

КУЧМЕНКО О. Б., ПАЛИВОДА Ю. М.

БІОХІМІЯ



Міністерство освіти і науки України
Ніжинський державний університет
імені Миколи Гоголя

О. Б. КУЧМЕНКО, Ю. М. ПАЛИВОДА

БІОХІМІЯ

*Навчально-методичний посібник
для виконання лабораторних
робіт та самостійної роботи студентів*

Ніжин – 2025

УДК 577.1(075.8)

К95

Рекомендовано Вченою радою
Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя
(НДУ ім. М. Гоголя)
Протокол № 01 від 23.11.2024 р.

Рецензенти:

Весельський С. П. – старший науковий співробітник Інституту високих технологій, Київський національний університет ім. Тараса Шевченка, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник;

Мхітарян Л. С. – професор кафедри біології Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя, доктор медичних наук, професор.

Кучменко О. Б., Паливода Ю. М.

К95 Біохімія: навчально-методичний посібник для виконання лабораторних робіт та самостійної роботи студентів. – Ніжин: НДУ ім. М. Гоголя, 2025. – 107 с.

ISBN 978-617-527-311-1

Посібник містить лабораторні роботи, контрольні питання і задачі з основних розділів курсу «Біохімія». Перед кожною лабораторною роботою є коротка теоретична частина, наведена методика проведення експерименту та обробки отриманих даних дослідження.

У посібнику зібрано 110 задач з основних розділів біохімії, більшість із яких мають певну фахову спрямованість. Додатки містять всю необхідну для розв'язування задач і проведення лабораторних робіт інформацію.

Призначений для студентів біологічних та медичних спеціальностей, аспірантів.

УДК 577.1(075.8)

ISBN 978-617-527-311-1

© Кучменко О. Б., Паливода Ю. М., 2025

© НДУ ім. М. Гоголя, 2025

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА	4
ЧАСТИНА I. ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ	5
Техніка безпеки під час роботи в біохімічній лабораторії.....	5
Лабораторна робота № 1. Основні методи біохімічних досліджень	7
Лабораторна робота № 2. Приготування розчинів	17
Лабораторна робота № 3. Амінокислоти	20
Лабораторна робота № 4. Білки	27
Лабораторна робота № 5. Ферменти	39
Лабораторна робота № 6. Визначення активності ферментів	44
Лабораторна робота № 7. Вуглеводи	46
Лабораторна робота № 8. Ліпіди	49
Лабораторна робота № 9. Нуклеотиди, нуклеїнові кислоти.....	54
Лабораторна робота № 10. Вітаміни	60
Лабораторна робота № 11. Пігменти.....	64
Лабораторна робота № 12. Гормони	67
Лабораторна робота № 13. Біохімія крові.....	70
Лабораторна робота № 14. Біохімія сечі.....	74
ЧАСТИНА II. ЗАДАЧІ ТА ВПРАВИ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ СТУДЕНТІВ	77
ДОДАТКИ.....	97
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА	106

ПЕРЕДМОВА

Біохімія – це наука, яка вивчає хімічний склад живої матерії, хімічні процеси, що відбуваються в живих організмах і лежать в основі їх життєдіяльності. З молекулярного погляду біохімія описує структуру, механізми та хімічні процеси, спільні для всіх організмів, і розкриває організаційні принципи, що є в основі життя в усіх його різноманітних проявах. Ці принципи є молекулярною логікою життя. Тому головним предметом вивчення біохімії як науки є життя.

Метою вивчення навчальної дисципліни «Біохімія» є набуття студентами знань про хімічну будову макромолекул (біополімерів) у клітинах живих організмів, їх фізико-хімічні властивості та біологічну роль, основні метаболічні шляхи в організмі, їх взаємозв'язок і молекулярні механізми регуляції.

Основним завданням вивчення навчальної дисципліни «Біохімія» є засвоєння теоретичних основ біохімії і набуття навичок практичного застосування знань. У результаті вивчення дисципліни студент повинен засвоїти основні поняття біохімії; отримати міцні та ґрунтовні знання про склад, хімічну будову, властивості та функції амінокислот, білків, вуглеводів, ліпідів, нуклеїнових кислот, ферментів, вітамінів, гормонів; усвідомити сутність біохімічних процесів і механізми перебігу біохімічних реакцій; оволодіти методикою проведення біохімічних лабораторних досліджень; поглибити навички роботи з хімічними реактивами, посудом та обладнанням; розвинути логічне мислення, вміння аналізувати, робити аргументовані висновки й узагальнювати результати проведених досліджень.

Запропоноване авторами навчально-методичне видання сприятиме підготовці до лабораторних робіт та успішному проведенню дослідів. Поданий матеріал систематизований і чітко структурований: зміст лабораторних робіт з інструкціями до проведення дослідів та завдання для домашнього виконання.

Описуються способи приготування окремих реактивів. Обов'язковою умовою допуску студента до виконання завдань лабораторного практикуму є ознайомлення з вимогами техніки безпеки, правилами роботи в біохімічній лабораторії (проходження інструктажу засвідчується підписом у журналі).

ЧАСТИНА I. ОРГАНІЗАЦІЯ ТА ПРОВЕДЕННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ ПІД ЧАС РОБОТИ В БІОХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

Для успішного виконання практичних завдань з біохімії потрібно дотримуватися основних правил роботи в біохімічній лабораторії:

1. у лабораторії студенти зобов'язані працювати в халатах і шапочках;
2. практичні роботи потрібно виконувати під наглядом викладача або лаборанта;
3. під час роботи з посудом, реактивами і приладами студент повинен бути максимально обережним, уважним і акуратним;
4. на кожному робочому місці повинні бути посуд та реактиви, які необхідні для роботи; переносити їх з місця на місце не дозволяється;
5. студент повинен строго дотримуватися методики виконання досліду;
6. лабораторні роботи з отруйними та леткими речовинами (соляна кислота, аміак та ін.) потрібно виконувати тільки під витяжними шафами;
7. посуд для дослідів повинен бути абсолютно чистим і сухим;
8. щоб зберегти реактиви чистими, рештки невикористаних речовин не дозволяється повертати назад у пляшечки, склянки;
9. при нагріванні пробірки над полум'ям потрібно слідкувати, щоб її отвір був спрямований у протилежну сторону від себе і колег;
10. відкриваючи банку або пляшку з реактивом, корки слід тримати у руці або класти на стіл зовнішньою поверхнею;
11. нюхати вміст посуду потрібно обережно, направляючи помахуванням руки пару речовини до носа. Пробувати речовини на смак категорично забороняється;
12. не зливати у раковину луги, кислоти і вогненебезпечні речовини;
13. слід пам'ятати, що для розведення концентрованої сірчаної кислоти потрібно кислоту лити у воду, а не навпаки;

14. розливу кислоти нейтралізують лугом, а потім змивають великою кількістю води;
15. леткі і легкозаймісті речовини необхідно нагрівати тільки на водяній або електричній плитці із закритою спіраллю. Нагрівати вогнебезпечні речовини на відкритому полум'ї забороняється;
16. не можна залишати у лабораторії увімкнені спектрофотометри, фотоелектроколориметри, гарячі водяні бані, газові пальники, центрифуги тощо;
17. після закінчення роботи хімічний посуд потрібно помити, робоче місце прибрати;
18. виходячи з лабораторії потрібно обов'язково перекрити газ, воду і вимкнути світло;
19. при опіках:
 - а) сильними лугами – необхідно промити уражені ділянки тіла водою і накласти компрес, змочений 1% розчином оцтової кислоти;
 - б) сильними кислотами – необхідно промити уражені ділянки тіла водою і накласти компрес змочений 1% розчином соди;
 - в) фенолом – необхідно розтерти побілілу від опіку ділянку шкіри до нормального стану, а потім промити водою і накласти пов'язку з гліцерином;
20. у разі потрапляння кислоти або лугу в очі необхідно промити їх великою кількістю води, а потім 2% розчином соди або борної кислоти;
21. перев'язувальні матеріали (вата, бинти, серветки), необхідні розчини та медикаменти знаходяться в аптечці першої медичної допомоги, якою забезпечена лабораторія;
22. при виникненні пожежі в лабораторії необхідно негайно вимкнути всі нагрівальні прилади, прибрати легкозаймісті рідини. Якщо осередок пожежі невеликий, загоряння можна спробувати ліквідувати первинними засобами пожежогасіння: засипати піском або накрити щільною тканиною чи ковдрою, для припинення інтенсивного горіння слід скористатися вогнегасником.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

ОСНОВНІ МЕТОДИ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Мета: ознайомитися з основними методами біохімічних досліджень та основними приладами лабораторії.

Центрифугування – це процес розділення неоднорідних систем під дією поля відцентрових сил. Для створення поля відцентрових сил потік неоднорідної системи спрямовують у робочий орган, що обертається, в якому відбувається їх спільне обертання. Такий процес називається відцентровим осадженням, а апарат – центрифугою.



Основна перевага центрифугування порівняно з іншими методами розділення неоднорідних систем, наприклад осадженням і фільтруванням, полягає в значному збільшенні продуктивності та ефективності розділення. З допомогою центрифугування розділяють такі тонко дисперсні неоднорідні системи, як дріжджову та крохмальну суспензії, виноматеріали, пиво, молоко, цукровий та борошняний пил, тощо.

У відцентровому полі можна здійснювати обидва найважливіші процеси розділення неоднорідних систем – осадження та фільтрування.

Зважування – процес визначення за допомогою пристроїв маси речовини.



Як і будь-які спеціалізовані прилади ваги поділяються на певні типи, що розрізняються між собою точністю і призначенням.

Аналітичні ваги. Дуже точні, чутливі ваги, вони мають можливість зважити зразок дуже малої маси до 0,1 мг (1-2 клас точності). З-за своєї чутливості вони найбільше схильні до впливу навколишнього середовища, тому зважуваний зразок поміщають в камеру, оточену скляною вітриною, це в першу чергу захищає зразок від можливих протягів, тим самим

підвищуючи точність вимірювань. Доступ до вітрини може бути як двосторонній, так і тристоронній, що полегшує приміщення зразка на ваги. У багатьох сучасних аналітичних вагах є багато додаткових корисних функцій:

- автоматичне виставляння нуля;
- вибір одиниць виміру;
- усереднення результатів вимірювання;
- процентне зважування компонентів;
- автоматичне калібрування.

Цей вид ваг використовується для високоточних аналізів, найчастіше ними користуються у наукових лабораторіях і в фармацевтиці.



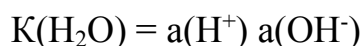
Лабораторні ваги. Це ваги 3-4 класів точності, повсюдно використовуються в наукових лабораторіях, на фармацевтичних та хімічних виробництвах. Вони менш точні, ніж аналітичні ваги, але більш універсальні, можна зважувати зразки набагато більшої маси, ніж на аналітичних, а також гарячі і холодні зразки. При виборі лабораторних ваг можна помітити різницю в конструкції вимірювальної платформи, вони бувають круглі і прямокутні. Круглі зазвичай використовуються для зважування не дуже великих мас (до 0,2-0,5 кг), прямокутні платформи ж розміщують на вагах, що мають максимальний межа зважування набагато більше кілограма. Цей вид ваг дешевший, ніж аналітичні, тому якщо метою зважування є зразки більш грама, то цілком можна обмежитися купівлею цих ваг.



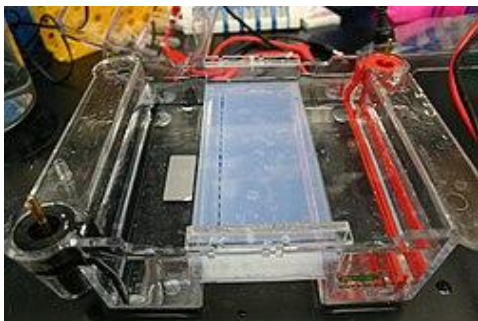
pH-метрія (pH-метр). Сутність цього способу полягає в тому, що молекули води частково дисоціюють на іони водню H^+ та іони гідроксиду OH^- . При цьому для дистильованої води та нейтральних розчинів активність $a(H^+)$ іонів водню дорівнює активності $a(OH^-)$ іонів гідроксиду, для водних розчинів кислот $a(H^+) \geq a(OH^-)$, та

тим більше, чим більше концентрація, а для водних розчинів луг $a(H^+) \leq a(OH^-)$

та зменшується разом із збільшенням концентрації. У той же час добуток цих активностей завжди лишається постійним як для води, так і для водних розчинів кислот та луг та характеризується так званим іонним добутком води:



Тобто, для оцінки властивостей водних розчинів достатньо виміряти, наприклад, активність водневих іонів. На практиці, для зручності обчислень, активність водневих іонів характеризують *водневим показником рН*, який вимірюють приладом рН-метром. Показник рН для водних розчинів змінюється від 0 для сильно концентрованих водних розчинів кислот до 14 одиниць для концентрованих водних розчинів луг



Електрофорез (камери для електрофорезу, денситометр). Електрофорез – рух дисперсних твердих частинок, рідинних крапель або газових пухирців, йонів тощо завислих в рідинному або газоподібному середовищі в електричному полі постійного струму під дією електрокінетичних сил, що виникають завдяки утворенню подвійного електричного шару на границі розділу фаз.

Як електроаналітичний метод – метод розділення великих органічних молекул (зокрема, біологічних), де використовується різниця електрофоретичних швидкостей їхнього руху в нерухомій рідкій фазі. Рідина може бути іммобілізованою за допомогою різних основ (наприклад, папір, желатин, капілярні матеріали). До електрофоретичних методів належать:

- ✓ гелевий електрофорез;
- ✓ ізоелектричне фокусування;
- ✓ ізотахофорез;
- ✓ капілярний електрофорез;
- ✓ мікроелектрофорез – електрофорез, де використовується рух частинок на дуже малі відстані (наприклад, паперовий електрофорез);
- ✓ катафорез – випадок електрофорезу, при якому частинки дисперсної фази рухаються в напрямку катода.

- ✓ анафорез – вид електрофорезу, в якому частинки дисперсної фази рухаються в напрямі аноду.

Спектроскопія (спектрофотометр, фотоелектроколориметр, спектрофлюориметр, мас-спектрометр).



Колориметр фотоелектричний концентраційний призначений для вимірювання в окремих діапазонах довжин хвиль (315-980 нм), які виділяються світлофільтрами, визначення коефіцієнта пропускання та оптичної щільності рідких розчинів, твердих тіл, а також концентрації речовин у розчинах методом побудови градувальних графіків.

Спектроскопія – це метод визначення вмісту речовини за поглинанням світла забарвленим розчином, що пропускається через світлофільтр і вимірюється фотоелементом. Для визначення використовують прилади, що називаються фотоелектроколориметрами (ФЕК).

Принцип будови ФЕК. Світловий потік, що проходить через забарвлену рідину, частково поглинається. Залишок світлового потоку попадає на фотоелемент, в якому виникає електричний струм (фотострум), що реєструється за допомогою гальванометра або міліамперметра, сполученими з відліковими шкалами. Чим більша концентрація розчину, тим більша його оптична густина, тим більший ступінь поглинання і, відповідно, тим менша сила виникаючого фотоструму.

Хроматографія – це метод розділення компонентів суміші. Щоб запустити цей процес, суміш розчиняють у речовині – рухомій фазі, яка переносить її через другу речовину – нерухому фазу.

Різні компоненти суміші проходять через нерухому фазу з різною швидкістю, що сприяє їхньому розділенню. Особливості рухомих і нерухомих фаз допомагають визначити, які речовини переміщуються швидше або

повільніше та як вони розділяються. Різний час проходження називають часом утримування.

Хроматографія отримала свою назву від методу, вперше використаного наприкінці ХІХ століття для розділення пігментів у складній суміші.

Якщо аркуш паперу або тканини контактує з контейнером, наповненим водою або спиртом, у якому розчинений складний пігмент, капілярний вплив призведе до переміщення суміші вздовж паперу або тканини, але не всі компоненти пігменту переміщуватимуться з однаковою швидкістю.

Найбільші молекули суміші рухатимуться повільніше, водночас найменші мчатимуть уперед, змушуючи нерухому фазу створювати дискретні смуги того кольору, який відповідає певному компоненту суміші. Це й дало техніці назву «хроматографія» або «кольорове письмо».

У сучасних лабораторіях колірний аспект більше не актуальний, але принципи застосовуються такі ж. Розчиняючи необхідну суміш у рухомій фазі й переміщуючи її через нерухому, можна відокремити компоненти суміші один від одного завдяки різній швидкості їхнього руху.

За допомогою зміни рухомої фази, нерухомої фази та/або фактора, що визначає швидкість переміщення, була створена значна кількість хроматографічних методів аналізу, кожен з яких призначений для різних цілей та ідеально підходить для різних сумішей. Ось деякі з найпоширеніших форм хроматографії:



- У газовій хроматографії необхідну суміш випаровують і переносять через нерухому фазу (зазвичай металеву або скляну розділову колонку) з інертним газом – переважно з азотом або гелієм. Більшим молекулам у суміші потрібно більше часу, щоб пройти через колонку й досягти детектора на дальньому кінці. Залежно від особливостей нерухомої фази

газову хроматографію поділяють на газорідинну та газову адсорбційну хроматографію.

- У рідинній хроматографії необхідну суміш розчиняють у рідині та пропускають через тверду нерухому фазу, яка зазвичай зроблена з силіки. Якщо нерухома фаза теж рідка, то це рідинно-рідинна хроматографія, яку часто називають розподільною хроматографією. Існує також кілька різновидів рідинної хроматографії залежно від відносної полярності рухомої та нерухомої фази (нормальна фаза та зворотна фаза) і від того, чи знаходиться рухома фаза під тиском (високоєфективна рідинна хроматографія).



- У тонкошаровій хроматографії (ТШХ) нерухома фаза – це тонкий шар твердого матеріалу, зазвичай на основі силіки, а рухома фаза – це рідина, в якій розчинена необхідна суміш. Тонкошарова хроматографія має перевагу хорошого фотографування, що спрощує оцифрування результатів.



- Іонообмінна хроматографія, крім розміру або замість нього, розділяє компоненти суміші залежно від їхнього заряду. По суті, позитивно (катіони) або негативно (аніони) заряджені іони розділяються з використанням різних нерухомих фаз і рухливих фаз з різним рН.

Також існує осадова хроматографія, коли розділення компонентів суміші ґрунтується на різній розчинності осадів у рухомій фазі, і капілярна хроматографія, принцип виконання якої полягає в розділенні в плівці рідини або шарі сорбенту на внутрішній стінці трубки.

Хроматографію можна застосовувати як аналітичний інструмент, подаючи її вихідні дані в детектор, який зчитує вміст суміші. Її також можна використовувати як спосіб очищення, відокремлюючи компоненти суміші для застосування в інших експериментах або процедурах. Зазвичай в аналітичній

хроматографії необхідна набагато менша кількість матеріалу, ніж у хроматографії, призначеній для очищення суміші або вилучення з неї певних компонентів.

Наприклад, твердофазна екстракція – це різновид рідинної хроматографії, в якій різні рухливі фази використовуються послідовно для поділу різних компонентів суміші, що потрапили у тверду фазу. Хроматографія як метод очищення грає важливу роль у нафтохімічних та інших лабораторіях органічної хімії, де вона може бути одним з найбільш економічно ефективних способів видалення домішок з органічних розчинів, особливо якщо компоненти суміші чутливі до температури.

Також величезну роль відіграє хроматографія в медицині для діагностики різних захворювань.

Принципи хроматографії використовуються і в інших лабораторних методах. Гель-електрофорез сортує нуклеїнові кислоти та білки залежно від розміру, пропускаючи їх через гель за допомогою електричного поля. По суті, цей метод є різновидом хроматографії. Так само дистиляція сортує компоненти суміші за їхніми точками кипіння та конденсацією, а сам пристрій є своєюрідною нерухомою фазою.

Хроматографія, завдяки дуже простому принципу дії, залишає місце для значного удосконалення. Це і призвело до появи безлічі спеціалізованих хроматографічних методів дослідження, зокрема двовимірної хроматографії для одночасного використання двох різних технік хроматографії, піролітичної газової хроматографії, що застосовується як частина мас-спектрометрії, і хіральної хроматографії для розділення стереоізомерів, які не вдається розпізнати за допомогою інших методів.

Хемілюмінесценція (хемілюмінометр). Хемілюмінесцентний аналіз ґрунтується на **хемілюмінесценції** – явищі випромінювання видимого світла молекулами, атомами чи іонами, попередньо збудженими енергією хімічної реакції.



Хемілюмінесценція спостерігається лише за умови, коли в розчині відбуваються елементарні екзотермічні акти, енергія яких більша 170 кДж/моль.

Як основні хімічні реагенти використовують такі пари:

- силорксен і різні окисники (рН<5) – рожеве світло;
- люцигенін і H_2O_2 (рН>9) – блакитне світло;
- люмінол і H_2O_2 (рН>8,5) – блакитне світло.

Хемілюмінесцентний метод можна віднести до кінетичних методів аналізу, оскільки інтенсивність хемілюмінесценції пропорційна швидкості реакції. На хемілюмінесценцію впливають і каталізатори (реакцію з прискорюють катіони Cu^{2+} , Co^{2+} , комплекс $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$) та інгібітори, які вводяться в систему спеціально для визначення їх кількості.

Якісний хемілюмінесцентний аналіз проводять за спектром люмінесценції. **Кількісний аналіз** ґрунтується на залежності інтенсивності люмінесценції або кількості виділеного світла впродовж певного часу від концентрації люмінесціуючої речовини. Цим методом визначають дуже малі концентрації катіонів металів, які прискорюють або уповільнюють реакцію.

Використання хемілюмінесценції:

- вивчення механізму кінетики хімічної реакції;
- визначення концентрації збуджених атомів і вільних радикалів;
- встановлення вмісту важких металів, фенолів, нафтопродуктів у повітрі, ґрунті, питній воді, продуктах;
- автоматичний контроль виробництва;

- хемілюмінесцентні індикатори тощо.

Електронно-парамагнітно-резонансна спектроскопія (ЕПР) є потужним інструментом для дослідження парамагнітних видів, включаючи органічні радикали, неорганічні радикали та триплетні стани. Основні принципи ЕПР дуже схожі на більш повсюдну ядерно-магнітно-резонансну спектроскопію (ЯМР), за винятком того, що ЕПР фокусується на взаємодії зовнішнього магнітного поля з непарними електронами в молекулі, а не ядрами окремих атомів. ЕПР використовувався для дослідження кінетики, механізмів та структур парамагнітних видів, а також загальної хімії та фізики, має застосування в біохімії, полімерній науці та науках про Землю.

Спектроскопія ЕПР може здійснюватися або 1) змінюючи магнітне поле та утримуючи постійну частоту, або 2) змінюючи частоту та утримуючи постійну магнітне поле (як це стосується спектроскопії ЯМР). Комерційні ЕПР спектрометри, як правило, змінюють магнітне поле і утримують постійну частоту, протилежну спектрометрів ЯМР. Більшість ЕПР спектрометрів знаходяться в діапазоні 8-10 ГГц (X-діапазон), хоча існують спектрометри, які працюють на нижчих і вищих порах: 1-2 ГГц (L-діапазон) і 2-4 ГГц (S-діапазон), 35 ГГц (Q-діапазон) і 95 ГГц (W-діапазон).

Зразками для ЕПР можуть бути гази, монокристали, розчини, порошки та заморожені розчини.

Ядерний магнітний резонанс (ЯМР) – фізичне явище, при якому ядра в магнітному полі поглинають і повторно випромінюють електромагнітне випромінювання. Ця енергія знаходиться на певній резонансній частоті, яка залежить від сили магнітного поля і магнітних властивостей ізотопу атомів. Багато наукових методів використовують ЯМР явища для вивчення молекулярної фізики, кристалів та некристалічних матеріалів за допомогою спектроскопії ядерного магнітного резонансу. ЯМР також регулярно використовується в передових медичних методах візуалізації, таких як магнітно-резонансна томографія (МРТ).

