішати 100 мл розчину А та 2 мл розчину Б. Зберігати в посуді з притертою пробкою в холодильнику.

Розчин А: 16,04 г амоній хлориду розчинити в невеликій кількості води і загальний об'єм розчину довести дистильованою водою до 100 мл.

Розчин Б: 90,8 мл 25,7% розчину аміаку ($\rho = 0,905$) довести до 200 мл дистильованою водою.

Аміачний розчин аргентуму: до 5% розчину аргентум нітрату по краплях додавати розчин аміаку доти, доки не розчиниться сірий осад.

Анілінова суміш: змішати 15 частин аніліну і 1 частину концентрованої хлоридної кислоти.

Дифеніламіновий реактив: 1 г дифеніламіну розчинити в 100 мл суміші із 95 частин концентрованої ацетатної кислоти і 5 частин концентрованої сульфатної кислоти.

Інкубаційна суміш (фосфорилуюче окиснення): змішати 0,1 мл 1,5М розчину калій хлориду, 0,2 мл фосфатного буферного розчину (рН...7,4), 0,1 мл 0,5М розчину магній хлориду і 0,6 мл 0,25М розчину сахарози. Потім до цієї суміші додати 0,02 мл розчину АДФ (45 мг АДФ розчинити в 1 мл дистильованої води чи фосфатного буферного розчину (рН...7,4). Зберігати в замороженому стані). Суміш готувати перед використанням.

Молібденовий реактив для визначення фосфорної кислоти: 7,5 г молібдату амонію розчинити в 100 мл води і додати 100 мл концентрованої нітратної кислоти.

Окиснювальний розчин: 2,5 г натрій періодату розчинити в 200-300 мл дистильованої води і загальний об'єм розчину довести водою до 500 мл. Стабільний при зберіганні в холодильнику.

Основний стандартний розчин рибофлавіну: 100 мкг рибофлавіну в 1 мл – 10 мг рибофлавіну при нагріванні розчинити в 100 мл дистильованої води

Препарат сахарози: 0,5 г висушених дріжджів добре розтерти в фарфоровій ступці, а потім гомогенізувати з 5 мл дистильованої води.

Препарат уреаз: 1 г соєвого борошна або подрібненого гарбузового насіння внести в колбу, додати 4 мл 0,1н розчину хлоридної кислоти, 42 мл води і 10 крапель толуолу. Перемішати та залишити на ніч, після чого профільтрувати.

Реактив ацетатно-сульфатнокислий: змішати 95 частин концентрованої ацетатної кислоти і 5 частин концентрованої сульфатної кислоти.

Реактив біуретовий: у колбу на 1 л внести 1,5 г купрум сульфату і 6,0 г калій натрій тартрату та розчинити в невеликій кількості води. Далі додати 300 мл 10% розчину натрій гідроксиду і 0,1 г калій йодиду. Після перемішування загальний об'єм суміші довести дистильованою водою до 1 л.

Реактив біуретовий: 4,5 г сегнетової солі ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) розчинити в 40 мл 0,2н розчину натрій гідроксиду. Після розчинення додати 1,5 г купрум сульфату ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) і 0,5 г калій йодиду (КІ) та довести до 100 мл 0,2н розчином натрій гідроксиду. Зберігати в темному місці (або в посуді із темного скла). Реактив придатний близько місяця.

Реактив біуретовий робочий розчин: 20 мл біуретового реактиву змішати з 80 мл розчину калій йодиду (0,5 г калій йодиду розчинити у 100 мл 0,2н розчину натрій гідроксиду). Зберігати в посуді з темного скла не більше двох тижнів).

Реактив дифеніламіновий: 1 г дифеніламіну розчинити в суміші 2,75 мл концентрованої сульфатної кислоти і 100 мл концентрованої ацетатної кислоти.

