

Ніжинський державний університет  
імені миколи гоголя  
Кафедра хімії та фармації

МОСКАЛЕНКО О. В., СЕМЕНІХІН А. В.

# **БІОХІМІЯ**

*Лабораторний практикум  
для студентів II курсу  
спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація»*

Ніжин – 2023

УДК 577.1(075.8)  
М82

Рекомендовано до друку Вченою радою  
Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя  
(НДУ ім. М. Гоголя)  
Протокол № 13 від 03.06.2022 р.

**Рецензенти:**

*Демченко А. М.* – доктор фармацевтичних наук, професор кафедри хімії та фармації Ніжинського державного університету імені Миколи Гоголя;

*Янченко В. О.* – кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедри хімії, технологій та фармації Національного університету "Чернігівський колегіум" імені Т.Г.Шевченка,

**Москаленко О. В., Семеніхін А. В.**

М82 Біохімія: лабораторний практикум для студентів II курсу спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація». Ніжин: НДУ імені Миколи Гоголя, 2022. 87 с.

*У практикумі наведено методи якісного та кількісного аналізу вуглеводів, ліпідів, амінокислот, білків, нуклеїнових кислот, вітамінів у живих організмах та їх субструктурах.*

*Навчальний посібник призначений для студентів закладів вищої освіти, що навчаються за хімічним та фармацевтичним напрямком, а також може бути корисним для викладачів та вчителів хімії різнорівневих закладів освіти з поглибленим вивченням хімічних дисциплін.*

**УДК 577.1(075.8)**

© НДУ ім. М.Гоголя, 2022

© Москаленко О.В., Семеніхін А.В., 2022

## ЗМІСТ

|  |    |
|--|----|
| Правила техніки безпеки роботи в хімічній лабораторії .....  | 4  |
| Лабораторна робота №1. Кольорові реакції на білки.....   | 6  |
| Лабораторна робота № 2. Реакції осадження білків.....  | 13 |
| Лабораторна робота № 3. Виділення, очищення та фракціонування білків висо-<br>лювання білків .....   | 18 |
| Лабораторна робота № 4. Визначення ізоелектричної точки білка.....   | 20 |
| Лабораторна робота № 5. Нативний електрофорез білків нативний<br>електрофорез у ПААГ. Розділення білкових молекул методом<br>електрофорезу. електрофоретичне дослідження суміші маркерних білків. .... | 22 |
| Лабораторна робота № 6. Властивості ферментів: специфічність, вплив темпе-<br>ратури сердовища, активаторів й інгібіторів на активність ферментів.....   | 27 |
| Лабораторна робота № 7. Дослідження складових нуклеїнових кислот.....  | 3  |
| Лабораторна робота № 8. Визначення хімічних параметрів жирів. ферментатив-<br>ний гідроліз жиру молока.....  | 40 |
| Лабораторна робота № 9. Якісні реакції на вітаміни .....   | 45 |
| Лабораторна робота № 10. Кількісне визначення вітаміну С в біологічних<br>об'єктах.....  | 55 |
| Лабораторна робота № 11. Визначення загального білка<br>в біологічних об'єктах .....   | 57 |
| Лабораторна робота № 12. Визначення концентрації глюкози в зразках<br>біологічного об'єкту за допомогою фотометра .....  | 59 |
| Лабораторна робота № 13. Визначення лактози молока.....  | 61 |
| Лабораторна робота № 14. Визначення креатиніну .....   | 62 |
| Лабораторна робота № 15. Визначення каротину в рослинах.....   | 64 |
| Тестові завдання .....   | 67 |
| Перелік інформаційних джерел .....   | 86 |

## **ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ РОБОТИ В ХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ**

З метою запобігання нещасних випадків при роботі в біохімічній лабораторії необхідно дотримуватись наступних правил техніки безпеки:

- кожен працюючий до початку експерименту повинен добре ознайомитися із властивостями речовин і необхідними умовами безпечного проведення досліду з урахуванням можливих побічних реакцій;
- при роботі в біохімічній лабораторії необхідно захищати тіло й одяг від попадання хімічних речовин. Це досягається завдяки охайності та чіткості в роботі, використанню спецодягу і засобів індивідуального захисту (халати, косинки, шапочки, гумові рукавиці, окуляри);
- не дозволяється зберігати реактиви в посуді без етикеток. Не можна проводити досліди у брудному посуді, його необхідно мити одразу ж після закінчення експерименту;
- при роботі у витяжній шафі, з метою більш ефективної дії вентиляції, треба підняти віконце на 1/3-1/2 висоти. Після закінчення роботи необхідно прикрити віконце шафи;
- у випадку припинення дії вентиляції всі роботи у витяжній шафі, що пов'язані з виділенням шкідливих газів і пару, негайно припинити;
- по закінченню роботи у лабораторії, обов'язково вимикати електричні прилади, витяжні шафи, газові та водопровідні крани.
- у лабораторії категорично забороняється їсти, палити, користуватися косметикою, зберігати харчові продукти в холодильниках з хімічними речовинами.

### **ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ ПІД ЧАС РОБОТИ ЗІ СКЛЯНИМ ПОСУДОМ**

У біохімічних дослідженнях, незважаючи на деякі випадки заміни скла іншими матеріалами, перш за все полімерними, скляний посуд залишається основним. Одна з основних вимог техніки безпеки при роботі з лабораторним скляним посудом - є відповідність марки скла характеру роботи. Так, нагрівання можна проводити тільки у термостійкому посуді, а роботи під вакуумом або при підвищеному тиску - тільки у спеціально призначених для цього скляних приладах. Не можна для подібних робіт використовувати посуд, який має дефекти.

При роботі з рідинами не можна проводити їх нагрівання у закритих колбах або приладах, що не мають сполучення з атмосферою.

Категорично забороняється використовувати посуд, що має тріщини або відбиті краї. Нагрівання пробірок треба проводити поступово, і вона повинна знаходитись у нахиленому положенні для того, щоб бризки вдарялися до стінки і не виплескувалися назовні. При нагріванні рідини в пробірці її отвір треба направляти від себе і від інших працюючих.

### **ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ ПІД ЧАС РОБОТИ З НЕБЕЗПЕЧНИМИ ХІМІЧНИМИ РЕЧОВИНАМИ**

При роботі з порошкоподібними реактивами необхідно користуватись фарфоровими ложечками, лопаточками або шпателями. Великі частинки речовин треба брати тигельними щипцями. Не можна брати реактиви пальцями.

Категорично забороняється пробувати будь-які реактиви на смак. Якщо реактив треба понюхати, то його не можна безпосередньо підносити до носа, а слід направляти на себе долонею потік газу, що виділяється, для того щоб дійшла лиш незначна його частина.

При змішуванні концентрованих сульфатної, нітратної кислот користуються тільки тонкостінним хімічним або фарфоровим посудом.

Для запобігання розбризкування при розведенні концентрованої сульфатної кислоти потрібно виливати кислоту у воду, а не навпаки.

При попаданні на тіло кислоти, негайно зняти її ганчіркою та змити великою кількістю води, після чого уражене місце обробити 10 % розчином питної соди.

При попаданні на шкіру лугу вражене місце змивати водою, аж доки воно не перестане бути слизьким, а потім нейтралізувати розчином борної кислоти.

Луги у високих концентраціях призводять до опіків усіх ступенів, тому при роботі з розчинами необхідно вживати заходи проти їх розбризкування і користуватись захисним спецодягом та окулярами.

Наповнення піпеток концентрованими кислотами, лугами шляхом всмоктування ротом категорично забороняється. Для цього потрібно користуватись спеціальними піпетками з гумовими грушами.

## **ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ**

### **ПІД ЧАС РОБОТИ З ЛЕГКОЗАЙМИСТИМИ РІДИНАМИ**

При роботі з рідинами (ацетон, ефір, бензол та інші) необхідно:

- тримати і переливати їх на віддалі від вогню;
- не гріти на відкритому вогні, а тільки на водяній бані;
- не виливати в раковину.

При роботі з масляними банями користуватися термометром і слідкувати, щоб масло не нагрілось вище температури загорання.

У випадку загорання рідин негайно погасити всі пальники і вимкнути всі електроприлади. Накрити вогонь покривалом, а при необхідності засипати піском або використати вогнегасник.

Про все що трапляється під час заняття в лабораторії негайно повідомляти викладача.

## Лабораторна робота №1 КОЛЬОРОВІ РЕАКЦІЇ НА БІЛКИ

**Білки** - це біополімери складної будови, макромолекули яких складаються із залишків амінокислот, що з'єднані між собою амідним (пептидним) зв'язком.

Крім довгих полімерних ланцюгів, що побудовані із залишків амінокислот, до макромолекули білка можуть входити також залишки або молекули інших органічних сполук. На кожному поліпептидному ланцюгу є вільна аміногрупа та вільна карбоксильна група. Кінець ланцюга, що містить залишок амінокислоти з вільною аміногрупою, називається N-кінцем, а кінець з карбоксильною групою — C-кінцем.

Групи, що входять до складу радикала R, можуть взаємодіяти одна з одною, а також з іншими білками або молекулами. Це призводить до утворення складних та різноманітних структур.

Кількість амінокислотних залишків, що входять до молекули білка досить різна. Наприклад: в інсуліні - 51, в міоглобіні - біля 140. Тому і відносна молекулярна маса білків варіює у широких межах від 10 тисяч до кількох мільйонів.

Речовини білкової природи (складаються із залишків амінокислот, з'єднаних між собою пептидним зв'язком), які мають значно меншу молекулярну масу та ступінь просторової організації називають *пептидами*.

Провести різку межу між білками та пептидами важко.

Білки поділяються на дві великі групи:

прості білки – **протеїни** – білки, що складаються лише із залишків амінокислот;

складні білки – **протеїди** – побудовані із протеїнів, що з'єднані з молекулами іншого типу (простетичними групами).

**Протеїни поділяють:**

*Альбуміни* — гарно розчиняються у воді. Містяться у молоці, яєчному білку, крові.

*Глобуліни* — у воді не розчиняються, але розчиняються у розведених розчинах солей. До глобулінів належать глобуліни крові, м'язовий

*Глутеліни* — розчиняються у розведених розчинах лугів. Зустрічаються у рослинах.

*Склеропротеїни* — нерозчинні білки. До них належать кератини, колаген, фібрин.

**Протеїди поділяють:**

*Фосфопротеїди* — містять залишки молекул фосфатної кислоти. Наприклад, вітелін — білок, що міститься у яєчному жовтку, білок молока — казеїн. білок міозин.

*Глікопротеїди* — містять залишки вуглеводів. Входять до складу хрящів, рогів, слини.

*Хромопротеїди* — містять молекулу забарвленої речовини, на зразок порфіну. Відомими хромопротеїдами є гемоглобін та цитохроми.

*Нуклеопротеїди* (лат. *nucleus* - ядро) — містять у своєму складі нуклеїнові кислоти. Вони є складовими частинами клітинних ядер.

## Рівні організації білкових молекул

*Первинна структура* - характеризує послідовність розміщення амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюгу. *Вторинна структура* - просторова форма білкового ланцюга, його орієнтація та спосіб укладання в просторі. Розрізняють спіральну та пошарово- складчасту структуру.

*Третинна структура* - тривимірна організація білкової молекули. Утворюється при складанні вторинної структури. Третинна структура є специфічною для кожного білка і тому дістала назву — нативної конформації.

*Четвертинна структура* - являє собою взаємне розміщення структур (протомерів), що утворились при третинній структурі. Саме четвертинна структура характерна для білків, що мають велику молекулярну масу (понад 50 тис.).

## Фізико-хімічні властивості білків

Білки – колоїдні структури які мають здатність до:

- Опалесценції – здатності розсіювати світло.
- Коагуляції – злипанню часточок дисперсної фази, внаслідок чого білок випадає в осад.
- Синерезису – самовільному виділенню рідини з колоїдної системи.
- Набрякання – явищу, яке є зворотнім до синерезису.
- Денатурації – часткового або повного руйнування просторової будови при збереженні первинної структури, яке призводить до втрати природніх (нативних) властивостей молекули білка.

## ЯКІСНА РЕАКЦІЯ НА ПЕПТИДНИЙ ЗВ'ЯЗОК.

### БІУРЕТОВА РЕАКЦІЯ

Назва реакції пішла від назви модельної сполуки — біурету. Він має зв'язок ідентичний до пептидного. *Але біурет не є білком!*

Реакція дуже чутлива і дозволяє встановити наявність білка при розбавленні 1:10000.

Біурет одержують шляхом сплавлення двох молекул сечовини.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, пальник, пробіркотримачі, сірники, піпетки, скляні палички, мірні циліндри.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин яєчного білку (відділяють білки курячих яєць, розчиняють їх у воді у співвідношенні 1:20 і фільтрують через 3 шари марлі), сечовина кристалічна, розчийг з масовою часткою натрій гідроксиду 10%, розчин з масовою часткою купрум (II) сульфату 1%.

### Хід роботи

Спочатку проводять реакцію з біуретом, а потім із розчином білку. У суху пробірку насипають приблизно 0,5 г сечовини, розплавляють її при нагріванні. Спостерігають утворення біурету і появу запаху аміаку. Пробірку охолоджують, додають до біурету 1-2 мл розчину з масовою часткою натрій гідроксиду 10% і 1-2 краплі розчину купрум (II) сульфату 1%, потім збовтують і спостерігають рожево-фіолетове забарвлення розчину. У пробірку наливають 1 мл розчину білку, додають такий самий об'єм розчину з масовою часткою натрій гідроксиду

10% і 1-2 краплі розчину з масовою часткою купрум (II) сульфату 1% і перемішують. Порівняйте забарвлення розчинів у пробірках. Зробіть висновки.

### **ЯКІСНА РЕАКЦІЯ НА АМІНОКИСЛОТИ.**

#### **НІНГІДРИНОВА РЕАКЦІЯ**

Білки, поліпептиди і вільні  $\alpha$ -амінокислоти дають з нінгідрином (трикетогідрінденгідратом) синє або фіолетове забарвлення. Реакція характерна для аміногрупи і зумовлена наявністю  $\alpha$ -амінокислот у молекулі білку.

Реакція полягає в тому, що при нагріванні білку з водним розчином нінгідрину  $\alpha$ -амінокислоти окиснюються киснем нінгідрину і зазнають окиснювального дезамінування з утворенням аміаку і декарбоксілюванням з утворенням альдегіду і  $\text{CO}_2$ . Нінгідрин при цьому відновлюється.

Відновлений нінгідрин, конденсуючись з аміаком і окисленою молекулою нінгідрину, утворює барвник, що має фіолетовосиній колір.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, пальник, пробіркотримач, сірники, піпетки, скляні палички, мірні циліндри

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин яєчного білка, спиртовий розчин з масовою часткою нінгідрину 0,2%, розчин з масовою часткою глікоколу (гліцину) 0,1 %.

#### **Хід роботи**

Спочатку реакцію проводять з глікоколом, а потім з розчином білку. У пробірку наливають 1 мл розчину з масовою часткою глікоколу 0,1%, додають 3-4 краплі розчину з масовою часткою нінгідрину 0,2% і нагрівають до кипіння. Спостерігають появу фіолетового забарвлення.

У другу пробірку наливають 1 мл розчину білку, а потім кілька крапель розчину нінгідрину. Пробірку нагрівають до кипіння і після охолодження спостерігають синьо-фіолетове забарвлення.

### **ЯКІСНА РЕАКЦІЯ НА АРОМАТИЧНІ АМІНОКИСЛОТИ.**

#### **КСАНТОПРОТЕІНОВА РЕАКЦІЯ**

Білки, які мають у своєму складі ароматичні амінокислоти — тирозин, триптофан, фенілаланін — під дією нітратної кислоти дають *ксантопротеїнову реакцію*. Назва реакції походить від грецького "ксантос", що означає жовтий. Ця реакція зумовлена нітруванням бензольного кільця циклічних амінокислот з утворенням нітросполук жовтого кольору.

Якщо до утвореного розчину нітросполук додати розчин натрій гідроксиду або амоніаку, з'являється помаранчове забарвлення. Такі білки, як желатина, не мають циклічних амінокислот і тому не дають ксантопротеїнової реакції. Як модельну сполуку використовують фенол.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, пальник, пробіркотримачі, сірники, піпетки, скляні палички, мірні циліндри.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин яєчного білка, розчин з масовою часткою желатини 1%, розчин з масовою часткою фенолу 0,1%, концентрована нітратна кислота, розчин з масовою часткою натрій гідроксиду 20%.



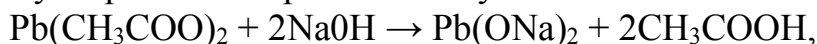
### Хід роботи

У пробірку наливають 1-2 мл розчину з масовою часткою фенолу 0,1% і додають 1 мл концентрованої нітратної кислоти. При обережному нагріванні з'являється жовте забарвлення. В одну пробірку наливають 1 мл розчину яєчного білку, а в другу - 1 мл розчину з масовою часткою желатини 1%. В обидві пробірки додають декілька крапель концентрованої нітратної кислоти. В кожній пробірці з'являється осад денатурованого білку, який у пробірці з яєчним білком при нагріванні забарвлюється у жовтий колір. У пробірку з яєчним білком (жовтий колір) наливають розчин з масовою часткою натрій гідроксиду 20% і спостерігають перехід жовтого забарвлення в помаранчове.

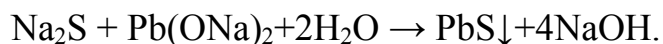
### ЯКІСНА РЕАКЦІЯ НА СІРКОВМІСНІ АМІНОКИСЛОТИ. РЕАКЦІЯ ФОЛЯ

Наявність у складі білку цистеїну або цистину можна виявити за допомогою реакції Фоля. Модельною сполукою є цистеїн. Реакція полягає в тому, що при кип'ятінні білку з лугом від цистеїну і цистину легко відщеплюється сірка у вигляді сірководню, який у лужному середовищі дає натрій сульфід:

Натрій сульфід легко виявити за реакцією з плюмбум (II) ацетатом, який реагує з лугом з утворенням натрій плюмбіту:



а натрій сульфід при взаємодії з натрій плюмбітом дає чорний осад плюмбум (II) сульфід:



Метіонін цієї реакції не дає, тому що сульфур у ньому зв'язаний з метильною групою.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, пальник, пробіркотримачі, сірники, піпетки, скляні палички, мірні циліндри.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Нерозбавлений яєчний білок, розчин з масовою часткою желатини 1%, шматочки нігтів, волосся, розчин з масовою часткою плюмбум (II) ацетату 5%, розчин з масовою часткою натрій гідроксиду 20%.