Контрольні завдання:

Заповнити таблицю:

<i>Метод</i>	<i>Принцип</i>	<i>Що можна дослідити</i>
Рідинна хроматографія		
Газова хроматографія		
Абсорбційна хроматографія		
Іонообмінна хроматографія		
Афінна хроматографія		
Колоночна хроматографія		
Планарна хроматографія		
Капілярна хроматографія		
Електрофорез у вільних середовищах		
Зональний електрофорез		
Капілярний електрофорез		
Імуноелектрофорез		
Вестерн-блот		
Сайзерн-блот		
Нозерн-блот		

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2

ПРИГОТУВАННЯ РОЗЧИНІВ

Мета: навчитися готувати розчини різної концентрації.

Теоретичні відомості

Розчини – це гомогенні системи, утворені двома або більшим числом компонентів. Компонент, вміст якого в розчині переважає, називається розчинником; компонент, якого в розчині менше, називається розчиненою речовиною. В хімічному аналізі під розчином розуміють рідку прозору однорідну суміш речовини і рідкого розчинника. Кількість компонента розчину, що відноситься до визначеного об'єму або маси розчину або розчинника, називається концентрацією розчину.

За розчинністю у воді усі речовини поділяються на три групи.

1. Добре розчинні речовини, наприклад, цукор, натрій хлорид, натрій гідроксид (тверді); етиловий спирт, ацетон (рідкі); хлороводень, амоніак (гази).

2. Малорозчинні: кальцій сульфат, свинець (тверді речовини); діетиловий етер, бензен (рідини); кисень, азот, метан (гази).

3. Практично нерозчинні: скло, срібло, золото (тверді речовини); гас, рослинні масла (рідини); гелій, неон, аргон (гази).

Розчинення речовин перебігає самочинно і завершується утворенням насиченого розчину, в якому міститься максимально можлива за даної температури кількість розчиненої речовини. Насичений розчин знаходиться в рівновазі з осадом розчиненої речовини. У ненасиченому розчині міститься менше розчиненої речовини, ніж у насиченому, а в пересиченому – більше. Останній є нестійкою системою, з якої розчинена речовина випадає у вигляді кристалів.

Способи вираження концентрації розчинів

Основною кількісною характеристикою розчинів є концентрація, тобто кількісне співвідношення між основними компонентами розчину: розчинником і

розчиною речовиною. Існують різні способи вираження концентрації розчинів.

Під час обчислення концентрації розчинів використовують позначення:

$m_{p.p.}$ – маса розчиненої речовини, г;

$m_{p-ну}$ – маса розчину, г;

$M_{p.p.}$ – молярна маса розчиненої речовини г/моль;

$M_{E.p.p.}$ – еквівалентна маса розчиненої речовини, г/моль·екв;

$\nu_{p.p.}$ – кількість розчиненої речовини, моль;

$\nu_{екв.p.p.}$ – кількість еквівалентів розчиненої речовини, моль;

$V_{p.p.}$ – об'єм розчиненої речовини, л;

$V_{p-ну}$ – об'єм розчину, л.

1. **Масова частка** (відсоток, процент) розчиненої речовини, ω – це

$$\omega = \frac{m_{p.p.}}{m_{p-ну}} \cdot 100\% ; [\%]$$

відношення маси розчиненої речовини до маси розчину.

2. **Об'ємна частка розчиненої речовини** $\omega_{об.}$ – це відношення об'єму

розчиненої речовини до об'єму розчину.

$$\omega_{об.} = \frac{V_{p.p.}}{V_{p-ну}} \cdot 100\% ; [\text{об. \%}]$$

3. **Молярність** (молярна концентрація) C_M – визначає кількість розчиненої речовини (моль) в 1л (1000 см³) розчину.

$$C_M = \frac{\nu_{p.p.}}{V_{p-ну}} = \frac{m_{p.p.}}{M_{p.p.} \cdot V_{p-ну}} ; [\text{моль/л}]$$

4. **Нормальність** (молярна концентрація еквівалента), C_H – визначає число моль еквівалентів розчиненої речовини в 1л (1000 см³) розчину.

$$C_H = \frac{\nu_{екв.p.p.}}{V_{p-ну}} = \frac{m_{p.p.}}{M_{E.p.p.} \cdot V_{p-ну}} ; [\text{моль} \cdot \text{екв/л}]$$

Експериментальна частина

1. Приготування розчинів (молярних, нормальних, процентних).

Розрахувати приготування розчинів:

- 1) 100 мл 0,1 н HCl;
- 2) 1 л 0,05 н H₂SO₄;
- 3) 1,15 % KCl;
- 4) 4 % водний розчин молібдата амонія (*сухий реактив*);
- 5) 0,03 % розчин H₂O₂ (вихідний розчин – 3 % розчин H₂O₂);
- 6) 0,164 М розчин NaCl (*сухий реактив*);
- 7) 0,125 М розчин окисленого глутатіону (M=612,63 г/л) (*сухий реактив*);
- 8) 100 мл 1н NaOH (*сухий реактив*);
- 9) 100 мл фізіологічного розчину.

2. Приготування буферних розчинів.

Розрахувати приготування наступних буферів:

- 1) 0,05 М трис-HCl, pH 7,8 (*трис – сухий реактив, HCl – рідний реактив*);
- 2) 0,25 М калій-фосфатний буфер, pH 7,4, (*сухі реактиви*).

3. Приготування розчинів заданих речовин на буферних розчинах.

Розрахувати приготування наступних розчинів:

- 1) 0,05 М трис-HCl буфер (pH 7,8), що містить 0,003 М CaCl₂,
- 2) 0,03 М ЕДТА (M=372 г/л) і 0,003 М НАДФН (M=833,35 г/л) в 0,25 М калій-фосфатному буфері (pH 7,4).

Контрольні питання:

Дати визначення поняттям:

1. Буферна система – це
2. Осмотичний тиск – це
3. Онкотичний тиск – це
4. Ізотонічний розчин – це
5. Гіпертонічний розчин – це
6. Гіпотонічний розчин – це

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

АМІНОКИСЛОТИ

Мета: дослідити властивості амінокислот, ідентифікувати та кількісно визначити білки та вільні амінокислоти у біологічному матеріалі.

Теоретичні відомості

Амінокислоти – це нітрогенвмісні карбонові кислоти, тобто хімічні сполуки, молекула яких одночасно містять аміногрупу $-NH_2$ та карбоксильну групу $-COOH$, і карбоновий скелет.

В залежності від положення аміногрупи розрізняють α -, β -, γ -амінокислоти, тощо. Найбільш важливе значення мають α -амінокислоти, які входять до складу білків.

Вільні амінокислоти екстрагують із біологічного матеріалу 75-80% водним розчином етанолу. Амінокислоти у витяжці визначають за допомогою реакції з нінгідрином. Білки, поліпептиди і вільні α -амінокислоти дають з нінгідрином синє або фіолетове забарвлення. Реакція характерна для аміногруп, що знаходяться в α -положенні, й використовується для виявлення α -амінокислот, розділених хроматографічним методом.

Колориметричні методи визначення кількості білка. Вони базуються на так званих «кольорових» реакціях на функціональні групи білків. При визначенні білка заздалегідь будують калібрувальний графік з використанням стандартного зразка білка (сироваткового альбуміну людини, сироваткового альбуміну бика або амінокислоти тирозину).

Фотоелектроколориметрія. Це метод визначення вмісту речовини за поглинанням світла забарвленим розчином, що пропускається через світлофільтр і вимірюється фотоелементом.

Встановлюють світлофільтр, який відповідає довжині хвилі максимального положення світла даною забарвленою рідиною, а потім у гніздо встановлюють кювету з дистильованою водою або з контрольним розчином,

включають фотоелемент і встановлюють нуль на шкалі мікроамперметра. В інше гніздо встановлюють кювету з досліджуваною рідиною і відмічають силу фотоструму (екстинкція).

Світлофільтри підбирають, виходячи із спектра поглинання досліджуваної речовини так, щоб спектральна частина максимального поглинання світла забарвленим розчином і частина максимального пропускання світла світлофільтром були однаковими.

Вибір світлофільтрів відповідно до кольору розчину

Колір розчину	Ділянка максимального поглинання, нм	Колір світлофільтра
Жовто-зелений	400-450	Фіолетовий
Жовтий	450-480	Синій
Оранжевий	480-490	Зелено-синій
Червоний	490-500	Синьо-зелений
Пурпуровий	500-560	Зелений
Фіолетовий	560-575	Жовто-зелений
Синій	575-590	Жовтий
Зелено-синій	590-625	Оранжевий
Синьо-зелений	625-700	Червоний

Розрахунки проводять за калібрувальним графіком, або шляхом порівняння двох забарвлених розчинів, один з яких має відому концентрацію (стандартний розчин), а інший, досліджуваний, визначають за формулою:

$$C_d = (C_{ст.} \cdot E_d) / E_{ст.}, \text{ де:}$$

C_d – концентрація досліджуваної проби (г/л);

$C_{ст.}$ – концентрація стандарту (г/л);

E_d – екстинкція досліджуваної проби;

$E_{ст.}$ – екстинкція стандарту;

Експериментальна частина

Обладнання і реактиви: Молоко цільне знежирене, 1% розчин яєчного білка, 10% розчин NaOH, 1% розчин CuSO₄, концентрована азотна кислота, 5% спиртовий розчин нінгідрину, 10% розчин CH₃COOH, 1% розчин NaOH, 5% розчин CuSO₄, дистильована вода, NaOH, Na₂CO₃, реактив Фоліна – Чокальта, стандартний розчин білку, розчин білка невідомої концентрації, піпетки, піпет-дозатори, штатив з пробірками, мірні стакани, марля, фільтрувальний папір, спиртівка, сірники, пробіркотримач, кювети, фотоелектроколориметр або спектрофотометр.

I. Кольорові реакції на амінокислоти та білки.

У лабораторній практиці кольорові якісні реакції використовують для ідентифікації і кількісного визначення білків та окремих амінокислот у біологічних рідинах та розчинах.

Приготування розчину яєчного білка. Білок курячого яйця відділяють від жовтка, добре збивають, і розчиняють в 15-20 кратному об'ємі дистильованої води (250 мл). Отриманий розчин фільтрують через марлю, складену в 3-4 шари; осад містить глобуліни, фільтрат – розчин альбуміну. Відфільтрований розчин зберігають в холодильнику.

1.1. Біуретова реакція (реакція Піотровського).

Всі сполуки (білки, пептиди), що мають два і більше пептидних зв'язки, в лужному середовищі з сульфатом міді утворюють комплексну сіль рожево-фіолетового забарвлення, інтенсивність якого залежить від концентрації білка. Вперше така реакція була здійснена з біуретом, що є похідним сечовини і має два пептидних зв'язки, звідки і походить назва. Біуретова реакція лежить в основі кількісного визначення білків.

Хід роботи

У пробірку вносять 3-5 крапель 10 % розчину NaOH та 2 краплі 1 % розчину CuSO₄. Все перемішують.

Спостерігають рожево-фіолетове забарвлення.

1.2. Нінгідринова реакція.

При нагріванні білка з водним розчином нінгідрину α -амінокислоти утворюють сполуки синього або фіолетового забарвлення.

Хід роботи

До 5 крапель 1% розчину білка додають 5 крапель 0,5% спиртового розчину нінгідрину і нагрівають до кипіння.

В пробірці спостерігають фіолетове забарвлення.

1.3. Ксантопротеїнова реакція.

Ксантопротеїнова реакція характерна для ароматичних амінокислот: тирозину, триптофану, фенілаланіну. Жовте забарвлення спостерігається у випадках, коли концентрована азотна кислота потрапляє на шкіру та нігті, які у великій кількості містять ці амінокислоти.

Реакція зумовлена нітруванням бензольного кільця циклічних амінокислот та утворенням нітросполук жовтого кольору, який при додаванні аміаку переходить у оранжевий.

Хід роботи

У пробірку вносять 5 крапель 1% розчину яєчного білка, додають 5 крапель концентрованої азотної кислоти і обережно нагрівають. Спостерігають осад жовтого кольору.

II. Виділення казеїну із молока.

Казеїн – важливий білок молока, який відноситься до фосфопротеїнів. Залишки фосфатної кислоти в молекулі казеїну зв'язані із залишкам серину. При підкисленні до рН 4,7 (ізоелектрична точка казеїну) білок випадає в осад. Додавання надлишку кислоти викликає перезарядку білкових молекул і перехід їх знову у розчин.

Виділення казеїну з молока. В пробірку налити 2 мл молока, додати 2 мл дистильованої води та перемішати. До розчину додати по краплинам 10% розчин оцтової кислоти до утворення осаду. Уникайте надлишку кислоти. Осад відфільтруйте на паперовому фільтрі та промийте декілька разів дистильованою

водою (на фільтрі). Розчиніть осад в 1% розчині гідроксиду натрію. Отриманий розчин профільтруйте через змочений у воді фільтр.

Хід роботи

До 1 мл профільтрованого розчину додати 1 краплину розчину сульфату міді. Утворюється характерне для білків червоно-фіолетове забарвлення.

III. Кількісне визначення вмісту білку за Лоурі.

Метод засновано на утворенні забарвлених продуктів ароматичних амінокислот з реактивом Фоліна в поєднанні з біуретовою реакцією на пептидні зв'язки. Метод характеризується високою чутливістю (10 – 100 мкг білка в пробі). На розвиток забарвлення впливають різні інші речовини: компоненти буферних систем (трис-буфер в концентрації 0,2 мМ, гліцилгліцин), відновники (цистеїн, дитіотреїтол в концентрації 0,01 – 0,4 мМ, аскорбінова кислота), комплексопи (ЕДТА в концентрації 0,5 мМ), детергенти (тритон Х100 в концентрації 0,1 – 0,2 % викликає утворення осаду), сірчаноокислий амоній в концентрації 0,15 %, сахароза в концентрації 10 % та ін. У зв'язку з цим при побудові калібрувального графіка для визначення білка за методом Лоурі у розчинник для стандартного білка необхідно включати всі компоненти, які містяться в пробах, що аналізуються. В деяких випадках необхідне попереднє осадження білків із розчинів, наприклад три хлороцтовою кислотою, з наступним розчиненням їх в лужних розчинах, або очистка білкових розчинів від низькомолекулярних компонентів шляхом діалізу або гель-фільтрації на сефадексі G-25.

Інтенсивність забарвлення комплексу, які пропорційна кількості білка в пробі, що досліджується, вимірюється спектрофотометрично.

Для виключення випадкових помилок, які можуть виникати в процесі вимірювання, рекомендується не обмежуватись одним вимірюванням (3 повторності).

При визначенні концентрації речовини в розчині слід дотримуватись наступної послідовності в роботі:

- а) побудова калібрувальної кривої для даної речовини;

б) вимірювання оптичної густини розчину, що досліджується, і визначення концентрації речовини в розчині за калібрувальною кривою.

Хід роботи

Для дослідження використовуємо наступні реактиви:

Реактив №1: 2 %-й розчин Na_2CO_3 в 0,1н розчині NaOH .

Реактив №2: 0,5 %-й розчин $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 1%-м розчині двозаміщеного натрію або калію виннокислому ($\text{Na}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ або $\text{K}_2\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_8$).

Реактив №3 готується непосредственно перед работой (*ex tempore!*): змішування 50 частин реактиву №1 і 1 частину реактиву №2.

Реактив №4: реактив Фоліна – Чокальта, розведений водою в 2 рази.

Реактив №5: стандартний розчин білку, що містить 0,05 г в 100 мл розчину.

Реактив №6: розчин білка невідомої концентрації.

Використовуючи стандартний розчин білку і дистильовану воду в 5 пробірках готують розчини білка різної концентрації.

Шоста проба не містить білка і слугує **контролем** на реактиви.

В сьому пробірку поміщають 1 мл розчину білку невідомої концентрації.

Номер пробірки	Стандартний розчин білка, мл	Дистильована води, мл	Вміст білка в пробі, мг/мл
1	0,1	0,9	0,050
2	0,2	0,8	0,100
3	0,4	0,6	0,200
4	0,6	0,4	0,300
5	1,0	0	0,500
6 (Контроль)	-	1,0	-
7 (проба)	1 мл	-	-

У всі пробірки додаємо по 5 мл реактиву №3, суміш ретельно перемішуємо.

Через 10 хв додаємо 0,5 мл реактиву №4 Фоліна – Чокальта. Реакційну суміш перемішуємо і залишаємо при кімнатній температурі на 30 хв.

Інтенсивність забарвлення вимірюємо фотометрично при 750 нм.

Побудову калібрувальної кривої робимо наступним чином: вимірюємо оптичну густину кожного із цих розчинів і будуємо графік (калібрувальну криву), відкладаючи по горизонтальній вісі (вісі абсцисс) відомі концентрації, а по вертикальній вісі (вісі ординат) – відповідні їм значення оптичної густини.

Користуючись калібрувальною кривою, визначаємо невідому концентрацію білку в розчині, що досліджується, яка відповідає виміряному значенню оптичної густини.

Контрольні питання:

1. Поясніть, чому білки лежать в основі життєдіяльності організму?
2. Від чого залежить різноманітність структури і властивостей білків?
3. Чому амінокислоти виявляють амфотерні властивості?
4. Доведіть, що всі особливості будови молекули білку визначаються його первинною структурою.
5. Правила утворення пептидного зв'язку.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

БІЛКИ

Мета: ознайомитися з методами розділення білків.

Теоретичні відомості

Методи розділення білків. Існують різні методи розділення білків: висолювання, гельфільтрація, ультрацентрифугування, теплова денатурація, осадження органічними розчинниками, хроматографія, електрофорез, кристалізація тощо. Для виділення і очищення білків застосовують наступні *типи хроматографії*:

- адсорбційну, що ґрунтується на неоднаковій здатності окремих сполук адсорбуватися на різних сорбентах;

- іонообмінну, що ґрунтується на різній здатності речовин, які розділяють, до іонного обміну з тим чи іншим іоном.

- розподільну, що ґрунтується на різній розчинності речовин, які розділяють, у двох рідинах, що частково змішуються;

- дифузійну, що ґрунтується на розділенні речовин за швидкістю дифузії всередину сорбенту (гель-фільтраційна хроматографія, за якої розділення речовин ґрунтується на механічному явищі молекулярного просіювання);

- хроматографія за спорідненістю (афінна хроматографія) – метод розділення різних сполук за допомогою нерозчинних форм біологічно активних речовин, що мають спорідненість до речовин, які розділяють.

За технікою виконання розрізняють наступні хроматографічні методи дослідження: у колонках і на площинах (на папері або у тонкому шарі). Залежно від агрегатного стану фаз, хроматографію поділяють на газову, рідинну і газорідинну. За напрямом руху розчинника: висхідну, низхідну і радіальну; одновірну і двовірну.

Якщо досліджувана суміш складна, то хроматографію проводять у двох взаємоперпендикулярних напрямках (двовірна хроматографія).

Досить точним є метод розподільної хроматографії на папері, адсорбентом використовують спеціальний фільтрувальний папір.

Розподіл суміші амінокислот хроматографічним методом використовують для визначення амінокислотного складу білка, якісного та кількісного визначення пептидів, амінокислот в біологічних рідинах і тканинах. Цей метод дозволяє виділити окремі речовини з невеликої кількості складної суміші і є придатним для дослідження вітамінів, гормонів та інших біологічно активних речовин.

Принцип методу. Целюлоза, з якої складаються волокна спеціального фільтрувального паперу, знаходяться в гідратованому стані. Поступово розчинник, що містить суміш амінокислот, піднімається під дією капілярних сил по смужці паперу. В цей час відбуваються безліч мікроскопічних актів перерозподілу амінокислот між рухомою фазою (фенолом) і стаціонарною (водою), зв'язаною з волокнами паперу. Чим менша розчинність амінокислот у воді і більша у фенолі, тим швидше вони рухатимуться за фронтом органічного розчинника і тим більшу відстань пройдуть від лінії старту розчинника. І навпаки, чим більша розчинність амінокислот у воді і менша у фенолі, тим їх рух буде повільнішим і вони пройдуть меншу відстань. Положення амінокислот на папері виявляють за допомогою кольорової реакції з розчином нінгідрину, який забарвлює всі α -амінокислоти. Окремі амінокислоти виявляють у вигляді плям, забарвлених у фіолетовий колір. Вимірюють шлях, пройдений амінокислотою і шлях розчинника. Розраховують коефіцієнт розподілу R_f і визначають, які амінокислоти входили до складу білка:

$$R_f = A / B, \text{ де:}$$

A – відстань в міліметрах, від місця нанесення суміші амінокислот до середини плями;

B – відстань в міліметрах від місця нанесення амінокислоти (лінія старту) до фронту розчинника;

R_f – коефіцієнт розподілу.

Коефіцієнт розподілу амінокислот

<i>Амінокислота</i>	<i>R_f</i>	<i>Амінокислота</i>	<i>R_f</i>
Аспарагінова	0,07	Аргінін	0,41
Глутамінова	0,16	Тирозин	0,52
Цистеїн	0,19	Аланін	0,55
Гліцин	0,3	Фенілаланін	0,78
Метіонін	0,39	Лейцин	0,79

Коефіцієнт R_f є величиною, характерною для кожної амінокислоти і постійною за даних умов досліду.

1. Розділення білків та низькомолекулярних речовин методом гель-хроматографії (гель-фільтрації)

Даний метод застосовують для очищення білків від низькомолекулярних домішок та визначення їх молекулярної маси.

Принцип методу. Метод оснований на застосуванні спеціальних полімерних речовин, (набухлі зерна, гранули яких мають пори певного розміру). Частіше всього використовують сефадекс, гранули якого побудовані з тримірної сітки полісахаридних ланцюгів декстрану. Невеликі молекули розчинених речовин легко дифундують всередину зерен сефадексу і їх рух через колонку сповільнюється. Водночас більші молекули не можуть потрапити всередину гранул і проходять через колонку швидше. Така колонка, в якій здійснюється гель-фільтрація, є молекулярним ситом.

Досліджуваний матеріал, реактиви, обладнання. Сефадекс або акрилекс, 0,85 % розчин хлориду натрію, суміш для фракціонування (насичені розчини гемоглобіну, рибофлавіну, блакитного декстрану), мірні пробірки, хроматографічна колонка, піпетки.

Хід роботи. Напередодні колонку заповнюють гелем сефадексу. Слідкують, щоб над ним постійно знаходився розчин хлориду натрію. На поверхню гелю наносять 2-3 краплі суміші білків для фракціонування і після цього через колонку пропускають буферний розчин. Білковий розчин разом з буфером переміщується

вздовж колонки між гранулами сефадексу. В результаті дифузії молекули білків менших розмірів потрапляють всередину гранул і деякий час утримуються там. Тому ці білки проникають через колонку повільніше, внаслідок чого в ній утворюються різні зони білків. Чим більша молекулярна маса білка, тим нижче розташована зона. За допомогою крапельниці промивають колонку розчином хлориду натрію, збираючи на виході з колонки в окремі пробірки фракції елюату об'ємом 1 мл, що вимиваються з колонки в порядку зменшення молекулярної маси.

Між елюційним об'ємом і логарифмом молекулярної маси існує лінійна залежність. Об'єм елюату залежить від розмірів колонки, марки сефадексу, щільності його упакування в колонці та інших факторів. Тому колонку з сефалексом спочатку калібрують. Для цього через неї пропускають розчини білків з відомою молекулярною масою і будують калібрувальний графік. Потім через цю ж колонку пропускають білок, молекулярну масу якого потрібно розрахувати. Визначають його елюційний об'єм і за графіком знаходять $Ig M$, що відповідає даному об'єму.