Реактив ензимо-хромогенний: в мірну колбу на 100 мл внести 80-90 мл ацетатного буферного розчину ($\text{pH} \dots 4,8$), додати 2 мг глюкозооксидази, 1 мг пероксидази та перемішати до розчинення. Після цього додати 1 мл 1% розчину о-толідину в абсолютному спирті і загальний об'єм розчину довести ацетатним буфером до позначки. Зберігати в посуді з темного скла при температурі 8-10 °С. Реактив придатний протягом 3-4 тижнів.

Реактив кольоровий: до 30 мл робочого розчину ферум (III) хлориду додати 20 мл дистильованої води, 1 мл водного розчину диацетил-монооксиму (25 г/л., розчин стійкий) та 0,25 мл водного розчину тіосемікарбазиду (2,5 г/л або 3,2 г/л тіосемікарбазид хлорид). Обидва розчини стійкі тривалий час якщо зберігати в темному посуді при кімнатній температурі. Реактив готувати безпосередньо перед використанням.

Реактив Мілона: 40 г ртуті розчинити у 60 мл концентрованої нітратної кислоти при кімнатній температурі. Далі розчин

помістити на теплу водяну баню до припинення виділення бурих парів і перемішати. Після додати 120 мл води та перемішати. Потім одержаний розчин розвести водою у співвідношенні 1:1.

Реактив НАДІ: змішати в рівних об'ємах 1% спиртовий розчин α -нафтолу, 1% водний розчин диметилпарафенілендіаміну і 1,5% розчин натрій карбонату. Реактив готувати безпосередньо перед використанням, забарвлення повинно бути темно-коричневе і без рожевого відтінку.

Реактив Несслера: 10 г калій йодиду (KJ) розчинити в 15 мл води, додати 15 г йоду (J_2), ретельно перемішати і додати 80 мл 50% розчину натрій гідроксиду. Перемішати та загальний об'єм розчину довести дистильованою водою до 500 мл. Залишити на добу, після чого профільтрувати через скляну вату.

Реактив нітритно-молібденовий: 5 г натрій нітриту і 5 г натрій молібдату розчинити в 50 мл дистильованої води.

Реактив о-толуїдиновий: 0,15 г тіосечовини розчинити в 94 мл концентрованої ацетатної кислоти і змішати з 6 мл безколірного або ледь жовтого (!) ортотолуїдину (очищеного шляхом перегонки). Реактив стійкий. Зберігати в холодильнику.

Реактив сульфатнокислий: суміш з 6 об'ємів сульфатної кислоти та 1 об'єму води.

Реактив Фелінга: змішати рівні об'єми реактиву Фелінга I і II. I. 40 г купрум сульфату розчинити в 1 л дистильованої води. II. 200 г калій натрій тартрату розчинити при нагріванні в невеликій кількості води. Додати 150 г натрій гідроксиду і загальний об'єм суміші довести дистильованою водою до 1 л.

Реактив Фоліна (для визначення адреналіну): 100 г х.ч. натрій вольфрамату і 25 г натрій молібдату розчинити в 700 мл дистильованої води в колбі на 1,5 л і при постійному помішуванні додати в нього 50 мл ортофосфорної кислоти (850 г/л) та 100 мл концентрованої хлоридної кислоти. Після цього колбу закрити оберненим холодильником і вміст колби кип'ятити протягом 10 год. Під кінець нагрівання додати 150 г літій сульфату, 50 мл води і кілька крапель бром (1-2 краплі). Якщо бром буде в надлишку, то для його видалення розчин необхідно прокип'ятити протягом 10-15 хв. з колби Ерленмейера суміш перелити в мірну колбу на 1 л і загальний об'єм суміші довести дистильованою водою до 1 л.