### Хід роботи

У першу пробірку наливають 3 мл яєчного білку, в другу — 3 мл розчину желатини, в третю вміщують шматочки нігтя або волосся. У кожну з пробірок додають такий самий об'єм натрій гідроксиду і 1,5 мл розчину плюмбум (II) ацетату. Суміш усіх пробірок нагрівають до кипіння, після дають постояти 2-3 хв. При стоянні випадає бурий або чорний осад. У пробірці з розчином желатини цього не відбувається, оскільки желатин майже не містить сірковмісних амінокислот.

### НІТРОПРУСИДНА РЕАКЦІЯ

**Обладнання.** Штатив з пробірками, пальник, пробіркотримачі, сірники, піпетки, скляні палички, водяна баня, годинник.

**Реактиви і матеріали дослідження.** 1% розчин яєчного білка, розчину лугу, нітропрусид натрію.

### Хід роботи

До 10 крапель 1% розчину яєчного білка додають 10 крапель розчину лу-гу, інтенсивно кип'ятять, після охолодження доливають 3-5 крапель свіжоприготованого нітропрусиду натрію, після чого з'являється червоно-фіолетове забарвлення.

### РЕАКЦІЯ АДАМКЕВИЧА

Триптофан у кислому середовищі вступає в реакцію з гліоксиловою кислотою (альдегідами), утворюючи забарвлені в червоно-фіолетовий колір продукти конденсації.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, пальник, пробіротримачі, сірники, піпетки, скляні палички, водяна баня, годинник.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Водний 0,01%-й розчин триптофану, льодяна оцтова кислота, концентрована сірчана кислота.

### Хід роботи

До 0,5 мл розчину триптофану додають 0,5 мл льодяної оцтової кислоти, яка завжди містить невелику кількість гліоксилової кислоти. Отриману суміш спочатку нагрівають, а потім охолоджують і по стінці пробірки обережно, по краплинам, щоб рідини не змішувалися, додають 1 мл концентрованої сірчаної кислоти. Через 10 хв на межі розподілу двох шарів утворюється червоно-фіолетове кільце. Реакцію можна прискорити, якщо поставити пробірку з реагуючою сумішшю в киплячу водяну баню.

### Завдання для опрацювання теми

#### **Завдання 1. Напишіть реакції та розкрийте принципи методів**

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

Принцип методу: \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

##### ***2. Нінгідрінова реакція***

Принцип методу: \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

##### ***3. Ксантопротеїнова реакція***

Принцип методу: \_\_\_\_\_

---

---

---

---

---

**4. Реакція Адамкевича****Принцип методу:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_**5. Реакція Фоля****Принцип методу:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_**6. Нітропрусидна реакція****Принцип методу:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Завдання 2.** Для вказаної суміші амінокислот та пептидів заповніть таблицю результатів та зробіть висновки.

| <i>№ варіанту</i> | <i>Дослідна рідина містить:</i>                                   |
|-------------------|---|
| 1                 | Білок з наступним амінокислотним складом: Мет- Глу-Сер-Про-Фен    |
| 2                 | Суміш наступних амінокислот: Трп, Цис, Ліз, , Лей, Іле            |
| 3                 | Пептид з наступним амінокислотним складом: Сер-Тир-Тре- Арг-Фен   |
| 4                 | Білок з наступним амінокислотним складом: Іле-Вал-Глу-Цис-Тир     |
| 5                 | Суміш наступних амінокислот: Про, Трп, Гіс, Мет, Ліз              |
| 6                 | Пептид з наступним амінокислотним складом: Фен-Арг- Про-Тир-Глн   |
| 7                 | Білок з наступним амінокислотним складом: Глу-Ліз- Цис -Мет-Тир   |
| 8                 | Суміш наступних амінокислот: Асн, Глі ,Сер, Трп, Фен              |
| 9                 | Пептид з наступним амінокислотним складом: Гіс- Вал-Фен- Ала-Цис  |
| 10                | Білок з наступним амінокислотним складом: Глу- Мет-Про- Тир-Фен   |
| 11                | Суміш наступних амінокислот: Мет, Ліз, Трп, Іле,Лей               |
| 12                | Пептид з наступним амінокислотним складом: Трп- Сер-Тре- Арг-Фен  |
| 13                | Білок з наступним амінокислотним складом: Лей- Цис -Глу- Вал -Тир |
| 14                | Суміш наступних амінокислот: Про, Мет ,Трп ,Арг, Ліз.             |
| 15                | Пептид з наступним амінокислотним складом: Цис-Фен -Тир-Про- Глн  |
| 16                | Суміш наступних амінокислот: Глі, Асн, Мет, , Трп, Фен            |
| 17                | Пептид з наступним амінокислотним складом: Гіс-Тир-Вал-Ала-Цис    |
| 18                | Білок з наступним амінокислотним складом: Глу-Трп- Про-Мет- Фен   |

**Таблиця результатів для завдання 2**  
(заповніть у відповідності до номеру вашого варіанту).

Варіант №

| Назва реакції           | Спостереження<br>(позитивна реакція «+»;<br>негативна реакція «-») | Висновки  |                    |
|-------------------------|--|---|--------------------|
|                         |  | Амінокислоти та/або пептиди і білки, що виявлені за допомогою реакції | Загальний висновок |
| <i>Біуретова</i>        |  |   |                    |
| <i>Нінгідрінова</i>     |  |   |                    |
| <i>Ксантопротеїнова</i> |  |   |                    |
| <i>Адамкевича</i>       |  |   |                    |
| <i>Фоля</i>             |  |   |                    |
| <i>Нітропрусидна</i>    |  |   |                    |

## Лабораторна робота № 2 РЕАКЦІЇ ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ

Розрізняють необоротні та оборотні реакції осадження білків. *Необоротні реакції* осадження білків відбуваються тоді, коли білки зазнають глибоких змін у просторовій нативній структурі молекули, внаслідок яких втрачається здатність білка розчинятись у звичайних для них розчинниках (воді, розчинах солей тощо). Білки при цьому втрачають гідрофільні властивості і набувають гідрофобних. У цьому випадку відбувається процес денатурації білків, який зводиться до руйнування нативної вторинної і третинної структур білків. Білки, як правило, втрачають свої біологічні властивості. До необоротних процесів належать, осадження білків при нагріванні, солями важких металів, мінеральними і органічними кислотами тощо.

*Оборотні реакції* відбуваються тоді, коли білки, які осаджуються, не зазнають глибоких змін і добути осади можна знову розчинити у вихідному розчиннику. Молекула білка при цьому зберігає свої попередні нативні властивості. До оборотних реакцій належать осадження білків органічними розчинниками (спирт, ацетон) при нетривалій дії їх і при низькій температурі, реакції висолювання (осадження концентрованими розчинами середніх солей лужних і лужноземельних металів:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{MgSO}_4$  тощо).

Значення реакцій осадження полягає в тому, що вони дають можливість вивчати властивості білків: фракціонувати суміші білків, коли треба відокремити один білок від іншого (наприклад, альбуміни від глобулінів); установити наявність білка в сечі при деяких паталогічних станах організму (захворювання нирок, порушення серцевої діяльності тощо).

### ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ НАГРІВАННЯМ

Більшість білків тваринного походження при нагріванні до 45-100° С денатурують. Таку денатурацію можна пояснити тим, що під впливом високої температури фактори, що стабілізують структуру нативної молекули білка (водневі зв'язки, гідрофобні взаємодії) перестають діяти. Після охолодження виникають нові зв'язки і взаємодії, що спричинює зміну структури молекули білка.

Осаджують білки нагріванням у нейтральному або слабнокислому середовищі. У сильноокислих і лужних середовищах розчини білків при нагріванні не коагулюють і осаджуються лише при додаванні достатньої кількості будь-якої середньої солі ( $\text{NaCl}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  тощо).

Стійкість білка у розчині залежить від набування позитивного заряду в кислому середовищі і посилення негативного заряду в лужному. Найкраще осаджуються білки нагріванням в ізоелектричній точці. Отже, важливу роль в осадженні білків нагріванням відіграє концентрація водневих іонів і наявність солей.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, пальник, пробіротримачі, сірники, піпетки, скляні палички, мірні циліндри.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин яєчного білку, розчин з масовою часткою ацетатної кислоти 1%, розчин з масовою часткою ацетатної кислоти 10%, розчин з масовою часткою нагрій гідроксиду 10%, насичений розчин натрій хлориду.

### Хід роботи

Наливають у 5 пробірок по 5 мл розчину білка. Нейтральний розчин білка у першій пробірці нагрівають до кипіння. Рідина стає каламутною, спостерігається опалесценція, зумовлена руйнуванням гідратних оболонок навколо білка і збільшенням його часточок. Але міцели білка несуть заряд і тому залишаються в розчині, не випадаючи в осад.

Розчин білка в другій пробірці нагрівають до кипіння і додають 1 мл розчину з масовою часткою ацетатної кислоти 1% до слабокислої реакції. При відстоюванні білок випадає в осад. У цих умовах часточки білка втрачають заряд, тому що рН середовища близьке до ізоелектричного стану.

У третю пробірку додають 3 мл розчину з масовою часткою ацетатної кислоти 1% для утворення кислої реакції середовища. При кип'ятінні рідини осад не утворюється, оскільки молекули білка набувають позитивного заряду, що підвищує їх стійкість.

У четверту пробірку доливають 5 мл розчину з масовою часткою ацетатної кислоти 1%, 2 мл насиченого розчину натрій хлориду і нагрівають. Випадання білого осаду білка зумовлене тим, що молекули білка при взаємодії з іонами натрій хлориду втрачають свій заряд.

У п'яту пробірку додають 2 мл розчину з масовою часткою натрій гідроксиду 10%, створюючи лужне середовище. При кип'ятінні рідини осад не утворюється, тому що в лужному середовищі збільшується негативний заряд білка.

### Принцип методу

---

---

---

---

---

## ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ МІНЕРАЛЬНИМИ КИСЛОТАМИ

Концентровані мінеральні кислоти осаджують білки внаслідок дегідратації білкових молекул, а також утворенням комплексних солей білка з кислотами. У надлишку всіх мінеральних кислот, крім нітратної, осад білка розчиняється. Ортофосфатна кислота осаду не дає.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, пальник, пробіротримачі, сірники, піпетки, скляні палички, мірні циліндри.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин яєчного білка, концентровані хлоридна, сульфатна, нітратна кислоти.

### Хід роботи

В одну пробірку наливають 3 мл концентрованої нітратної кислоти, в другу – 3 мл хлоридної кислоти. Обережно додають по стінці пробірки 3 мл розчину білка так, щоб обидві рідини не змішалися. На межі поділу двох рідин утворюється осад у вигляді білого кільця. Обережно перемішують і додають надлишок кислот у пробірки; у третю пробірку до розчину білка обережно по

стінці пробірки додають кілька краплин концентрованої сульфатної кислоти. Випадає осад. Додають надлишок кислоти і відмічають розчинність денатурованого білка в другій та третій пробірках та відсутність розчинення в пробірці з нітратною кислотою.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### **ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ ОРГАНІЧНИМИ КИСЛОТАМИ**

Для осадження білків широко використовують трихлорацетатну  $\text{CCl}_3\text{COOH}$  і сульфосаліцилову  $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})(\text{COOH})\text{SO}_3\text{H}$  кислоти. Трихлорацетатна кислота осаджує тільки білки і не осаджує продукти розпаду білків; сульфосаліцилова кислота, крім білків, осаджує також високомолекулярні поліпептиди.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, пробіркотримачі, піпетки, скляні палички, мірні циліндри.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин яєчного білка, розчин з масовою часткою сульфосаліцилової кислоти 20%, розчин з масовою часткою трихлорацетатної кислоти 5%.

### **Хід роботи**

У дві пробірки наливають по 5 мл розчину білка. Потім у першу пробірку додають 1 мл розчину з масовою часткою сульфосаліцилової кислоти 20%, а в другу – 2 мл розчину з масовою часткою трихлорацетатної кислоти 10%. Спостерігають випадання осаду білка.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### **ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ ІОНАМИ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

Солі важких металів (Купруму, Меркурію, Цинку, Аргентуму, Плюмбуму) осаджують білки з розчинів, утворюючи солеподібні і комплексні сполуки, в основному з сульфогідрильними групами білків. Осадження зумовлене адсорбцією важкого металу на поверхні білкової молекули. Осад денатурованого білка розчиняється у надлишку деяких солей (наприклад, купрум(II) сульфату). Це розчинення можна пояснити тим, що надлишок іонів металу, адсорбуючись, спричиняє перезарядку білкового комплексу, внаслідок чого в розчин перехо-

дить комплекс зміненого білка з металом.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, пробіротримачі, піпетки, скляні палички, мірні циліндри.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин яєчного білка, розчин з масовою часткою  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  0,1%, розчин з масовою часткою  $\text{CuSO}_4$  1%. розчин з масовою часткою  $\text{Pb}(\text{OOCCH}_3)_2$  1%.

### Хід роботи

У три пробірки наливають по 3 мл розчину білка. В одну добавляють 1 мл розчину з масовою часткою  $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$  0.1%; у другу – 2-3 краплини розчину з масовою часткою  $\text{CuSO}_4$  1%; у третю — 2-3 краплини розчину з масовою часткою  $\text{Pb}(\text{OOCCH}_3)_2$  1%. Спостерігають утворення осаду.

У пробірки з осадом білка, добутим осадженням розчинами  $\text{CuSO}_4$  і  $\text{Pb}(\text{OOCCH}_3)_2$ , добавляють надлишок розчину цих солей. Спостерігають розчинення осаду.

### Принцип методу

---

---

---

---

---

### ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ ОРГАНІЧНИМИ РОЗЧИННИКАМИ

У таких органічних розчинниках, як спирт, ацетон, ефір тощо, білки не розчиняються, а випадають в осад. Осаджувальна дія розчинників зумовлена зневодненням (дегідратацією) молекул білків, що значно знижує їхню стійкість в розчинах.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, піпетки, скляні палички, мірні циліндри.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин білка, етанол, ацетон, хлороформ, насичений розчин натрій хлориду.

### Хід роботи

У три пробірки наливають по 3 мл розчину білка. В першу пробірку добавляють 3 мл етанолу; в другу – 3 мл ацетону; в третю – 3 мл хлороформу. Розчин стає каламутним. Добавляють 1 мл насиченого розчину натрій хлориду. Через деякий час білок випадає в осад.

*Результати і висновки занесіть у загальну таблицю*

| Речовини/фактори осадження | Результат | Висновки |
|----------------------------|-----------|----------|
| 1                          | 2         | 3        |

**Реакції зворотного осадження білків. Розділення альбумінів і глобулінів**



|   |  |  |
|---|--|--|
| (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaCl,<br>Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , MgSO <sub>4</sub>                    |  |  |
| <b>Незворотне осадження (денатурація) білків під впливом солей важких металів,<br/>концентрованих кислот, високої температури</b> |  |  |
| <b>Осадження солями важких металів</b>  |  |  |
| CuSO <sub>4</sub> , Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ,<br>(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Pb,<br>FeCl <sub>3</sub>            |  |  |
| <b>Осадження концентрованими органічними й мінеральними кислотами</b>   |  |  |
| HNO <sub>3</sub> конц.  |  |  |
| H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> конц.  |  |  |
| CClCOOH,<br>HO <sub>3</sub> SC <sub>6</sub> H <sub>5</sub> COOH   |  |  |
| <b>Денатурація білків під впливом високої температури</b>   |  |  |
| висока температура  |  |  |

### Лабораторна робота № 3

## ВИДІЛЕННЯ, ОЧИЩЕННЯ ТА ФРАКЦІОНУВАННЯ БІЛКІВ

### ВИСОЛЮВАННЯ БІЛКІВ

*Висолювання* - це осадження білків високими концентраціями нейтральних солей лужних і лужноземельних металів. Для висолювання найчастіше використовують такі солі:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ . Реакція висолювання зумовлена дегідратацією макромолекул білка з одночасною нейтралізацією заряду. Для осадження різних білків потрібна неоднакова концентрація тих самих солей.

Глобуліни легше висолюються, ніж альбуміни. Глобуліни висолюються напівнасиченим розчином амоній сульфату, тоді як альбуміни насиченим.

### ВИСОЛЮВАННЯ БІЛКІВ АМОНІЙ СУЛЬФАТОМ

**Обладнання.** Штатив з пробірками, лійка, фільтрувальний папір, мірні циліндри, скляні палички, піпетки, шпатель.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин білка (білок одного курячого яйця змішують з 200 мл води і 125 мл насиченого розчину натрій хлориду, одержаний розчин фільтрують через три шари марлі), кристалічний амоній сульфат, насичений розчин амоній сульфату, розчин з масовою часткою натрій гідроксиду 10%, розчин з масовою часткою купрум(II) сульфату 1%.

### Хід роботи

У пробірку наливають 3 мл розчину білка, додають такий самий об'єм насиченого розчину амоній сульфату і збовтують. Випадає осад глобулінів. Через 5-7 хв. осад відфільтровують, у фільтраті залишаються альбуміни. Для осадження альбумінів до фільтрату додають кристалічний амоній сульфат до повного насичення, тобто поки кристали  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  не перестануть розчинятись. В осад випадають альбуміни, які відфільтровують. Відсутність білка у фільтраті виявляють за допомогою біуретової реакції (див. лаб. роботу 1).

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### ДІАЛІЗ БІЛКІВ

Метод діалізу ґрунтується на непроникності макромолекул крізь напівпроникну перетинку, тоді як малі молекули здатні легко проходити крізь неї.

Діаліз проводять у приладі діалізаторі, основною частиною якого є мішечок з напівпроникного матеріалу (колодієвий, целофановий тощо). У мішечок поміщають розчин досліджуваного білка і опускають у склянку з великим об'ємом води.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, целофан, лінійка, олівець, голка, нитка, ножиці, лійка, скляна трубка, дві скляні палички, склянка.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Сольовий розчин з масовою часткою яєчного білка 1%, розчин з масовою часткою  $\text{AgNO}_3$  1%, розчин з масовою часткою  $\text{NaOH}$  10%, розчин з масовою часткою  $\text{CuSO}_4$  1%.