2. Осадження білків

Білки – гідрофільні речовини. Під дією різних факторів вони можуть бути виділені з розчину в осад. Розривають зворотне (висолювання) і незворотне (денатурація) осадження білків,

2.1. Реакції зворотного осадження білків (висолювання). Розділення альбумінів і глобулінів.

Висолювання – це зворотна реакція осадження білків великими концентраціями нейтральних солей лужних та лужноземельних металів. Для висолювання найчастіше застосовуються такі солі: $(NH_4)_2SO_4$, NaCl, Na_2SO_4 , $MgSO_4$. За цих умов білки, які осаджуються, не зазнають глибоких структурних змін і їх осад можна знову розчинити у вихідному розчиннику, а молекула білка зберігає свої попередні нативні властивості.

До зворотних реакцій осадження належать реакції осадження білків органічними розчинниками (спиртом, ацетоном) за умов нетривалої дії і низької температури.

Метод висолювання широко використовується для фракціонування суміші білків, коли треба відокремити один білок від іншого (наприклад, альбуміни від глобулінів). Грубодисперсні білки глобуліни висолюються значно легше, ніж альбуміни напівнасиченим розчином сірчаноокислого амонію, тоді як альбуміни насиченим розчином.

Принцип методу. Реакція висолювання зумовлена дегідратацією макромолекул білка з одночасною нейтралізацією його електричного заряду.

2.2. Осадження солями важких металів

Принцип методу. Солі важких металів (міді, свинцю, срібла, ртуті) осаджують білки з розчинів, утворюючи комплексні сполуки, що розчинні у надлишку цих солей, але нерозчинні у воді.

Це пояснюється тим, що надлишок іонів металу, адсорбуючись спричиняє перезарядку білкового комплексу, внаслідок чого в розчин переходить комплекс зміненого білка з металом. Це явище називається адсорбційною пептизацією. Властивість білка міцно зв'язувати іони важких металів у вигляді нерозчинного осаду у воді використовується при отруєнні солями ртуті, міді, свинцю тощо. Рекомендують одразу ж після отруєння вживати білки молока або яєць, доки ці солі знаходяться ще в шлунку і не встигли всмоктатись. Після чого у хворого викликають блювоту, щоб вивести отруту.

2.3. Осадження концентрованими органічними і мінеральними кислотами

Принцип методу. При дії на білок концентрованих мінеральних і органічних кислот відбувається денатурація білка внаслідок дегідратації та утворення комплексних солей білка з кислотами.

У надлишку всіх мінеральних кислот, крім азотної, осад білка розчиняється. Тому реакція осадження концентрованою азотною кислотою лежить в основі кількісного визначення білка за методом Робертса-Стольнікова-Брандберга.

Осадження білків за допомогою трихлороцтової кислоти застосовують для повного видалення білків з біологічних рідин (наприклад, із сироватки крові),

тому що вона осаджує тільки білки. Сульфосаліцилову кислоту використовують для якісного визначення білка у сечі.

2.4. Осадження білків алкалоїдними реактивами

Розчини білків можуть утворювати осадки при взаємодії з алкалоїдними реактивами (таніном, пікриною кислотою, гексоціанофератом калію, фосфорновольфрамною та фосфорно-молібденовою кислотами). Ця властивість білків до осадження алкалоїдними реактивами пояснюється наявністю азотистих груп як у білках, так і в алкалоїдах.

Принцип методу. Осадження білків алкалоїдними реактивами відбувається внаслідок утворення нерозчинних солеподібних комплексів з основними азотистими групами. У цих сполуках білок є катіоном, а алкалоїдний реактив – аніоном, тому осаджувати білки необхідно у кислому середовищі (частинки білків перезаряджаються і переходять у стан катіонів). У лужному середовищі осад розчиняється.

3. Денатурація білків під впливом високої температури

Більшість білків тваринного походження при нагріванні до 45-55°C коагулюють.

Принцип методу. Це явище пояснюється тим, що висока температура руйнує гідрофобні та водневі зв'язки. Відбувається перебудова структури білкової молекули. Білок втрачає свої нативні властивості і розчинність.

Реакція денатурації перебігає поступово і прискорюється з підвищенням температури, тому короткочасне нагрівання може і не призвести до коагуляції. Найбільш повна і швидка коагуляція має місце в ізоелектричній точці. Деякі білки, в складі яких багато дисульфідних зв'язків, стійких до високої температури, здатні до ренатурації і не втрачають своєї структури та функціональної активності після припинення дії високої температури (ферменти трипсин та рибонуклеаза).

4. Діаліз білків

Діаліз – це метод очищення колоїдних розчинів білків від низькомолекулярних речовин за допомогою напівпроникних мембран (целофан, колоїдна

плівка), які не здатні пропускати через свої пори високомолекулярні речовини (білки), але досить легко пропускають низькомолекулярні речовини (солі).

5. Визначення ізоелектричної точки білка

Білок є амфотерним електролітом. Це зумовлено наявністю кислотних та основних груп. Кислотні групи білка представлені карбоксильними групами дикарбонових амінокислот, фенольними гідроксилами, сульфгідрильними групами. Основні групи білка – аміно, іміно- та гуанідиногрупи діамінокислот, імідазольне кільце. Білки здатні утворювати біполярні іони.

Поведінку білка як аніона чи катіона визначає концентрація водневих іонів. За певного значення рН, що є неоднаковим для різних білків, кислотна дисоціація білкової молекули дорівнює основній. Число позитивних зарядів амфотерного іона білка зрівнюється з числом від'ємних і заряд білка в цілому може практично дорівнювати нулю. В цих умовах білок знаходиться у ізоелектричному стані.

Ізоелектрична точка білка – це таке значення рН, за якого білок знаходиться в ізоелектричному стані і не рухається ні до аноду, ні до катоду. Білки втрачають гідратну оболонку та електричний заряд і легко випадають в осад. Для більшості білків ізоелектрична точка близька до нейтральної або знаходиться в слабкокислому середовищі. Це пояснюється тим, що кислотні властивості у них переважають над основними і у нейтральному середовищі вони реагують як слабкі кислоти. Оскільки більшість білків організму мають ізоелектричну точку в слабкокислому середовищі, то для збереження їх в розчинному стані в крові за допомогою буферних систем підтримується лужне рН (7,36-7,40). За патології, внаслідок порушень метаболізму, може спостерігатись ацидоз, наближення якого до ізоелектричної точки зменшує розчинність білків плазми крові, що може вплинути на їх функцію.

Принцип методу. Визначення ізоелектричної точки білка ґрунтується на дослідженні розчинності його за різного значення рН. Ізоелектрична точка відповідає значенню рН розчину, за якого розчинність білка зменшується і він випадає в осад.

6. Визначення фракцій білка сироватки крові методом електрофорезу.

Електрофоретичний розподіл білків широко використовується для діагностики захворювань і дозволяє виділити із сироватки крові їх окремі фракції.

Принцип методу. Метод ґрунтується на різній рухливості білків в електричному полі, залежно від заряду та молекулярної маси білка.

А) Електрофорез на папері дозволяє розподілити білки сироватки крові на 5 фракцій. Найчастіше він використовується в медичній практиці.

Досліджуваний матеріал, реактиви, обладнання. Сироватка крові, вероналовий буферний розчин з рН=8,6, барвник бромфеноловий синій, 2% розчин оцтової кислоти, 0,01М розчин гідроксиду натрію, електрофоретична камера, джерело постійного струму, хроматографічний папір, сушильна шафа на +110° С, фотоелектроколориметр, мікропіпетки, піпетки, пробірки.

Хід роботи. Смужку хроматографічного паперу 4x10 см змочують буферним розчином і на відстані 5-6 см від краю наносять мікропіпеткою 0,01-0,005 мл сироватки. Смужку вміщують в електрофоретичну камеру, ванни якої заповнені буфером, і проводять електрофорез при напрузі 220 В; сила струму 0,1-0,3 мА/см протягом 18-20 год. Електрофореграми висушують при +105°С 20 хв, занурюють у лоток з барвником (бромфеноловий синій) на 20 хв, промивають у 2% розчині оцтової кислоти і висушують на повітрі, з електрофореграми вирізають забарвлені смужки, які відповідають певним фракціям білка, подрібнюють і вміщують у пробірки з 5 мл 0,01м розчину гідроксиду натрію на 1 год. Для контролю вирізають смужку електрофореграми, яка не містить білка. Вимірюють екстинкцію в кожній пробірці. Суму цих показників приймають за 100% і, на основі цього, вираховують вміст білка в кожній фракції у відсотках.

Розрахунок. Наприклад, якщо сума екстинкцій всіх фракцій білка складає 0,58, а екстинкція альбуміну – 0,36, то вміст альбуміну відносно до загального білка всіх фракцій становить: Вміст альбуміну = $(0,36 \times 100) / 0,58 = 62\%$

Б. Електрофорез в поліакриламідному гелі широко застосовують у науково-дослідній роботі. За його допомогою можна поділити білки сироватки

крові на 20 фракцій, тому що розподіл білків відбувається не тільки залежно від заряду, але й від розміру і форми білкових частинок.

Досліджуваний матеріал, реактиви, обладнання. Сироватка крові, електродний трис-гліциновий буфер рН=8,3, трис-НСІ буфер=8,9 для приготування гелю, розчин акриламід, тетраметилетилендіамін, 1% розчин персульфату амонію $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, барвник амідочорний, 7% розчин оцтової кислоти, 0,001% розчин барвника бромфенолового синього, прилад для електрофорезу, піпетки, пробірки.

Хід роботи. Для приготування 100 мл гелю змішують такі реактиви: реактив № 3 – 12,5 мл; реактив № 4 – 25 мл; реактив № 5 – 0,05 мл; реактив № 6 – 5-10 мл і доводять дистильованою водою до 100 мл, скляні трубочки для електрофорезу (діаметр 5 мм, висота 80 мм) ставлять на спеціальну підставку і заповнюють свіжоприготованим гелем таким чином, щоб рівень гелю знаходився на відстані 1-1,5 см від верхнього краю трубочки. На поверхню гелю обережно нашаровують 0,2-0,3 мл дистильованої води для утворення рівної поверхні гелю. Через 30-40 хв. полімеризація закінчується, про що свідчить утворення чіткої межі між водою і гелем. Після цього воду забирають фільтрувальним папером, а трубочки з гелем вставляють в прилад для електрофорезу таким чином, щоб нижня частина їх була занурена у буфер для електрофорезу (реактив № 2) в нижній камері, а верхня частина знаходилась у верхній камері. На гель в трубочці обережно наносять розчин, який містить 25-50 мкг білка. Щоб попередити змішування білка з верхнім електродним буфером, у розчин білка вносять 40% розчин сахарози у співвідношенні 1:1, щоб збільшити цільність розчинів. Потім нашаровують електродний буфер, який містить барвник (0,5-1 мл бромфенолового синього на 500 мл буфера), що необхідно для спостереження за перебіганням електрофорезу. Електродні камери підключають до джерела постійного струму і проводять електрофорез при напрузі 200-400 в силі струму 1,5-2 мА на трубочку протягом 30 хв. Потім силу струму збільшують до 4-5 мА. Електрофорез завершують, коли барвник досягає нижнього кінця трубочки. Стовпчики гелю виштовхують з трубочки, попередньо обережно відокремивши його від стінок, і забарвлюють фракції білка у розчині

амідочорного барвника протягом 5-10 хв. Залишки барвника змивають 7% розчином оцтової кислоти і спостерігають локалізацію білкових фракцій у вигляді темних смужок на фоні прозорого гелю.

Експериментальна частина

Обладнання і реактиви: 1% розчин яєчного білка, 20% розчин сульфосаліцилової кислоти, 10% розчин трихлороцтової кислоти, дистильована вода, піпетки, піпет-дозатори, штатив з пробірками нітратної, хлоридної та сульфатної концентрованих кислот 10 %-вого яєчного білка.

1. Осадження органічними кислотами

При дії на білок концентрованих мінеральних і органічних кислот відбувається денатурація білка внаслідок дегідратації та утворення комплексних солей білка з кислотами.

У надлишку всіх мінеральних кислот, крім азотної, осад білка розчиняється. Тому реакція осадження концентрованою азотною кислотою лежить в основі кількісного визначення білка за методом Робертса-Стольнікова-Брандберга.

Хід роботи

У дві пробірки вносять по 1 мл розчину білка. У першу додають 1 мл 20% розчину сульфосаліцилової, а в другу – 1 мл 10% розчину трихлороцтової кислот. Випадає осад білка

Осадження білків за допомогою трихлороцтової кислоти застосовують для повного видалення білків з біологічних рідин (наприклад, із сироватки крові), тому що вона осаджує тільки білки. Сульфосаліцилову кислоту використовують для якісного визначення білка у сечі.

2. Осадження концентрованими мінеральними кислотами

Кислоти, крім ортофосфорної, викликають дегідратацію білкових часток і їх нейтралізацію. Порушення просторової структури білка призводить до утворення осаду, у вигляді комплексних солей білка з кислотами.

Хід роботи

У три пробірки вносять по 1 мл нітратної, хлоридної та сульфатної концентрованих кислот і обережно, тримаючи пробірку під кутом 45° , нашаровують на кислоту 0,5 мл 10 % яєчного білка. На межі розподілу двох рідин з'являється осад у вигляді білкового кільця. Обережно струшують кожну з пробірок та роблять висновок, зазначаючи ефект реакції.

Реакцію осадження білків нітратною кислотою використовують у клінічних дослідженнях сечі (проба Геллера). Ця якісна реакція лежить в основі кількісного і якісного визначення білка в сечі по методу Робертса-Стольникова-Брандберга.

3. Денатурація білка при кип'ятінні. Вплив рН на осадження білків

При кип'ятінні нейтральних та слабкокислих розчинів білка останній денатурує та випадає в осад.

Хід роботи

У 5 пронумерованих пробірок вносять по 1 мл 1% розчину яєчного білка.

Першу пробірку нагрівають до кипіння, відзначають помутніння розчину (відбувається руйнування гідратної оболонки навколо молекули білка та збільшення білкових частинок, але міцели – частинки денатурованого білка несуть заряд і утримуються в завислому стані).

Другу пробірку нагрівають до кипіння, додають 1 краплю 1% розчину оцтової кислоти, для створення слабко кислої реакції. При стоянні випадає осад білка (частинки білка втрачають заряд, тому що рН середовища близька до ізоелектричного стану).

У третю пробірку додають 1 краплю 10% розчину оцтової кислоти, для створення кислої реакції середовища. При кип'ятінні рідини осад не утворюється. В дуже кислому середовищі частинки білка набувають позитивного заряду, тобто перезаряджаються і відштовхуються одна від одної.

У четверту пробірку додають 1 краплю 10% розчину оцтової кислоти і 1 краплю насиченого розчину натрію хлориду. При кип'ятінні випадає осад – йони Na^+ та Cl^- утворюють подвійний електричний шар і нейтралізують позитивний заряд на частинках білка.

У п'яту пробірку додають 1 краплю 10 % розчину натрію гідроксиду. При кип'ятінні зсідання білка не спостерігається, оскільки в лужному середовищі негативний заряд на частинках білка підвищується. Результати осадження білків при кип'ятінні в різних рН середовищах оформіть у вигляді таблиці:

	рН середовище	Висновок
1	Нейтральне середовище	
2	Слабкокисле середовище	
3	Сильно кисле середовище	
4	Сильно кисле середовище у присутності електроліту	
5	Лужне середовище	

Контрольні питання:

1. Чим обумовлений заряд білків у водному розчині?
2. Які основні фактори забезпечують стабільність молекул білка в розчині?
3. Що таке денатурація білків? Фактори, що викликають денатурацію білків?
4. Що таке висолювання білків? Чим відрізняється денатурація від висолювання?
5. Що таке діаліз?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5

ФЕРМЕНТИ

Мета: дослідити властивості ферментів.

Теоретичні відомості

Ферменти (ензими)- це біологічні каталізатори білкової природи. Вони можуть бути прості (складаються тільки з білка) і складні, які містять крім білку активну групу небілкової природи (кофактор). Кофактори ферментів поділяють на коферменти, простетичні групи та активатори. У тривимірній структурі ферменту (простого чи складного білка) розрізняють ряд ділянок, що виконують певну функцію. Активний центр – це місце в просторовій структурі ферменту, яке забезпечує приєднання субстрату до ферменту і його хімічні перетворення. Активний центр простого ферменту складається із сукупності залишків радикалів амінокислот. Наприклад, фермент ацетилхолін-естераза (АХЕ) має у своєму активному центрі радикали чотирьох амінокислот: серину, гістидину, тирозину і глютамінової кислоти.

В активному центрі можна виділити дві функціональні частини:

- а) посадочна, або субстратна (якорна), що відповідає за приєднання субстрату;
- б) каталітична – сукупність хімічних угруповань, що забезпечують хімічні перетворення субстрату або субстратів.

Активний центр визначає специфічність і каталітичну активність ферменту.

В організмі людини знайдено понад 2000 різних ферментів, що каталізують перетворення безлічі субстратів. Усі ферменти розподілені на шість класів залежно від типу хімічних реакцій, які вони каталізують:

1. *Оксидоредуктази* каталізують окисно-відновні процеси.
2. *Трансферази* каталізують перенос певних хімічних груп від одного субстрату на інший.

3. *Гідролази* каталізують реакції гідролізу, тобто розщеплення субстрату, що супроводжується приєднанням молекул води.

4. *Ліази* каталізують розпад органічних сполук негідролітичним шляхом, що супроводжується утворенням подвійного зв'язку, або, навпаки, приєднанням груп до місця подвійного зв'язку.

5. *Ізомерази* прискорюють реакції ізомеризації.

6. *Лігази* каталізують реакції синтезу складних органічних речовин із простих з використанням енергії розщеплення АТФ.

Ферменти мають величезне значення для життєдіяльності організму. Без них хімічні реакції йшли б повільно. Ферменти, завдяки вмісту різних функціональних груп білків і кофакторів, здатні здійснювати хімічні реакції на суттєво зниженому ергетичному рівні порівняно з іншими небіологічними каталізаторами. Завдяки ферментам хімічні реакції проходять не хаотично, а взаємопов'язано та взаємообумовлено. Надзвичайно висока ефективність ферментів як прискорювачів хімічних процесів, тонка їх специфічність і регуляторна функція обумовлені білковою природою ферментів, їх структурно-макромолекулярною організацією в організмі і залежить від умов середовища, в якому перебігають біокаталітичні реакції.

Ферменти відрізняються від небіологічних каталізаторів високою специфічністю, оскільки здатні каталізувати тільки певні хімічні реакції. Специфічність – одна із визначальних властивостей ферментів, що забезпечує можливість координації внутрішньоклітинних процесів. Однак усі ферменти відрізняються ступенем специфічності, що дає можливість клітинам живих організмів пристосовуватись до змін навколишнього середовища.

Специфічність дії ферментів буває абсолютною та відносною, груповою. Ферменти специфічні як стосовно типу реакцій, які каталізують, так і субстратів, на які вони діють. Деякі ферменти мають абсолютну специфічність, каталізуючи перетворення тільки певного субстрату.

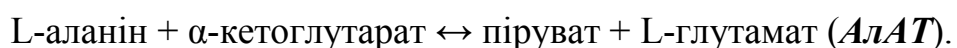
α -Амілаза слини прискорює гідроліз полісахаридів. Мальтаза прискорює гідроліз дисахариду мальтози, яка утворюється при гідролізі крохмалю, але не

проявляє ніякої дії на інший дисахарид – сахарозу. Уреаза розщеплює тільки сечовину, але не діє на близьку за структурою тіосечовину.

Ферменти, що мають абсолютну субстратну специфічність, використовуються як аналітичні реагенти для визначення речовин, що є їх субстратами. Ферменти з абсолютною і відносною груповою субстратною специфічністю мають меншу вибірковість дії на субстрати, беруть участь, як правило, у гідролізі поживних речовин або в перетворенні чужорідних сполук.

Вивчення ферментів має практичне значення для багатьох галузей хімічної, харчової, біотехнологічної та фармацевтичної індустрії.

Визначення активності ферментів використовується в клінічній практиці. Зокрема, в діагностиці використовуються показники активності трансаміназ, зокрема аспартаттрансамінази (АсАТ) і аланінтрансамінази (АлАТ):

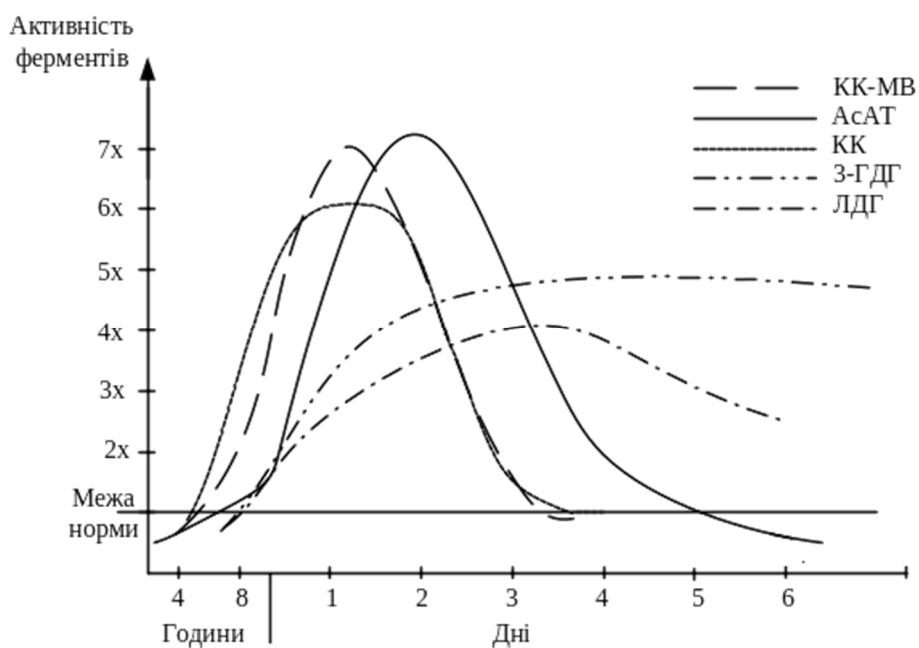


З віком вміст піридоксаль-5-фосфату в крові знижується, тому активність АсАТ і АлАТ у осіб старших за 64 роки менше приблизно на 30% порівняно з особами віком 46 – 63 роки.

При інфаркті міокарду активність АсАТ в 95% випадків підвищується приблизно через 12 год. після нападу, досягаючи піку з 5-кратним підвищенням верхньої межі норми через 24-36 год., і потім знижується протягом 2-3 діб, що свідчить про відсутність подальшого пошкодження серцевого м'язу. При крупновогнищевому інфаркті міокарду активність АсАТ і АлАТ залишається високою до 40-ї доби (максимальне підвищення спостерігається на 3-тю добу).

Підвищення активності АсАТ і лактатдегідрогенази спостерігається і при таких формах інфаркту міокарду, які не діагностуються за допомогою електрокардіографії.

Активність АсАТ і АлАТ значно зростає при захворюваннях печінки. При цьому активність АлАТ в плазмі крові за гепатиту може перевищувати активність АсАТ. Підвищення активності АсАТ в плазмі крові є чутливим індикатором відторгнення трансплантату при пересадці печінки.



Зміна активності ензимів у сироватці крові при інфаркті міокарда.

Експериментальна частина

Обладнання і реактиви: дистильована вода, 0,5% розчин сахарози, 1% розчин сахарози, 1% розчин крохмалю, 10% розчин NaOH, 1% розчин CuSO₄, дріжджі, лійки, фільтри, термостат або водяна баня, ваги, піпетки, піпет-дозатори, штатив з пробірками, фарфорова ступка з товкачиком.

1. Виявлення сахарози у дріжджах

Фермент сахараза каталізує гідролітичне розщеплення сахарози з утворенням глюкози і фруктози.