Реактив Фоліна (визначення білка): у круглодонну колбу об'ємом 300-500 мл внести 20 г натрій вольфрамату ($Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$), 5 г натрій молібдату ($Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) і розчинити у 140 мл води. До розчину додати 10 мл 85% ортофосфатної кислоти і 20 мл

концентрованої хлоридної кислоти. Суміш прокип'ятити в колбі із зворотним холодильником протягом 10 год. Після цього в колбу додати 30 г літій сульфату, 10 мл води, кілька крапель бром у і прокип'ятити 15 хв. під витяжною шафою для виділення надлишку бром у. Розчин охолодити, загальний об'єм довести дистильованою водою до 200 мл і профільтрувати. Утворений жовтий розчин зберігати в посуді з темного скла. Перед використанням розвести у два рази.

Реактив Фоліна (визначення сечової кислоти): 100 г х.ч. натрій вольфрамату розчинити в 750 мл дистильованої води в колбі Ерленмейера і при постійному помішуванні розчину в нього додати 80 мл ортофосфатної кислоти (850 г/л). Після цього вміст колби прокип'ятити протягом 4-6 год. до знебарвлення розчину. Якщо суміш не знебарвлюється, в колбу необхідно додати кілька краплин бром у (1-2 краплі). Якщо бром буде в надлишку, то для його видалення розчин необхідно прокип'ятити протягом 10-15 хв. Отриманий розчин необхідно перенести в мірну колбу на 1 л і загальний об'єм суміші довести дистильованою водою до позначки. Реактив стійкий при зберіганні.

Розчин амоній сульфату стандартний основний (для визначення залишкового азоту крові): 0,4716 г амоній сульфату (х.ч.), висушеного до сталої маси, розчинити в 1 л дистильованої води (1 мл розчину містить 0,1 мг азоту).

Розчин ацетилацетону: 1 мл ацетилацетону розчинити в 50 мл 0,5н розчину натрій карбонату. Використовувати свіжоприготовленим.

Розчин білків сироватки крові стандартний (100 г/л): 1 г альбуміну розчинити в 6-7 мл ізотонічного розчину натрій хлориду і довести ним до об'єму 10 мл. Для повного розчинення білка вміст пробірки необхідно витримати при кімнатній температурі протягом 30 хв. Оскільки піноутворення прискорює руйнування білка, то з метою запобігання цьому можна внести 1-2 краплі окислового спирту чи медичного (диетилового) ефіру, які знижують поверхневий натяг. 1 мл стандартного розчину містить 0,1 г білка.

Розчин глюкози стандартний робочий (5,55 мМоль/л): 100 мг глюкози розчинити у 100 мл 0,2% розчину бензойної кислоти. Зберігати в холодильнику.

Розчин 2,4-динітрофенілгідразину: 19,8 мг 2,4-ДНФГ розчинити в невеликій кількості 1н розчину хлоридної кислоти при нагріванні на водяній бані. Після охолодження загальний об'єм довести 1н розчином хлоридної кислоти до 100 мл. На наступний день реактив

профільтрувати. Розчин зберігати в посуді з темного скла. Реактив придатний протягом року.

0,001н розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу (реактив Тільманса): 250 мг 2,6-дихлорфеноліндофенолу розчинити в 700 мл води і додати 300 мл фосфатної буферної суміші (рН 6,9-7,0)

Розчин для відмивання: 8 г калій метабісульфіту і 10 мл концентрованої хлоридної кислоти розчинити в 1 л дистильованої води. Розчин готувати безпосередньо перед використанням.

Розчин креатиніну стандартний основний (100 мг% або 8,8 мМоль/л): 100 мг креатиніну розчинити в 100 мл 0,1н розчину хлоридної кислоти. Зберігати в холодильнику в посуді з притертою пробкою.

Розчин креатиніну стандартний робочий (1 мг% або 88 мкМоль/л): основний стандартний розчин розвести дистильованою водою у 100 разів. Розчин нестійкий.

Розчин Люголя: 60 г калій йодиду розчинити в невеликій кількості води, додати 20 г металічного йоду і загальний об'єм розчину довести дистильованою водою до 1 л.