### **Хід роботи**

*Виготовлення целофанового мішечка.* Вирізають з целофану коло діаметром 9-12 см. Складають його в формі мішечка, вставляють в отвір скляну трубку так, щоб верхній кінець трубки виступав з мішечка на 2-3 см, а нижній був занурений на 1/3 мішечка. Мішечок треба зав'язати на трубці ниткою. У целофановий мішечок наливають 2/3 об'єму сольового розчину з масовою часткою яєчного білка 1%. Мішечок закріплюють між двома скляними паличками і поміщають у стакан з водою. Через 1,5-2 год. перевіряють діалізат (зовнішня рідина). Для цього до 1 мл діалізату в пробірці додають 1 краплину розчину з масовою часткою нітратної кислоти 10% і 1 краплину розчину з масовою часткою аргентум(I) нітрату 1%. Випадає осад аргентум(I) хлориду. Щоб перевірити наявність білка, в одну пробірку наливають 1 мл діалізату, а в другу – 1 мл вмісту целофанового мішечка. Проводять біуретову реакцію. (див. лаб. роботу № 1).

У пробірці з діалізатом біуретова реакція негативна, а в пробірці з розчином білка (вміст мішечка) позитивна. Роблять висновок.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

---

---

---

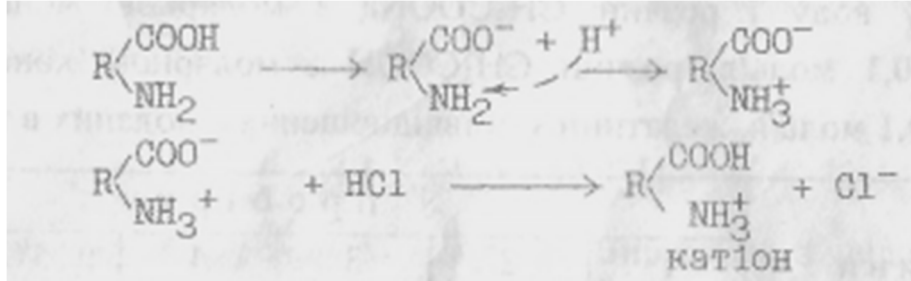
---

---

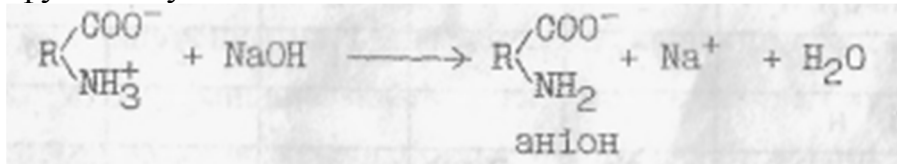
## Лабораторна робота № 4

### ВИЗНАЧЕННЯ ІЗОЕЛЕКТРИЧНОЇ ТОЧКИ БІЛКА

Кожна білкова молекула, як амфотерний електроліт, має певний заряд, величина якого залежить від рН розчину. В розчинах при різних рН білки поведуть себе як слабкі кислоти або слабкі основи і відповідно мають негативний або позитивний заряд. У сильнокислому середовищі білки мають позитивний заряд, дисоціюють як основи і функціонують як катіони.



У сильнолужному середовищі заряд білка негативний. Дисоціюють білки як кислоти і функціонують як аніон.



При деяких значеннях рН, різних для різних білків, білок дисоціює однаковою мірою як кислота і як основа, тобто утворює однакову кількість позитивно і негативно заряджених часточок. Молекула білка практично втрачає заряд. Значення рН, при якому молекула білка стає електронейтральною, називається ізоелектричною точкою білка. Розчини білків в ізоелектричній точці малостійкі. Це пояснюється тим, що з двох факторів (заряд і гідратація білка), які забезпечують стійкість білкових молекул, залишається тільки гідратація.

Ізоелектрична точка в більшості білків міститься в слабкокислому середовищі. Але існують білки, які мають ізоелектричну точку в слабколужному середовищі. До таких білків належать протаміни і гістони.

Визначення ізоелектричної точки білка ґрунтується на здатності його легко осаджуватись при певному значенні рН осаджувачами, що руйнують гідратаційну оболонку.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, піпетки, мірні циліндри, скляні палички.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин з масовою часткою желатину 1%; розчин  $\text{CH}_3\text{COOH}$  з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л, розчин  $\text{CH}_3\text{COONa}$  з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л, етанол, розчин  $\text{CH}_3\text{COOH}$  молярною концентрацією еквівалента 1 моль/л.

### Хід роботи

Для визначення беруть 6 пробірок. У кожену з них наливають дистильовану воду і розчин  $\text{CH}_3\text{COONa}$  з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л, розчин  $\text{CH}_3\text{COOH}$  з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л, желатини у співвідношеннях, поданих в таблиці:

| Розчини                     | № пробірки     |     |     |     |     |     |
|-----------------------------|----------------|-----|-----|-----|-----|-----|
|                             | 1              | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   |
|                             | Кількість у мл |     |     |     |     |     |
| CH <sub>3</sub> COONa 0,1 н | 2              | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   |
| CH <sub>3</sub> COOH 0,1 н  | 0,25           | 0,5 | 1   | 2   | 4   | –   |
| CH <sub>3</sub> COOH 1 н    | –              | –   | –   | –   | –   | 0,8 |
| Дистильована вода           | 3,75           | 3,5 | 3   | 2   | –   | 3,2 |
| Желатину                    | 2              | 2   | 2   | 2   | 2   | 2   |
| pH                          | 5,6            | 5,3 | 5,0 | 4,7 | 4,4 | 4,1 |
| Каламуть                    |                |     |     |     |     |     |

Перемішують розчин у пробірках. Додають з піпетки повільно при помішуванні у пробірку № 4 стільки етилового спирту, щоб через деякий час була ледве помітна каламуть (під 1 до 7 мл).

У всі інші пробірки додають при помішуванні стільки ж спирту, скільки було додано в пробірку № 4. Через 30 хв. спостерігають каламуть у пробірках. Найбільша каламуть, у пробірці відповідає ізоелектричній точці желатину.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

---



---



---



---



---

**Лабораторна робота № 5**  
**НАТИВНИЙ ЕЛЕКТРОФОРЕЗ БІЛКІВ**  
**НАТИВНИЙ ЕЛЕКТРОФОРЕЗ У ПААГ. РОЗДІЛЕННЯ БІЛКОВИХ МО-**  
**ЛЕКУЛ МЕТОДОМ ЕЛЕКТРОФОРЕЗУ. ЕЛЕКТРОФОРЕТИЧНЕ ДОС-**  
**ЛІДЖЕННЯ СУМІШІ МАРКЕРНИХ БІЛКІВ.**

Електрофорезом називають рух заряджених частинок в розчині під дією електричного поля. Електрофоретичний метод в біохімії – це спосіб просторового розподілу молекул, що мають різний заряд і розміри під впливом електричного поля. Результатом проведення електрофорезу є електрофореграма – картина, отримана після розділення складної суміші за допомогою електрофорезу і специфічного забарвлення.

Поліакриламідний гель (ПААГ) продукт сополімеризації акриламід (що створює лінійну «основу») і N, N' – метіленбісакриламід (необхідного для утворення поперечних «зшивок» лінійних ланцюгів).

**Особливості електрофорезу в поліакриламідному гелі.** Поліакриламідний гель (ПААГ) володіє багатьма якостями ідеального носія. Маючи властивості молекулярного сита, він забезпечує електрофоретичний поділ білкових сумішей не тільки за величиною заряду, але і за розміром і формою частинок. При електрофорезі в ПААГ великі молекули, розміри яких порівнянні з діаметром пор гелю, рухаються повільніше, а дрібні молекули вільно і швидко проходять через пори гелю.

$\text{CH}_2 = \text{CH} - \text{CO} - \text{NH}_2$  – акриламід

$\text{CH}_2 = \text{CH} - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{CO} - \text{CH} = \text{CH}_2$

N,N' – метіленбісакриламід

Змінюючи концентрацію акриламід від 2 до 50% можна задати певну пористість гелю. Нативний електрофорез в ПААГ служить для розділення макромолекул в тому числі і у випадках, коли необхідно зберегти ферментну або будь-яку іншу функціональну активність білків. Електрофоретична рухливість білків в нативному стані залежить одночасно і від його сумарного заряду, і від молекулярної маси, і від просторової конфігурації поліпептидного ланцюга. Для встановлення суворої кількості кореляції між одним з цих параметрів і електрофоретичною рухливістю білка потрібно виключити вплив всіх інших.

**Прилад для проведення електрофореза**

Камера для вертикального електрофорезу Mini-PROTEAN® Tetra

Прилад Mini – Protean IV Electroforetic Cell (Bio – Rad, США)



Робоча комплектація системи для роботи з 4-ма гелями:

1. Камера з захисною кришкою, електродами і комплектом дротів;
2. Два вертикальних заливальних столики з підставками;
3. 5 стандартних комбінованих комплектів стекол з наліпленими спейсерами;
4. 5 гребінок 0,75 мм або 1,0 мм на 10 зразків;
5. Основний і додатковий модулі для постановки гелів;
6. Заглушка для роботи з 1-им гелем;
7. Направляюче пристрій для точного нанесення зразку.

ТТХ:

Розмір короткого стекла см: 10,1 x 7,3

Розмір спейсерного стекла см: 10,1 x 8,2

Розмір готового гелю см: 8,3 x 7,3

Розмір гелю, приготовленого самостійно см: 8,3 x 6,8

### Приготування розчинів

| Розділяючий гель          |         | Концентруючий гель рН 6,8 |         |
|---------------------------|---------|---------------------------|---------|
| H <sub>2</sub> O          | 3,7 мл  | H <sub>2</sub> O          | 2,34 мл |
| Розчин А 30% акриламід    | 1,9 мл  | Розчин А 30% акриламід    | 0,4 мл  |
| Розчин В 1,5М трис рН 8,8 | 1,9 мл  | Розчин С 0,5М трис НСІ    | 0,4 мл  |
| ТЕМЕД                     | 1,5 мкл | ТЕМЕД                     | 5 мкл   |
| ПСА                       | 70 мкл  | ПСА                       | 40 мкл  |

Джерело живлення: **Power Pac Basic**

### Розчини для нативного електрофорезу.

1. Розчин А, акріламід (30% акріламід + 0,8% бісакриламід), темп. зберігання 4 С, 30 діб 15 г акріламід + 0,4 г біс-акріламід до 50 мл дист. Н<sub>2</sub>О.
2. Розчин В, буфер (1,5 М **Трис** НСІ рН 8,8). темп. зберігання 4 °С 9,075 г **три-са** до 50 мл дист. Н<sub>2</sub>О.
3. Розчин С, буфер (0,5 М Трис НСІ рН 6,8), темп. зберігання 4 °С 3,025г триса до 50 мл дист. Н<sub>2</sub>О.
4. Верхній (катодний) електродний буфер, рН 8,3 (0,025 М Трис НСІ, 0,192М гліцин. 0,005% додецилсульфат натрію), темп. зберігання 4 °С 7,6г триса 36 г гліцина 0,125г додецилсульфату натрію.

Перед початком роботи буфер розвести у 10 разів (20мл буфера + 180 мл дист. Н<sub>2</sub>О) довести рН 8,3.

Кількість буфера, що необхідно для проведення електрофорезу:

на двох пластинах – 200 мл;

на чотирьох пластинах – 400мл.

5. Нижній (анодний) електродний буфер має такий же склад, що і верхній катодний), темп. зберігання 4°С.

Перед початком роботи буфер розвести у 10 разів (20 мл буферу + 180 дист.Н<sub>2</sub>О) довести рН 8,3.

Кількість буфера, що необхідна для проведення електрофорезу:

на двох пластинах – 500мл;

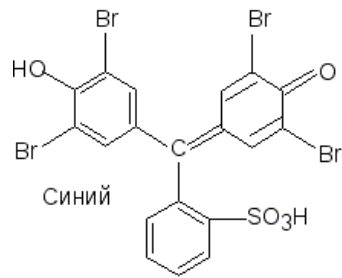
на чотирьох пластинах – 600мл.

Після проведення електрофорезу буфер зберігається за темп. 4 °С та використовується у наступних дослідах (7-10 електрофорезу). Після нього буфер необхідно замінити на свіже приготований.

У кожену пробу білка (50 **мкл**) перед нанесенням на пластину ПААГ додавали 10 **мкл** буферу для зразка. Склад буфера: гліцерин 60%, барвник бромфе-

ноловий синій 0,03%.

### Бромфеноловий синій



Білкові проби для проведення електрофорезу:

1. Ферретин
2. БСА
3. ЧСА
4. Лізоцим
5. Яечний альбумін

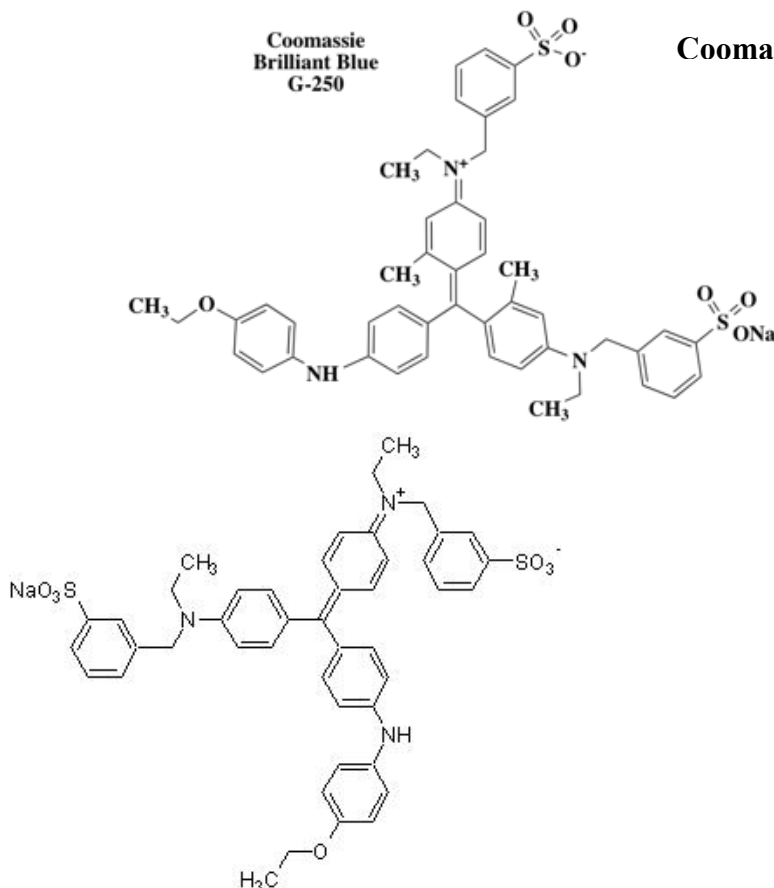
### Умови проведення електрофорезу

- 1) початок електрофорезу під напругою 50 В.
- 2) через 30 хв. перехід на напругу 250 В.

### Забарвлення та візуалізація електрофоретичних пластин

Coomassie Brilliant Blue G-250

Coomassie Brilliant Blue R-250



Барвники розчиняються в різних розчинниках оцтова кислота ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ), вода, хлорна кислота ( $\text{HClO}_4$ ), ці барвники специфічно зв'язуються з білком. Для візуалізації білкових смуг готували розчин Coomassie Brilliant Blue G-250 у 3,5% розчині  $\text{HClO}_4$ . (0.03г барвника розчини-



ти у 50 мл кислоти).

Суміш необхідно профільтрувати. Пластину ПААГ після проведення електрофорезу занурити у суміш для забарвлення на 60 хв.

### Розподіл білків методом електрофорезу

Принцип методу: \_\_\_\_\_

---

---

---

---

Результат: \_\_\_\_\_

---

---

Висновок: \_\_\_\_\_

---

---

---

**Завдання.** При яких значеннях рН найбільш доцільне електрофоретичне фракціонування білкової суміші (зробіть пояснення!!!):

| № варіанта | Склад білкової суміші | Ізоелектрична точка | № варіанта | Склад білкової суміші | Ізоелектрична точка |
|------------|-----------------------|---------------------|------------|-----------------------|---------------------|
| 1          | міозин                | 5,4                 | 10         | міозин                | 5,4                 |
|            | гемоглобін            | 6,8                 |            | уреаза                | 5,0                 |
| 2          | уреаза                | 5,0                 | 11         | лужна фосфатаза       | 4,5                 |
|            | гемоглобін            | 6,8                 |            | міозин                | 5,4                 |
| 3          | лужна фосфатаза       | 4,5                 | 12         | цитохром С            | 10,65               |
|            | уреаза                | 5,0                 |            | гемоглобін            | 6,8                 |
| 4          | цитохром С            | 10,65               | 13         | пепсин                | 1,0                 |
|            | гемоглобін            | 6,8                 |            | лужна фосфатаза       | 4,5                 |
| 5          | цитохром С            | 10,65               | 14         | пепсин                | 1,0                 |
|            | міозин                | 5,4                 |            | міозин                | 5,4                 |
| 6          | цитохром С            | 10,65               | 15         | цитохром С            | 10,65               |
|            | уреаза                | 5,0                 |            | трансферин            | 5,9                 |
| 7          | міозин                | 5,4                 | 16         | лужна фосфатаза       | 4,5                 |
|            | гемоглобін            | 6,8                 |            | уреаза                | 5,0                 |
| 8          | уреаза                | 5,0                 | 17         | трансферин            | 5,9                 |
|            | пепсин                | 1,0                 |            | пепсин                | 1,0                 |
| 9          | трансферин            | 5,9                 | 18         | гемоглобін            | 6,8                 |
|            | гемоглобін            | 6,8                 |            | лужна фосфатаза       | 4,5                 |

---

---

---

---

**Завдання.** Як зміниться (збільшиться, зменшиться, не зміниться) електрофоретична рухливість білка, ізоелектрична точка якого 6,8 (фракціонування проводиться при рН 7,0), якщо в його молекулі замінити всі амінокислотні залишки? (зробіть пояснення!!!).

| № варіанта | Заміна амінокислотних залишків | № варіанта | Заміна амінокислотних залишків | № варіанта | Заміна амінокислотних залишків |
|------------|--------------------------------|------------|--------------------------------|------------|--------------------------------|
| 1          | Глу на Вал                     | 7          | Тир на Фен                     | 13         | Мет на Глу                     |
| 2          | Ліз на Глу                     | 8          | Цис на Про                     | 14         | Лей на Лиз                     |
| 3          | Глу на Ліз                     | 9          | Глу на Мет                     | 15         | Фен на Тир                     |
| 4          | Вал на Глу                     | 10         | Ліз на Лей                     | 16         | Про на Цис                     |
| 5          | Гіс на Арг                     | 11         | Асп на Гіс                     | 17         | Ала на Вал                     |
| 6          | Вал на Ала                     | 12         | Трп на Тир                     | 18         | Арг на Гіс                     |

**Пояснення:** \_\_\_\_\_

---



---



---



---



---



---

## Лабораторна робота № 6

### ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ: СПЕЦИФІЧНІСТЬ, ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРИ СЕРДОВИЩА, АКТИВАТОРІВ Й ІНГІБІТОРІВ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ

*Ферментами* або *ензимами* називаються біологічні каталізатори білкової природи, які входять до складу всіх клітин і тканин живих організмів і прискорюють проходження певних хімічних реакцій.