Дію сахарази можна виявити за появою в інкубаційному середовищі вільної глюкози, яка дає позитивну реакцію Тромера або Фелінга. Сахароза цих реакцій не дає, оскільки напівацетальний гідроксил в її глюкозному залишку з'єднаний з півацетальним гідроксилом фруктози.

Хід роботи

1. Одержання ферментної витяжки з дріжджів:

1 г висушених дріжджів розтирають у фарфоровій ступці, поступово додаючи 10 мл дистильованої води і фільтрують. Одержаний фільтрат використовують для виявлення ферменту.

2. Виявлення сахарози.

У пробірку вносять 1-2 мл фільтрату (ферментна витяжка з дріжджів), додають 1-2 мл сахарози. Добре розмішують. Відбирають 1 мл цієї суміші в іншу пробірку і проробляють реакцію Тромера.

Реакція Тромера. До 1 мл досліджуваного розчину в пробірці додають 1 мл 10% NaOH і 0,5 мл 1% CuSO₄. Обережно нагрівають верхню частину суміші до моменту закипання. При наявності глюкози або мальтози з'являється цегляно-червоне забарвлення (позитивна реакція).

Решту суміші вміщують у термостат або водяну баню при 37°C на 15 хв, після чого з нею також проводять реакцію Тромера. Порівнюють результати до і після інкубації сахарози з ферментною витяжкою дріжджів.

2. Специфічність дії сахарози

Про специфічність сахарози свідчить її вибіркова дія на субстрати. Продукти гідролізу субстратів визначаються реакціями Тромера або Фелінга.

Хід роботи

У 2 пробірки вносять по 1 мл витяжки з дріжджів. У першу пробірку додають 1 мл 0,5% розчину сахарози, у другу – 1 мл 1% розчину крохмалю. Обидві пробірки вміщують у термостат або водяну баню на 15 хв при 38° С, після чого з вмістом пробірок проводять реакцію Тромера. Відмічають, з яким субстратом реакція позитивна. Результати дослідів заносять у таблицю.

№	Фермент	Субстрат	Результат реакції	Висновок
1	Сахараза	Сахароза		
2	Сахараза	Крохмаль		

Контрольні питання:

1. Загальні властивості ферментів та локалізація їх у клітині.
2. Дайте визначення поняттям: кофактор, простетична група, активатор.
3. Що таке активний центр ферментів?
4. Дайте характеристику алостеричного центру ферментів.
5. Поясніть, у чому полягає специфічність дії ферментів.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ

Мета: оволодіти методикою визначення активності ферментів.

Теоретичні відомості

Про активність ферменту роблять висновки за кількістю перетвореного субстрату або утвореного продукту за певний проміжок часу. Для правильного визначення активності ферменту необхідно проводити дослід за стандартних умов, які визначаються для кожного ферменту.

Користуючись сучасними методами (спектрофотометричними, колориметричними, полярографічними, флуориметричними, хроматографічними та ін.), визначають активність ферментів або після зупинки ферментативної реакції через певний час, або реєструючи безперервно в ході реакції. Останній спосіб зручніший. Він можливий, якщо субстрат або продукт реакції поглинає світло в певній ділянці спектру або флуоресціює і т. д. Оскільки в ряді випадків кількість ферментів не може бути визначена в абсолютних величинах (в міліграмах), його доводиться подавати в умовних одиницях.

За міжнародну одиницю активності ферменту Е приймають таку його кількість, яка може перетворити 1 мкмоль субстрату за 1 хв (при 37 °С за інших оптимальних умов: рН, концентрації субстрату та ін.).

Рекомендована також нова одиниця каталітичної активності – катал (символ – кат), яка є кількістю ферменту, що може перетворити 1 моль субстрату за 1 с в стандартних умовах.

Експериментальна частина

Обладнання і реактиви: листя рослин, буфер 0,1 М трис-НСІ (рН 7,4), 0,03% H_2O_2 , 4% розчин молібдату амонія, кювети, спектрофотометр.

1. Визначення активності каталази.

Фермент каталаза каталізує розщеплення перекису водню до води.

Хід роботи

0,2 г листя на льоду розтираємо з 2 мл середовища виділення (0,1 М трис-НСІ (рН 7,4)). Отриманий гомогенат центрифугуємо 20 хв. при 5000 об/хв., 4°C. Після центрифугування відбираємо надосад (супернатант).

Далі працюємо по таблиці:

<i>Контроль</i>	<i>Дослід</i>
0,2 мл Н ₂ О	0,2 мл супернатанта
2 мл Н ₂ О ₂	2 мл Н ₂ О ₂
Інкубуємо 10 при 37 ⁰ С	
1 мл молібдату амонія	1 мл молібдату амонія
вимірюємо спектрофотометрично оптичну густину розчину при 410 нм проти води	

Активність каталази розраховуємо за формулою:

$$A = ((E_k - E_d) * V) / \epsilon * t * l * m_{тк}, \text{де:}$$

V – кінцевий об'єм реакційної суміші, мл;

E – 22200 М⁻¹ * см⁻¹;

t – час інкубації, хв.;

l – довжина кювети, см;

m – маса наважки тканини, г.

Контрольні питання:

1. Види активності ферментів. В яких одиницях її виражають?
2. Чим характеризується активність ферментів?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7

ВУГЛЕВОДИ

Мета: дослідити властивості моносахаридів, дисахаридів і полісахаридів.

Теоретичні відомості

Вуглеводи – найбільш розповсюджений клас органічних сполук, які входять до складу всіх організмів і необхідні для їх життєдіяльності. Вони є основним джерелом енергії, виконують роль структурного матеріалу, входять до складу регуляторів різних біохімічних процесів.

Добова потреба людини у вуглеводах становить 500-600 г. Основні вуглеводи їжі це – сахароза, лактоза, мальтоза, крохмаль, глікоген. В шлунково-кишковому тракті вони розщеплюються під дією ферментів гідролаз травних соків (сахарази, лактази, мальтази, амілази) до моносахаридів, що всмоктуються в кишечнику та потрапляють у печінку, де галактоза та фруктоза перетворюються у глюкозу.

Експериментальна частина

Обладнання і реактиви: 1% розчини глюкози, 1% розчин сахарози, 1% розчин крохмалю, 1,5% розчин крохмалю, 2% розчин меду (основний компонент – фруктоза), 10% розчин гідроксиду натрію, 5% розчин сульфату міді, 1%-й розчин йоду, 10% розчин сірчаної кислоти, концентрована сірчана кислота, картопля, відварений рис, мука, яблуко, лимон, рослинна олія, дистильована вода, штатив з пробірками, піпет-дозатори, піпетки, ваги, скляні палички, фарфорова ступка з товкачиком, водяна баня.

1. Якісні реакції на вуглеводи.

1.1. Моносахариди та деякі дисахариди, в молекулах яких є карбонільна група, в лужному середовищі відновлюють оксид міді (II) в оксид міді (I).

Хід роботи

В пронумеровані пробірки внести по 10 крапель одного із розчинів вуглеводів. Додати по 10 краплин гідроксиду натрію і по 2 краплі сільфату міді,

нагріти до кипіння. В пробірці з глюкозою випадає осад оксиду міді (II) кольору червоної цегли.

1.2.Ідентифікація крохмалю. Крохмаль – це біла аморфна речовина, нерозчинна у холодній воді; виділяють з картоплі. Крохмаль, основний резервний вуглевод рослин, є сумішшю двох полісахаридів, лінійного (амілози) і розгалуженого (амілопектину), дає кольорову реакцію з розчином йоду – забарвлюється в темно-синій колір.

Хід роботи

До 10 краплин розчину крохмалю додати 1-2 крапля йоду. Спостерігається яскраво-синє забарвлення.

2. Виявлення крохмалю в продуктах харчування.

Хід роботи

Тверді продукти розтерти до кашоподібного стану в ступці та помістити в пробірки по 0,5-1 г. У всі пробірки додати по 2-3 мл дистильованої води і ретельно перемішати.

Додати в пробірки по 1-2 краплі розчину йоду. Відмітьте пробірки, в яких спостерігалось синє забарвлення. Результати оформити у вигляді таблиці.

№ пробірки	Продукт, що досліджується	Забарвлення, що спостерігається	Вміст крохмалю

3. Гідроліз сахарози.

Хід роботи

В дві пробірки помістіть по 10 краплин розчину сахарози. В одну додайте 1-2 краплі 10% розчину сірчаної кислоти. Пробірку з підкисленим розчином сахарози помістіть в майже киплячу водяну баню. Через 20 хв. пробірку дістаньте і охолодіть.

В обидві пробірки додайте по 1 краплі розчину сульфату міді і по краплям додайте розчин гідроксиду натрію до появи інтенсивно-синього забарвлення, що свідчить про повну нейтралізацію кислоти.

Нагрійте обидві пробірки на водяній бані. Чи в обох пробірках з'явилась оранжево-жовте забарвлення?

4. Гідроліз крохмалю.

Помістіть в пробірку 10 краплин розчину крохмалю і додайте 2 краплі 10% розчину сірчаної кислоти. Поставте пробірку в киплячу водяну баню. Через 30 хв. заберіть пробірку. Розчин став прозорим.

До отриманого розчину додайте 1 краплю розчину сульфату міді і по краплям додайте розчин гідроксиду натрію до появи інтенсивно-синього забарвлення.

Нагрійте пробірку на водяній бані. З'являється оранжево-жовте забарвлення.

Контрольні питання:

1. Поясніть сутність таутомерії та мутаротації моносахариду – глюкози.
2. Які ферменти травного тракту діють на ди- і полісахариди і якими залозами вони виділяються?
3. Чому амілаза слини не діє в присутності шлункового соку?
4. Чому мальтоза володіє відновлювальними властивостями, а сахароза ні?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 8

ЛІПІДИ

Мета: дослідити фізичні та хімічні властивості ліпідів, оволодіти методиками визначення показників якості жирів.

Теоретичні відомості

Ліпіди (з грецьк. *Lipos* – жир) – це біологічні речовини різної хімічної природи, які не розчиняються у воді, а розчинні в неполярних розчинниках.

Більшість ліпідів є складними ефірами вищих жирних кислот і одно- або багатоатомних спиртів (гліцерину, сфінгозину, холестерину), а також вищих спиртів (цетилового, мірицилового). Серед вищих жирних кислот складовими частинами ліпідів найчастіше є *насичені*: $C_{15}H_{31}COOH$ ($C_{16:0}$) – пальмітинова, $C_{17}H_{35}COOH$ ($C_{18:0}$) – стеаринова, і *ненасичені*: $C_{15}H_{29}COOH$ ($C_{16:1}$) – пальмітоолеїнона, $C_{17}H_{33}COOH$ ($C_{18:1}$) – олеїнова, $C_{17}H_{31}COOH$ ($C_{18:2}$) – лінолева $C_{17}H_{29}COOH$ ($C_{18:3}$) – ліноленова, $C_{19}H_{31}COOH$ ($C_{20:4}$) – арахідонова

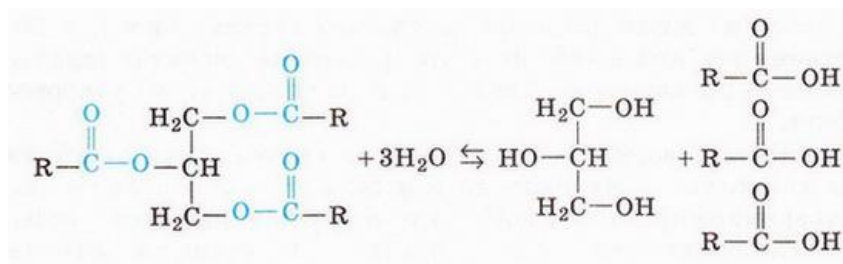
Добова потреба організму людини в ліпідах становить 80-100 г, у тому числі 20-25 г рослинних. Дефіцит у продуктах незамінних поліненасичених жирних кислот є однією з причин порушень обміну холестерину, розвитку атеросклеротичного процесу.

Травлення ліпідів відбувається в основному в тонкому кишечнику під впливом панкреатичних ферментів; ліпази, фосфоліпаз, холестеролестерази. Шлункова ліпаза малоактивна і діє лише на емульговані жири молочних продуктів, проявляє достатню активність у новонароджених (рН 5,5).

У кишечнику основним емульгатором жиру є жовчні кислоти, які виробляються в печінці з холестерину (10-15 г за добу). Найважливішими серед них є натрієві солі кон'югатів холевої, дезоксихолевої, хенондезоксихолевої кислот з гліцином або таурином.

Жовчні кислоти як амфіфільні молекули проявляють виражені поверхнево-активні властивості і сприяють емульгуванню жиру.

Гідроліз жиру під дією ліпази відбувається ступінчасто, з утворенням проміжних продуктів: ди- і моноацилгліцеринів. Кінцевими продуктами травлення жиру є гліцерин і жирні кислоти.



Продукти розщеплення жирів, фосфоліпідів, стеридів всмоктуються в кишечнику різними шляхами. Коротколанцюгові жирні кислоти, гліцерин, сфінгозин, холін, фосфорна кислота, частково моногліцериди – простою дифузиею. Довголанцюгові жирні кислоти всмоктуються шляхом піноцитозу у вигляді міцел, утворених із жовчними кислотами (холейнові комплекси). З метою максимального використання і економії жовчних кислот вони циркулюють з кишечника в печінку і знову в кишечник. Всмоктуватись можуть і нерозщеплені триацилгліцерини, якщо вони перебувають у тонко-емульгованому стані, шляхом піноцитозу.

В ентероцитах відбувається ресинтез специфічних для даного організму ліпідів з тих продуктів, які всмоктались з порожнини кишечника, а також формуються хіломікрони (транспортна форма триацилгліцеринів). Потрапляючи в кров безпосередньо або черг лімфатичну систему, а далі у жирову тканину, печінку та інші органи, ліпіди зазнають різних перетворень.

Експериментальна частина

Обладнання і реактиви: рослинні олії – соняшникова, оливкова, лляна, вершкове масло, 0,2 н спиртовий розчин КОН, 0,5 н розчин H₂SO₄, 2,5% спиртовий розчин йоду, 1%-й розчин крохмалю, 0,1 н розчин гіпосульфїту натрію Na₂S₂O₃, фенолфталеїн, етанол, хімічні стакани, скляні палички, лійка, штатив з пробірками, піпет-дозатори, піпетки, ваги, титрувальна установка, водяна баня.

1. Визначення кислотного числа жиру.

Кислотність жиру або кислотне число – це число міліграмів їдкого калію, яке необхідне для нейтралізації вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру.

Хід роботи

Зважити пусту колбу, потім обережно додати невелику кількість рослинної олії (1 г).

В колбу з олією долити 15 мл етанолу, додати 2–3 краплі фенолфталеїну і ретельно перемішати.

Титруємо отриманий розчин 0,2 н спиртовим розчином лугу до появи забарвлення. В якості контролю відтитрувати 15 мл етанолу з 2–3 краплями фенолфталеїну тим же розчином лугу.

Кислотне число (КЧ) розрахуйте за формулою:

$$\text{КЧ} = (T * (V - V_1)) / m, \text{ де}$$

T – титр лугу (кількість КОН в 1 мл розчину), мг;

V – об'єм розчину лугу, який використаний на титрування контрольної проби, мл;

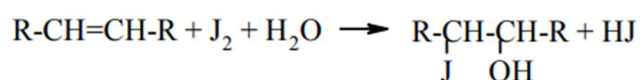
V_1 – об'єм розчину лугу, який використаний на титрування дослідної проби, мл;

m – маса наважки в грамах.

2. Визначення йодного числа жиру.

Йодне число – кількість грамів йоду, яка прореагувала з 100 г жиру; вказує на вміст в жирі ненасичених жирних кислот.

Визначення йодного числа базується на реакції приєднання йоду до подвійного зв'язку, яка відбувається за рівнянням:



Хід роботи

В першу колбу помістити навіску жиру 0,1 г (дослідна проба), в другу – 0,1 мл води (контрольна проба). Додати по 5 мл спиртового розчину йоду і перемішати.

Через 15 хв. вміст колб титрувати розчином $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ спочатку до появи слабо-жовтого забарвлення, а потім, після додавання 1 мл розчину крохмалю, титрують до зникнення синього забарвлення (до знебарвлення). Розраховують йодне число за формулою:

$$ЙЧ = T \cdot (V - V_1) \cdot 0,0127 \cdot 100 / m, \text{ де}$$

T – титр 0,1 н $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, мг;

V – об'єм $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ на титрування контрольної проби, мл;

V_1 – об'єм $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ на титрування дослідної проби, мл;

m – маса наважки, г;

0,0127 – кількість йоду (г), еквівалентне 1 мл 0,1 н $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

3. Визначення числа омилення жиру.

Числом омилення називається кількість мг КОН, яка необхідна для нейтралізації всіх як вільних жирних кислот так і тих, що входять до складу триацилгліцеролів, які містяться в 1 г жиру.

Хід роботи

В конічній колбі зважити наважку олії 0,2-0,5 г, долити 15 мл 0,2 н спиртового розчину КОН і нагрівати на водяній бані 30 хв. Одночасно прокип'ятити контрольну пробу з такою ж кількістю лугу, але яка не містить олії. Потім охолодити колби з розчином.

При повному омиленні в дослідній колбі не повинно бути блискучих крапель олії. Якщо вони є, омилення необхідно продовжити. Після омилення і охолодження в колби додати 2-3 краплі фенолфталеїну та надлишок лугу відтитрувати 0,5 н розчином H_2SO_4 .

Число омилення (ЧО) розрахуйте за формулою:

$$\text{ЧО} = (T * (V - V_1)) / m, \text{ де}$$

T – титр лугу, мг;

V – об'єм кислоти, використаний на титрування контрольної проби, мл;

V_1 – об'єм кислоти, використаний на титрування дослідної проби, мл;

m – маса наважки в г.

Контрольні питання:

1. Що таке ліпідограма? В яких випадках і для чого виконують ліпідограму?
2. Що таке транс-жири? Як утворюються транс-жири?
3. Який вплив на організм мають транс-жири?
4. Проаналізуйте вміст транс-жирів у різних продуктах харчування та за різних способів приготування їжі.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 9

НУКЛЕОТИДИ, НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ

Мета: дослідження нуклеотидів та нуклеїнових кислот в біологічному матеріалі.

Теоретичні відомості

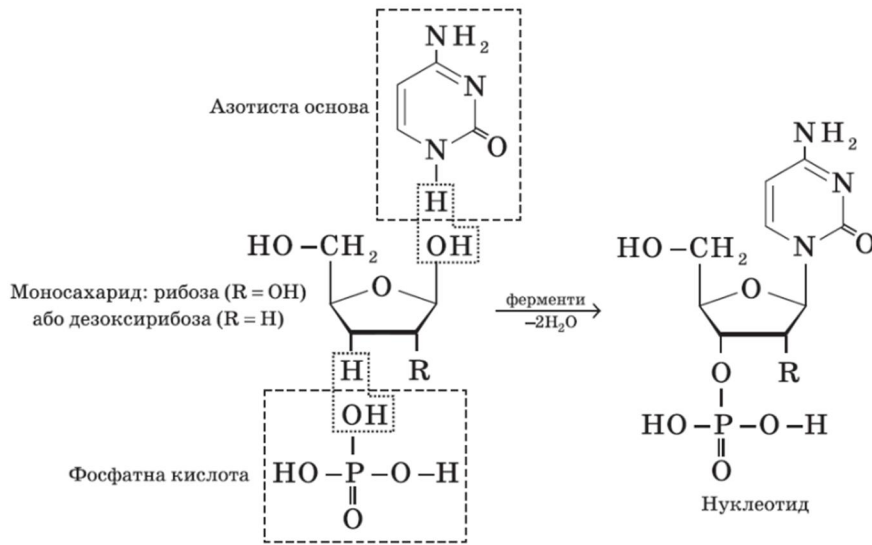
Нуклеїнові кислоти – найважливіші органічні сполуки, які зумовлюють можливість існування й розвитку всіх живих організмів. Вони відіграють головну роль у зберіганні й реалізації генетичної інформації. Нуклеїнові кислоти – це біополімери, макромолекули яких складаються з багаторазово повторюваних ланок – **нуклеотидів**, тому їх називають також полінуклеотидами. Розрізняють два типи нуклеїнових кислот: дезоксирибонуклеїнова кислота (ДНК), яка зберігає генетичну інформацію, і рибонуклеїнові (РНК), що беруть участь у процесах передачі генетичної інформації та біосинтезі білка в клітинах. Головна відмінність їх хімічного складу полягає в тому, що в молекулах ДНК міститься залишок вуглеводу дезоксирибози, а в молекулах РНК – рибози.

Нуклеотиди – структурні ланки нуклеїнових кислот – містять три складові:

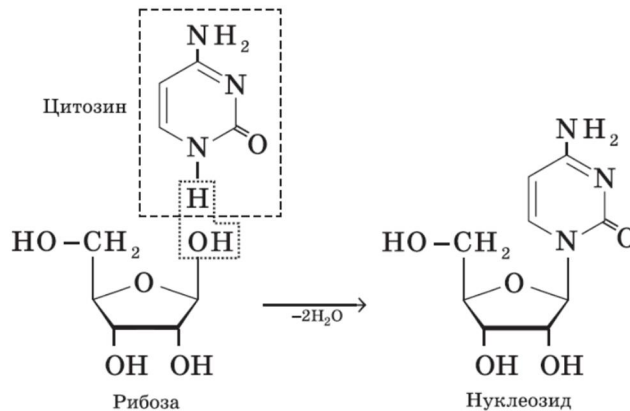
- азотисту основу – піримідинову або пуринову;
- моносахариди – рибозу або 2-дезоксирибозу;
- залишок фосфатної кислоти.

Нуклеотид – фосфатний естер нуклеозиду. До складу нуклеозиду входять два компоненти: моносахарид (рибоза або дезоксирибоза) і азотиста основа.

Будова та складові нуклеотиду



Будова та складові нуклеозиду

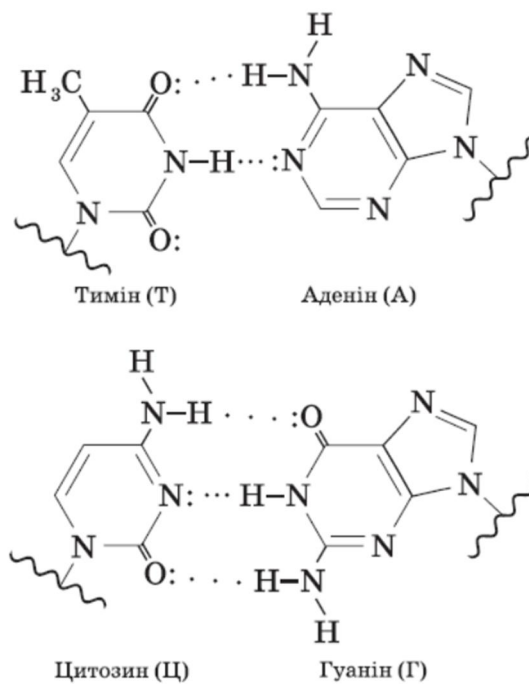


У молекулах ДНК наявні чотири основні типи нітрогеновмісних основ: аденін, гуанін, цитозин і тимін. До складу РНК замість тиміну входить подібний до нього за будовою урацил.

Нуклеотиди, з'єднуючись один з одним, утворюють полінуклеотидний ланцюг. Молекули РНК складаються з одного такого ланцюга, а молекули ДНК – із двох полінуклеотидних ланцюжків. Ці ланцюжки з'єднуються між собою водневим зв'язком у суворій послідовності: тимін з одного ланцюжка лише з аденіном протилежного, а цитозин – тільки з гуаніном. Об'єднавшись, два полінуклеотидні ланцюжки згортаються в спіраль, тобто молекула ДНК стає подвійною спіраллю.

Водневі зв'язки виникають між пуриною основою одного ланцюга й піримідиною основою іншого ланцюга. Ці основи складають комплементарні пари (від лат. Complementum – «доповнення»).