Розчин натрій пірувату стандартний основний (50 мг%): 50 мг ПВК або 62,5 мг кристалічного натрій пірувату розчинити в невеликій кількості дистильованої води і загальний об'єм довести дистильованою водою до 100 мл (1 мл розчину містить 0,5 мг ПВК). Робочий стандартний розчин (5 мг%) готувати розведенням основного в 10 разів. В 1 мл робочого розчину міститься 50 мкг ПВК.

Розчин натрій пірувату стандартний робочий (5 мг%): точну наважку 5 мг натрій пірувату кількісно перенести в мірну колбу та загальний об'єм довести дистильованою водою до 100 мл.

Розчин ПВК стандартний основний (200 мг/л): 200 мг ПВК розчинити в 1 л води, що відповідає 250 мг/л натрій пірувату (88 мг ПВК відповідає 110 мг натрій пірувату).

Розчин потрійний хлор-цинк-йодний: 50 г цинк сульфату і 250 г натрій хлориду внести в мірну колбу на 1 л, розчинити в невеликому об'ємі води. Загальний об'єм довести дистильованою водою до позначки. Перед використанням в невеликому об'ємі розчину розчинити 2,5 г калій йодиду і загальний об'єм довести цим же розчином до 100 мл.

0,01н розчин солі Мора: в колбу на 1 л внести 3,92 г солі Мора і розчинити у 100 мл дистильованої води, потім довести водою до позначки. Для більшої стійкості на 1 л розчину додати 0,5 мл концентрованої сульфатної кислоти. У кислому середовищі розчин

солі Мора зберігає свій титр протягом 1-2 місяців. Титр солі Мора встановлювати за титруванням 0,01н розчином калій перманганату. Для цього в конічну колбу на 100 мл внести 10 мл розчину солі Мора, додати 1,5 мл розчину сульфатної кислоти (1:2 за об'ємом) і титрувати до появи слабо-рожевого забарвлення.

Розчин сечової кислоти стандартний (200 мг/л): 100 мг сечової кислоти внести в мірну колбу на 500 мл, додати 25 мл розчину літій карбонату (5 г/л), 25 мл дистильованої води та після розчинення сечової кислоти загальний об'єм довести дистильованою водою до 500 мл, попередньо додавши 12,5 мл формаліну (консервант). Зберігати в холодильнику протягом місяця.

Розчин сечової кислоти стандартний робочий (20 мг/л): основний стандартний розчин розвести дистильованою водою в 10 разів. Цей розчин нестійкий і може зберігатися лише протягом 2-3 діб. В 1 мл розчину міститься 0,02 мг сечової кислоти.

Розчин солі Мора основний: 0,7032 г солі Мора розчинити в 1 л бідистильованої води, підкисленої 1 мл фіксанальної сульфатної кислоти. В 1 мл розчину міститься 100 мкг феруму.

Розчин солі Мора робочий: в колбу на 100 мл внести 5 мл основного розчину солі Мора і загальний об'єм довести 0,005н розчином хлоридної кислоти до позначки. В 1 мл розчину міститься 5 мкг феруму.

0,5н розчин калій біхромату (визначення креатиніну): 24,54 г калій біхромату розчинити в невеликому об'ємі води і в мірній колбі довести водою до 1л.

0,25М розчин кальцій хлориду: в колбу внести 9,7 мл 100 г/л розчину безводного кальцій хлориду і загальний об'єм довести дистильованою водою до 350 мл.

0,45М розчин натрій лактату: в колбу на 100 мл внести 5 мл 80% розчину молочної кислоти та нейтралізувати її 2н розчином натрій гідроксиду до слабо рожевого забарвлення (за присутності фенолфталеїну). Загальний об'єм довести дистильованою водою до позначки.