Як і всі білки, ферменти поділяють залежно від їхнього хімічного складу на *протеїни* (прості білки) і *протеїди* (складні білки). Білкова частина у складних ферментах називається апоферментом, а небілкова – коферментом. Ферменти як біологічні каталізатори і каталізатори неорганічної природи мають загальні властивості: підвищують швидкість реакції, не порушують рівноваги оборотних реакцій, не спричиняють реакції, які неможливі за термодинамічних умов. Але ферменти як біологічні каталізатори відрізняються від неорганічних каталізаторів певними властивостями. Основні властивості ферментів – термолабільність, специфічність, залежність дії від величини рН, підлеглість впливу активаторів і інгібіторів, зумовлені їхньою білковою природою. При виділенні ферментів з організму ферменти не втрачають каталітичної активності. На цьому ґрунтується їхнє різноманітне застосування в народному господарстві і медицині.

### СПЕЦИФІЧНІСТЬ ДІЇ ФЕРМЕНТІВ

*Специфічність дії ферментів* — це строга спрямованість їхнього впливу на певний субстрат, або групу близьких за структурою і властивостями субстратів. Залежно від того, чи може фермент каталізувати яку-небудь одну реакцію (діяти на якийсь один певний субстрат) або кілька реакцій, специфічність може бути абсолютною або відносною. Якщо фермент здатний діяти не на один субстрат, а на групу речовин із загальним типом будови, така специфічність називається абсолютною груповою. До таких ферментів належить амілаза слини, яка розщеплює 1-4 зв'язки у молекулах полісахаридів і не розщеплює дисахариди.

Специфічність дії ферментів амілази і сахарази можна визначити при їхній реакції з відповідними субстратами крохмалем і сахарозою.

**Обладнання:** штатив з пробірками, термостат, ступка з товкачиком, піпетки, лійка, фільтрувальний папір, мірні циліндри, скляна паличка, спиртівка, пробіркотримачі.

**Реактиви і матеріали дослідження:** розчин слини, екстракт сахарази (розтирають в ступці 20 г сухих дріжджів, поступово добавляють 100 мл води; суміш переносять у колбу і струшують її в шутель-апараті протягом 1-2 год, після чого фільтрують; фільтрат використовують як розчин сахарази), розчин з масовою часткою крохмалю 1% на розчині з масовою часткою натрій хлориду 0,3%, розчин з масовою часткою сахарози 5%, розчин Люголя, реактив Фелінга.

### Хід роботи

У дві пробірки наливають по 3 мл розчину з масовою часткою крохмалю 1% і добавляють у першу 1 мл розчину слини (амілаза), у другу – 1 мл препарату сахарази, потім перемішують і вміщують в термостат при температурі 37-

40°C. У дві інші пробірки наливають по 3 мл розчину з масовою часткою сахарози 0,5%, у першу з них додають 1 мл препарату сахарози, у другу – 1 мл розчину слини і вміщують у термостат. Через 5- 10 хв. у перші дві пробірки з крохмалем додають по 5 краплин реактиву Люголя і спостерігають за забарвленням. У пробірці з амілазою синє забарвлення розчину зникає внаслідок розщеплення крохмалю амілазою. У другій пробірці розчин забарвлений у синій колір, тому що сахароза не діє на крохмаль.

У випадку двох інших пробірок дія ферменту виявляється за позитивною реакцією з реактивом Фелінга на наявність моносахаридів. Для цього в пробірки додають по 1 мл реактиву Фелінга і нагрівають до кипіння. Сахароза відновних властивостей не має, тому в пробірці, де під впливом сахарози відбулося розщеплення сахарози на глюкозу і фруктозу, які відновлюють купрум монооксид, що входить до складу реактиву Фелінга до купрум геміоксиду, утворюватиметься жовтий або червоний осад (позитивна реакція Фелінга).

### **Висновок**

---

---

---

---

## **ТЕРМОЛАБІЛЬНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ**

Ферменти при нагріванні вище 70 °С втрачають властивості біологічних каталізаторів. Температура, при якій швидкість ферментативної реакції максимальна, має назву оптимальної температури. Для більшості ферментів тваринного походження оптимальною температурою є 37-40°C. При субоптимальних температурах швидкість ферментативної реакції знижується, досягаючи мінімальної величини при 0 °С.

На прикладі амілази та мальтази слини можна дослідити залежність швидкості ферментативної реакції від температури (за зміною забарвлення розчину крохмалю або продуктів його перетворення з йодом).

**Обладнання.** Штатив з пробірками, циліндр на 25 або 50 мл, термостат, водяна баня, склянка з льодом, олівець для скла, плитки, термометр, скляна паличка, фарфорова пластинка, піпетки.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розбавлений розчин слини в 10 разів, розчин з масовою часткою крохмалю 1%, на розчині з масовою часткою натрій хлориду 0,3%, розчин Люголя – розчин йоду в йодиді калію (розчиняють 1 г йоду і 2,5 г йодиду калію в 20 мл води, доводять водою об'єм розчину до 100 мл).

### **Хід роботи**

У чотири пронумеровані пробірки наливають по 5 мл розчину з масовою часткою крохмалю 1%. Пробірку 1 поміщають у киплячу водяну баню (найвища температура), пробірку 2 – у водяну баню при 40°C (оптимальна температура), пробірку 3 залишають при кімнатній температурі і пробірку 4 ставлять в лід (субоптимальна температура). Через 10-15 хв. у всі пробірки, залишаючи їх у тих самих умовах, додають по 1 мл розбавленого розчину слини і пе-

ремішують скляною паличкою.

За гідролізом крохмалю стежать за реакцією з йодом. Для цього на скляну або фарфорову пластинку наносять кілька краплин реактиву Люголя і змішують їх з краплинами суміші, яку беруть з кожної пробірки через 3, 6, 8, 10, 12 хв. За зміною забарвлення розчину крохмалю з йодом судять про гідроліз у кожній пробірці. У пробірці, що містилася у водяній бані при 100°C, суміш забарвлюється в синій колір. Фермент у цій пробірці інактивований і гідроліз крохмалю тут не відбувається. В інших пробірках забарвлення залежить від ступеня гідролізу крохмалю: у пробірці при оптимальній температурі жовте, при субоптимальних температурах (пробірки 3 і 4) забарвлення може бути червоне, фіолетово-червоне).

### **ВПЛИВ рН НА ДІЮ ФЕРМЕНТІВ**

Чутливість до реакції середовища також є однією з характерних особливостей ферментів. Дія кожного ферменту або окремої групи їх обмежена певною концентрацією іонів водню. Значення рН, при якому фермент проявляє найбільшу активність, є оптимальним для цього ферменту. Ферменти як білки мають у своїй молекулі одночасно позитивні й негативні заряди, а сумарний заряд залежить від рН середовища. Вплив концентрації водневих іонів на активність ферментів полягає в їхній дії на іонізацію активного центру ферменту, а також на утворення фермент-субстратного комплексу. Більшість ферментів мають оптимальне значення рН у середовищі, близькому до нейтрального.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, термостат, мірні циліндри, пшетки, скляна паличка.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розбавлений розчин слини, розчин з масовою часткою крохмалю 1%, розчин HCl з молярною концентрацією еквівалента 1 моль/л.

### **ХІД РОБОТИ**

У 2 пробірки наливають по 5 мл розчину з масовою часткою крохмалю 1%, у першу пробірку дабавляють 1 мл дистильованої води, у другу – 1 мл розчину HCl з молярною концентрацією еквівалента 1 моль/л, в обидві пробірки – по 1 мл слини, перемішують і на 15-20 хв. вміщують у термостат при температурі 39-40°C, після чого в обидві пробірки дабавляють 5 краплин розчину Люголя і перемішують. Відмічають забарвлення продуктів гідролізу крохмалю з йодом і роблять висновок про вплив рН на активність амілази слини і взагалі ферментів.

### **ВИЗНАЧЕННЯ ОПТИМУМУ рН ДЛЯ АМІЛАЗИ**

Оптимум рН визначають за інтенсивністю забарвлення розчинів.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, термостат, піпетки, олівець для скла, мірні циліндри, скляна паличка.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розбавлений розчин слини, розчин з масовою часткою крохмалю 1%, розчин Люголя, розчин Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> з молярною концентрацією еквівалента 0,2 моль/л, розчин лимонної кислоти з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л.

## ХІД РОБОТИ

Для визначення беруть 8 пробірок. У кожен з них наливають розчин  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  з молярною концентрацією еквівалента 0,2 моль/л, розчин лимонної кислоти з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л у певних співвідношеннях, поданих у таблиці.

Співвідношення компонентів для створення рН розчину.

| № пробірки | 0,2 М розчин $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , в мл | 0,1 М розчин лимонної, в мл | рН  |
|------------|---|-----------------------------|-----|
| 1          | 1,29  | 1,21                        | 5,0 |
| 2          | 1,59  | 0,91                        | 5,8 |
| 3          | 1,65  | 0,85                        | 6,2 |
| 4          | 1,82  | 0,68                        | 6,6 |
| 5          | 1,93  | 0,57                        | 6,8 |
| 6          | 2,06  | 0,44                        | 7,0 |
| 7          | 2,27  | 0,23                        | 7,4 |
| 8          | 2,43  | 0,07                        | 8,0 |

У кожен пробірку додають по 5 мл розчину з масовою часткою крохмалю 1% і по 1 мл розчину слини. Перемішують, ставлять у термостат при 37-40°C на 10-15 хв; після чого додають по 5 краплин розчину Люголя, перемішують. Якщо колір розчину в пробірках за цей час не зміниться, то їх ставлять у термостат ще на 5-10 хв. Оптимум рН для дії амілази визначають за тією пробіркою, в якій відбулося більш повне розщеплення крохмалю (при реакції з розчином Люголя забарвлення буде жовте).

## ВПЛИВ АКТИВАТОРІВ І ІНГІБІТОРІВ НА АКТИВНІСТЬ ФЕРМЕНТІВ (АМІЛАЗИ)

Активність ферментів залежить від наявності в розчині хімічних сполук, які можуть підвищувати (*активатори*) або пригнічувати (*інгібітори*) активність ферментів. Активатори – це іони  $\text{Na}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Mn}^{+2}$ ,  $\text{Co}^{+2}$  тощо, аніони  $\text{Cl}^-$ . До інгібіторів належать: іони важких металів (Меркурій, Купрум та інші).

**Обладнання.** Штатив з пробірками, термостат, піпетки, мірні циліндри, скляна паличка.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин слини, розчин з масовою часткою крохмалю 1%, розчин з масовою часткою натрій хлориду 1% , розчин з масовою часткою купрум(II) сульфату 1% , реактив Люголя.

### Хід роботи

У три пробірки наливають: у першу – 5 мл води, у другу – 4 мл води і 1 мл розчину з масовою часткою  $\text{NaCl}$  1%, у третю 4 мл води і 1 мл розчину з масовою часткою  $\text{CuSO}_4$  1%. У всі пробірки доливають по 5 мл розчину з масовою часткою крохмалю 1%, по 1 мл розчину слини, перемішують і залишають при кімнатній температурі на 5-10 хв. Потім беруть ще 3 пробірки, наливають по 1 мл води і 5 краплин розчину Люголя, додаючи по 2 мл вмісту кожної пробірки. Рідина в першій пробірці забарвлюється у фіолетовий або червоний колір, у другій – у червоний або жовтий, у третій – у синій. Отже, активатором амілази є  $\text{NaCl}$  (друга пробірка), а інгібітором –  $\text{CuSO}_4$  (третя пробірка).

## **КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АМІЛАЗНОЇ АКТИВНОСТІ СЛИНИ ЗА МЕТОДОМ ВОЛЬГЕМУТА І ВПЛИВ НА НЕЇ АКТИВАТОРІВ І ІНГІБІТОРІВ**

Метод ґрунтується на визначенні мінімальної кількості ферменту, який здатний при певних умовах гідролізувати 1 мл розчину з масовою часткою крохмалю 0,1%.

Амілазна активність слини визначається кількістю мл розчину з масовою часткою крохмалю 0,1%, яка може гідролізувати 1 мл нерозбавленої слини при температурі 37°C протягом 30 хв.

У нормі амілазна активність слини дорівнює 160-320 мкм/хв.

Метод Вольгемута широко застосовується в клінічній практиці для визначення амілазної активності крові та сечі, у пивоварінні для визначення амілазної активності солоду. Різке підвищення амілазної активності крові та сечі (в 10-30 разів) спостерігається при гострих панкреатитах, пухлинах підшлункової залози.

**Обладнання.** Штатив з пробірками, термостат, 2 бюретки по 50 мл, піпетки, циліндр на 10 мл, олівець для скла.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин слини 1:10 (до 1 мл слини додають 9 мл води), розчин з масовою часткою крохмалю 0,1%, реактив Люголя, розчин з масовою часткою NaCl 0,1%, розчин з масовою часткою купрум(II) сульфату 0,1%.

### **ХІД РОБОТИ**

Беруть 3 ряди пробірок по 8 у кожному ряду. У кожену пробірку наливають по 1 мл води. У першу пробірку додають 1 мл розчину слини, перемішують і 1 мл суміші переносять у другу пробірку. Вміст другої пробірки перемішують, 1 мл суміші переносять у третю і так далі, а 1 мл суміші з 8 пробірки виливають геть, так само розбавляють слину в другому і третьому ряді пробірок. У кожному ряді розбавляють фермент у 20, 40, 80, 160, 320, 640, 1280, 2560 разів.

У всі пробірки першого ряду додають по 1 мл води, а в пробірки другого ряду – по 1 мл розчину з масовою часткою NaCl 0,1%. Третього ряду – по 1 мл розчину з масовою часткою CuSO<sub>4</sub> 0,1%. Потім у всі пробірки додають по 2 мл розчину з масовою часткою крохмалю 0,1% (починаючи з останньої, де концентрація розчину найменша). Вміст пробірок перемішують і стоять у термостат при температурі 37-40°C на 30 хв.

Через 30 хв пробірки охолоджують, додають по 5 краплин реактиву Люголя і перемішують. Рідина в пробірках забарвлюється в жовтий, червоний і

синій кольори. Жовтий колір свідчить про повне розщеплення крохмалю. У кожному ряді вибирають найбільше розбавлення слини, при якому відбулося повне розщеплення крохмалю, тобто останню пробірку з жовтим забарвленням розчину. Розраховують амілазну активність при відсутності та при наявності NaCl і CuSO<sub>4</sub>.

Наприклад, якщо розщеплення крохмалю у першому ряді (без активатора та інгібітора) відбулося у пробірках № 1–5 (за характерним забарвленням), активність амілази визначають, виходячи з розчину пробірки № 5, в якій міститься слина, розбавлена в 320 разів. Ця кількість слини здатна гідролізувати 2 мл розчину з масовою часткою крохмалю 0,1%, а 1 мл слини в тих самих умовах гідролізує:  $A = a\sigma/f$ ,

де  $A$  – амілазна активність;

$a$  – об'єм розчину крохмалю у пробірці № 5 (2 мл);

$\sigma$  – розбавлення слини (320);

$f$  – об'єм нерозбавленої слини (1 мл),

тобто  $A = 2 \cdot 320/1 = 640$  мл розчину з масовою часткою крохмалю 0,1 %.

Якщо у другому ряді пробірок (активатор), розщеплення відбулося у пробірках № 1–6, активність амілази визначають, виходячи із вмісту пробірки № 6.  $A = 2 \cdot 640/1 = 1280$  мл розчину з масовою часткою крохмалю 0,1%.

У третьому ряді пробірок (інгібітор) спостерігають за гідролізом і роблять висновок.

Результати дослідів заносять у таблицю за формою:

| Умови гідролізу                    | Активність амілази слини |
|------------------------------------|--------------------------|
| З водою                            |                          |
| З активатором (NaCl)               |                          |
| З інгібітором (CuSO <sub>4</sub> ) |                          |

**Висновок** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Завдання для опрацювання теми

### 1. Термолабільність амілази

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

*Результати роботи запишіть у таблицю і зробіть висновки.*

| Номер пробірки | Фермент | Субстрат | Температура | Результат         |                       |
|----------------|---------|----------|-------------|-------------------|-----------------------|
|                |         |          |             | Йодна проба (+/-) | Реакція Тромера (+/-) |
| 1              |         |          |             |                   |                       |
| 2              |         |          |             |                   |                       |



|   |  |  |  |  |  |
|---|--|--|--|--|--|
| 3 |  |  |  |  |  |
|---|--|--|--|--|--|

**Висновок:** \_\_\_\_\_

---



---

### 2 Визначення специфічності амілази слини

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

---



---

*Результати роботи запишіть у таблицю і зробіть висновки.*

| Номер пробірки | Фермент | Субстрат | Результат реакції Тромера (+/-) |
|----------------|---------|----------|---------------------------------|
| 1              |         |          |                                 |
| 2              |         |          |                                 |

**Висновок:** \_\_\_\_\_

---



---

### 3. Вплив рН середовища на активність амілази

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

---



---

*Результати роботи запишіть у таблицю і зробіть висновки.*

| Номер пробірки | Фермент | Субстрат | Реакція середовища | Результат йодної проби (+/-) |
|----------------|---------|----------|--------------------|------------------------------|
| 1              |         |          |                    |                              |
| 2              |         |          |                    |                              |
| 3              |         |          |                    |                              |

**Висновок:**

---



---



---

*Самостійна робота студентів:*

**Завдання 1.** Заповніть таблицю «Класифікація ферментів за будовою»

| Тип ферменту | Особливості будови                    |   | Приклади ферментів |
|--------------|---------------------------------------|---|--------------------|
|              | Наявність небілкової частини (так/ні) | Ферменти якого класу належать до цього типу |                    |
|              |                                       |   |                    |

|  |  |  |  |
|--|--|--|--|
|  |  |  |  |
|--|--|--|--|

**Завдання 2. Заповніть таблицю «Класифікація ферментів за типом реакції, яку вони каталізують»**

| <b>Номер класу</b> | <b>Клас ферментів</b> | <b>Кофермент(и)</b> | <b>Тип реакції</b> | <b>Приклади ферментів</b> |
|--------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|---------------------------|
|                    |                       |                     |                    |                           |
|                    |                       |                     |                    |                           |
|                    |                       |                     |                    |                           |
|                    |                       |                     |                    |                           |
|                    |                       |                     |                    |                           |
|                    |                       |                     |                    |                           |

## Лабораторна робота № 7

### ДОСЛІДЖЕННЯ СКЛАДОВИХ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

*Нуклеїнові кислоти* - це високомолекулярні біополімери, які побудовані з мононуклеотидів.