Утворення водневих зв'язків між комплементарними парами основ зумовлено їхньою просторовою відповідністю. Піримідинова основа комплементарна пуриновій основі. Водневі зв'язки між іншими парами основ не дозволяють їм розміститися в структурі подвійної спіралі.



Здатність ДНК не лише зберігати, але й використовувати генетичну інформацію визначається такими її властивостями:

- молекули ДНК здатні до реплікації (подвоєння), тобто можуть забезпечити можливість синтезу інших молекул ДНК, ідентичних початковим;
- молекули ДНК можуть абсолютно точно й певним чином спрямовувати синтез білків, специфічних для організмів певного виду.

В організмі людини міститься величезна кількість білків, кожен з яких виконує специфічну функцію. При цьому функціональні можливості та спеціалізація кожного з них визначається будовою та розташуванням у їхніх молекулах амінокислот. Інформація про амінокислотну послідовність кожного білка, що синтезується в організмі, закодована в молекулах ДНК.

Нуклеїнові кислоти – головні дійові особи в синтезі білків. Усе, що необхідно клітині для життя, запрограмовано на ділянках молекул ДНК – генах. Записана в генах інформація реалізується молекулами РНК. На молекулі ДНК синтезується молекула інформаційної РНК. На молекулі інформаційної РНК, як на матриці, синтезується молекула певного білка, а окремі молекули амінокислот для синтезу постачаються транспортною РНК.

Експериментальна частина

Обладнання і реактиви: дріжджі пекарські, 1 % розчин гідроксиду натрію, ацетат натрію, холодний етанол (96%) з морозильної камери, буфер для екстракції нуклеїнової кислоти (можна використовувати звичайну кухонну сіль), 1М розчин хлориду натрію, оцтова кислота, рідина для миття посуду, банан (ківі, томати, яблука), селезінка, дистильована вода, пісок, фарфорова ступка з товкачиком, хімічні стакани, скляні палички, лійки, фільтрувальний папір, штатив з пробірками, піпет-дозатори, центрифужні пробірки, центрифуга, ваги.

1. Виділення нуклеопротейдів із дріжджів.

До 6 г пекарських дріжджів додаємо 2 мл дистильованої води і розтираємо отриману суміш в ступці з 1% розчином гідроксиду натрію. Розчин лугу додаємо невеликими порціями (по 2 – 3 мл), всього використайте біля 25 мл. Масу дріжджів розтирайте біля 15–20 хв до отримання гомогенної маси. Вміст ступки профільтруйте та перелійте у стакан. Потім в стакан додайте 5 г ацетату натрію і, перемішуючи скляною паличкою, розчиніть його.

По стінці стакана обережно нашаруйте 25 мл етанолу. Повільно коловими рухами перемішайте рідини. Утворюються великі хлоп'я нуклеопротейдів, які поступово осаджуються на дно стакана.

2. Виділення ДНК із фруктів.

Невеликий шматочок банана (довжиною 2-3 см) розтовкують до однорідної консистенції за допомогою товкачика у фарфоровій ступі. Додають у фарфорову ступку 12 мл буферу для екстракції. Даний буфер містить солі,

необхідні для того, щоб осадити ДНК. в ступку також додають 3 мл детергенту. Суміш добре перемішують.

З двох шарів фільтрувального паперу роблять лійку, змочуючи її водою і фільтрують розчин бананового пюре. Рештки бананової м'якоти викидають разом із фільтром.

До 1 мл фільтрату додають 1 мл дистильованої води. Перемішують. Обережно, по стінці, в пробірку наливають 8 мл холодного етанолу так, щоб спирт зібрався в окремий шар на поверхні фільтрату. Суміші дають постояти протягом 2-3 хв, після чого можна спостерігати, як на межі розподілу рідин відбувається виділення ДНК у вигляді білуватої маси.

Примітки

- Детергент розчиняє ліпідні мембрани (в тому числі і ядерну), тим самим зумовлюючи перехід ДНК у розчин. Він також спричиняє випадіння в осад білків і ліпідів, відокремлюючи їх від ДНК.
- Додавання солі сприяє зближенню ланцюгів подвійної спіралі ДНК і агрегації молекули.
- Спирт осаджує ДНК, але ДНК не розчиняється в етанолі. При додаванні спирту ДНК починає виділятися із суміші, тоді як решта компонентів залишається розчиненою.
- За умови правильного виконання роботи кількість ДНК, що виділяється, має бути достатньо для збирання її зігнутою піпеткою.

3. Виділення дезоксирибонуклеопротейна із тканини селезінки.

3 г селезінки розтовкують до однорідної консистенції за допомогою товкачика у фарфоровій ступі з додаванням 0,6 г піску. Потім невеликими порціями додають в ступку 1М розчин хлористого натрію, розтираючи вміст протягом 15-20 хв.

Отриманий в'язкий розчин проціджують через марлю в колбу, переносять в центрифужні пробірки, урівноважують їх та центрифугують протягом 10-15 хв.

Вимірюють об'єм отриманого центрифугату, відміряють 5-кратний об'єм води (по відношенню до центрифугату), підкислений оцтовою кислотою до рН 4,5, в стакан і, повільно обертаючи дерев'яну паличку, вливають центрифугат.

Нерозчинний у воді дезоксирибонуклеопротейн випадає в осад і намотується у вигляді нитки на дерев'яну паличку.

Контрольні завдання.

1. Які атоми пуринового циклу в пуриновому нуклеотиді ДНК можуть утворювати водневі зв'язки, але не беруть участі в утворенні уотсон-криківських пар?
2. Поясніть, чому збільшується поглинання УФ-світла подвійною спіраллю ДНК (гіперхромний ефект) при її денатурації.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 10

ВІТАМІНИ

Мета: оволодіти методиками визначення вітамінів.

Теоретичні відомості

Вітаміни — низькомолекулярні органічні сполуки різної хімічної природи, що не синтезуються в організмі, але необхідні для нормальної життєдіяльності організму в малих кількостях.

Вітаміни ділять на дві групи: водорозчинні і жиророзчинні. Біологічна роль більшості вітамінів полягає в тому, що вони та їх похідні є складовою частиною коферментів. До таких коферментних вітамінів відносяться вітаміни В₁, В₂, В₃, РР, В₆, В₁₂, фолієва кислота, біотин. Ряд вітамінів регулює окремі біохімічні і фізіологічні процеси (С, А, D, Е, К, F, U).

Відсутність або недостатність вітамінів в їжі призводить до авітамінозів і гіповітамінозів. До них відносяться цинга, рахіт, куряча сліпота, пелагра, бері-бері. Причиною авітамінозів можуть бути не лише недостатність вітамінів в їжі і незбалансоване харчування, але й різні порушення обміну вітамінів, дія антивітамінів.

Потреба людини у вітамінах збільшується при вагітності, лактації, важкій фізичній праці, перегріванні, охолодженні, гіпоксії, при різних захворюваннях, а також при довготривалому введенні лі карських препаратів (антибіотиків, сульфаніламідних препаратів).

Джерелом вітамінів є продукти харчування тваринного і рослинного походження. Для виявлення та визначення вітамінів у харчових продуктах, біологічних рідинах (кров, сеча, слина) і тканинах користуються характерними кольоровими реакціями вітамінів з хімічними реактивами.

Експериментальна частина

Обладнання і реактиви: дистильована вода, нікотинова кислота, 5% розчин купрум (II) ацетату, 5% розчин купрум (II) сульфату, 1% розчин амоній

роданіду, рутин, 1% розчину FeCl_3 , 0,5% розчин HCl , 10% розчин NaOH , реактив Фелінга, 0,1% розчин 2,6-дихлорофеноліндофенолу, 10% розчин HCl 0,1% розчин аскорбінової кислоти, 0,01% розчин метиленового синього, 10% розчин Na_2CO_3 , 2 % розчин HCl , 0,001м розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу, хвоя, ваги, ножиці, ніж, кварцовий пісок, фарфорова ступка з товкачиком, конічні колби, піпетки, скляні палички, лійки, фільтрувальний папір, штатив з пробірками, піпет-дозатори, титрувальна установка.

1. Якісні реакції на вітамін РР (вітамін В5, нікотинова кислота)

0,5 г порошку розтертих таблеток нікотинової кислоти розчиняють при нагріванні в 10 мл води та фільтрують. До 3 мл теплого фільтрату додають 1 мл 5% розчину купрум (II) ацетату. Зазначте зміни, що відбуваються.

До 5 мл того ж фільтрату додають 0,5 мл 5% розчину купруму (II) сульфату і 2 мл 1% розчину амонію роданіду. З'являється зелене забарвлення розчину.

2. Реакція рутину з ферум (III) хлоридом

Феруму (III) хлорид утворює з рутином комплексні сполуки, забарвлені в смарагдово-зелений колір. До 2 мл насиченого водного розчину рутину додають кілька крапель 1% розчину FeCl_3 . Спостерігають появу зеленого забарвлення.

3. Реакція рутину з реактивом Фелінга

До 0,5 г рутину доливають 5 мл 0,5% розчину хлоридної кислоти, кип'ятять протягом 1 хв, потім фільтрують. До 5 мл фільтрату додають 3 мл 10% розчину гідроксиду натрію та 3 мл свіжоприготованого реактиву Фелінга й знову нагрівають до кипіння. Спостерігають утворення осаду купрум геміоксиду червоного кольору.

Реакції на аскорбінову кислоту (вітамін С)

Аскорбінова кислота може легко вступати в окисно-відновні реакції й відновлювати 2,6-дихлорофеноліндофенол, калій гексоціано-(III)-ферат, аргентум нітрат, молекулярний йод, метиленовий синій. При цьому окисна форма 2,6-дихлорофеноліндофенолу (синього кольору) та метиленовий синій відновлюються до безбарвних лейкосполук, а $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ – до $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$, який з йонами III валентного заліза утворює сіль $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$ синього або зеленого кольору.

4. Реакція аскорбінової кислоти з 2,6-дихлорофеноліндофенолом

У пробірку вносять 0,5 мл 0,1% розчину 2,6-дихлорофеноліндофенолу, одну-дві краплі 10% розчину HCl і по краплях 0,1% розчин аскорбінової кислоти. Розчин 2,6-дихлорофеноліндофенолу знебарвлюється.

5. Реакція з метиленовим синім

У дві пробірки вносять по крапліні 0,01% розчину метиленового синього та по крапліні 10% розчину натрію бікарбонату (Na₂CO₃). У першу пробірку додають 5 крапель 0,1% розчину аскорбінової кислоти, в другу – 5 крапель води й залишають у термостаті (t=37-40°C). Через деякий час у пробірці з розчином аскорбінової кислоти рідина знебарвлюється.

6. Кількісне визначення вітаміну С за методом Тильманса

Метод полягає у відновленні 2,6-дихлорофеноліндофенолу за допомогою вітаміну С. 2,6-дихлорофеноліндофенол в кислому середовищі має червоний колір, в лужному – синій, при відновленні – безбарвний.

Зважують 1 г хвої, ретельно подрібнюють і розтирають в ступці з піском. До розтертої маси додають 9 мл 2% розчину HCl, перемішують, фільтрують. Для кількісного визначення беруть 3 мл витяжки, вміщують у конічну колбу і титрують 0,001 М розчином 2,6-дихлорофеноліндофенолу до появи рожевого кольору, який зберігається 30 с.

Кількість вітаміну С розраховують за формулою:

$$X = \frac{a \cdot 0,088 - 10 - 100}{3 \cdot 1}, \text{ де}$$

X – кількість вітаміну С (мг);

a – кількість індикатора 2,6-дихлорофеноліндофенолу, витраченого на титрування (мл);

0,088 – кількість аскорбінової кислоти, що еквівалентна 1 мл 0,001 М розчину натрієвої солі 2,6-дихлорофеноліндофенолу;

10 – загальна кількість фільтрату (мл);

100 – коефіцієнт перерахунку (%);

З – кількість витяжки, взятої для титрування (мл);

1 – наважка харчового продукту (г).

Розрахунок кількості аскорбінової кислоти в пробі переведіть виходячи із того, що 1 мл 0,001 М розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу відповідає 0,088 мг аскорбінової кислоти. При розрахунку на 100 г речовини необхідно брати до уваги також розведення і кількість вихідної речовин.

Контрольні питання:

1. Що являють собою вітаміни і чому вони так називаються?
2. Як класифікують вітаміни?
3. Назвіть основні джерела вітамінів.
4. В чому полягає біологічна роль вітамінів?
5. Дайте визначення поняттям: гіповітаміноз, авітаміноз, поліавітаміноз, гіпервітаміноз.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 11

ПІГМЕНТИ

Мета: Навчитися отримувати витяжку пігментів та визначати їх вміст в біологічному матеріалі.

Теоретичні відомості

Біологічні пігменти (біохроми) – забарвлені речовини, що входять до складу тканин організмів. Колір пігментів визначається наявністю в них молекул хромофорних груп, які вибірково поглинають світло в певній частині видимого спектра сонячного світла. Багато біологічних структур, такі як шкіра, очі, хутро, волосся і фотосинтетичні системи містять пігменти (наприклад меланін або хлорофіл) в спеціалізованих клітинах.

Термін «біологічний пігмент» зазвичай використовують для означення всіх забарвлених речовин, незалежно від їх розчинності та флюоресцентних властивостей.

Біологічні пігменти поділяють на декілька класів в залежності від своєї структури.

- пігменти з порфіриноювою структурою: хлорофіл, білірубін, гемоціанін, гемоглобін, міоглобін;
- каротиноїди;
- люциферин;
- білки: блакитний пігмент рослин, фікобіліпротеїни;
- інші: меланін, бетулін, урохроми, флавоноїди.

Експериментальна частина

Обладнання і реактиви: 96% етанол; фарфорова ступка з товкачиком, скляні палички; лійки; фільтрувальний папір; штатив з пробірками; піпет-дозатори; кювети; спектрофотометр.

1. Визначення вмісту хлорофілів.

Досліди проводять у затемненому приміщенні. До 1 г подрібненого листа поступово додати 10 мл 96% розчину етанолу та ретельно розтирати товкачиком у фарфоровій ступці до однорідної маси. Отриману суміш вилити по скляній паличці до лійки із фільтрувальним папером. Фільтрат, у якому містився хлорофіл, ізолювали від світла.

Для визначення концентрації хлорофілу використовувати спектрофотометр. Вимірювання проводять за довжини хвиль 654, 643 і 665 нм. Для обрахунків загального вмісту хлорофілу у листі використовувати наступну формулу:

$$C_a + C_b = 25,1 E_{654}, \text{ де}$$

$C_a + C_b$ – концентрація хлорофілів a та b ;

E_{654} – оптична густина екстракту за довжини хвилі 654 нм.

Для визначення концентрації хлорофілів a та b застосовують формули:

$$C_a = 13,7 E_{665} - 5,76 E_{643}$$

$$C_b = 25,8 E_{643} - 7,60 E_{665}, \text{ де}$$

C_a – концентрація хлорофілу a ;

C_b – концентрація хлорофілу b ;

E_{665} – оптична густина екстракту за довжини хвилі 665 нм.

E_{643} – оптична густина екстракту за довжини хвилі 643 нм.

Вміст хлорофілу у тканинах визначати в міліграмах на 1 г сирової маси за формулою:

$$V_{\text{ек}} C_{\text{хл}} / 1000 m_{\text{нав}}, \text{ де}$$

$V_{\text{ек}}$ – об'єм екстракту;

$C_{\text{хл}}$ – концентрація хлорофілу;

$m_{\text{нав}}$ – маса наважки.

Контрольні питання:

1. Дайте визначення порфіринам. Наведіть приклади речовин, які відносяться до порфіринів.
2. Характеристика варіантів гемоглобінів.
3. Охарактеризуйте проміжні продукти катаболізму гему. Що таке жовчні пігменти?
4. Дайте характеристику гему.
5. Дайте визначення порфіріям.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 12

ГОРМОНИ

Мета: Навчитися якісно визначати наявність гормонів в біологічному матеріалі.

Теоретичні відомості

Гормони – органічні біологічно активні речовини різноманітної хімічної природи, що виробляються в спеціалізованих клітинах залоз внутрішньої секреції, надходять безпосередньо в кров і здійснюють гуморальну регуляцію обміну речовин і функцій організму.

За хімічною природою гормони поділяються на:

1. білки (гормони передньої частки гіпофіза, за виключенням АКТГ, інсулін, паратгормон);
2. пептиди (АКТГ, кальцитонін, глюкагон, гормони задньої і середньої частки гіпофіза, фактори гіпоталамуса);
3. стероїдні (кортикостероїди, андрогени, естрогени);
4. похідні амінокислот (катехоламіни, тиреоїдні йодовмісні гормони, гормони гіпофіза);
5. похідні поліненасичених жирних кислот (простагландини).

Гормони, утворюючись у клітинах ендокринних залоз, секретуються безпосередньо в кров. Деякі гормони (наприклад, тиреоїдні) можуть депонуватися в залозах. Пептидні гормони виділяються в кров за допомогою спеціальних механізмів секреції – екзоцитозу. Стероїдні гормони є ліпофільними речовинами й легко проникають через мембрани, тому вони не нагромаджуються в клітині і підвищення їх концентрації в крові визначається швидкістю синтезу.

У крові гормони білкової і пептидної природи транспортуються у вільному стані, стероїди і гормони щитоподібної залози з'єднані з α -глобулінами (альдостерон – з альбумінами); катехоламіни – у вільному стані або зв'язані з сульфатами, глюкуроновою кислотою, або з альбумінами. В такому вигляді вони досягають клітин-мішеней. Для кожного гормону є свої клітини-мішені

(наприклад, для інсуліну – клітини м'язів, печінки і жирові клітини). Це залежить від наявності специфічних рецепторів до того чи іншого гормону. Рецептори за природою є, як правило, складними білками – глікопротеїнами. Вони діляться на дві групи: ті, що розміщуються на поверхні мембрани, і ті, що розміщені всередині клітини (цитоплазма, ядро). З рецепторами на поверхні взаємодіють гормони, що не можуть проникнути через мембрану (білкової та пептидної природи, катехоламіни), а з внутрішніми рецепторами – стероїди. Рецептори дуже специфічні до взаємодії і гормонами, мають дуже високу спорідненість з ними і взаємодія ця зворотна. Після цього, як виникає специфічний біохімічний ефект, гормони звільняються і піддаються метаболічній інактивації. Особливо активно цей процес відбувається у печінці. Неактивні метаболіти виводяться з організму в основному з сечею.

За біохімічними функціями гормони поділяються на такі групи:

1. регулятори обміну вуглеводів, жирів, амінокислот (інсулін, глюкагон, адреналін, глюкокортикоїди);
2. гормони, що впливають на водно-сольовий обмін: мінерало-кортикоїди (альдостерон), антидіуретичний гормон (вазопресин);
3. гормони, які відповідають за обмін кальцію та фосфатів: паратгормон, кальцитонін, кальцитріол (похідний вітаміну D₃);
4. гормони, дія яких спрямована на корекцію метаболізму, пов'язаного з репродуктивною функцією (статеві гормони): естрадіол, прогестерон, тестостерон;
5. регулятори функцій ендокринних залоз (тропні гормони): кортикотропін, тиреотропін, гонадотропін.

Крім гормонів, що виробляються залозами внутрішньої секреції, існують ще гормони місцевої дії (гормоноїди або тканинні гормони), які регулюють обмін речовин в тих органах, де вони утворюються. До них відносяться гормони шлунково-кишкового тракту, простагландини, гістамін.

Гормони здійснюють гуморальну регуляцію і координацію функцій організму. Вони регулюють розмноження, ріст і розвиток організму, впливають на диференціацію тканин, на підтримку гомеостазу, беруть участь в адаптаційних реакціях на зовнішні подразники.

При гіпер- чи гіпофункції ендокринних залоз, а також при інтенсивному розпаді гормонів чи при порушенні функції рецепторів, без яких гормон не проявляє своєї дії, виникають ендокринні захворювання. Гормони використовують для лікування як ендокринних, так і неендокринних захворювань.

Експериментальна частина

Обладнання і реактиви: дистильована вода, 0,1% розчин адреналіну, 3% розчин $FeCl_3$; 10% розчин аміаку, штатив з пробірками, піпетки, піпет-дозатори, водяна баня.

1. Якісні реакції на адреналін.

Адреналін – гормон мозкового шару наднирників, який впливає на тканини-мішені, що призводить до зростання концентрації циклічного АМФ; прискорює глікогеноліз, активує ліполіз, підвищує рівень глюкози в крові; приймає участь в загальних системних ефектах збудження симпатичної нервової системи.

Хід роботи.

1. До 0,5 мл розчину адреналіну додайте 2 мл дистильованої води і 1 краплю розчину хлориду заліза. Вміст пробірки забарвлюється в смарагдово-зелений колір.
2. Додайте 1 краплю розчину аміаку. Забарвлення переходить у вишнево-червоне, а потім має коричневий відтінок.
3. Поясніть зміни забарвлення.

Контрольні питання.

1. Що таке гормони, яка їх хімічна природа і особливості біологічної дії?
2. Чим відрізняються гормони від вітамінів і ферментів?
3. Який вплив здійснюють гормони на білковий, жировий і вуглеводневий обмін?
4. Які порушення обміну речовин в організмі пов'язані з порушенням дії інсуліну?
5. Опишіть механізми дії гормонів на тканини-мішені.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 13

БІОХІМІЯ КРОВІ

Мета: Визначення рівня глюкози в крові людини.

Теоретичні відомості

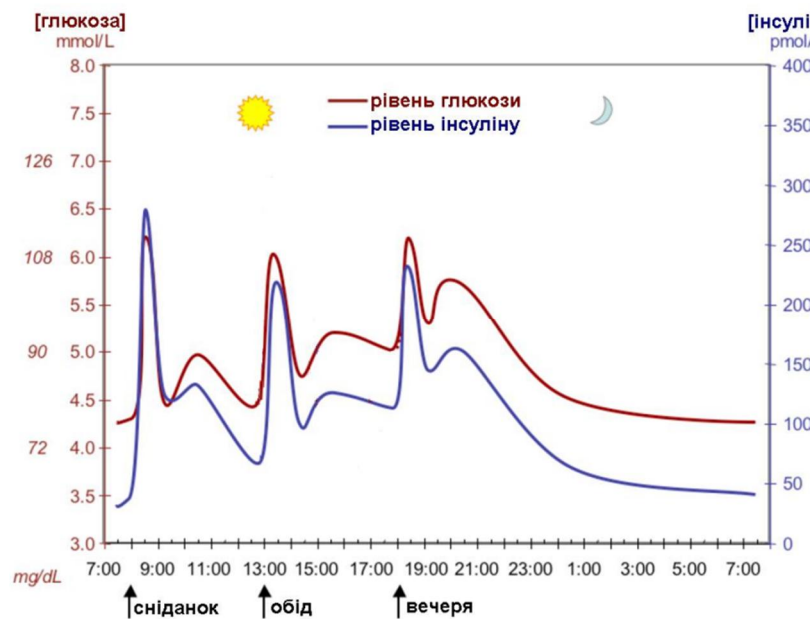
Кров – рідка специфічна тканина, яка є внутрішнім середовищем організму. Вона складається з плазми і клітинних елементів: еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів. В крові містяться білки, жири, вуглеводи, мінеральні речовини, ферменти, вітаміни і гормони.

Кров як багатокомпонентна система виконує в організмі різноманітні функції: дихальну, захисну, транспорту, регуляторну живильну. Кожна з цих функцій забезпечується відповідними компонентами крові. Так, білок еритроцитів (гемоглобін) переносить кисень від легень до тканин; альбумін, який міститься в плазмі, підтримує онкотичний тиск крові, виконує транспортну функцію – перенесення білірубину, лікарських препаратів, вітамінів та інших речовин; α - і β -глобуліни крові транспортують до тканин ліпоїдні речовини і вітаміни, а гаммаглобулінова фракція: це комплекс антитіл; фібриноген і протромбін беруть участь у згортанні крові; білки – церулоплазмін (мідьвмісний білок), і трансферин (залізовмісний білок), відповідно, транспортують мідь і залізо.