0,03М розчин натрій пірофосфату, рН...8,8: в колбу на 500 мл внести 6,69 г $\text{Na}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 50 мл дистильованої води. Суміш ретельно перемішати та встановити рН розчину 8,8 за допомогою 1н розчину хлоридної кислоти. Загальний об'єм суміші довести водою до позначки. Реактив стійкий протягом місяця при зберіганні в холодильнику.

0,25М розчин сахарози в 0,02М ТРИС-буфері: 84,75 г сахарози розчинити в 1 л 0,02М ТРИС-буферу.

0,7М розчин сульфатної кислоти: до невеликої кількості дистильованої води додати 3,7 мл концентрованої сульфатної кислоти, перемішати та після охолодження загальний об'єм довести дистильованою водою до 100 мл.

1,8М розчин хлорної кислоти: вказана концентрація хлорної кислоти відповідає вмісту 18,084 г її і в 100 мл розчину. На основі цього і ґрунтується розрахунок. Якщо використовується розчин хлорної кислоти концентрації 578,1 г/кг, це означає, що у 100 г його міститься 57,81 г чистої кислоти. За пропорцією знаходимо кількість (у г) хлорної кислоти:

$$57,81 - 100, \text{ а } 18,084 - x, \text{ тоді } x = 18,084 \times 100 / 57,81 = 31,28$$

Отже, 18,084 г чистої кислоти міститься в 31,28 г її розчину. Щоб перевести одиниці масового співвідношення (г/кг) в одиниці концентрації (г/л), необхідно знайти густину кислоти цієї концентрації, яка складає 1,51 г/мл. Враховуючи це, встановити об'єм кислоти: $31,28 / 1,51 = 20,7$ мл. Тобто, для приготування 1,8 Моль/л розчину хлорної кислоти з вихідного розчину (578,1 г/кг) необхідно взяти 20,7 мл розчину хлорної кислоти і загальний об'єм довести дистильованою водою до 100 мл. Зберігати в холодильнику, краще в морозилці.

0,04н розчин ацетатної кислоти: 0,23 мл концентрованої ацетатної кислоти розвести у 100 мл води.

0,1н розчин ацетатної кислоти: 2,84 мл концентрованої ацетатної кислоти розчинити в 500 мл дистильованої води.

0,005н розчин калій гексаціаноферату (III) (лужний): 1,65 г калій гексаціаноферату (III) розчинити в невеликій кількості води, додати 10,6 г безводного натрій карбонату і загальний об'єм довести дистильованою водою до 1 л. Розчин зберігати в посуді з темного скла.

9н розчин натрій гідроксиду: 36 г натрій гідроксиду розчинити в невеликій кількості води і загальний об'єм довести дистильованою водою до 100 мл.

0,005н розчин натрій гіпосульфїту ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$): 5 мл 0,1н розчину натрій гіпосульфїту довести дистильованою водою до 100 мл. Вихідний 0,1н розчин краще готувати з фіксаналу. При його відсутності 2,4819 г кристалічного натрій гіпосульфїту розчинити в невеликій кількості води і довести водою до 100 мл.

0,005н розчин хлоридної кислоти: до 5 мл 0,1н розчину хлоридної кислоти додати 95 мл бідистильованої води.

2,5% розчин амоній молібдату в 5н розчині сульфатної кислоти: 25 г амоній молібдату розчинити в 450 мл дистильованої води і

після розчинення загальний об'єм розчину довести до 500 мл. В мірну колбу з 350 мл води обережно додати 139 мл сульфатної кислоти. Після охолодження в цю ж колбу додати приготовлений розчин амоній молібдату, перемішати і загальний об'єм довести дистильованою водою до позначки. Якщо на дні утворюється осад, розчин непридатний до використання.

0,2% розчин бензойної кислоти (2 г/л): 0,2 г кристалічної бензойної кислоти розчинити при нагріванні в невеликій кількості води. Після охолодження загальний об'єм довести дистильованою водою до 100 мл.