**Нуклеотид** - трикомпонентна сполука, яка складається з пуринової або піримідинової основи, пентози та залишку фосфорної кислоти. Сполука, молекула якої утворена лише пуриновою або піримідиною основою та пентозою отримала назву **нуклеозиду**. Складові нуклеозиду сполучені між собою *глікозидним зв'язком*.

Назва нуклеозиду визначається азотистою основою, яка входить до його складу. Так, нуклеозид, що містить у складі молекули аденін, називають аденозином, гуанін - гуанозином, тимін - тимідином, цитозин - цитидином, урацил - уридином. У залежності від складу молекул вуглеводів розрізняють рибонуклеїнові кислоти (РНК, вуглевод - рибоза) та дезоксирибонуклеїнові кислоти (ДНК, вуглевод - дезоксирибоза). До мононуклеотидів ДНК входить тимін, а до складу РНК - урацил, але немає тиміну.

#### Фізико-хімічні властивості нуклеїнових кислот.

Нуклеїнові кислоти являють собою:

1. Речовини білого кольору, волокнистої будови, погано розчинні у воді.
2. Мають високу молекулярну масу.
3. Мають високу оптичну активність.
4. Характеризуються здатністю до денатурації. Температура, при якій ДНК денатурована на 50%, називається температурою плавлення.

#### Структурні рівні ДНК та РНК

*Первинна структура* — послідовність розміщення нуклеотидів у полінуклеотидному ланцюгу.

Ділянка полінуклеотидного ланцюга, яка складається з трьох послідовно розміщених нуклеотидів називається триплетом (або кодоном). Кожен триплет відповідає за включення певної амінокислоти в поліпептидний ланцюг під час біосинтезу білка. Відповідність триплетів амінокислотам наведено в таблиці.

|     |     |     |     |     |      |     |     |      |
|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|------|
| УУУ | Фен | УЦУ | Сер | УАУ | Тир  | УГУ | Цис |      |
| УУЦ |     | УЦЦ |     | УАЦ |      | УГЦ |     |      |
| УУА | Лей | УЦА |     | УАА | Терм | УГА |     | Терм |
| УУГ |     | УЦГ |     | УАГ |      | УГГ |     | Три  |
| ЦУУ | Лей | ЦЦУ | Про | ЦАУ | Гис  | ЦГУ | Арг |      |
| ЦУЦ |     | ЦЦЦ |     | ЦАЦ |      | ЦГЦ |     |      |
| ЦУА |     | ЦЦА |     | ЦАА |      | ЦГА |     |      |
| ЦУГ |     | ЦЦГ |     | ЦАГ |      | ЦГГ |     |      |
| АУУ | Іле | АЦУ | Тре | ААУ | Асн  | АГУ | Сер |      |
| АУЦ |     | АЦЦ |     | ААЦ |      | АГЦ |     |      |
| АУЛ | Мет | АЦА |     | ААА | Ліз  | АГА | Арг |      |
| АУГ |     | АЦГ |     | ААГ |      | АГГ |     |      |
| ГУУ | Вал | ГЦУ | Ала | ГАУ | Асп  | ГГУ | Глі |      |
| ГУЦ |     | ГЦЦ |     | ГАЦ |      | ГГЦ |     |      |
| ГУА |     | ГЦА |     | ГАА | Глу  | ГГА |     |      |
| ГУГ |     | ГЦГ |     | ГАГ |      | ГГГ |     |      |

*Вторинна структура* - просторова конфігурація полінуклеотидних лан-

цюгів.

ДНК утворена двома полінуклеотидними ланцюгами, які закручені правильними витками навколо однієї спільної осі. Полінуклеотидні ланцюги закручені антипаралельно.

РНК - спаралізується у межах одного полінуклеотидного ланцюга. Спаралізується приблизно 50% полінуклеотидного ланцюга, а будова інших ділянок неорганізована.

*Третинна структура.* Для ДНК характерна просторова орієнтація подвійної спіралі з утворенням спіралізованих і суперспіралізованих форм. Це призводить до компактизації ДНК.

РНК може існувати у вигляді клубка із незначною кількістю дво-спіральної фрагментів у межах одного полінуклеотидного ланцюга. Або у вигляді компактної палички, де біспіральні ділянки розташовані впорядковано.

*Четвертинна структура.* У четвертинній структурі утворюються високомолекулярні асоціації, але достатньо вона не досліджена.

## **ЯКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ СКЛАДОВИХ КОМПОНЕНТІВ НУКЛЕІНОВИХ КИСЛОТ**

Джерелом нуклеїнових кислот (у даному випадку РНК) будуть слугувати пекарські дріжджі, де РНК зосереджена у вигляді нуклеопротейдів.

*Нуклеопротейди* - це складні білки, в яких простетичною групою є нуклеїнові кислоти. При кислотному гідролізі нуклеопротейди розкладаються на складові частини, а саме:

1. Білкова частина
2. Пуринові та піримідинові основи
3. Пентози
4. Залишки фосфатної кислоти.

За допомогою певних реакцій можна виявити в гідролізаті складові частини нуклеопротейдів. Так, за біуретовою реакцією виявляють білок, пуринові основи - за утворенням осаду Аргентуму, фосфатну кислоту - за реакцією з молібдатом, а пентозу - за реакцією з реактивом Фелінга.

### **КИСЛОТНИЙ ГІДРОЛІЗ НУКЛЕОПРОТЕЇДІВ**

**Обладнання.** Колба з пробкою, в яку вставлена довга скляна трубка (25-30 см), що є зворотнім повітряним холодильником, лійка, фільтрувальний папір, хімічний стакан, центрифуга, водяна баня, електроплитка, піпетки, ступка, пісок, штатив з пробірками.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин з масовою часткою сульфатної кислоти 5%, розчин з масовою часткою 10% натрій гідроксиду, розчин з масовою часткою купрум(II) сульфату 1%, розчин гідроксиду діаміакату аргентуму (до розчину аргентум(I) нітрату додають по краплях розчин з масовою частково амоніаку 10% до розчинення осаду, який спочатку випав), молібденовий реактив (перемішують розчин з масовою часткою амоній молібдату 15% з концентрованою нітратною кислотою у співвідношенні 110:90), реактив Фелінга (складається з розчинів А і Б).

*Розчин А:* 3,5 г  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  розчиняють у 50 мл води.

*Розчин Б:* 17,3 сегнетової солі і 6 г натрій гідроксиду розчиняють у 50 мл води. Розчин А і Б зберігають окремо, перед використанням розчин А і Б змішують у рівних об'ємах.

### **Хід роботи**

У колбу на 100 мл помістити 1-1,5 г пекарських дріжджів і додати 30-40 мл 5% сульфатної кислоти. Колбу закрити пробкою із зворотним повітряним холодильником (скляна трубка довжиною 25-40 см) і кип'ятити протягом 1 години при слабкому нагріванні. Далі нагрівання припинити, долити води до початкового рівня, реакційну суміш відфільтрувати. Фільтрат використовувати для якісних реакцій на складові частини нуклеопротеїдів.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### **БІУРЕТОВА РЕАКЦІЯ НА ПОЛПЕПТИДИ**

До 5 мл гідролізату додають реактиви для біуретової реакції (див. роботу № 1) Рідина забарвлюється у фіолетовий колір. Чому?

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### **РЕАКЦІЯ НА ПУРИНОВІ ОСНОВИ**

До 5 мл гідролізату додають 1 мл аміачного розчину аргентум (I) гідроксиду. Через 3-5 хв випадає незначна кількість бурого осаду солей аргентуму пуринових основ.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### **МОЛІБДЕНОВА РЕАКЦІЯ НА ФОСФОРНУ КИСЛОТУ**

До 5 мл гідролізату додають 5 мл молібденового реактиву і кип'ятять кілька хвилин. Рідина забарвлюється у жовтий колір. При охолодженні утворюється жовтий кристалічний осад комплексної амонійної солі фосфатномолібденової кислоти.

Принцип методу \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### РЕАКЦІЯ НА ПЕНТОЗИ

До 5 мл гідролізату додають 5 мл реактиву Фелінга. Утворюється осад жовтого кольору. Далі пробірку нагрівають до кипіння, утворюється осад оксиду купруму цегристо-червоного кольору. Моносахариди відновлюють реактив Фелінга через купрум (II) гідроксид блакитного кольору до купрум (I) оксиду цегристо-червоного кольору. Напишіть рівняння реакції.

Принцип методу \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### РЕАКЦІЯ ДЕЗОКСИПЕНТОЗ З ДИФЕНІЛАМІНОМ

При нагріванні у кислому середовищі D-дезоксипентоз утворюється фурфуроловий спирт, оксилевулиновий альдегід і подібні хромогени, які реагують з дифеніламіном з утворенням сполук синього кольору.

**Обладнання.** Скляні палички, пробірки хімічні, піпетки градуйовані, штатив для пробірок, водяна баня, годинник.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин дезоксирибози (0,2%-й) (або 0,001%-й розчин ДНК), 1%-й розчин дифеніламіну.

#### Хід роботи

У пробірку з 1 мл 0,2%-го розчину дезоксирибози або з 1 мл 0,001%-го розчину ДНК доливають 2 мл 1%-го розчину дифеніламіну, перемішують, ставлять на киплячу водяну баню і витримують близько 10 хв до появи забарвлення.

Принцип методу \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Завдання для опрацювання теми**

**1. Виділення та гідроліз нуклеопроїдів**

Принцип методу: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

---

---

**2. Гідроліз нуклеопроїдів дріжджів та виявлення вуглеводного компонента**

**Принцип методу:** \_\_\_\_\_

---

---

---

---

**Білки. Самостійна робота студентів:**

**Завдання.** Заповніть таблицю «Класифікація складних білків»:

| <b>Назва класу складних білків</b> | <b>Протетичні групи</b> | <b>Представники</b> | <b>Біологічна роль</b> |
|------------------------------------|-------------------------|---------------------|------------------------|
| <i>1</i>                           | <i>2</i>                | <i>3</i>            | <i>4</i>               |
|                                    |                         |                     |                        |
|                                    |                         |                     |                        |
|                                    |                         |                     |                        |
|                                    |                         |                     |                        |
|                                    |                         |                     |                        |

## Лабораторна робота № 8

### ВИЗНАЧЕННЯ ХІМІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ЖИРІВ. ФЕРМЕНТАТИВНИЙ ГІДРОЛІЗ ЖИРУ МОЛОКА

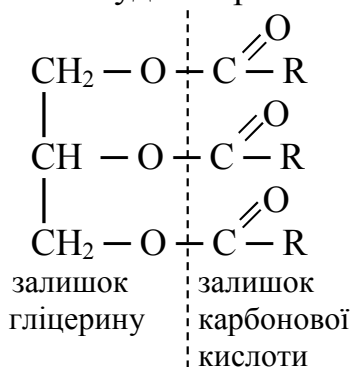
**Ліпіди** – органічні сполуки, які складаються із залишків спиртів (гліцерину, гліколей, вищих або циклічних) та вищих жирних кислот.

Розрізняють дві групи ліпідів: прості і складні.

**Прості** – складаються з залишків спиртів та вищих жирних кислот. До них належать нейтральні жири, діольні ліпіди, стериди, воски.

**Складні** – містять залишки спиртів, вищих жирних кислот та інших речовин (азотистих основ,  $H_3PO_4$ , вуглеводів тощо). Складними ліпідами є: фосфоліпіди, гліколіпіди, ліпопротеїди тощо.

Нижче наведена схематична будова простого ліпиду (жиру)



Якщо до складу ліпідів входить залишок насиченої карбонової кислоти, то жир твердий. Найчастіше зустрічаються залишки наступних карбонових кислот:

|                    |                        |
|--------------------|------------------------|
| $C_{15}H_{31}COOH$ | пальмітинова кислота   |
| $C_{17}H_{35}COOH$ | стеаринова кислота     |
| $C_{23}H_{47}COOH$ | лігноцерирнова кислота |

У випадку, коли до складу ліпиду входить залишок ненасиченої карбонової кислоти, то жир буде рідким (олія).

Ненасичені карбонові кислоти можуть мати від одного до чотирьох подвійних зв'язків, наприклад:

|   |                      |                    |
|---|----------------------|--------------------|
| $CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$               | $(C_{17}H_{33}COOH)$ | олеїнова кислота   |
| $CH_3(CH_2)_4CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_7COOH$      | $(C_{17}H_{31}COOH)$ | линова кислота     |
| $CH_3CH_2CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_7COOH$ | $(C_{17}H_{29}COOH)$ | ліноленова кислота |
| $CH_3(CH_2)_4CH=(CHCH_2CH)_3=CH(CH_2)_3COOH$  | $(C_{17}H_{27}COOH)$ | олеїнова кислота   |

Ліпіди нерозчинні або погано розчинні у воді, але гарно розчинні в органічних розчинниках ефірі, бензині, хлороформі тощо.

Вони виконують ряд важливих функцій: структурну, метаболічну, енергетичну, захисну.

### ВИЗНАЧЕННЯ КОНСТАНТ ЖИРУ, ВИЗНАЧЕННЯ КИСЛОТНОГО ЧИСЛА

**Кислотним числом** називається кількість міліграмів КОН, який потрібний для нейтралізації вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру.

**Обладнання.** терези аналітичні, конічні колби на 50 або 100 мл, піпетки на 1 або 2 мл, циліндри на 10 або 25 мл, бюретки.



**Реактиви і матеріали дослідження.** Жири або олії рослинного або тваринного походження, суміш етилового спирту з диетиловим етером (1:1), розчин калій гідроксиду з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л в етиловому спирті (96%).

### Хід роботи

Для визначення кислотного числа жиру (олії) беруть наважку 2-3 г, поміщають в конічну колбу на 50-100 мл і розчиняють її в 10-15 мл нейтральної суміші спирту та етеру. Після розчинення жиру вносять 1-2 краплини розчину фенолфталеїну і титрують спиртовим розчином КОН з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л до слабо-рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 0,5-1 хв. 1 мл розчину КОН з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л відповідає 5,6 мг КОН.

Кислотне число розраховують за формулою:  $C = A \cdot 5,6$ ,

де А – об'єм розчину КОН з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л, витрачений на титрування досліджуваної проби, мл; або за формулою:

$$C = \frac{A \cdot T}{B};$$

де Т – титр розчину КОН з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л, В – наважка жиру. Проаналізуйте одержані результати.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### ВИЗНАЧЕННЯ ЧИСЛА ОМИЛЕННЯ

*Числом омилення* називають кількість міліграмів калій гідроксиду, яка потрібна для нейтралізації всіх жирних кислот, що містяться в 1 г жиру.

**Обладнання.** Водяна баня, колби конічні із зворотним холодильником місткістю 50 мл, бюретки на 25 або 50 мл, піпетки.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Жири, олії, розчин хлоридної кислоти, розчин КОН з молярною концентрацією еквівалента 0,5 моль/л у спирті, розчин з масовою часткою фенолфталеїну 1%.

### Хід роботи

В одну колбу (досліджувану пробу) місткістю 50 мл поміщають 0,5 г жиру, у другу (контрольну пробу) – 0,5 мл води. В обидві колби доливають по 15 мл спиртового розчину КОН з молярною концентрацією еквівалента 0,5 моль/л і кип'ятять із зворотним холодильником на водяній бані протягом 30-40 хв. Потім в обидві колби додають по 10 краплин розчину з масовою часткою фенолфталеїну 1% і титрують розчином НС1 з молярною концентрацією еквівалента 0,5 моль/л до зникнення рожевого забарвлення.

1 мл розчину КОН з молярною концентрацією еквівалента 0,5 моль/л відповідає 28 мг КОН. Кількість міліграмів КОН, витрачених на нейтралізацію

всіх жирних кислот, що містяться в одному грамі жиру, дорівнює

$$C = \frac{(B - A) \cdot 28}{a}, \text{ мг}$$

де В – об'єм розчину НСІ з молярною концентрацією еквівалента 0,5 моль/л, витрачений на титрування контрольної проби, мл; А – об'єм розчину НСІ з молярною концентрацією еквівалента 0,5 моль/л, витрачений на титрування досліджуваної проби, мл; а – наважка жиру, г. Проаналізуйте одержані результати.

### Принцип методу

---

---

---

---

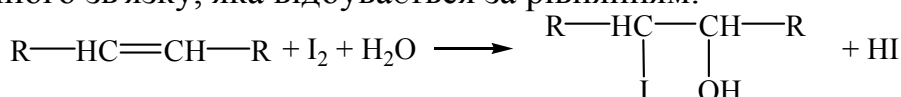
---

---

## ВИЗНАЧЕННЯ ЙОДНОГО ЧИСЛА

*Йодним числом* називають кількість грамів йоду, яка може прореагувати з 100 г жиру.

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



**Обладнання.** конічні колби місткістю 50 мл (2 шт.), Піпетки, бюретки.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Жири (олії), розчин  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  з молярною жконцентрацією еквівалента 0,05 моль/л, спиртовий розчин йоду з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л, розчин з масовою часткою крохмалю 1%.