Кров – гетерогенна система, яка в 3-4 рази в'язкіша, ніж вода. Це зумовлено розчиненими в ній білками і клітинними елементами з густиною 1,050-1,060. Осмотичний тиск створений всіма розчиненими в ній органічними і мінеральними речовинами, а онкотичний – білками. Постійне рН крові – 7,36-7,4 підтримується буферними системами крові: бікарбонатною, фосфатною і гемоглобіною, причому на останню припадає 3/4 всієї буферної ємності.

Глюкоза – це основний вуглевод крові. У печінці глюкоза частково відкладається у вигляді глікогену, який є важливим резервом вуглеводів в організмі. В крові здорової людини концентрація глюкози постійна і становить від 3,33 до 5,55 ммоль/л.

Рівень глюкози в крові, як правило, найнижчий вранці, до першого прийому їжі (називається "рівень поста"), а також підвищується після прийому їжі протягом години на кілька мілімолей.



Коливання рівня глюкози в крові (червона лінія) та інсуліну (синя лінія) в організмі людини протягом одного дня з трьома прийомами їжі (Гусак В.В., Аброт О.Б., 2023).

Рівень цукру в крові за межами нормального діапазону, може бути індикатором медичного стану. Постійно високий рівень глюкози в крові називається гіперглікемія; низькі рівні називається гіпоглікемією. Зменшення вмісту глюкози призводить до розщеплення глікогену в печінці та утворення вільної глюкози, яка надходить у кров.

Крім глюкози, в крові знаходяться глікоген (16,0-40 мг/л), фруктоза (6-28 мкмоль/л), сіалові кислоти (550-800 мг/л), глікопротеїни (1,20-1,60г/л) та продукти обміну вуглеводів: молочна (1-2 ммоль/л) та піровиноградна (34-102 мкмоль/л) кислоти, які є основними показниками вуглеводного обміну в організмі людини.

Експериментальна частина

Обладнання і реактиви: кров, 0,9% розчин хлориду натрію, 5% розчин сульфату цинку, 0,3н розчин їдкого натрію, 1 % розчин ортотолідину (на 96% етиловому спирті), 0,25н (рН 4,8) ацетатний буфер, робочий реактив для визначення глюкози ; 1% ортолідин, 3,5 ммоль/л стандартний розчин глюкози; центрифуга, ФЕК, центрифужні пробірки, штатив з пробірками, піпетки, піпет-дозатори, глюкометр, ланцет, тест-смужки, серветки, спирт.

Визначення глюкози в крові глюкозооксидазним методом.

Принцип методу. Глюкозооксидаза окиснює глюкозу киснем повітря до глюконової кислоти і пероксиду водню. Пероксид водню під дією пероксидази окиснює ортотолідин у синій хромоген, інтенсивність забарвлення якого пропорційна концентрації глюкози.

Хід роботи

У три центрифужні пробірки відмірюють по 1,1 мл 0,9% натрій хлориду, 0,4 мл 5% сульфату цинку, та 0,4 мл 0,3 н їдкого натрію. Вміст пробірок добре перемішують, при цьому утворюється гель гідрату оксиду цинку. У першу пробірку (дослід) вносять 0,1 мл крові, а у другу – 0,1 мл стандартного розчину глюкози, у третю – 0,1 мл фізіологічного розчину хлориду натрію (контроль), перемішують. Через 10 хв центрифугують при 3000 об./хв. протягом 10 хв.

Відбирають по 1 мл з кожної пробірки надосадової рідини, переносять у чисті сухі пробірки, додають по 3 мл робочого розчину для визначення глюкози, обережно перемішують. Поступово розвивається забарвлення, яке досягає максимуму через 10-15 хв. Калориметрують проти контролю у кюветах товщиною 10 мм при червоному світофільтрі (630 нм)

Розрахунки здійснюють за формулою:

$$C_{д} = (E_{д} * C_{ст.}) / E_{ст.}$$

де:

$C_{д}$ – концентрація глюкози в крові (ммоль/л),

$C_{ст.}$ – концентрація глюкози у стандартному розчині (ммоль/л),

$E_{д}$ – оптична густина дослідної проби,

$E_{ст.}$ – оптична густина стандартної проби.

Із сечею здорової людини глюкоза не виділяється. Це явище тісно пов'язане з наявністю ниркового порога. Нирковий поріг – це та максимальна концентрація глюкози, яка повністю реабсорбується у ниркових каналцях у кров. У нормі нирковий поріг становить 8-10 ммоль/л.

Визначення глюкози в крові за допомогою глюкометра.

Принцип методу. Глюкометри – це апарати для вимірювання рівня глюкози в крові. Одного глюкометра для цього замало, до нього також необхідні відповідні тест-смужки та ланцети. Ланцетні пристрої являють собою голки, що служать для проколу пальця. А ось смужки для глюкометра необхідні для того, щоб нанести на неї краплі крові та вставити в глюкометр. Тільки після цього на екрані приладу з'явиться результат.

Хід роботи

1. помийте руки теплою водою з милом, насухо витріть їх чистим рушником;
2. помасажуйте пальці рук;
3. вставте тест-смужку в порт глюкометра;
4. зарядіть ланцет і зробіть прокол на бічній стороні пальця;
5. акуратно видавіть краплю крові та видаліть її сухою серветкою, а наступну нанесіть на тест-смужку;
6. зачекайте щонайменше 5 секунд та отримайте відомості про рівень цукру.

Контрольні питання.

1. Що таке плазма і сироватка крові?
2. Коли рівень цукру в крові вище – натщесерце або через 2 години після сніданку і чому?
3. Чи однаково буде змінюватися він при виконанні тривалих фізичних навантажень натщесерце або після сніданку?
4. Поясніть сенс тесту з навантаженням глюкозою. З якою метою його проводять?
5. Поясніть характер змін глюкози, який притаманний для організму в нормі та для організму з порушеною толерантністю до глюкози.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 14

БІОХІМІЯ СЕЧІ

Мета: дослідити біохімічні показники сечі людини.

Теоретичні відомості

Нормальними складовими частинами сечі є сечовина, креатинін, солі сечової і щавелевої кислот, іони хлору, амонію, натрію, фосфату. Незвичайними складовими частинами – білок, який з'являється в сечі після значних фізичних навантажень і при захворюваннях нирок і сечовивідних шляхів; цукор, як наслідок значного підвищення його вмісту в крові (аліментарна гіперглікемія, зв'язана зі значним емоційним збудженням, або захворювання цукровим діабетом). Кетоніві тіла, які з'являються в сечі при недостатньому їх окисненні в тканинах; жовчні пігменти і жовчні кислоти (при захворюваннях печінки і жовчовивідних шляхів) тощо. У сечі здорової людини глюкоза міститься в незначній кількості (не вище 0,4 г/л) і не може бути виявлена звичайними хімічними реакціями. Виділення цукру із сечею в кількості понад норму обумовлено або збільшенням його вмісту в крові (понад 9 ммоль), або підвищенням пропускної здатності нирок. Стійке підвищення цукру в крові спостерігається при порушенні гормональної регуляції вуглеводного обміну і найчастіше при панкреатичному діабеті. Вміст цукру в сечі при тяжких формах діабету може досягати 450 ммоль/л. Глюкозурию, що обумовлюється порушенням пропускної здатності нирок, так звану ниркову, спостерігають при введенні до організму великої кількості алкоголю, опіуму, адреналіну, хлороформу, флорадзину та інших речовин.

Реакція сечі в звичайних умовах слабкокисло. При посиленому м'ясному харчуванні вона стає ще кислішою, а при рослинному – слабколужною. Пасивне виділення кислих речовин, наприклад молочної кислоти, після інтенсивних фізичних навантажень веде до ще більш різких зсувів реакції в кислу сторону. При посиленому виділенні лужних речовин (наприклад, в гірських умовах), а також при деяких захворюваннях реакція сечі може стати лужною.

Експериментальна частина

Обладнання і реактиви: сеча, дистильована вода, 20% розчин сульфосаліцилової кислоти, реактив Фелінга, реактив Бенедикта (1,73 г лимоннокислої натрію і 10 г безводного Na_2CO_3 , розчиняють при кип'ятінні в 70 мл дистильованої води. Окремо розчиняють 1,73 г CuSO_4 в 10 мл дистильованої води. Розчини зливають і після охолодження доводять до 100 мл), штатив з пробірками, піпетки, піпет-дозатори, лакмусовий або індикаторний папір,

1. Якісні реакції на білок в сечі

Кількість білка у сечі здорової людини настільки мала, що звичайними реакціями, які застосовуються у клінічній лабораторії, не виявляється. Для визначення білка в сечі використовують реакції осадження за допомогою азотної або сульфосаліцилової кислот. Остання – найчутливіша.

У пробірку наливають 1 мл сечі додають 3 краплі 20% розчину сульфосаліцилової кислоти. За наявності білка в сечі утворюється білий осад (або помутніння), ступінь якого залежить від концентрації білка в сечі. Для порівняння таку ж реакцію роблять із сечею здорової людини.

2. Якісні реакції на глюкозу в сечі.

У пробірку наливають 2 мл профільтрованої сечі і проробляють реакцію Фелінга.

3. Кількісне визначення глюкози в сечі за Бенедиктом.

У пробірку наливають 5 мл реактиву Бенедикта, додають точно 8 краплин сечі і кип'ятять 2 хв на спиртівці. Якщо сеча не містить цукру, то колір не міняється. При наявності цукру колір стає горохово-зеленим (0,08-0,1% цукру), коричнево-зеленим (0,5%), коричневим (0,6%), жовтим (1%), червоним (2% і більше).

4. Визначення рН сечі.

У пробірку з сечею опускають лакмусовий папірець. За кольором лакмусового папірця зробити висновок про реакцію сечі: почервоніння говорить про кислоту, а посиніння – про лужну реакцію.

Для точнішого визначення реакції використовують індикаторний папір. Він має ряд поперечних смужок, які по-різному змінюють колір в залежності від активної реакції середовища. До набору папірців додається шкала з вказівкою, яка зміна кольору відповідає тому чи іншому рН. Папірець занурюють в сечу, а потім порівнюють зі шкалою і визначають рН сечі.

Контрольні питання

1. Яке значення рН сечі в нормі?
2. Які фактори впливають на величину рН сечі?
3. Як можна використовувати показник рН сечі в діагностиці?
4. Назвіть основні біохімічні показники, які вимірюються при аналізі сечі.
5. Назвіть патологічні компоненти сечі. Поясніть, за яких умов вони з'являються в сечі.

ЧАСТИНА II. ЗАДАЧІ ТА ВПРАВИ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ СТУДЕНТІВ

Тема: РОЗЧИНИ

1. Яка концентрація протонів у розчині з рН а) 3,82; б) 6,52; в) 11,11?
2. Що є спряженою основою в кожній наведеній нижче парі речовин?
 - а) RCOOH , RCOO^- ;
 - б) RNH_2 , RNH_3^+ ;
 - в) H_2PO_4^- , H_3PO_4 ;
 - г) H_2CO_3 , HCO_3^- .
3. Деякі комахи захищаються шляхом виділення їдкої рідини. Аналіз цієї рідини показав, що сумарна концентрація в ній формиату і мурашиної кислоти ($K_a=1,8 \times 10^{-4}$) складає 1,45 М; концентрація формиат-іона складає 0,015 М. Який рН цього розчину?
4. В клінічній лабораторії проводили титрування 10 мл шлункового соку, який взяли у пацієнта через декілька годин після їжі, за допомогою 0,1 М розчину NaOH до нейтральної реакції. Для цього знадобилось 7,2 мл NaOH . В шлунку пацієнта до цього часу вже не містилось неперетравленої їжі або напоїв, так що вважаємо, що ніяких буферів в шлунковому соку немає. Яка була кислотність шлункового соку?
5. Похідні катехола з довгими ланцюгами алкільких груп ($\text{p}K_a=8$), які містяться в отруйному плющі та отруйному дубі, викликають характерну висипку, яка зудить. Якщо ви випадково доторкнулись до такої рослини, то який із наведених нижче способів обробки ураженої ділянки шкіри необхідно застосувати і чому?
 - а) промивання поверхні шкіри холодною водою;
 - б) промивання поверхні шкіри розведеним оцтом або лимонним соком;
 - в) промивання поверхні шкіри водою з милом;
 - г) промивання поверхні шкіри водою з милом і з бікарбонатом натрію (харчовою содою).
6. Аспірин є слабкою кислотою з $\text{p}K_a=3,5$. Він всмоктується в кров, проходячи через клітини слизової оболонки шлунку і тонкого кишківника. Для

всмоктування речовини необхідно, щоб вона пройшла через плазматичну мембрану. Швидкість цього процесу визначається полярністю молекули: заряджені та сильно полярні речовини проникають повільно, а нейтральні гідрофобні молекули проходять скрізь мембрану легко. Значення рН у вмісті шлунку приблизно дорівнює 1,5, а в тонкому кишківнику – біля 6. звідки (із шлунку або із кишківника) більша кількість аспіріну проникає в кров і чому?

7. Регуляція рН крові шляхом зміни інтенсивності дихання.

А) Парціальний тиск CO_2 в легенях може швидко змінюватись залежно від інтенсивності та глибини дихання. Наприклад, відомим засобом від гикавки є зростання концентрації вуглекислого газу в легенях. Цього можна досягти, якщо частково затримувати дихання, повільно і неглибоко вдихаючи повітря (гіповентиляція), або вдихати і видихати повітря через паперовий пакет. За цих умов парціальний тиск CO_2 у повітряному просторі легень перевищить норму. Поясніть, як ці процедури впливають на рН крові.

Б) Бігуни на короткі дистанції безпосередньо перед стартом приблизно на півхвилини інтенсивно та глибоко дихають (гіпервентиляція). Значення рН крові при цьому може зростати до 7,6. Поясніть, чому зростає значення рН.

В) При бігу на коротку дистанцію в м'язах із запасів глюкози утворюється велика кількість молочної кислоти ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$, $K_a=1,38 \times 10^{-4}$). Виходячи із цього факту, поясніть, чому перед стрімким бігом корисна гіпервентиляція легенів.

8. Знайдіть значення рН зразка плазми крові, в якому загальна концентрація CO_2 складає 26,9 мМ, а концентрація бікарбоната 25,6 мМ. pK_a вугільної кислоти дорівнює 6,1.

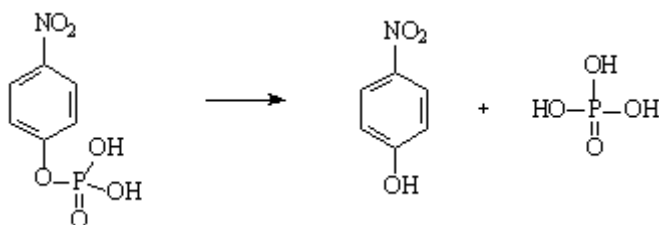
9. Значення рН позаклітинних рідин підтримується за рахунок системи бікарбонат/вугільна кислота. При затримці дихання концентрація газоподібного CO_2 (г) в крові зростає. Який вплив це може мати на рН позаклітинної рідини? Поясніть відповідь за допомогою відповідних рівнянь для даної буферної системи.

Тема: БЛІКИ

10. Складіть таблицю замінних, незамінних та умовно замінних амінокислот.
11. Розрахуйте величину ізоелектричної точки для амінокислот лізину, аргініну, гістидину.
12. Напишіть формулу пептиду, який складається із:
серин-гліцин-тирозин-аланін-лейцин.
13. На поверхні молекули білка багато карбоксильних груп. У якому середовищі (кислому чи лужному) знаходиться ізоелектрична точка цього білка?
14. Пептид має послідовність Glu-His-Trp-Ser-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly.
 - а) Який сумарний заряд цієї молекули при рН 3,8 і 11?
 - б) Оцінити значення рН цього пептиду.
15. Поясніть ефект Бора.
16. Поясніть механізм дії чадного газу.
17. Загальний вміст білка у крові хворого складає 50 г/л. Чи відповідає це нормі? (Норма 65-85 г/л) Як називається такий стан, і які причини його виникнення?
18. Чому у хворих з постійною протеїнурією можуть з'являтися набряки?
19. До яких змін у складі білків крові може призвести протеїнурія?

Тема: ФЕРМЕНТИ

20. Фосфатази каталізують гідроліз фосфатних ефірів. Зокрема, їх субстратом є *пара*-нітрофенілфосфат (пНФФ):



Паранітрофенол, який утворюється в результаті реакції, в лужному середовищі має жовте забарвлення. За інтенсивністю забарвлення розчину визначають кількість продукту реакції, що утворився. Використовуючи ці дані, розрахуйте швидкість ферментативної реакції.

а) Використовуючи табличні дані, побудуйте графік залежності швидкості ферментативної реакції, яка каталізується фосфатазою, від концентрації субстрату.

Концентрація субстрату, ммоль/дм ³	Швидкість реакції, ммоль/(дм ³ *хв)
0,5	8
1,0	15
2,0	28
3,0	35
4,0	38
5,0	40

Визначте K_M і V_{max} .

б) На основі даних про швидкість ферментативної реакції за різних значень рН, наведених у таблиці, побудуйте графік залежності швидкості ферментативної реакції від рН.

рН	Швидкість реакції, ммоль/(дм ³ *хв)
4,1	15
4,5	35
5,0	55
5,5	60
6,0	61
6,5	50
7,0	35
7,5	25
8,0	02

Визначте рН-оптимум фосфатази.

в) Побудуйте графік залежності швидкості ферментативної реакції від температури. Дані про швидкість ферментативної реакції за різних значень температур представлені в таблиці.

Температура, °C	Швидкість реакції, ммоль/(дм ³ *хв)
10	5
20	11
37	25
50	95
60	91
70	7,0
80	2,6

Визначте температурний оптимум фосфатази.

г) Конкурентним інгібітором фосфатаз є фосфат. Побудуйте графіки залежності швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату за відсутності та в присутності фосфату. Дані наведені в таблиці.

Концентрація субстрату ммоль/дм ³	Швидкість реакції за відсутності інгібітора, ммоль/(дм ³ *хв)	Швидкість реакції за присутності інгібітора, ммоль/(дм ³ *хв)
0,5	8	5
1,0	15	10
2,0	28	18
3,0	35	24
4,0	38	30
5,0	40	35
6,0	-	38
8,0	-	40

Визначте K_M і V_{max} ферментативної реакції за присутності та за відсутності конкурентного інгібітора. Зробіть висновок, яким чином фосфат впливає на ці показники.

д) Фторид є неконкурентним інгібітором фосфатаз. Побудуйте графіки залежності швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату за відсутності та в присутності фториду. Дані наведені в таблиці.

Концентрація субстрату ммоль/дм ³	Швидкість реакції за відсутності інгібітора, ммоль/(дм ³ *хв)	Швидкість реакції за присутності інгібітора, ммоль/(дм ³ *хв)
0,5	8	4
1,0	15	7,5
2,0	28	14
3,0	35	17,5
4,0	38	19
5,0	40	20

Визначте K_M і V_{max} ферментативної реакції за присутності та за відсутності неконкурентного інгібітора. Зробіть висновок, яким чином фторид впливає на ці показники.

21. Які ферменти та ізоферменти є найбільш інформативними для діагностики захворювань:

- а) серця,
- б) печінки,
- в) підшлункової залози,
- г) простати,
- д) кісток.

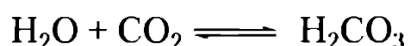
22. У 2 пробірки (у першій – крохмаль, у другій – сахароза) внесли фермент. Після 10-хвилинної інкубації суміш у першій пробірці дає позитивну реакцію Тромера, у другій – негативну. Який внесено фермент?

23. При деяких захворюваннях може виникнути метаболічний ацидоз. Як це вплине на активність внутрішньоклітинних ферментів?

24. Активність амілази сечі становить 600 г/л год. (норма 20-160 г/л год.) Як можна трактувати даний аналіз?

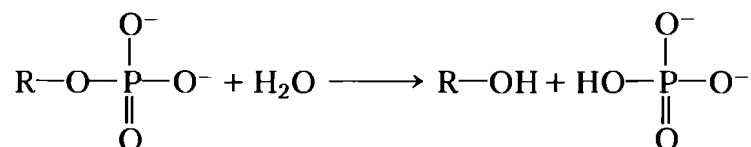
25. Солодкий смак зерен у свіжозібраних початках кукурудзи обумовлений високим вмістом в них цукру. Через декілька днів після збирання кукурудза вже не така солодка, оскільки за один день зберігання біля 50% вільного цукру в зернах перетворюється на крохмаль. Щоби краще зберегти солодкий смак свіжозібраної кукурудзи очищені початки на декілька хвилин поміщають в киплячу воду, а потім охолоджують в холодній воді. Кукурудза, яка оброблена таким чином і зберігається у замороженому вигляді, зберігає свій солодкий смак. В чому біологічний сенс такої процедури?

26. Карбоангідраза еритроцитів ($M_r=30000$) – один із найбільш активних із відомих на сьогодні ферментів. Вона каталізує зворотну гідратацію CO_2 :



Дана реакція відіграє важливу роль в транспорті CO_2 із тканин до легенів. Яке число обертів карбоангідрази (в одиницях/хв.), якщо за 1 хв при 37°C 10 мкг чистого ферменту каталізують гідратацію 0,3 г CO_2 ?

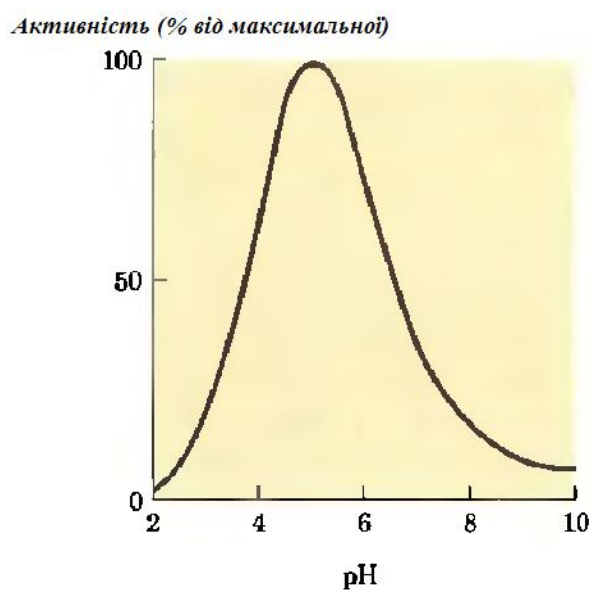
27. В сироватці крові людини містяться ферменти, які називаються кислими фосфатазами, які гідролізують ефіри фосфатної кислоти в слабко кислому середовищі (рН 5,0):



Кислі фосфатази синтезуються в еритроцитах, печінці, селезінці та простаті. Фермент із простати має важливе клінічне значення оскільки зростання його активності в крові може бути ознакою виникнення раку простати. Фосфатаза із простати сильно інгібується тартрат-іонами, тоді як кислі фосфатази із інших тканин ними не інгібуються. Як можна використовувати ці дані для розробки

метода специфічного визначення активності кислої фосфатази із простати в сироватці крові людини?

28. В активному центрі лізоциму розташовані два амінокислотних залишки, які відіграють основну роль в каталізі: Glu³⁵ і Asp⁵². Значення рКа карбоксильних груп бічних ланцюгів цих залишків дорівнюють 5,9 і 4,5. В якому стані іонізації (протонованому і депротонованому) знаходиться кожний із цих залишків при оптимальному значенні рН для лізоцима (5,2)? Як стан іонізації цих залишків може пояснити наведені на малюнку рН-залежність активності лізоцима?