2% розчин *n*-диметиламінобензальдегіду: 4 г *n*-диметиламінобензальдегіду розчинити у 200 мл розчину, який містить 50 мл дистильованої води і 150 мл концентрованої ацетатної кислоти.

0,1% розчин 2,4-динітрофенілгідразину: до 100 мг 2,4-ДНФГ поступово додати 100 мл 2н розчину хлоридної кислоти (10 мл концентрованої хлоридної кислоти довести дистильованою водою до загального об'єму 100 мл) до його повного розчинення. Розчин профільтрувати і зберігати в холодильнику. Якщо 2,4-ДНФГ погано розчиняється, його слід залишити на добу, після чого ретельно перемішати та нагріти під струменем гарячої води.

5% розчин натрій бісульфіту: 5 г натрій бісульфіту розчинити у 100 мл дистильованої води. Розчин стабільний при зберіганні протягом 1 місяця при кімнатній температурі.

1% розчин крохмалю (визначення цукру за методом Хагедорна-Йенсена): до 1 г розчинного крохмалю додати 100 мл насиченого розчину натрій хлориду і при постійному помішуванні довести до кипіння. При помутнінні непридатний.

1,2% розчин пікринової кислоти: 1,4-1,5 г пікринової кислоти розчинити в 100 мл гарячої (70-80 °С) дистильованої води (суміш нагрівати на водяній бані). Залишити на добу при кімнатній температурі (для осадження надлишку пікринової кислоти), після чого профільтрувати. Розчин повинен бути прозорим. Зберігати в посуді з темного скла.

2% розчин пікринової кислоти: 2 г пікринової кислоти розчинити у 100 мл гарячої (70-80 °С) дистильованої води (суміш нагрівати на водяній бані). Розчин залишити на добу при кімнатній температурі (для осадження надлишку пікринової кислоти), після чого профільтрувати. Пікринова кислота – сильна отрута, тому поводитися з нею необхідно дуже обережно.

18% розчин хлоридної кислоти: концентровану хлоридну кислоту з густиною 1,19 розвести дистильованою водою у співвідношенні 1:1.

0,5% розчин *n*-фенілендіамін хлориду: 5 г *n*-фенілендіамін хлориду розчинити в 1 л води. Зберігати в холодильнику в посуді з темного скла.

0,5% розчин *n*-фенілендіаміну в ацетатному буфері (рН...5,2): 5 г *n*-фенілендіаміну розчинити в 1 л ацетатного буферу (20 мл кислоти та 163 г натрій ацетату розчинити в 1 л дистильованої води).

20% розчин формальдегіду свіжонеутралізований: до 50 мл формаліну додати 1 мл 0,05% водно-спиртового розчину (1:1) фенолфталеїну і 0,2н розчин натрій гідроксиду до блідо-рожевого забарвлення. Готувати перед використанням.

Стандартний розчин адреналіну: в колбу на 25 мл внести 1 мл 0,1% аптечного розчину адреналіну і довести водою до позначки. 1 мл стандартного розчину містить 0,04 мг адреналіну.

Суміш Блур: змішати 3 частини етилового спирту і 1 частину диетилового ефіру.

Суміш розчинів купрум і плюмбум ацетату та натрій нітриту: 7,5 г купрум ацетату і 2 г плюмбум ацетату розчинити у 150 мл дистильованої води при нагріванні до 100 °С, після чого профільтрувати. У 20 мл отриманого розчину розчинити 0,25 мг натрій нітриту.

Формольна суміш: до 50 мл 40% розчину формальдегіду додати 10 краплин 0,1% розчину фенолфталеїну і по краплях 0,1н розчин калій або натрій гідроксиду до утворення слабкого рожевого забарвлення.