### Хід роботи

У дві конічні колби місткістю 50 мл беруть: в одну (досліджувану пробу) – наважку жиру 0,1-0,2 г, у другу (контрольну пробу) – 0,1-0,2 мл води і додають піпеткою 10 мл спиртового розчину йоду з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л, перемішують і залишають на 15-20 хв, після чого вміст колб відтитровують розчином  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  з молярною концентрацією еквівалента 0,05 моль/л до появи слабко-жовтого забарвлення, а потім, додавши 1 мл розчину з масовою часткою крохмалю 1%, титрують до зникнення синього забарвлення. 1 мл розчину  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  з молярною концентрацією еквівалента 0,05 моль/л відповідає 12,69 мг йоду. Йодне число вираховують за формулою:

$$C = \frac{(B - A) \cdot 100 \cdot 12,69}{a \cdot 1000},$$

де В – об'єм розчину  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  з молярною концентрацією еквівалента 0,05 моль/л, витрачений на титрування контрольної проби, мл; А – об'єм розчину  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  з молярною концентрацією еквівалента 0,05 моль/л, витрачений на титрування досліджуваної проби, мл; а – наважка жиру. Проаналізуйте одержані результати.

## ФЕРМЕНТАТИВНИЙ ГІДРОЛІЗ ЖИРУ МОЛОКА

Ферментативний гідроліз жиру молока ґрунтується на здатності ліпази гідролізувати жир молока на гліцерин і жирні кислоти (ліпаза діє на емульгований жир, яким є жир молока).

Ліпазу одержують із свіжої підшлункової залози тварин. Для цього беруть певну кількість підшлункової залози, старанно розтирають у ступці в присутності піску, додавають потрібну кількість води, суміш переносять у колбу, дають постояти 10-15 хв, після чого фільтрують через 2 – 3 шари марлі. Фільтрат використовують як розчин ліпази.

**Обладнання.** Термостат, конічні колби на 50-100 мл (6 шт.), піпетки, ступка, мірний циліндр на 50 мл, марля, бюретки.

**Реактиви і матеріали дослідження.** Підшлункова залоза, витяжка ліпази, жовч, кип'ячене молоко, розчин з масовою часткою фенолфталеїну 1%, розчин NaOH з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л.

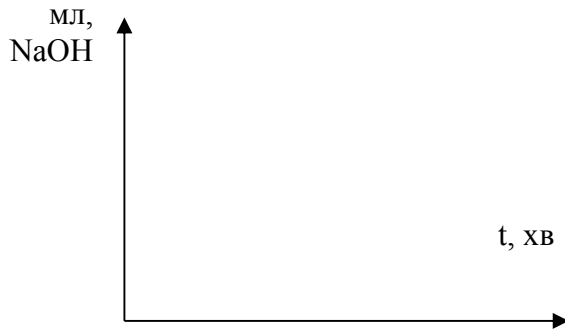
### Хід роботи

У три конічні колби місткістю 100 мл наливають по 50 мл молока і в колби 1 і 2 додають по 2 мл витяжки ліпази, а в колбу 3 (контроль) – 2 мл прокип'яченої витяжки. У колбу 1 додають також 5-6 краплин жовчі (для активування ліпази). Швидко перемішують суміш у пробірках, беруть піпеткою по 10 мл розчину з кожної колби і переносять його в три інші колби відповідно (для титрування).

Перші три колби ставлять у термостат при температурі 37-40°C. У колби для титрування додають по 10 мл води і по 2-3 краплини фенолфталеїну. Титрують вміст кожної колби розчином NaOH з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л до слабо-рожевого забарвлення при постійному перемішуванні. Ще чотири рази через 15, 30, 45 і 60 хв від початку інкубації беруть з колб 1, 2, 3 проби по 10 мл, додають по 10 мл води, 2-3 краплини фенолфталеїну і титрують розчином NaOH з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л, щоразу фіксуючи об'єм лугу, витрачений на титрування жирних кислот, що утворюються через певний проміжок часу.

Результати оформляють у вигляді графіка залежності ферментативної активності ліпази, яку подають у мл розчину NaOH з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л від часу дії. Порівнюють залежності дії ліпази від умов досліді:

- при наявності ліпази;
- без ліпази;
- при наявності ліпази і жовчі.



Проаналізуйте отримані результати згідно побудованого графіку. Зробіть висновки.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### **ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ**

1. Дайте коротку характеристику гліцеридам.
2. Від чого залежить температура плавлення жирів?
3. Охарактеризуйте холестерин та його біологічне значення.
4. Яка будова восків?
5. Чим відрізняються стероли від стеринів?
6. Яка будова та роль фосфоліпідів в побудові мембран?
7. Наведіть приклади відомих вам ліпідів. Які продукти одержують при переробці жирів?
8. Назвіть основні джерела жирів.

## Лабораторна робота № 9 ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВІТАМІНИ

**Вітаміни** – низькомолекулярні органічні речовини, які в малих кількостях необхідні для нормального обміну речовин і життєдіяльності організму. Наука, що вивчає вітаміни називається вітамінологія.

На даний час існує дві класифікації вітамінів - фізична та хімічна.

Згідно фізичної класифікації всі вітаміни поділяються на дві групи: жиророзчинні та водорозчинні.

*Жиророзчинні вітаміни* (К, Е, D, А) - не розчиняються у воді, але розчиняються в органічних розчинниках. Для них характерна термостабільність, стійкість до зміни рН середовища. Вони можуть відкладатись у тканинах тваринного організму. Частіше за все виконують пластичні функції - тобто приймають участь у структурі і функціях клітинних мембран, формуванні та розвитку ембріону (вітамін Е), утворенні та регенерації кісткової (вітамін D) та епітеліальної (вітамін А) тканин, зсіданню крові (вітамін К).

Всі жиророзчинні вітаміни можуть всмоктуватись у кишечнику лише при наявності жирів.

*Водорозчинні вітаміни* (В<sub>1</sub>-В<sub>12</sub>, С, Н, Р). Ці вітаміни добре розчинні у воді і не розчинні у жирах та органічних розчинниках. Для них характерна термолабільність, нестійкість до зміни рН. При підвищеній температурі та наявності кисню вони руйнуються.

Значна частина цих вітамінів є складовими частинами ферментів та безпосередньо приймають участь в обміні речовин.

Хімічна класифікація вітамінів ґрунтується на будові молекул. На даний час застосовують їх раціональні хімічні назви.

### **Жиророзчинні вітаміни**

А - ретинол

D - кальциферол

Е - токоферол

К - філохінон

### **Водорозчинні вітаміни**

В<sub>1</sub> - тіамін

В<sub>2</sub> - рибофлавін

В<sub>5</sub> - пантотенова кислота

В<sub>6</sub> - піридоксин

В<sub>12</sub>- ціанкобаламін

С - аскорбінова кислота

Н - біотин

РР (В<sub>3</sub>) - ніотинова кислота

При відсутності вітамінів в організмі виникає захворювання авітаміноз, при недостатчі – гіповітаміноз, при надлишку - гіпервітаміноз.

Водорозчинні вітаміни не нагромаджуються в організмі, тоді як жиророзчинні можуть депонуватись, як правило, в печінці.

Водорозчинні вітаміни утворюють коферменти, що працюють разом з ферментами і є обов'язковими для перебігу певних біохімічних реакцій. Так, наприклад вітамін В<sub>1</sub> (тіамін) утворює кофермент тіаміндифосфат (тіамінпіро-

фосфат), який бере участь у реакціях окисного декарбоксілювання  $\alpha$ -кетокислот. Вітаміни В<sub>2</sub> (рибофлавін) та В<sub>5</sub> або РР (нікотинамід) утворюють коферменти дегідрогеназ: ФАД (флавінаденіндинуклеотидфосфат) і ФМН (флавінмононуклеотид) побудовані на основі рибофлавіну (в основі його структури лежить ізоалоксазинове кільце), НАД(Ф) (нікотинамідаденіндинуклеотид(фосфат)) – на основі нікотинаміду (в основі його структури – піридинове кільце). Вітамін В<sub>6</sub> (піридоксаль і піридоксамін) є основою коферментів ПАЛФ (піридоксальфосфату) та ПАМФ (піридоксамінфосфату), які беруть участь у трансферазних реакціях. В основі його структури також лежить піридин. Вітамін С існує в окисненій та відновленій формах (аскорбінова кислота та дегідроаскорбінова кислота), бере участь в окисно-відновних реакціях, він може бути синтезованим з L-сорбози, що є кетогексозою. Усі водорозчинні вітаміни іноді об'єднують під назвою вітамінів групи В.

Жиророзчинні вітаміни не утворюють коферментів. Їх функції дуже різноманітні. Вони впливають на ріст і розмноження організмів, диференціювання тканин, побудову скелета, забезпечують цілісність біологічних мембран і можливість поділу клітин, захищають організм від крововиливів, беруть участь у сприйманні зорової інформації і т. ін. До жиророзчинних належать вітаміни А, D, Е, К, F (комплекс поліненасичених вищих жирних кислот).

## **ВИЯВЛЕННЯ ВІТАМІНІВ У МОДЕЛЬНИХ РОЗЧИНАХ**

**Обладнання.** Штатив із пробірками, крапельниці, піпетки, шпатель, термостат, водяна баня.

### **ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВІТАМІН Р (РУТИН, ВІТАМІН ПРОНИКНОСТІ, ЦИТРИН)**

**Реактиви і матеріали дослідження.** Рутин (порошок і насичений водний розчин), 1 %-й розчин хлориду заліза (III), концентрована сірчана кислота, 0,5 %-й розчин соляної кислоти, 10 %-й розчин гідроксиду натрію, реактив Фелінга (див. лабораторну роботу 2).

#### **Хід роботи**

##### ***Реакція рутину з ферум(III) хлоридом***

До 2 мл насиченого водного розчину рутину додають кілька крапель розчину FeCl<sub>3</sub>. Ферум(III) хлорид утворює з рутином комплексні сполуки, забарвлені в смарагдово-зелений колір.

Спостерігають появу зеленого забарвлення.

#### **Принцип методу**

---

---

---

---

##### ***Реакція рутину з концентрованою сульфатною кислотою***

До 2 мл насиченого водного розчину рутину обережно по стінці пробірки доливають 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. Концентрована сульфатна

кислота утворює з флавонами та флавонолами, до яких належить вітамін Р, флавілієві солі, розчини яких мають яскраво-жовте забарвлення.

На межі поділу двох рідин виникає кільце жовтого кольору.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### ***Реакція рутину з реактивом Фелінга***

До 0,5 г рутину доливають 5 мл розчину соляної кислоти, кип'ятять протягом 1 хв, потім фільтрують. Під час кислотного гідролізу рутину відщеплюється молекула рутинози. Потім рутиноза розкладається на глюкозу та рамнозу, які мають відновні властивості, тому можуть бути визначеними реакціями Толленса, Троммера, Фелінга. До 5 мл фільтрату додають 3 мл розчину натрій гідроксиду та 3 мл свіжовиготовленого реактиву Фелінга і знову нагрівають до кипіння.

Спостерігають утворення осаду геміоксиду міді червоного кольору.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## **ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВІТАМІН С**

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу (0,1 %-й), 10 %-й розчин соляної кислоти, 0,1 %-й розчин йоду в калію йодиді, 0,01 %-й розчин метиленового синього, 10 %-й розчин  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 1 %-й розчин  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , 1 %-й розчин  $\text{FeCl}_3$ , 0,1 %-й розчин аскорбінової кислоти, витяжка із шипшини, дистильована вода.

### **Хід роботи**

#### ***Відновлення 2,6-дихлорфеноліндофенолу аскорбіновою кислотою***

У три пробірки вносять по 0,5 мл розчину 2,6-дихлорфенол-індофенолу, по одній-дві краплі розчину  $\text{HCl}$  і по краплях розчин аскорбінової кислоти або витяжку з шипшини (в контрольну пробірку додають 0,5 мл дистильованої води). Аскорбінова кислота здатна відновлювати 2,6-дихлорфенол-індофенол, який переходить при цьому в безбарвну лейкосполуку.

Розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу знебарвлюється.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### ***Відновлення метиленового синього аскорбіновою кислотою***

У три пробірки додають по одній краплі розчину метиленового синього і розчину карбонату натрію. В першу пробірку додають 5 крапель розчину аскорбінової кислоти, у другу – витяжки з шипшини, у третю – стільки ж дистильованої води. Пробірки одночасно нагрівають за температури 37–40 °С. Аскорбінова кислота здатна відновлювати метиленовий синій, який переходить у безбарвну лейкосполуку.

У пробірках з аскорбіновою кислотою та витяжкою із шипшини рідина знебарвлюється.

#### **Принцип методу**

---

---

---

---

### ***Відновлення гексаціано(II) ферату калію аскорбіновою кислотою***

У три пробірки додають по одній краплі розчинів гексаціано(III) ферату калію і хлориду феруму. В одну з пробірок до утвореної зелено-бурої рідини додають 5–10 крапель розчину аскорбінової кислоти, у другу – 5–10 крапель витяжки з шипшини, у третю (контрольну) – 5–10 крапель дистильованої води. Аскорбінова кислота відновлює гексаціано(III)ферат калію до гексаціано(II) ферату калію, який, реагуючи з хлоридом феруму, утворює берлінську лазур – сполуку синього кольору.

Рідина в першій і другій пробірках забарвлюється в зелено-синій колір і випадає синій осад берлінської лазурі. За обережного нашаровування дистильованої води осад на дні пробірки стає виразнішим. У контрольній пробірці зелено-бура рідина забарвлення не змінює.

#### **Принцип методу**

---

---

---

---

### ***Відновлення молекулярного йоду аскорбіновою кислотою***

У три пробірки додають по 10 крапель дистильованої води і по 1–2 краплі розчину йоду в йодиді калію. У першу пробірку додають 10 крапель аскорбінової кислоти, у другу – 10 крапель витяжки з шипшини, у третю (контрольну) – 10 крапель дистильованої води. Аскорбінова кислота здатна відновлювати молекулярний йод, який переходить при цьому у безбарвну йодидну кислоту.

Спостерігають знебарвлення розчину йоду в пробірках з аскорбіновою кислотою та з витяжкою з шипшини.

#### **Принцип методу**

---

---



---

---

---

## РЕАКЦІЯ НА ТІАМІН (ВІТАМІН В<sub>1</sub>) З ДІАЗОРЕАКТИВОМ

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин сульфанілової кислоти (1 %), 5 % розчин нітрату натрію, 10 % розчин натрій бікарбонату, тіамін (порошок або його 5 % розчин).

### Хід роботи

У пробірку вливають 1 мл розчину сульфанілової кислоти та 1 мл розчину нітрату натрію (утворюється діазореактив). Потім у пробірку вносять невелику кількість (на кінчику шпателя) порошку або 0,5 мл розчину тіаміну і по стінці пробірки обережно додають 1 мл розчину Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Вітамін В<sub>1</sub> у лужному середовищі з діазореактивом утворює складну комплексну сполуку жовтогарячого або червоного кольору.

Спостерігають появу забарвленого кільця на межі двох рідин.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

---

---

---

---

## РЕАКЦІЇ ВІДНОВЛЕННЯ РИБОФЛАВІНУ (ВІТАМІНУ В<sub>2</sub>)

**Реактиви і матеріали дослідження.** Концентрована хлоридна кислота, металевий цинк, 0,025 % розчин вітаміну В<sub>2</sub> (суспензія рибофлавіну у воді).

### Хід роботи

У пробірку вливають 1 мл розчину вітаміну В<sub>2</sub>, 0,5 мл концентрованої хлоридної кислоти і кидають грудочку металевого цинку. Під час змішування металевого цинку з концентрованою хлоридною кислотою утворюється водень, який відновлює жовтий рибофлавін спочатку на родофлавін (проміжна сполука) червоного кольору, а потім на безбарвний лейкофлавін.

Рідина в пробірці поступово забарвлюється в рожевий колір, а потім знебарвлюється. Під час збовтування знебарвлений розчин лейкофлавіну знову окиснюється киснем повітря на рибофлавін.

Спостерігають зміну забарвлення.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

---

---

---

---

## РЕАКЦІЯ НА ВІТАМІН РР (АНТИПЕЛАГРИЧНИЙ, В<sub>5</sub>) З АЦЕТАТОМ МІДІ

**Реактиви і матеріали дослідження.** Порошок вітаміну РР, 10 %-й розчин оцтової кислоти, 5 %-й розчин ацетату міді.

### Хід роботи

У пробірку вносять 5–10 мг вітаміну РР і розчиняють під час нагрівання в 1–2 мл розчину оцтової кислоти. До нагрітого до кипіння розчину додають такий же об'єм розчину ацетату міді. У процесі нагрівання вітаміну РР з розчином ацетату міді утворюється погано розчинний осад мідної солі вітаміну РР синього кольору.

Рідина стає каламутною і набуває блакитного кольору. Через деякий час відмічають появу синього осаду.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## РЕАКЦІЯ З ФЕРУМ(ІІ) ХЛОРИДОМ НА ПІРИДОКСИН (ВІТАМІН В<sub>6</sub>)

**Реактиви і матеріали дослідження.** Водний розчин (1%-й) вітаміну В<sub>6</sub>, 1 %-й розчин FeCl<sub>3</sub>.

### Хід роботи

У пробірці перемішують 1 мл водного розчину піридоксину та дві краплі розчину хлориду заліза. Під час взаємодії піридоксину з розчином хлориду заліза рідина забарвлюється в червоний колір завдяки утворенню комплексної солі типу феноляту заліза.

Спостерігають забарвлення рідини.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ЖИРОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВІТАМІН А

**Реактиви і матеріали дослідження.** Хлороформний розчин стибій трихлороцтовий (33 %); хлороформ; 0,05 % масляний розчин вітаміну А в хлороформі або розчин риб'ячого жиру в хлороформі у співвідношенні 1:5; концентрована сульфатна кислота, насичена сульфатом заліза(ІІ); льодяна оцтова кислота.

## Хід роботи

### *Реакція з трихлороцтовою сурмою*

У суху пробірку до однієї-двох крапель розчину вітаміну А в хлороформі або розчину риб'ячого жиру в хлороформі додають чотири-п'ять крапель розчину трихлороцтової сурми в хлороформі й перемішують. Хлороформний розчин вітаміну А або риб'ячого жиру з трихлороцтовою сурмою забарвлюється в специфічний синій колір.

Спостерігають забарвлення рідини.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### *Реакція Друммонда*

У пробірку до двох-трьох крапель розчину вітаміну А додають дві-три краплі концентрованої сірчаної кислоти. Вітамін А з концентрованою сірчаною кислотою у бензольному розчині утворює комплекс синього кольору.

Уміст пробірки забарвлюється в синій колір, який через деякий час змінюється на фіолетовий і бурий.