Тема: ВУГЛЕВОДИ

29. Вміст глюкози в крові становить 2,6 ммоль/л. Як називається такий стан?

Які його наслідки? (норма: 3,1 – 5,5 ммоль/л)

30. У спортсмена після змагань вміст молочної кислоти становить 4 ммоль/л.

Чи можна вважати це патологією? Поясніть чому?

31. У деяких людей після цукрового навантаження вміст глюкози в крові може зменшуватися нижче вихідного рівня. Поясніть чому?

32. Вміст глюкози в крові становить 8 ммоль/л. Чи відповідає це нормі? Які причини такого стану?

33. Які зв'язки в молекулі α -D-глюкози повинні бути розірвані, щоби молекула прийняла конфігурацію β -D-глюкози? Які зв'язки потрібно розірвати, щоби

перетворити D-глюкозу на D-манозу? Які зв'язки потрібно розірвати, щоби D-глюкоза із форми крісла перейшла в іншу конформацію?

34. Перерахуйте загальні структурні риси і відмінності для кожної пари речовин: а) целюлоза і глікоген; б) D-глюкоза і D-фруктоза; в) мальтоза і сахароза.

35. Зобразіть структурну формулу α -D-глікозил-(1 \rightarrow 6)-D-манозаміна і вкажіть ту частину структури, яка робить цю речовину відновлюючим цукром.

36. Поясніть відмінність між напівацеталем і глікозидом.

37. Фруктоза, що входить до складу меду, головним чином знаходиться у вигляді β -D-піранози. Це один із самих солодких відомих вуглеводів: солодкість фруктози в два рази перевищує солодкість глюкози. Фруктоза у формі β -D-фуранози набагато менш солодка. При нагріванні меду його солодкість поступово знижується. Окрім того, кукурудзяний сироп з високим вмістом фруктози (комерційний продукт, в якому більша частина глюкози перетворена на фруктозу) використовують для надання солодкості холодним, але не гарячим напоям. Яка хімічна властивість фруктози лежить в основі цих спостережень?

38. Дисахарид, який є або мальтозою, або сахарозою, обробляють розчином Фелінга. Утворюється червоне забарвлення. Який дисахарид був в розчині? Відповідь поясніть.

39. Виготвлення шоколаду з рідкою начинкою можна розглядати як цікаве використання ферментів в харчовій промисловості. Ароматизована рідка начинка є водним розчином цукрів, збагаченому для солодкості фруктозою. Існує технічна проблема: для виготовлення шоколадної оболонки твердої (або майже твердої) центральну частину потрібно оточити гарячим розплавленим шоколадом, але в готовому продукті під твердою оболонкою повинно знаходитись рідке наповнення. Запропонуйте спосіб вирішення цієї задачі. (Підказка: сахароза розчиняється набагато гірше, ніж суміш глюкози і фруктози).

40. Стебла тропічної трави бамбука в оптимальних умовах можуть рости феноменально швидко – до 0,3 м/доба. Якщо прийняти, що стебла майже повністю складаються із целюлози, волокна якої орієнтовані в напрямку росту,

яка кількість залишків цукру в секунду приєднується до целюлозного ланцюга, що росте, у ферментативній реакції при такій швидкості росту? Довжина кожного залишку D-глюкози в молекулі целюлози складає біля 0,5 нм.

41. Відомо, що промислові птахи (куріпки, фазани, перепілки) дуже швидко втомлюються. Літальні м'язи промислових птахів майже повністю забезпечуються енергією (у формі АТФ) за рахунок розкладання глюкозо-1-фосфата, який утворюється при розщепленні накопиченого у м'язах глікогену під дією ферменту глікогенфосфорилази. Швидкість синтезу АТФ обмежується швидкістю розпаду глікогену. У стані паніки швидкість розпаду глікогену у птахів дуже висока і складає біля 120 мкмоль/хв. глюкозо-1-фосфату у розрахунку на 1 г сирової тканини. Вважаючи, що літальні м'язи містять біля 35% глікогену по вазі, обчисліть, як довго може літати промисловий птах (Середню молекулярну масу залишку глюкози в глікогені вважайте рівною 160 г/моль).

42. Однією із важливих функцій хондроїтинсульфата є змазка суглобів, оскільки ця речовина створює желеподібне середовище, яке перешкоджає руйнуванню суглобів від тертя і ударів. Ця функція напряду пов'язана з відомою властивістю хондроїтинсульфата: об'єм, який займає його молекула в розчині, набагато більший, ніж в твердому стані. Чому так сильно збільшується об'єм молекули хондроїтинсульфата в розчині?

43. Гепарин – глікозаміноглікан з сильно негативним зарядом – використовується в клінічній практиці в якості антикоагулянта. Дія гепарину полягає у зв'язуванні деяких білків плазми, в тому числі антитромбіну III – інгібітора згортання крові. Зв'язування гепарину з антитромбіном III у співвідношенні 1:1 викликає конформаційні зміни в білку, які значно підсилюють його інгібуючу здатність. Які амінокислотні залишки антитромбіну III можуть брати участь у взаємодії з гепарином?

44. Вуглеводна складова деяких глікопротеїнів можуть служити для клітини ділянкою впізнавання. Для виконання цієї функції олігосахариди глікопротеїнів повинні мати можливість існувати у великій різноманітності форм. Який ланцюг може існувати у великій кількості варіантів: олігопептид, який складається із 5

різних амінокислотних залишків, або олігосахариди, побудований із 5 різних моносахаридних ланок? Відповідь поясніть.

Тема: ЛІПІДИ

45. В їжі відсутні рідкі рослинні жири. Якими будуть наслідки для організму людини?
46. Вміст фосфоліпідів у крові становить 0,7 г/л. Які причини та наслідки такого стану? (норма: 1,5-3,7 г/л)
47. У хворого закупорка загальної жовчної протоки. Які ланки обміну ліпідів при ньому порушуються?
48. У добовій сечі хворого виявлено 100 мг кетонових тіл (норма 50 мг на добу). Які причини та можливі наслідки для організму такого стану?
49. Ліпіди містять жирні кислоти з 18 атомами карбону. Температури плавлення кислот: стеаринова кислота – (+69,6⁰C), олеїнова кислота – (+13,4⁰C), лінолева кислота – (-5⁰C), ліноленова кислота – (-11⁰C).
50. а) Яка особливість будови цих 18-карбонових жирних кислот може корелювати з температурою плавлення? Яка загальна закономірність зміни температури плавлення?
51. б) Зобразіть всі можливі триацилгліцериди, які можуть утворюватись із гліцерина, пальмітинової і олеїнової кислоти.
52. в) Жирні кислоти з розгалуженими ланцюжками ідентифіковані в деяких мембранних ліпідах бактерій. Чи буде їх присутність збільшувати або зменшувати текучість мембран? Чому?
53. Під час приготування соусу Bearnaise яєчні жовтки вбиваються у розплавлене масло, щоби стабілізувати соус та попередити розділення фаз. Стабілізуючим агентом в яєчному жовтку є лецитин (фосфатидилхолін). Передбачте, чому він так діє.
54. Гераніол, фарнезол і сквален є ізопреноїдами, оскільки вони утворюються із п'ятикарбонної ізопренової ланки. Для кожної сполуки окресліть п'ятикарбонну ділянку, яка вказує на ізопреновий ланцюг.

55. Дві сполуки, які зображені нижче, є стереоізомерами карвона і відрізняються за властивостями. Речовина, яка зображена зліва, пахне м'ятою, а зображена справа – кмином. Назвіть ці речовини у відповідності з RS-номенклатурою.
56. Загальною структурною властивістю мембранних ліпідів є їх амфіфільна природа. Наприклад, у фосфатидилхоліні два жирнокислотні ланцюги гідрофобні, а фосфохолінова «голівка» гідрофільна. Для кожного із наступних мембранних ліпідів назвіть гідрофобні і гідрофільні компоненти: а) фосфатидилетаноламін, б) сфінгомієлін, в) галактозилцереброзид, г) гангліозид, д) холестерол.
57. Каталітичне гідрування, яке використовується в харчовій промисловості, призводить до перетворення подвійних зв'язків жирних кислот в зв'язки – CH_2 – CH_2 –. Як ця зміна впливає на фізичні властивості олій?
58. Яка властивість воскової кутикули, що вкриває листя рослин, робить листя водонепроникними?
59. Отрути східної гримучої змії та індійської кобри містять фосфоліпази A_2 , яка каталізує гідроліз жирних кислот по положенню С-2 гліцерофосфоліпідів. Продуктом розпаду фосфоліпиду в цій реакції є лізолецитин (лецитин – це фосфатидилхолін). За високих концентрацій цей та інші лізофосфоліпіди діють як детергенти, руйнуючи мембрани еритроцитів та призводять до лізису клітин. Інтенсивний гемоліз може нести загрозу для життя.
- а) Всі детергенти амфіфільні. Що являють собою гідрофільна і гідрофобна частини лізолецитина?
- б) Біль і запалення, які викликані укусом змії, можна послабити за допомогою деяких стероїдних препаратів. Чому?
- в) Хоча велика кількість фосфоліпази A_2 може бути смертельно небезпечна, цей фермент необхідний для ряду нормальних метаболічних процесів. Що це за процеси?

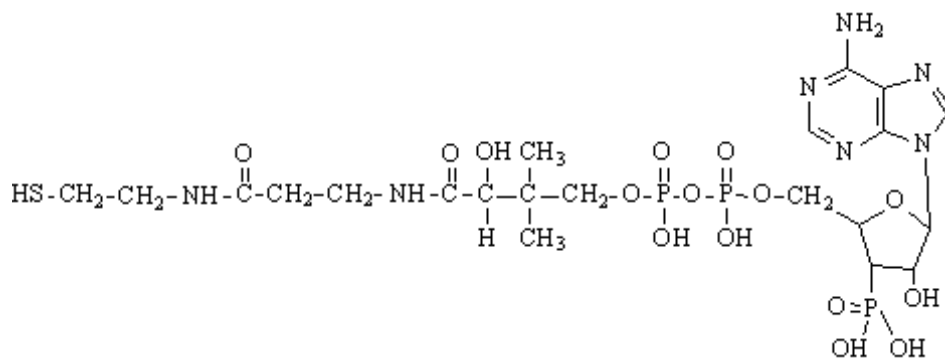
Тема: НУКЛЕОТИДИ. НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ

60. Запишіть формули нуклеотидів ГТФ, УДФ, дАМФ, дТДФ, дЦТФ.
- а) в складі нуклеотидів обведіть олівцем пуринові азотисті основи;
 - б) підкресліть нуклеотиди, що містять рибозу, однією рисою, а нуклеотиди, що містять дезоксирибозу, – двома рисками.
61. Напишіть формулу тринуклеотида А–Ц–Г.
- а) вкажіть фосфодиефірні зв'язки;
 - б) відмітьте 5'– і 3'–кінці.
62. Наведено фрагмент одного ланцюга ДНК:
- Г–Ц–Т–А–А–Т–Ц–Г–Ц–Т–А–Г.
- а) Запишіть нуклеотидну послідовність другого комплементарного ланцюга;
 - б) вкажіть 5'– і 3'–кінці в ланцюгах ДНК.
63. Фрагмент іРНК має наступну нуклеотидну послідовність:
- $5' \text{A–Ц–У–А–Ц–Ц–А–Ц–А–А–Ц–Г–У–Г–A} 3'$
- а) визначте, скільки амінокислот закодовано в даному фрагменті;
 - б) користуючись таблицею генетичного коду, визначте закодовану амінокислотну послідовність;
 - в) за фрагментом іРНК встановіть первинну структуру обох ланцюгів ДНК, відмітьте ланцюг, що транскрибується, вкажіть 5'– і 3'–кінці в ланцюгах ДНК.
64. Пептид має наступну структуру:
- фен–ала–арг–глі–тре–сер
- а) чи може декілька іРНК, які відрізняються одна від одної за первинною структурою, кодувати даний пептид або ні?
 - б) запишіть дві різні послідовності іРНК, що кодують даний пептид, вкажіть 5'– і 3'–кінці в іРНК.
65. Які атоми пуринового циклу в пуриновому нуклеотиді ДНК можуть утворювати водневі зв'язки, але не беруть участі в утворенні уотсон-криківських пар?

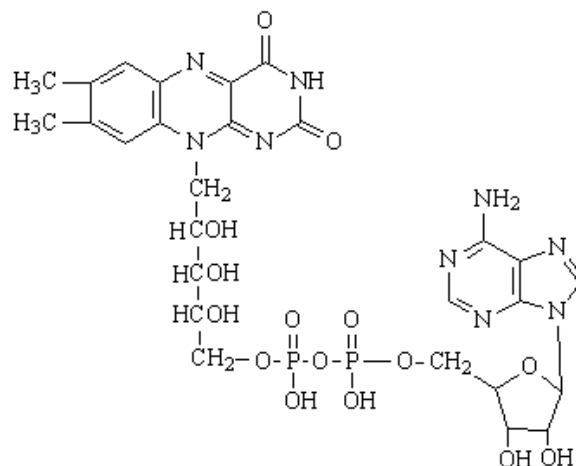
66. Поясніть, чому збільшується поглинання УФ-світла подвійною спіраллю ДНК (гіперхромний ефект) при її денатурації.
67. Відомий один ланцюг подвійної спіралі ДНК, яка має послідовність (5')GCGCAАТАТТТСТСААААТАТТGCGC(3'). Напишіть послідовність нуклеотидів в комплементарному ланцюзі. Що є особливе в послідовності цього сегмента ДНК? Чи може ця двох ланцюгова ДНК утворювати різні структури?
68. Вирахуйте масу подвійної спіралі ДНК в грамах, якщо її довжина дорівнює відстані від Землі до Місяця (біля 320000 км). Маса ДНК довжиною 1000 пар нуклеотидів – біля $1 \cdot 10^{-18}$ г; відстань між двома сусідніми парами основ дорівнює 0,34 нм. Для інформації, в тілі людини міститься біля 0,5 г ДНК.

Тема ВІТАМІНИ

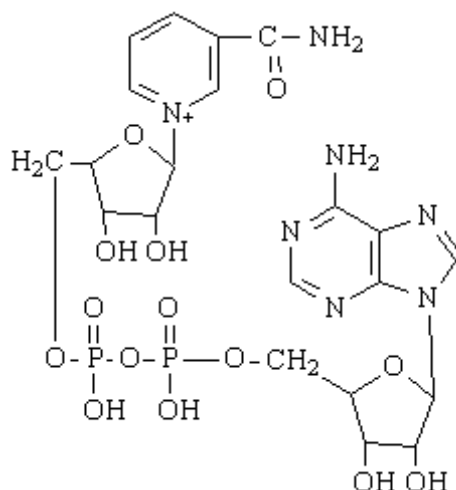
69. Кофермент А приймає участь в якості кофактору в багатьох ферментативних реакціях, які відбуваються в організмі людини і тварин. Обведіть формулу пантотенової кислоти у складі коферменту, вкажіть в його складі аденін і рибозу.



70. До складу коферменту ФАД входить вітамін рибофлавін. Обведіть формулу рибофлавіну.



71. Вітамін нікотинамід входить до склад коферменту НАД. Обведіть формулу вітаміну.



72. Складіть таблицю водорозчинних вітамінів:

Назва вітаміну	Біологічна роль	Прояви авітамінозу або гіповітамінозу	Прояви гіпервітамінозу	Джерела	Добова потреба
Вітамін В ₁ (тіамін)					
Вітамін В ₂ (рибофлавін)					
Вітамін В ₃ (пантотенова кислота)					
Вітамін В ₅ (нікотинамід, нікотинова кислота)					

Назва вітаміну	Біологічна роль	Прояви авітамінозу або гіповітамінозу	Прояви гіпервітамінозу	Джерела	Добова потреба
Вітамін В ₆ (піридоксин)					
Вітамін В ₉ (Н) (біотин)					
Вітамін В ₁₂ (ціанокобаламін)					
Вітамін В _с (фолієва кислота)					
Вітамін С (аскорбінова кислота)					
Вітамін Р (біофлавоноїди)					

73. Складіть таблицю жиророзчинних вітамінів:

Назва вітаміну	Біологічна роль	Прояви авітамінозу або гіповітамінозу	Прояви гіпервітамінозу	Джерела	Добова потреба
Вітамін А					
Вітамін D					
Вітамін E					
Вітамін К					
Вітамін F					

74. У хворого з сечею виділяється підвищена кількість пірвіноградної кислоти. Про недостатність яких вітамінів в організмі це свідчить?

75. Чим зумовлені крововиливи при недостатності філохінону, вітамінів С і Р?

76. У хворого розлад травлення і засвоєння жирів. Недостатність яких вітамінів буде спостерігатися і чому?

77. Поясніть, чому при споживанні переважно кукурудзи і малої кількості м'яса розвивається пелагра, – захворювання, зумовлене нестачею нікотинової кислоти?

78. Яйця можна зберігати в холодильнику від 1 до 1,5 місяця. Якщо ж відокремити жовтки від білків, то перші швидко псуватимуться навіть при низькій температурі. Поясніть, чому псуються жовтки і яким чином наявність білків запобігає їх псуванню.

79. У хворого внаслідок тривалого неконтрольованого вживання сульфаніламідних препаратів (самолікування) розвинулась макроцитарна анемія, близька до перніціозної, неодноразово спостерігалась діарея. Який авітаміноз розвинувся? Чому?

80. Мандрівники в тривалій морській подорожі харчувалися переважно рибою. Через певний проміжок часу на їхньому тілі з'явилися петехії, почали кровоточити ясна. Який гіповітаміноз розвинувся?

Тема: ПІГМЕНТИ

81. Охарактеризуйте синтез гемму.

82. Назвіть основні етапи синтезу гемоглобіну.

83. Назвіть причини розвитку порфірії у людини. Роль гемоглобіну в транспорті кисню.

84. Охарактеризуйте біохімічні механізми транспорту вуглекислого газу.

85. Охарактеризуйте карбоксигемоглобін, метгемоглобін: механізми утворення, біологічна роль.

86. Охарактеризуйте метаболізм білірубину.

87. Що таке «непрямий» білірубін? Що таке «прямий» білірубін? Коли розвивається гіпербілірубінемія?

88. Жовтяниця: біохімічні механізми розвитку.

Тема: ГОРМОНИ

89. У хворого спостерігається постійна поліурія. Патологічні показники в сечі не виявлені. Поясніть біохімічні механізми розвитку поліурії. З яким гормоном це пов'язано?

90. Людина перебуває в стресовій ситуації. Які біохімічні процеси відбуваються при цьому? Які гормони задіяні?

91. У крові людини виявили нормальний вміст синтезованого гормону інсуліну, проте водночас спостерігалася гіперглікемія. Які можливі причини такого стану?

92. Поясніть явище збільшення частоти сечовиділення у людини в умовах зниження температури зовнішнього середовища, особливо якщо вона змерзла.

93. Складіть таблицю:

Залоза внутрішньої секреції	Назва гормону	Хімічна природа гормону	Механізм дії гормону	Прояв гіперпродукції гормону	Прояв гіпопродукції гормону
Гіпоталамус					
Гіпофіз: аденогіпофіз, середня доля, нейрогіпофіз					
Щитовидна залоза					
Пара щитовидна залоза					
Підшлункова залоза					
Надирники: мозковий шар, корковий шар					
Чоловічі статеві залози					
Жіночі статеві залози					
Вилочкова залоза (тимус)					
Шишкоподібна залоза (епіфіз)					

Тема: БІОХІМІЯ КРОВІ

94. Вміст калію в крові становить 8 ммоль/л. Які причини та наслідки такого стану? (норма 3,4-5,3 ммоль/л)
95. У хворого вміст кальцію в крові становить 1,7 ммоль/л. Спостерігають корчі. Чим викликаний такий стан? (норма 2,3-2,75 ммоль/л)
96. Вміст фосфору в крові – 5 ммоль/л. Чи відповідає це нормі? Причини цього стану? (норма 1,2-2,2 ммоль/л)
97. Вміст хлоридів у крові пацієнта становить 70 ммоль/л. Відомо, що він працює в ливарному цеху. Як трактувати отримані дані?
98. Вміст хлоридів у крові становить 130 ммоль/л. Як називається такий стан? Які причини можуть його викликати?
99. Вміст сечовини в крові дорівнює 9 ммоль/л. Обґрунтуйте, чим може бути викликаний такий стан? (3,33-8,32 ммоль/л – норма)
100. У пацієнта гіповітаміноз вітаміну Е. Як це впливає на функцію м'язів?
101. У пацієнта вміст сіалових кислот у крові дорівнює 1,6 г/л. Про які патологічні зміни в організмі це свідчить? (0,55-0,79г/л – норма)
102. Вміст гемоглобіну в крові становить 60 г/л. При яких захворюваннях спостерігають такий стан? (норма: чоловіки – 132-164 г/л, жінки – 115-145 г/л)
103. Активність лактатдегідрогенази в сироватці крові дорівнює 320 од. Чим може бути викликаний такий стан? (норма – 80-250 од.)

Тема: БІОХІМІЯ СЕЧІ

104. У пацієнта виділяється сеча з густиною 1,032. Які причини такого стану? (норма– 1,016-1,022 г/см³)
105. У пацієнта спостерігають гіпоальбумінемію, протеїнурію, глюкозурію та гематурію. Назвіть можливу причину такого стану.
106. У пацієнта за добу виділяється 5 л сечі, у якій міститься 5 % глюкози. Густина такої сечі – 1,040. Про що свідчать такі показники?
107. Реакція сечі – 8,3. Поясніть, чим зумовлене таке рН сечі?
108. Реакція сечі – 4,5. Чи відповідає це нормі? Як можна пояснити таке рН сечі?

109. Густина сечі протягом доби дорівнює 1,010. Як називається такий стан? Які причини його виникнення?

110. Жінка, 25 років, має брата з діагнозом діабет 2-го типу. Вона визначила рівень цукру в сечі за допомогою діагностичних смужок. Отримала позитивний результат. Вона має добре самопочуття. Аналіз цукру в крові – 6,2 ммоль/л (не натщесердя). Ще два рази вона вимірювала цукор в сечі і отримувала позитивні результати. Результат глюкозотолерантного тесту: глюкоза в плазмі натщесердя – 4,8 ммоль/л, через 2 години після навантаження цукром – 7,5 ммоль/л. Чи вона хвора на діабет? Чи виправдані побоювання жінки щодо того, що вона хвора на діабет? Яке значення позитивних результатів визначення глюкози в сечі?

ДОДАТОК А

ПРИГОТУВАННЯ РЕАКТИВІВ ТА РОЗЧИНІВ

Амонію молібдату розчин у нітратній кислоті – 7,5 г амонію молібдату розчиняють у 100 мл води і додають 100 мл 32 % нітратної кислоти.

Бенедикта реактив – 17,3 г натрію цитрату ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 11 \text{H}_2\text{O}$) і 10 г безводного (або 20 г кристалічного) натрію карбонату розчиняють при нагріванні в 50 мл води (не доводячи до кипіння), додають 10 мл 17,3% розчину купруму сульфату, перемішують, кількісно переносять у мірну колбу на 100 мл і доводять об'єм водою до мітки.

Біуретовий реактив. 4,5 г сегнетової солі ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) розчиняють у 40 мл 0,2 н розчину натрій гідроксиду. Після розчинення додають 1,5 г кристалогідрату купрум (II) сульфату ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), 0,5 г калій йодиду (KI) та доводять до 100 мл 0,2 н розчином натрій гідроксиду. Зберігають у темному місці (або в посуді з темного скла). Реактив придатний для використання впродовж одного місяця.

Дифеніламінового реактиву – 1 г дифеніламіну розчиняють у 100 мл льодяної оцтової кислоти. До розчину додають 2,75 мл концентрованої сульфатної кислоти.

Молібденовий реактив. 7,5 г молібдату амонію розчинити в 100 мл води та додати 100 мл концентрованої нітратної кислоти.