Фосфатний буфер з рН 7,4: змішати 81 мл 0,2 Моль/л розчину динатрій гідрогенфосфату і 19 мл 0,2 Моль/л розчину натрій дигідрогенфосфату. Загальний об'єм розчину довести дистильованою водою до 200 мл.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Біологічна хімія: Лабораторний практикум. / [Під заг. ред. Я.І. Гонського]. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – 288 с.
2. Биологическая химия. Практикум. / [Под общ. ред. Ю.В. Хмелевского]. – К.: Вища школа, 1985. – 208 с.
3. Біологічна хімія / Л.М. Вороніна, В.Ф. Десенко, Н.М. Мадієвська та ін. – Харків: Основа, 2000. – 607 с.
4. Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі: навч. посібник / Т.І. Бондарчук, Н.М., Гринчишин, Л.І. Кобилінська та ін.: за ред. О.Я. Склярова. – К.: Медицина, 2010. – 360 с.
5. Биохимические методы исследования в клинике: Справочник. / [Под ред. А.А. Покровського]. – М.: Медицина, 1969 – 652 с.
6. Биоэнергетика Н. Е. Кучеренко В.М. Войцицкий. – К.: 1982. – 272 с.
7. Біохімія: Практикум. / М.Є. Кучеренко, В.М. Войцицький, Ю.Д. Бабенюк, В.І. Гаврилей. – К.: Либідь, 1995. – 152 с.
8. Біохімія: тестовий контроль / М.Є. Кучеренко, О.Ю. Пашенко, І.М. Турянця та ін. К.: Либідь, 1995. – 339 с.
9. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами / под ред. Чл.-корр. РАН, проф. Е.С. Северина, проф. А.Я. Николаева. – М.: 2002, 448 с.
10. Виноградова Р.П. Біологічна хімія. Практикум./ Р.П. Виноградова, Н.Є. Кучеренко, А.Р. Литвиненко та ін. – К.: Вища школа, 1977. – 384 с.
11. Витамины и минералы / Л. Эрл. – М.: 1996. – 240 с.
12. Воронина Л.Н. Руководство к лабораторным и семинарским занятиям по биологической химии. / Л.Н. Воронина, В.Ф. Десенко, В.Н. Кравченко и др. – Харьков: Основа, 1996. – 430 с.
13. Гарбарець Б.О. Практикум з медичної біохімії. / Б.О. Гарбарець, І.Ю. Висоцький, А.А. Качанова – К., 1988. – 415 с.
14. Гонський Я.І. Біохімія людини. / Я.І. Гонський, Т.І. Максимчук. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2001. – 725 с.
15. Горячковский А.М. Справочное пособие по клинической биохимии. / А.М. Горячковский. – Одесса: ОКФА, 1994. - 415 с.
16. Горячковский А.М. Клиническая биохимия. Справочное пособие. / А.М. Горячковский. – Одесса: Астропринт, 1998. – 608 с.
17. Губський Ю.І. Біологічна хімія / Ю.І. Губський. – Київ-Вінниця: Нова книга, 2007. – 650 с.

18. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. / В.С. Камышников. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.
19. Колб В.Г. Клиническая биохимия. / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – Минск: Беларусь, 1976. – 312 с.
20. Клінічна біохімія / За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 298 с.
21. Тарасенко Л.М. Функціональна біохімія. – Вінниця: Нова книга, 2007. – 384 с.
22. Комаров Ф.И. Биохимические исследования в клинике. / Ф.И. Комаров, Б.Ф. Коровкин, В.В. Меньшиков. – Л.: Медицина, 1981. – 408 с.
23. Кушманова О.Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – 3-е изд., перераб. и доп. / О.Д. Кушманова, Г.М. Ивченко. – М.: Медицина, 1983. – 272 с.
24. Лабораторные методы исследования в клинике. / [Под ред. В.В. Мельникова]. – М.: Медицина, 1987. – 365 с.
25. Маршал В.Дж. Клиническая биохимия. / В.Дж. Маршал. – М.: БИНОМ, 1999. – 368 с.
26. Назаренко Г.И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. / Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун. – М.: Медицина, 2000. – 540 с.
27. Остапець М.Г. Практикум з біохімії. / М.Г. Остапець, Н.М. Романська – К.: Вища школа, 1974. – 256 с.
28. Практикум з органічної та біологічної хімії. / [За ред. Є.Ф. Шамрая]. – К.: Здоров'я, 1967. – 324 с.
29. Пустовалова Л.М. Практикум по биохимии. / Л.М. Пустовалова. – Ростов-на-Дону: Феникс, 1999. – 54 с.
30. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. / [Под ред. Т.Т. Березова]. – М.: Медицина, 1976. – 294 с.
31. Савронь Е.С. Практикум по биохимии животных. / Е.С. Савронь, В.И. Воронянский, Г.И. Киселев и др. – М.: Высшая школа, 1967. – 240 с.
32. Сопін Є.Ф. Основи біохімічних методів дослідження. / Є.Ф. Сопін, Р.П. Виноградова. – К.: Вища школа, 1975. – 244 с.
33. Филипович Ю.Б. Практикум по общей биохимии. / Ю.Б. Филипович, Т.А. Егорова, Г.А. Севастьянова. [Под ред. Ю.Б. Филиповича]. – М.: Просвещение, 1982. – 311 с.
34. Чиркин А.А. Практикум по биохимии. / А.А. Чиркин. – Мн.: Новое знание, 2002. – 512 с.

ЗМІСТ

Передмова	3
Правила роботи в біохімічній лабораторії.....	4
Умовні скорочення.....	6
Список рекомендованої літератури.....	7
Перелік лабораторно-практичних занять з біохімії.....	8
Розділ I. Статична біохімія	
Лабораторно-практичне заняття № 1. Фізико-хімічні властивості білків та амінокислот.....	14
Лабораторно-практичне заняття № 2. Дослідження складу і властивостей складних білків.....	35
Теоретичний практикум № 3. Структурна організація білків.....	42
Лабораторно-практичне заняття № 4. Вивчення складу та властивостей нуклеїнових кислот.....	45
Лабораторно-практичне заняття № 5. Вивчення властивостей ферментів	51
Лабораторно-практичне заняття № 6. Вітаміни. Будова, властивості, біологічна роль.	61
Теми винесені на самостійне опрацювання	
Тема: 1. Склад, будова та властивості цукридів	84
Тема 2. Склад, будова і властивості ліпідів.....	88
Тема 3. Склад, будова та властивості гормонів.....	92
Розділ II. Динамічна біохімія	
Лабораторно-практичне заняття № 1. Обмін речовин і енергії. Біологічне окиснення.....	96
Лабораторно-практичне заняття № 2. Обмін білків.	105
Лабораторно-практичне заняття № 3. Обмін нуклеїнових кислот.	122
Лабораторно-практичне заняття № 4. Обмін вуглеводів.....	135
Теми винесені на самостійне опрацювання	
Тема 1. Обмін ліпідів.....	164
Тема 2. Водно-мінеральний обмін.....	171
Додатки.....	174
Література.....	193

Навчально-методичне видання

Федір Федорович Боєчко

Любов Олександрівна Боєчко

Ірина Василівна Шмиголь

Лабораторний практикум з біохімії

Навчально-методичний посібник
для студентів університетів

Комп'ютерна верстка І.В. Шмиголь

Редагування Л.О. Боєчко

Підписано до друку Формат 60x84/16. Гарнітура Таймс
Папір офсет. Ум. друк. арк. Тираж пр. Зам. №

Виготовлено й віддруковано у видавничому відділі
Черкаського національного університету імені Богдана Хмельницького
Свідоцтво про внесення до державного реєстру
суб'єктів видавничої справи ДК № 294 від 22.12.2000 р.

Адреса: 18000, м. Черкаси, бул. Шевченка, 81, кімн. 117,
Тел. (0472) 37-13-16, факс (0472) 37-22-33,
e-mail: vydav@cdu.edu.ua, <http://www.cdu.edu.ua>