Спостерігають зміну забарвлення.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### *Реакція із ферум(II) сульфатом*

У пробірку до двох-трьох крапель розчину риб'ячого жиру в хлороформі або масляного розчину вітаміну А в хлороформі доливають п'ять-десять крапель концентрованої сульфатної кислоти, насиченої ферум(II) сульфатом, і одну-дві краплі льодяної оцтової кислоти. Вітамін А із ферум(II) сульфатом у кислому середовищі у хлороформному розчині утворює сполуку червоно-рожевого кольору.

Спостерігають появу блакитного забарвлення, яке поступово перетворюється на червоно-рожеве.

Каротини у цій реакції мають зелене забарвлення.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВІТАМІН D

**Реактиви і матеріали дослідження.** Насичений розчин  $\text{SbCl}_5$ , хлороформний розчин вітаміну D, хлороформ, аніліновий реактив – анілін із концентрованою  $\text{HCl}$  (15:1), розчин бром у хлороформі (1:60).

### Хід роботи

#### *Реакція зі стибій(V) хлоридом*

У суху пробірку до 2 мл розчину вітаміну D у хлороформі доливають 0,2 мл насиченого розчину  $\text{SbCl}_5$ . Вітамін D у хлороформному розчині з насиченим розчином стибій(V) хлориду утворює жовте забарвлення.

Спостерігають появу забарвлення.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

#### *Реакція з аніліном*

У суху пробірку вносять одну-дві краплі риб'ячого жиру або розчину вітаміну D у хлороформі й додають одну краплю анілінового реактиву. Після перемішування утворюється емульсія жовтого кольору. Під час нагрівання емульсії із сумішшю аніліну та концентрованої соляної кислоти розчин забарвлюється в червоний колір.

Через 1–2 хв емульсія розділяється на два шари. Нижній шар забарвлений в інтенсивний червоний колір.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

#### *Реакція з бромом*

У пробірку з двома-чотирма краплями розчину вітаміну D в хлороформі або риб'ячого жиру додають чотири-п'ять крапель розчину бром у хлороформі.

Спостерігають поступове забарвлення суміші в пробірці в зелено-блакитний колір.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВІТАМІН К

**Реактиви і матеріали дослідження.** Розчин діетилмалонового ефіру (1 %-й), 1 %-й розчин КОН, спиртовий розчин вітаміну К, 5 %-й розчин діетилдитіокарбамату, 4 %-й спиртовий розчин NaOH, розчин аніліну, 0,05 %-й спиртовий розчин вікасолу.

### Хід роботи

#### *Реакція з діетилмалоновим ефіром*

У пробірку до 2 мл спиртового розчину вітаміну К додають 0,5 мл розчину діетилмалонового ефіру та 0,1 мл розчину КОН. Спиртовий розчин вітаміну К у лужному середовищі з діетилмалоновим ефіром має червоно-фіолетове забарвлення.

Спостерігають появу червоно-фіолетового забарвлення.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

#### *Реакція з діетилдитіокарбаматом*

У пробірку до 2 мл спиртового розчину вітаміну К додають 2 мл розчину діетилдитіокарбамату та 0,5 мл розчину NaOH в етанолі. Спиртовий розчин вітаміну К в лужному середовищі з діетилдитіокарбаматом утворює сполуку, забарвлену в блакитний колір.

Спостерігають появу забарвлення.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

#### *Реакція з аніліном*

У пробірку з 1 мл спиртового розчину вікасолу додають дві краплі аніліну. За наявності аніліну спиртовий розчин вітаміну К забарвлюється в червоний колір, що зумовлено утворенням 1-метил-2-феніламінонафтохінону.

Перемішують і спостерігають появу забарвлення.

**Принцип методу** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВІТАМІН Е

**Матеріали та реактиви:** спиртовий розчин (0,1 %)  $\alpha$ -токоферолу, концентрована азотна кислота, 1 % розчин хлорного заліза(III).

## Хід роботи

### *Реакція з нітратною кислотою*

У суху пробірку вносять п'ять крапель спиртового розчину вітаміну Е, додають 1 мл концентрованої  $\text{HNO}_3$ , інтенсивно перемішують. Взаємодія  $\alpha$ -токоферолу з концентрованою нітратною кислотою зумовлює забарвлення реакційної суміші в червоний колір. Це спричинено тим, що продукт окиснення  $\alpha$ -токоферолу має хіноїдну структуру.

Спостерігають поступову появу червоного забарвлення.

### Принцип методу \_\_\_\_\_

---

---

---

---

### *Реакція з ферум(III) хлоридом*

У суху пробірку вносять 0,5 мл спиртового розчину  $\alpha$ -токоферолу, потім 0,5 мл розчину ферум(III) хлориду  $\text{FeCl}_3$  й інтенсивно перемішують. Під час взаємодії з ферум(III) хлоридом  $\alpha$ -токоферол окиснюється до  $\alpha$ -токоферилхінону – сполуки червоного кольору:

Спостерігають появу забарвлення.

### Принцип методу \_\_\_\_\_

---

---

---

---

## ОБРОБЛЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ДАНИХ

Побудуйте таблицю, у якій вкажіть: відомі вам водорозчинні вітаміни; коферменти, що їм відповідають; реакції, які перебігають за участю коферментів; реакції, якими можна виявити вітаміни; харчові джерела вітамінів та добову потребу в них.

Побудуйте таблицю, у якій вкажіть жиророзчинні вітаміни, їх біологічну роль, харчові джерела вітамінів та добову потребу в них.

**Лабораторна робота № 10**  
**КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНУ С**  
**В БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТАХ**

Принцип методу. Вітамін С кількісно визначають у безбарвних екстрактах вітаміну за реакцією його окиснення у кислому середовищі 2,6-дихлорфеноліндофенолом.

Мета роботи. Набути вміння кількісно визначати вітамін С титриметричним методом. Дати порівняльну характеристику вмісту аскорбінової кислоти у різних рослинах.

Обладнання та реактиви. Фарфорова ступка з товкачиком. Піпетки на 10 см<sup>3</sup>. Мірна колба на 100 см<sup>3</sup>. Фільтр. Мікробюретки. Конічні колбочки на 50 см<sup>3</sup>. Фрукти, овочі. Кварцовий пісок. НРО<sub>3</sub> (ω = 2%). Хлоридна кислота (ω = 5%). Розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу. Гідроген пероксид. Розчин аскорбінової кислоти (ω = 0,1%). Калій йодат (с(1/5) = 0,001 моль/дм<sup>3</sup>). Кристали калій йодиду. Розчин крохмалю (ω = 1%). Дистильована вода.

Хід роботи. Для порівняння вмісту аскорбінової кислоти досліджують фрукти, овочі.

10 г матеріалу переносять у фарфорову ступку і розтирають з невеликою кількістю кварцового піску, додаючи невеликими порціями розчин хлоридної кислоти (ω = 5%) до одержання рідкої кашки. Доданого розчину кислоти не повинно бути більше 100 см<sup>3</sup>. Гомогенат кількісно переносять у мірну колбу на 100 см<sup>3</sup>. Ступку і товкачик ретельно обмивають тим же розчином хлоридної кислоти і переносять його у мірну колбу. Вміст колби доводять дистильованою водою до риски, перемішують перевертанням колби догори дном і фільтрують або центрифугують.

Одержаний екстракт повинен бути зовсім прозорим. Для досягнення цього інколи треба фільтрувати декілька разів.

Для визначення вмісту аскорбінової кислоти в екстракті у дві конічні колби на 50 см<sup>3</sup> беруть піпеткою по 10 см<sup>3</sup> одержаного екстракту з рослинного матеріалу. Вміст колб титрують з мікробюретки розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу. За наявності в екстракті вітаміну С розчин знебарвлюється, а при подальшому додаванні робочого розчину з'являється блідо-рожеве забарвлення. Робочий розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу забарвлений у синій колір. При взаємодії з аскорбіновою кислотою відбувається відновлення 2,6-дихлорфеноліндофенолу, а відновлена форма безбарвна. Коли вся аскорбінова кислота буде окиснена реагентом, подальше відновлення його відбуватися не буде і невеликий надлишок реагенту дасть блідо-рожеве забарвлення, а не синє, бо в кислому середовищі 2,6-дихлорфеноліндофенол має червоне забарвлення.

В одній з проб руйнують вітамін С кип'ятінням у присутності декількох крапель гідроген пероксиду і проводять всі вищеописані операції. У пробі, де вітамін С був зруйнований, при додаванні декількох крапель робочого розчину з'являється рожеве забарвлення. На основі середньої величини титрування розраховують вміст вітаміну С:

$$X = \frac{100 \cdot V_1 \cdot V \cdot T}{a \cdot V_2}, \text{ де}$$

X – вміст аскорбінової кислоти мг%;

T – титр розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу за аскорбіновою кислотою, мг/см<sup>3</sup>;

V – загальний об'єм вітамінного екстракту, см<sup>3</sup>;

a – маса досліджуваного матеріалу, г;

V<sub>1</sub> – затрачений об'єм реагенту при титруванні, см<sup>3</sup>;

V<sub>2</sub> – взята для титрування аліквота із загального об'єму екстракту, см<sup>3</sup>.

У результаті знаходять вміст вітаміну С в міліграмах на 100 г досліджуваного матеріалу.

За даною методикою визначається лише відновлена форма аскорбінової кислоти.

#### Визначення титру розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу

Титра розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу (с(1/5) ≈ 0,001 моль/дм<sup>3</sup>) за аскорбіновою кислотою визначають у день роботи. Беруть 2 см<sup>3</sup> розчину аскорбінової кислоти (ω = 0,1%) і вносять у 50 см<sup>3</sup> розчину НРО<sub>3</sub> (ω = 2%), перемішують. Беруть 5 см<sup>3</sup> одержаного розчину і титрують розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу до появи рожевого забарвлення. Відмічають затрачений на титрування об'єм реагенту. Такий же об'єм розчину аскорбінової кислоти титрують з іншої бюретки титрованим розчином калій йодату (с(1/5) = 0,001 моль/дм<sup>3</sup>). До розчину аскорбінової кислоти перед титруванням додають декілька кристалів (не більше 0,1 г) калій йодиду і 5 крапель розчину крохмалю (ω = 1%). Обережно титрують до появи ледве помітного синього забарвлення і відмічають затрачений на титрування об'єм калій йодату. Так як у першому і в другому випадку були відтитровані однакові об'єми аскорбінової кислоти, то з цього випливає, що кількості затрачених калій йодату та 2,6-дихлорфеноліндофенолу еквівалентні. Так як 1 см<sup>3</sup> розчину калій йодату (с(1/5) = 0,001 моль/дм<sup>3</sup>) еквівалентний 0,088 мг аскорбінової кислоти, то титр розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу за аскорбіновою кислотою буде:

$$T = \frac{0,088 \cdot V_2}{V_1}, \quad \text{де}$$

V<sub>1</sub> і V<sub>2</sub> – об'єми розчинів 2,6-дихлорфеноліндофенолу та калій йодату відповідно затрачені на титрування однакових об'ємів розчину аскорбінової кислоти.

**Висновок:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_



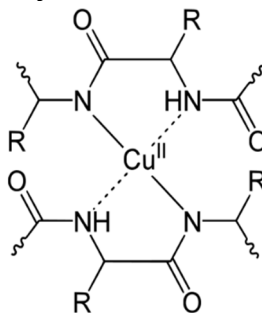
# Лабораторна робота № 11

## ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА В БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТАХ

### Короткі теоретичні відомості

Більшість сироваткових білків, за винятком гамаглобулінів і гемоглобіну, синтезуються в печінці. Білки беруть участь у транспорті, каталізі і коагуляції, діють в якості гормонів і рецепторів, антигенів і антитіл, регулюють осмотичний тиск і забезпечують структурні функції. Належний рівень загального білка в сироватці залежить головним чином від балансу між синтезом і деградацією альбуміну і імуноглобулінів. Причиною відхилень рівня загального білка зазвичай є зневоднення, захворювання печінки і нирок, а також голодування.

**Принцип методу.** Визначення загального білка в зразку проводять колориметричним методом. Білки із солями міді в лужному середовищі утворюють комплекс з інтенсивним фіолетово-синім забарвленням. Йодид використовується як антиоксидант. Інтенсивність кольору прямо пропорційна концентрації загального білка в зразку. Кількісне визначення проводять шляхом порівняння оптичної щільності стандарту з оптичною щільністю досліджуваної проби. Координація та зв'язування відбуваються за аміногрупами пептидних зв'язків:



#### Реактиви:

- 1) **Реагент 1 (Біуретовий буфер).** Натрій калію тартрат - 15 ммоль /л; натрій йодид - 100 ммоль/л; калію йодид - 5 ммоль/л; сульфат міді (II) - 19 ммоль/л.
- 2) **Стандарт.** Розчин загального білку - 70 г/л.

Ознаками погіршення якості реагентів є:

- Присутність часток і помутніння.
- Е холостого зразка при 540нм  $\geq 0.22$  \*

\*Холостий зразок використовується для визначення якості реагента і повинне мати наведене значення.

#### Обладнання:

- Спектрофотометричне обладнання.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Центрифуга, що забезпечує швидкість обертання ротора не менше 2000 об/хв.
- Автоматичні піпет-дозатори змінного об'єму 10-50 мкл.
- Автоматичні піпет-дозатори змінного об'єму 100-1000мкл з одноразовими наконечниками.
- Секундомір.
- Скляні пробірки для центрифугування об'ємом 10 мл.

## Хід роботи

1. Умови вимірювання:

- довжина хвилі 540 нм (530-550 нм)
- кювета з товщиною оптичного шару 1 см
- температура термостату 37°C

2. Налаштувати прибор на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

|                                  | Холостий зразок | Стандартний зразок<br>* | Дослідний зразок |
|----------------------------------|-----------------|-------------------------|------------------|
| Буфер 1, мл                      | 4.0             | 4.0                     | 4.0              |
| Стандартний розчин білка **, мкл | ---             | 100                     | --               |
| Досліджуваний зразок, мкл        | ---             | ---                     | 100              |

\*Загальний білок 70 г/л; Альбумін 70 г/л і так далі.

\*\*Замість стандартного зразка можна взяти альбумін із відомою концентрацією.

4. Перемішати, інкубувати протягом 5 хв. при 37°C або 10 хв. при кімнатній температурі 15-25°C.

5. Виміряти оптичну щільність (E) дослідного зразка і стандарту проти холостого зразка.

Забарвлення стабільне протягом 30 хв. при кімнатній температурі.

## Розрахунок результатів

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

де:  $C_{\text{дос}}$  - концентрація загального білка в дослідному зразку, г/л.

$E_{\text{дос}}$  - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.

$E_{\text{ст}}$  - оптична щільність стандарту, одиниць оптичної щільності.

$C_{\text{ст}}$  - вміст загального білка в стандарті, 70 г/л.

**Висновок:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

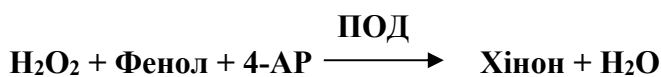
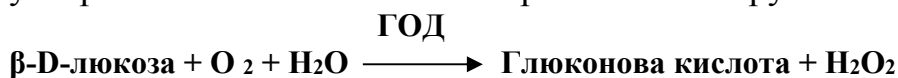
\_\_\_\_\_

**Лабораторна робота № 12**  
**ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ГЛЮКОЗИ**  
**В ЗРАЗКАХ БІОЛОГІЧНОГО ОБ'ЄКТУ**  
**ЗА ДОПОМОГОЮ ФОТОМЕТРА**

**Короткі теоретичні відомості**

Глюкоза - це простий шестивуглецевий цукор. Завдяки її окисненню клітини отримують більшу частину енергії. Рівень глюкози в крові контролюється кількома гормонами. Підвищений рівень глюкози є типовим проявом цукрового діабету. Аномальний рівень глюкози (гіпер- або гіпоглікемія) може бути також викликаний захворюваннями печінки, щитовидної залози, надниркових залоз або пухлиною підшлункової залози.

**Принцип методу.** Глюкозооксидаза (ГОД, GOD) каталізує окислення глюкози до глюконової кислоти. Утворений пероксид водню ( $H_2O_2$ ) реагує з фенолом та 4-амінофеназоном (4-AP) в присутності пероксидази (ПОД, POD) і утворює хіноновий комплекс червоного кольору.



Інтенсивність забарвлення комплексу пропорційна концентрації глюкози в зразку.

**Реактиви. 1. Глюкоза. Буферний розчин 1.** Буфер: трис рН 7.4 - 92 ммоль/л; фенол – 0.3 ммоль/л; глюкозооксидаза - 1500 Од/л; пероксидаза - 1000 Од/л; 4-амінофеназон – 2.6 ммоль/л. **2. Стандарт.** Водний розчин глюкози 10 ммоль/л.

Ознаками погіршення якості реагентів є:

- Присутність часток і помутніння.
- Е холостого зразку  $\geq 0.32$ .

**Обладнання.**

- Спектрофотометричне обладнання.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Центрифуга, що забезпечує швидкість обертання ротора не менше 2000 об/хв.
- Автоматичні піпет-дозатори сталого об'єму 20 мкл.
- Автоматичні піпет-дозатори змінного об'єму 100-1000мкл з одноразовими наконечниками.
- Секундомір.
- Скляні пробірки для центрифугування об'ємом 10 мл.

**Хід роботи**

1. Умови вимірювання:

- довжина хвилі 505 нм (490-550 нм)
- кювета з товщиною оптичного шару 1 см
- температура 37°C/15-25°C

2. Налаштувати прилад на нуль відносно дистильованої води.

3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

| Таблиця       |                 |                    |                  |
|---------------|-----------------|--------------------|------------------|
|               | Холостий зразок | Стандартний зразок | Дослідний зразок |
| Буфер 1, мл   | 4.0             | 4.0                | 4.0              |
| Стандарт, мкл | --              | 20                 | --               |
| Витяжка, мкл  | --              | --                 | 20               |

4. Перемішати, інкубувати протягом 10 хв. при 37°C або 30 хв. при кімнатній температурі 15-25°C.

5. Виміряти оптичну щільність (E) дослідного зразка і стандарту проти холостого зразка.

Забарвлення стабільне протягом 30 хвилин при кімнатній температурі.

### Розрахунок результатів

$$C_{\text{дос}} = \frac{E_{\text{дос}}}{E_{\text{ст}}} \times C_{\text{ст}}$$

де:  $C_{\text{дос}}$  – концентрація глюкози в дослідному зразку, ммоль/л.