0,1н розчин гіпосульфиту натрію $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ – 0,14 г $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ розвести до 20 мл H_2O .

0,2н спиртового розчину КОН: зважити 1,12 г лугу і розчинити в мінімальність кількості води (1–1,5 мл); після розчинення довести об'єм 96 % етанолом до 100 мл.

Робочий реактив для визначення глюкози – у мірну колбу місткістю 500 мл наливають 300-400 мл 0,25 М ацетатного буфера, додають 10 мг глюкозо-оксидази, наважка якої повинна бути із розрахунку активності ферменту 92000 од. на 1 г. препарату, перемішують до повного розчинення, додають 5 мг пероксидази, перемішують до розчинення. Доливають 5 мл 1 % розчину ортотолідину і доводять об'єм до мітки ацетатним буфером. Реактив стабільний 3-4 тижні за умов зберігання в холодильнику.

Робочого розчину йоду – 0,3 г йоду розчиняють у 3% розчині калію йодиду і до 1 об'єму 0,3% розчину йоду додають 9 об'ємів води.

Розчин йоду в розчині калій йодиду (розчин Люголя) – У 100 мл розчиняють 20 г калію йодиду і 10 г йоду. Перед використанням розчин розводять у 5 раз.

Трис-буфер (0,1 моль/л, рН = 7,1...9,2) 24,2 г трис-(гідроксиметил)-амінометану розчиняють у мірній колбі місткістю 1 л (у 500 мл H₂O). Для одержання необхідного значення рН додають указаний у таблиці. 1 об'єм 1 моль/л НСІ і доводять водою до 1000 мл.

рН	НСІ, мл	рН	НСІ, мл	рН	НСІ, мл
7,1	189	7,8	150	8,5	50
7,2	183	8,1	90	8,7	16,5
7,4	170	8,3	70	9,2	5,75

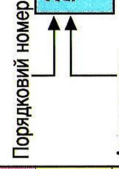
Фелінга реактив. Готують окремо два розчини. Розчин 1 – у мірній колбі місткістю 1 л розчиняють 200 г калію-натрію тартрату і 150 г NaOH і доводять водою до мітки. Розчин 2 – у мірній колбі місткістю 1 л розчиняють у воді 40 г купрум (II) сульфату і доводять водою до мітки; перед використанням змішують рівні об'єми цих розчинів.

Фоліна реактив – у колбі місткістю 1 л розчиняють 1 г натрію вольфрамату і 20 г фосфатно- молібдатної кислоти в 750 мл води, закривають колбу пробкою зі зворотним холодильником і вміст кип'ятять 10 годин; потім його охолоджують, переливають у мірну колбу і доводять водою об'єм до 1 л.

ДОДАТОК Б

Періодична система хімічних елементів Д.І. Менделєєва

Період	Г Р У П П И												
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII					
1	H Гідроген Водень 1,0079 1								He Гелій 4,0026 2				
2	Li Літій 6,941 3	Be Берилій 9,012 4	B Бор 10,81 5	C Карбон Вуглець 12,011 6	N Нітроген Азот 14,0067 7	O Оксиген Кисень 15,999 8	F Флуор Фтор 18,998 9		Ne Неон 20,179 10				
3	Na Натрій 22,990 11	Mg Магній 24,305 12	Al Алюміній 26,981 13	Si Силіцій Кремій 28,086 14	P Фосфор 30,973 15	S Сульфур Сірка 32,06 16	Cl Хлор 35,453 17		Ar Аргон 39,948 18				
4	K Калій 39,098 19	Ca Кальцій 40,08 20	Sc Скандій 44,956 21	Ti Титан 47,90 22	V Ванадій 50,941 23	Cr Хром 51,996 24	Mn Манган Марганець 54,938 25			Fe Ферум Залізо 55,847 26	Co Кобальт 58,933 27	Ni Нікол Нікель 58,70 28	
	Zn Цинк 65,39 30	Ga Галій 69,72 31	Ge Германій 72,59 32	As Арсен Міш'як 74,921 33	Se Селен 78,96 34	Br Бром 79,904 35	Kr Криптон 83,80 36						
5	Rb Рубідій 85,468 37	Sr Стронцій 87,62 38	Y Ітрій 88,906 39	Zr Цирконій 91,22 40	Nb Ніобій 92,906 41	Mo Молибден 95,94 42	Tc Технецій 98,906 43			Ru Рутеній 101,07 44	Rh Родій 102,905 45	Pd Паладій 106,4 46	
	Ag Аргентум Срібло 107,868 47	Cd Кадмій 112,41 48	In Індій 114,82 49	Sn Станум Олово, цина 118,71 50	Sb Стибій 121,75 51	Te Телур 127,60 52	Xe Ксенон 131,30 54						
6	Cs Цезій 132,91 55	Ba Барій 137,33 56	*La Лантан 138,905 57	Hf Гафній 178,49 72	Ta Тантал 180,948 73	W Вольфрам 183,85 74	Re Реній 186,207 75			Os Осміє 190,2 76	Ir Ірідій 192,22 77	Pt Платина 195,09 78	
	Au Аурум Золото 196,967 80	Hg Меркурій Ртуть 200,59 80	Tl Талій 204,37 81	Pb Плюмбум Свинць, оливо 207,2 82	Bi Бісмут Бісмут 208,980 83	Po Полоній [209] 84	Rn Радон [222] 86						
7	Fr Францій [223] 87	Ra Радій 226,025 88	**Ac Актиній [227] 89	Unq Уннїлквадій [281] 104	Unp Уннїлпентій [282] 105	Unh Уннїлгексій [283] 106	Uns Уннїлсептій [284] 107			Uuo Уннїлоктій [285] 108	Uue Уннїленій [286] 109	Uun Уннїлній [272] 110	
Висі окиси	R_2O	RO	R_2O_3	RO_2	R_2O_5	RO_3	R_2O_7	RO_4					
Леткі водневі сполуки		RH_4		RH_3	H_2R	HR							
*Лантаноїди	Ce Церій 140,12 58	Pr Празеодим 140,908 59	Nd Неодим 144,24 60	Sm Самарій 150,36 62	Eu Європій 151,96 63	Gd Гадоліній 157,25 64	Tb Тербій 158,925 65	Dy Диспрозій 162,50 66	Ho Гольмій 164,93 67	Er Ербій 168,934 68	Tm Тулій 173,04 69	Yb Ітербій 174,97 70	Lu Лютецій 174,97 71
**Актиноїди	Th Торій 232,038 90	Pa Протактіній 231 91	U Уран 238,029 92	Np Нептуній [237] 93	Am Америцій [243] 95	Cm Кюріє [247] 96	Bk Берклій [247] 97	Cf Каліфорній [251] 98	Es Ейнштейній [254] 99	Fm Фермій [257] 100	Md Менделєєвій [258] 101	No Нобелій [259] 102	Lr Лоуренсій [260] 103



ДОДАТОК В
ПРИГОТУВАННЯ БУФЕРНИХ РОЗЧИНІВ

Буферний розчин: Трис-(гідроксиметил)-амінометан – HCl; 0,05 М, рН

7,2-9,1

<i>рН</i>		<i>0,2 М</i>	<i>0,1н HCl</i>	<i>Розведено до 100 мл</i>
<i>23°C</i>	<i>37°C</i>	<i>«трис» (мл)</i>	<i>(мл)</i>	
9,10	8,95	25	5	розведено до 100 мл
8,92	8,78	25	7,5	розведено до 100 мл
8,74	8,60	25	10,0	розведено до 100 мл
8,62	8,48	25	12,5	розведено до 100 мл
8,50	8,37	25	15,0	розведено до 100 мл
8,40	8,27	25	17,5	розведено до 100 мл
8,32	8,18	25	20,0	розведено до 100 мл
8,23	8,10	25	22,5	розведено до 100 мл
8,14	8,00	25	25,0	розведено до 100 мл
8,05	7,90	25	27,5	розведено до 100 мл
7,96	7,82	25	30,0	розведено до 100 мл
7,87	7,73	25	32,5	розведено до 100 мл
7,77	7,63	25	35,0	розведено до 100 мл
7,66	7,52	25	37,0	розведено до 100 мл
7,54	7,40	25	40,0	розведено до 100 мл
7,36	7,22	25	42,5	розведено до 100 мл
7,20	7,05	25	45,0	розведено до 100 мл

Буферний розчин: $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{--NaH}_2\text{PO}_4$ (0,1 М), рН 5,8-8,0 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $M_r=178,05$; $0,2M=35,61\text{г}/1000\text{мл}$

<i>рН</i>	<i>0,2 М Na_2HPO_4 (мл)</i>	<i>0,2 М NaH_2PO_4 (мл)</i>	<i>Розведено до 200 мл</i>
5,8	8,0	92,0	розведено до 200 мл
6,0	12,3	87,7	розведено до 200 мл
6,2	18,5	81,5	розведено до 200 мл
6,4	26,5	73,5	розведено до 200 мл
6,6	37,5	62,5	розведено до 200 мл
6,8	49,0	51,0	розведено до 200 мл
7,0	61,0	39,0	розведено до 200 мл
7,2	72,0	28,0	розведено до 200 мл
7,4	81,0	19,0	розведено до 200 мл
7,6	87,0	13,0	розведено до 200 мл
7,8	91,5	8,5	розведено до 200 мл
8,0	94,7	5,3	розведено до 200 мл

ДОДАТОК Г

ПРИКЛАДИ РЕЗУЛЬТАТІВ БІОХІМІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

1. Дослідження вмісту ліпідів в крові (ліпідограма).

Показник	Результат	Од.	Референтний інтервал
Пакет №4.5 (Ліпопротеїди фракційно + звіт з описом лабораторних показників)			
Холестерин	7.49	ммоль/л	до 5.2 - Відсутність ризику 5.2 - 6.2 - Умовний ризик більше або дорівнює 6.2 - Високий ризик
Тригліцериди	1.4	ммоль/л	до 2.26
Ліпопротеїди високої щільності (ЛПВЩ, HDL)	1.41	ммоль/л	Жінки: Більше 1.68 - Відсутність ризику 1.15 - 1.68 - Умовний ризик до 1.15 - Високий ризик Чоловіки: Більше 1.45 - Відсутність ризику 0.90 - 1.45 - Умовний ризик до 0.90 - Високий ризик
Ліпопротеїди низької щільності (ЛПНЩ, LDL)	5.79	ммоль/л	до 2.59 - оптимальний рівень 2.59 - 3.34 - вище оптимального рівня 3.37 - 4.12 - пригранично-високий рівень 4.14 - 4.89 - високий рівень більше або дорівнює 4.92 - дуже високий рівень
Ліпопротеїди дуже низької щільності (VLDL)	0.29	ммоль/л	0.26 - 1.00
Коефіцієнт атерогенності (КА)	4.31	Од.	до 3.0
Примітка	Ваш результат готовий і знаходиться в додатковому pdf файлі.		

2. Результати загального та біохімічного аналізу крові.

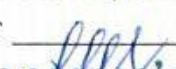
- ✓ нормальний
- ⚠ відхилення від норми

Інформація про клієнта		
ПІБ	[Redacted]	
Штрих-код	[Redacted]	
Стать	жіноча	
Вік	56 р. 1 м.	
Дата народження	[Redacted]	
Дата замовлення	02.05.2024	
Дата видруку	02.05.2024	
Загальний аналіз крові		
	Результат	Норма
✓ Лейкоцити	4.61	4-9 x10 ⁹ /л
⚠ Еритроцити	5.07	3.7-4.7 x10 ¹² /л
⚠ Гемоглобін	155	120-140 г/л
✓ Гематокрит	45.7	35-54 %
✓ MCV	90.1	76-96 фл
✓ MCH	30.6	27-33 пг
✓ MCHC	33.9	32-36 г/дл
✓ Тромбоцити	0.25	0.1-0.5 %
✓ RDW-SD	43.6	35-46 фл
✓ RDW-CV	13.2	12-15 %
✓ PDW	10.8	10-20 фл
✓ MPV	9.8	6-13 фл
✓ Тромбоцити	253	180-360 x10 ⁹ /л
⚠ Нейтрофіли (на 100 WBC)	40.7	47-72 %
✓ Нейтрофіли (абс.)	1.88	1.56-6.13 x10 ⁹ /л
⚠ Лімфоцити (на 100 WBC)	44.9	19-37 %
✓ Лімфоцити (абс.)	2.07	1.18-3.74 x10 ⁹ /л
✓ Моноцити (на 100 WBC)	6.1	3-10 %
✓ Моноцити (абс.)	0.28	0.24-0.82 x10 ⁹ /л
⚠ Еозинофіли (на 100 WBC)	7.4	0.5-5 %
✓ Еозинофіли (абс.)	0.34	0.04-0.36 x10 ⁹ /л
✓ Базофіли (на 100 WBC)	0.7	0-1%
✓ Базофіли (абс.)	0.03	0.01-0.08x10 ⁹ /л
Незрілі гранулоцити (на 100 WBC)	0.2	≤0.9 %
Незрілі гранулоцити (абс.)	0.01	≤0.06 x10 ⁹ /л
Загальне запалення		
	Результат	Норма
✓ ШОЕ	7	<30 мм/год

Ліпіди	Результат	Норма
✓ Тригліцериди	1.31	<1.7 ммоль/л
⚠ Холестерин	7.56	<5.0 - відсутність ризику <4.5 - для людей з ішемічною хворобою серця, цукровим діабетом ммоль/л
✓ ЛПВЩ	2.18	≥1.2 ммоль/л
⚠ ЛПНЩ	4.75	<3.0 - для груп низького ризику <2.6 - для груп помірного ризику <1.8 - для груп високого ризику <1.4 - для груп дуже високого ризику ммоль/л
✓ ЛПДНЩ	0.63	0.26-1.0 ммоль/л
✓ Коефіцієнт атерогенності	2.47	<3.0 ммоль/л
Нирки		
	Результат	Норма
✓ Сечовина	6	2.76-8.07 ммоль/л
✓ Сечова кислота	328	142.8-339.2 мкмоль/л
✓ Креатинін	71	44-80 мкмоль/л
✓ Загальний білок	70.6	66-87 г/л
Печінка		
	Результат	Норма
✓ Загальний білірубін	6.9	<21 мкмоль/л
✓ Прямий білірубін	3	≤5 мкмоль/л
Білірубін непрямий	3.9	75% від білірубіну загального мкмоль/л
⚠ Аланінамінотрансфераза	34	<33 Од/л
✓ Аспартатамінотрансфераза	25	<32 Од/л
⚠ Гама-глутаматтрансфераза	213	5-36 Од/л
✓ Лужна фосфатаза	79	35-104 Од/л
✓ Альбумін	44.3	35-52 г/л
Метаболізм		
	Результат	Норма
✓ Глюкоза	5.29	4.11-5.89 ммоль/л

КЛІНІЧНИЙ АНАЛІЗ КРОВІ

Показники		Результат	Норма(в одиницях)
HGB	Гемоглобін	Ч	130,0-165,0 г/л
		Ж	110,0-140,0г
RBC	Еритроцити	Ч	4,0-5,8 Т/л
		Ж	3,8-4,7 Т/л
Кольоровий показник		0,90	0,85-1,15
PLT	Тромбоцити	546	100,0-300,0 Г/л
WBC	Лейкоцити	5,24	4,0-10,0 Г/л
ШОЕ		Ч	1-10 мм/год
		Ж	2-15 мм/год
	Паличкоядерні	1	1,0-6,0%
	Сегментоядерні	47,2	47,0-72,0%
	Еозинофіли	1	0,5-5,0%
GRA %	Гранулоцити	49,2	40,0-70,0%
LYM %	Лімфоцити	29,7	20,0-50,0%
MON %	Моноцити	21,1	3,0-10,0%
	Плазматичні клітини		
GRA	Кільк гранулоцитів	2,57	2,0-7,8
LYM	Кільк. Лімфоцитів	1,56	0,6-4,10
MON	Кільк, моноцитів	1,11	0,1-0,9
HCT	Гематокріт	32,1	35-50
MCV	Серед, об'єм еритр.	66,3	80,0- 99,0
MCH	Серед.вм.гем.в ерит.	23	26,5-33,5
MCHC	Серед.Конц.гем.в ерит	352,0	320,-360,0
RDW-sd	Шир, розп, еритроц,за об СКВ	41,1	35,0-56,0
RDW-cv	Шир, розп, еритроц,за об КВ	13,2	10,0-15,0
MPV	Серед, об'єм тромбоц	8,3	7,0-11,0
PDW	Шир, розп.тромбоцит за об	15,1	10,0-18,0
PCT	Тромбокріт	0,45	0,10-0.50
P-LCR	Коеф вел тромбоцитів	22,4	13,00-43,00

26 липня 2023 р. лаборант  Козюк Я.В.

Бажаємо Вам, міцного здоров'я та миру!

3. Результати загального аналізу сечі.

Показник	Результат	Од.	Референтний інтервал
Аналіз сечі загальний (ЗАС + мікроскопія осаду)			[] Індикатор зони підвищеної уваги
Аналіз сечі загальний			
Доставлена кількість, мл	80	мл	
Колір	жовтий		від світло-жовтого до жовтого кольору
Прозорість	прозора		прозора
Відносна щільність	1.02	г/мл	1.002 - 1.030
pH	6		5.0 - 9.0
Лейкоцити	не виявлені	Leu/ μ L	не виявлені 25 = + 100 = ++ 500 = +++ Лейкоцити визначаються за активністю лейкоцитестерази.
Нітриди	не виявлені		не виявлені
Білок	не виявлений	г/л	не виявлений 0.25 = + 0.75 = ++ 1.5 = +++ 5.0 = ++++
Глюкоза	не виявлена	ммоль/л	не виявлена 3 = + 6 = ++ 17 = +++ 56 = ++++
Кетонові тіла	не виявлені	ммоль/л	не виявлені 0.5 = + 1.5 = ++ 5.0 = +++ 15 = ++++
Уробіліноген	сліди	мкмоль/л	сліди 17 = + 68 = ++ 135 = +++ 200 - 203 = ++++
Білірубін	не виявлений	мкмоль/л	не виявлений 17 = + 50 = ++ 100 = +++
Еритроцити	не виявлені	Ery/ μ L	не виявлені 10 = + 25 = ++ 50 = +++ 150 = ++++ 250 = +++++ Еритроцити визначаються за активністю псевдопероксидази.
Аналіз сечі: Мікроскопія осаду сечі			
Лейкоцити	до 5.0 в п/з		не виявлені, поодинокі в препараті, до 5.0 в п/зору
Еритроцити	не виявлені		не виявлені, поодинокі в препараті

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Альохіна Т.М. Лабораторний практикум з біохімії: Білки та ферменти. Кривий Ріг: Криворізький державний педагогічний університет, 2022. 77 с.
2. Біологічна і біоорганічна хімія. Підручник у 2 томах / Л.І. Остапченко, В.К. Рибальченко. К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2015. 918 с.
3. Біологічна хімія: методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт для студентів біологічного факультету денної та заочної форми навчання/упорядники Белчгазі В.Й., Сікура А.О., Глюдзик М.Ю. Ужгород, 2017. 55 с.
4. Біохімія людини: підручник / Я.І. Гонський, Т.М. Максимчук; за ред. Я.І.Гонського. 3-тє вид., випр. і доповн. Тернопіль: ТДМУ, 2017. 732 с.
5. Біохімія. Практикум / Л.І. Остапченко, І.В.Компанець, О.В. Скопенко та ін. К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2018. 296 с.
6. Григорюк І.П., Бойко О.А., Прилуцька С.В. Фізіологія рослин з основами біохімії. Практикум. Київ: Видавництво ТОВ «Аграр Медіа Груп». 2014. 148 с.
7. Губський Ю.І. Біологічна хімія. Київ-Вінниця:, Нова книга, 2017. 656с.
8. Гусак В.В., Абраг О.Б. Біохімія крові. Короткий курс. Навчальний посібник. Івано-Франківськ. 2023. 127 с.
9. Клінічна біохімія: пер. 7-го вид. / Майкл Мерфі, Раджив Шривастава, Кевін Дінс; наук. ред. укр. вид. Любов Лаповець. – К.: ВСВ «Медицина», 2024. – VIII, 183 с.
10. Копильчук Г.П., Николайчук І.М. Лабораторний практикум із біохімії: навч.-метод. посібн. Чернівці : Чернівець. нац. ун-т ім. Ю. Федьковича, 2019. 144 с.
11. Кучеренко М.Є., Бабенюк Ю.Д., Войціцький В.М. Сучасні методи біохімічних досліджень. К.: Фітосоціоцентр, 2021. 424 с.
12. Кучменко О.Б. Біохімія рослин. Метаболічний атлас (в схемах і таблицях): навчально-методичний посібник. Ніжин: НДУ ім. М.Гоголя, 2020. 170 с.

13. Лабораторний практикум з біохімії. Методичні рекомендації до лабораторних робіт зі змістового модулю «Білки і пептиди» для студентів біологічного факультету денної та заочної форми навчання/ упорядники Колесник А.В., Сікура А.О. Ужгород, 2023. 33 с.
14. Механізми біохімічних реакцій: навч. посіб.: [для студ. вищ. навч. закл.] / [Н. О. Сибірня, Г. Я. Гачкова, О. Г. Стасик та ін.]; за ред. проф. Н. О. Сибірної. Видання третє, доповнене. Львів: ЛНУ ім. Івана Франка, 2021. 320 с. Серія «Біологічні Студії».
15. Нельсон, Дейвід Лі, Основи біохімії за Ленінджером / Дейвід Л. Нельсон, Майкл М. Кохс ; [пер. з англ. О. Матишевська та ін. ; наук. ред. пер. С. Комісаренко та ін. ; ред. М. Мартиняк]. – Львів : БаК, 2015. 1256 с.
16. Омелянчик Л.О. Біохімія: методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Біологія» освітньо-професійної програми «Біологія» денної та заочної форм навчання / Л.О. Омелянчик, В.І. Генчева, Н.В. Новосад. Запоріжжя : Запорізький національний університет, 2018. 60 с
17. Прилуцька С.В., Гринюк І.І., Ткаченко Т.А. Біохімія. Навчальний посібник. Київ: Редакційно-видавничий відділ НУБіП України. 2022. 192 с.
18. Прилуцька С.В., Демчук Т.Л., Бойко О.А., Коломієць Ю.В. Навчально-методичні рекомендації з «Біохімії». Київ: Видавничий центр НУБіП України, 2012. 44 с.
19. Тарасенко Л.М., Непорада К.С., Григоренко В.К. Функціональна біохімія. Вінниця, Нова книга, 2017. 378с.
20. Nelson D.L., Cox M.M. Lehninger Principles of Biochemistry. Publisher: W.H. Freeman (15th Edition), 2022, ISBN-10: 0-7167-7108-X. ISBN-13: 978-0-7167-7108-1. 1100 p.
21. Thomas D. Pollard, William C. Earnshaw, Ph. D. Cell biology. Elsevier Science (USA), 2022. 804 p.

Навчальне видання

О. Б. КУЧМЕНКО, Ю. М. ПАЛИВОДА

БІОХІМІЯ

*Навчально-методичний посібник
для виконання лабораторних
робіт та самостійної роботи студентів*

Технічний редактор – І. П. Борис
Верстка, макетування – О. В. Борщ

Книга друкується в авторському редагуванні.

Підписано до друку 16.01.25 р.	Формат 60x84/16	Папір офсетний
Гарнітура Times	Обл.-вид. арк. 3,6	Електронне вид-ня
Замовлення № 01	Ум. друк. арк. 6,27	



Ніжинський державний університет
імені Миколи Гоголя.
м. Ніжин, вул. Воздвиженська, 3^А
(04631) 7–19–72
E-mail: vidavn_ndu@ukr.net
www.ndu.edu.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи
ДК № 2137 від 29.03.05 р.