$E_{\text{дос}}$  – оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.

$E_{\text{ст}}$  – оптична щільність стандарту, одиниць оптичної щільності.

$C_{\text{ст}}$  – вміст глюкози в стандарті, 10 ммоль/л.

**Висновок:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

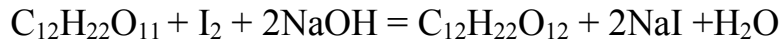
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Лабораторна робота № 13 ВИЗНАЧЕННЯ ЛАКТОЗИ МОЛОКА

Принцип визначення ґрунтується на здатності альдегідної групи лактози в лужному середовищі окислюватися йодом.



**Реактиви.** 0,1 н розчин  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , 0,1 н розчин  $\text{I}_2$ , 5% -ний розчин  $\text{HCl}$ , 7% - ний розчин  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , 2%-ний розчин  $\text{NaOH}$  ( $\text{KOH}$ ), 5% - ний розчин  $\text{NaF}$ .

### Хід визначення

У колбочки на 50мл беруть по 5 мл 7%-ного розчину  $\text{CuSO}_4$ , по 5мл 2%-ного розчину  $\text{NaOH}$  ( $\text{KOH}$ ) і по 2,5 мл 5%-ного розчину  $\text{NaF}$ . Потім в одну колбу (пробу) доливають 5 мл молока, у другу (контроль) – 5 мл дистильованої води, рідини перемішують, доводять до позначки і через 30 хв фільтрують.

20 мл фільтрату відмірюють піпеткою в колбу на 100 мл, добавляють 20 мл 0.1 н розчину  $\text{I}_2$  і при безперервному перемішуванні – 10 мл 2%-ного розчину  $\text{NaOH}$ . Колбу старанно закривають. Через 20 хв добавляють 10 мл 5%-ного розчину  $\text{HCl}$  і титрують 0,1 н розчином  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  в присутності 5 краплин крохмалю.

1 мл 0,1 н розчину ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) відповідає 18,01 мг молочного цукру. Кількість молочного цукру в 100 мг молока (в %) дорівнюватиме:

$$C = \frac{(A - B) \cdot f \cdot 18.01 \cdot 50 \cdot 100}{20 \cdot 5}$$

де  $A$  – кількість 0, 1 н розчину  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , що піде на титрування контролю;

$B$  – кількість 0,1 н розчину  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , що піде на титрування проби;

$f$  – коефіцієнт поправки на 0,1 н розчин  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ .

Середня кількість лактози в не розведеному молоці дорівнює 4,6%.

**Висновок:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## Лабораторна робота № 14 ВИЗНАЧЕННЯ КРЕАТИНІНУ

### Короткі теоретичні відомості

Креатинін є продуктом не ферментативної дегідратації креатину в скелетних м'язах. Кількість креатиніну, що генерується і виділяється нирками, пропорційна м'язовій масі і, звичайно вище у чоловіків, ніж у жінок. Добове виділення креатиніну - відносно постійна величина, за винятком важких поранень, або дегенеративних захворювань, які викликають масивне пошкодження м'язів. Рівень креатиніну в крові і сечі залежить від фільтрації, тому Креатинін служить прекрасним індикатором функціонального стану нирок.

**Принцип методу.** Модифікація методу Яффе без депротейнізації. В результаті реакції пікрату з креатиніном в лужному середовищі утворюється похідна 2,4,6-тринітроциклогексодіен жовто-червоного кольору. Інтенсивність забарвлення прямо пропорційна концентрації креатиніну.

#### Реактиви:

1. **Реагент 1.** Пікриновий реагент: пікринова кислота – 17.5 ммоль/л.
2. **Реагент 2.** Лужний реагент: гідроксид натрію - 0.29 ммоль/л.
3. **Стандарт.** Водний розчин креатиніну - 167 мкмоль/л.

Ознаками погіршення якості реагентів є:

- Присутність часток і помутніння.
- Е холостого зразка при 492 нм  $\geq 1.8$ .

#### **НЕБЕЗПЕЧНО!**

Реагенти викликають подразнення очей, шкіри та дихальних шляхів. При роботі з ними в лабораторних умовах використовуйте засоби персонального захисту (рукавички, лабораторний одяг) і дотримуйтесь лабораторних процедур по безпечному поводженню з реагентами. Реагент Р1 (пікринова кислота) є вибухонебезпечною, Р2 (гідроксид натрію) є їдкою речовиною. Уникайте вдихання, контакту зі шкірою, очима або слизовою оболонкою. У разі випадкового потрапляння реагентів на шкіру або слизову оболонку, змийте їх великою кількістю води.

#### **Обладнання:**

- Спектрофотометричне обладнання.
- Відповідні кювети з товщиною оптичного шару 1 см.
- Центрифуга, що забезпечує швидкість обертання ротора не менше 2000 об/хв.
- Автоматичні піпет-дозатори змінного об'єму 10-100 мкл.
- Автоматичні піпет-дозатори змінного об'єму 100-1000 мкл з одноразовими наконечниками.
- Секундомір.
- Скляні пробірки для центрифугування об'ємом 10 мл.

#### **Підготовка реагентів**

Перед використанням реагенти витримати при кімнатній температурі 30 хв.

Приготування робочого реагенту **РР**: змішати рівні об'єми **Р1** (пікриновий реагент) і **Р2** (лужний реагент). РР стабільний 15 днів при температурі 2-8 °С.

### Хід роботи

1. Умови вимірювання:
  - довжина хвилі 492 нм (490-510 нм)
  - кювета з товщиною оптичного шару 1 см
  - температура термостату 37°C
2. Налаштувати прибор на нуль відносно дистильованої води.
3. Наповнення кювети: компоненти реакційної суміші відібрати та вносити в об'ємах, вказаних в таблиці.

|               | Холостий зразок | Стандартний зразок | Дослідний зразок |
|---------------|-----------------|--------------------|------------------|
| РР, мл        | 2.0             | 2.0                | 2.0              |
| Стандарт, мкл | --              | 100                | --               |
| Зразок, мкл   | --              | --                 | 100              |

4. Перемішати, інкубувати протягом 30 сек.
5. Виміряти первинну оптичну щільність (E) дослідного та стандартного зразків проти холостого зразка. Включити секундмір і виміряти E через 60 сек.
6. Підрахуйте різницю між E ( $\Delta E$ ).

### Розрахунок результатів

$$C_{doc} = \frac{\Delta E_{doc}}{\Delta E_{cm}} \times C_{cm}$$

де:  $C_{doc}$  - концентрація креатиніну в дослідному зразку, мкмоль/л.

$\Delta E_{doc}$  - оптична щільність дослідного зразка, одиниць оптичної щільності.

$\Delta E_{cm}$  - оптична щільність стандарту, одиниць оптичної щільності.

$C_{cm}$  - вміст креатиніну в стандарті, 167 мкмоль/л.

**Висновок:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## **Лабораторна робота № 15** **ВИЗНАЧЕННЯ КАРОТИНУ В РОСЛИНАХ**

**Обладнання.** Прилад для визначення каротину. Зелені рослини, морква. Прилад, для визначення каротину КН-2.

Принцип визначення на приборі КН-2 заснований на методі порівняння інтенсивності забарвлення, яке отримане при аналізі досліджуваного зразка з забарвленням стандартного розчину в ампулах-еталонах.

### **Хід роботи**

Наважку досліджуваного зразка (шпинат, морква, гарбуз) масою 3 г розтирають у ступці з кварцовим піском (битим склом). Якщо досліджуваний зразок є вологим, то додають безводний сульфат натрію доти, поки досліджувана проба не стане сухою. Розтерту в порошок наважку засипають у колонку, яка заповнена адсорбентом. Заповнення адсорбентом проводять наступним чином. Нижній (вузький) кінець колонки щільно заповнюють ватою, після чого засипають в колонку алюміній оксиду (адсорбент) шаром 2,0-2,5 см і втрамбовують чистою скляною паличкою. Це необхідно для повільного проходження крізь адсорбційну колонку. Колонку з засипаною в неї розтертою пробою вставляють в мірний циліндр і обробляють ефіром або бензином порціями по 5-10 мл до тих пір поки об'єм витяжки в мірному циліндрі буде дорівнювати 60 мл.

Алюміній оксид адсорбує всі пігменти, що розчинились, крім каротину. З початку розчин, що витікає має інтенсивне жовте забарвлення (оскільки вміст каротину найбільший), а останній має бути безбарвним.

Одержану витяжку перемішують і наливають в пробірку. Пробірку ставлять у підставку на лист білого паперу і по черзі порівнюють з ампулами-стаканами.

На етикетці еталону вказано вміст мг каротину в 1 кг досліджуваного зразка (біологічного об'єму).

### **ВИЗНАЧЕННЯ КАРОТИНУ (ПРОВІТАМІНУ А)**

Рослинні пігменти, що мають жовте або жовтогаряче забарвлення, нерозчинні у воді, але розчинні в органічних розчинниках типу бензину, ацетону, петролейного ефіру. Вони складають групу каротиноїдів. Найбільш відомим представником її є каротин – пігмент, що додає специфічне фарбування коренеплодам моркви, зернам кукурудзи, поряд із хлорофілом він забарвлює зелені частини рослин.

Каротин  $C_{40}H_{56}$  належить до групи ненасичених вуглеводнів ряду терпенів.

Каротин синтезують рослини, а в організмі людини й тварин він перетворюється у вітамін А, необхідний для їхньої життєдіяльності. Відсутність або нестача вітаміну А викликає захворювання очей (куряча сліпота, ксерофтальмія). Тому кількісний зміст каротину в рослинах служить цінною характеристикою якості їжі й кормів рослинного походження. Добова норма вітаміну А для дорослої людини 1,5-2,5 мг. У тварин добова норма каротину значно більша і складає (на 100 кг живої маси) у корів 50-80 мг, у бугаїв 70-100, в овець 20-60, у свиноматок 20-30, у кнурів 50-60, у племінних коней 40-50 мг.

Основним джерелом харчового каротину (провітаміну А) є морква, капу-



ста листові, цибуля зелена, горошок зелений, томати, абрикоси, сливи й інші овочі та плоди. Середній вміст каротину в кормах наведений в таблиці.

| Корми                                     | Каротин, мг/кг |
|---|----------------|
| Трава лучна                               | 75             |
| Конюшина червона                          | 41             |
| Люцерна                                   | 30             |
| Кукурудза                                 | 34             |
| Г орох+овес                               | 95             |
| Сіно лучне                                | 45             |
| Сіно з конюшини                           | 66             |
| Сіно змішаних злаків                      | 20             |
| Трав'яне борошно з люцерни                | 109            |
| Трав'яне борошно з конюшини               | 100            |
| Трав'яне борошно зі злакового різнотрав'я | 70             |
| Силос і сінаж із різнотрав'я              | 70             |
| Силос і сінаж кукурудзяний                | 80             |
| Морква                                    | 123            |
| Риб'ячий жир                              | 0,4-0,6        |

Визначення каротину необхідно для оцінки якості рослинної продукції в залежності від ряду агротехнічних факторів і прийомів, у зоотехнії – для складання раціонів годівлі, в охороні здоров'я – для розробки лікувального харчування.

*Суть методу.* Метод ґрунтується на тому, що каротин екстрагують із досліджуваного матеріалу бензином або іншим органічним розчинником – ацетоном, ефіром. Кількість каротину в розчині визначають колориметрично за інтенсивністю жовтого забарвлення, порівнюючи його зі зразковим водним розчином дихромату калію, який є стандартом на чистий каротин.

**Обладнання та реактиви.** Фотоелектроколориметр, оксид кальцію або безводний сульфат натрію, оксид алюмінію порошкоподібний (має містити не більш як 9-10% води), бензин, кварцовий пісок або товчене скло, зразковий розчин (3,6 г  $K_2Cr_2O_7$  розчиняють у воді і доводять до 1 л; 1 мл цього розчину відповідає по кольору 0,0208 мг каротину).

**Хід аналізу.** Наважку свіжого рослинного матеріалу масою 1-5 г подрібнюють на тертушці або ножницями, ретельно і швидко розтирають у ступці з кварцовим піском або товченим склом. Розтирання виконують швидко, щоб уникнути розпаду каротину під дією кисню. Вологий рослинний матеріал підсушують, додаючи для зневоднення зневоднений сульфат натрію або оксид кальцію, перемішують і розтирають товкачиком. Поглинаючи від досліджуваного матеріалу воду, оксид кальцію перетворюється в гідроксид кальцію. При цьому вапно частково поглинає також хлорофіл і ксантофіл. Коли суміш речовин в ступці перетворюється в тонкий сухий порошок, його залишають у темному місці на 20-30 хв. Грубий корм, силос і сінаж рекомендується після цього перенести в конічну колбу, залити бензином (20-25 мл), перемішати, закрити й залишити в темному місці на 15-20 год.

За цей час готують трубку Алліна (рис.1), на дно якої вставляють ватний тампон 5 близько 1 см завтовшки, щоб адсорбент не потрапив у приймальну пробірku. Зверху тампона насипають, ущільнюючи дерев'яною паличкою, шар (1-1,5

см) оксиду алюмінію 4, який є адсорбентом хлорофілу й ксантофілу при екстракції. Потім знову вставляють ватний тампон 3 і на нього кількісно переносять наважку рослинного матеріалу (порошок) 2. Через пробку трубку Алліна вставляють у колбу Бунзена 6, яку приєднують до водоструминного насоса. Кінець трубки Алліна вставляють у приймальну пробірку 7, включають насос, не допускаючи сильного розрідження, і невеликими порціями приливають бензин у трубку доти, поки фільтрат не забарвиться у жовтий колір. У міру наповнення пробірки фільтрат зливають у мірну колбу на 100 мл. Об'єм доводять до риски бензином, перемішують і фотометрують.

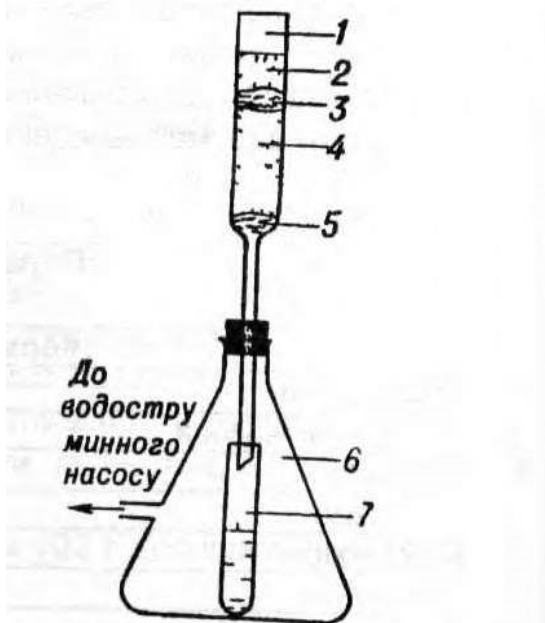


Рис. 1. Прилад для визначення провітаміну А

Вміст каротину в досліджуваному об'єкті обчислюють за допомогою калібрувального графіка. Для цього готують шкалу зразкових розчинів. У десять пронумерованих мірних колб місткістю 100 мл приливають послідовно таку кількість зразкового розчину, мл: 1; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5; 20; 25. Доливають колби водою до риски, перемішують і фотометрують при синьому світлофільтрі. Розчином порівняння є дистильована вода. Знаючи вміст каротину в зразкових розчинах і їхню оптичну густину, будують калібрувальний графік. Для зручності розрахунків при побудові графіка по горизонталі відкладають не концентрацію, а кількість мілілітрів зразкового розчину.

Вміст каротину  $\{A\}$ , в міліграмах на 100 г сирової речовини, обчислюють за формулою:

$$A = \frac{a \cdot 0,0208 \cdot 100}{m},$$

де  $a$  - кількість мілілітрів зразкового розчину, знайдена за графіком, що відповідає досліджуваному розчину, мл; 0,0208 - кількість каротину, що відповідає 1 мл зразкового розчину, мг;  $m$  - маса наважки рослинного матеріалу, г; 100 - для перерахунку на 100 г речовини.

**Висновок:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

1. Вкажіть обов'язкові компоненти парентерального білкового харчування у вигляді розчинів:

- A. Незамінні амінокислоти
- B. Суміші будь-яких амінокислот
- C. Рослинних білків
- D. Замінних амінокислот
- E. Сірковмісних амінокислот

2. Пацієнту з ушкодженим стравоходом рекомендовано парентеральне харчування. Вкажіть, який з вказаних фармпрепаратів є гідролізатом амінокислот?

- A. Гідролізін
- B. Аспаркам
- C. Реополіглюкін
- D. Поліглюкін
- E. Панангін

3. При формуванні третинної структури більшості глобулярних білків неполярні залишки амінокислот занурені у внутрішню гідрофобну фазу молекули. Назвіть одну з таких гідрофобних амінокислот.

- A. Лізин
- B. Валін
- C. Аргінін
- D. Глутамінова кислота
- E. Аспарагінова кислота

4. У клініці для парентерального білкового харчування, використовують фармпрепарати гідролізату білків. Повноцінність гідролізатів визначається за наявністю незамінних амінокислот. Вкажіть, яка із перерахованих амінокислот відноситься до незамінних:

- A. Метіонін
- B. Гліцин
- C. Тирозин
- D. Аланін
- E. Цистеїн

5. За якою специфічною реакцією можна виявити ароматичні амінокислоти, що входять до складу природних білків?

- A. ксантопротеїною
- B. біуретовою
- C. Фоля
- D. з реактивом Фелінга
- E. нінгідриною

6. Одним з показників обміну речовин є рівень загального білка у сироватці крові. Кількісне визначення білка у клініко-біохімічних лабораторіях засновано на:
- A. Нітропруссидній реакції
  - B. Нінгидриновій реакції
  - C. Ксантопротеїновій реакції
  - D. Реакції Фоля
  - E. Біуретовій реакції
7. Вкажіть основні типи зв'язків, характерні для первинної структури білкової молекули:
- A. Гідрофобні
  - B. Пептидні
  - C. Водневі
  - D. Дисульфідні
  - E. Іонні взаємодії
8. Дипептид карнозин підвищує ефективність іонних pomp у м'язових клітинах. Вкажіть із яких амінокислот він утворюється?
- A. Гістидин, L-аланін
  - B. Гістидин, D-аланін
  - C. Гістидин, гліцин
  - D. Гістидин, валін
  - E. Гістидин, цистеїн
9. У регуляції артеріального тиску беруть участь різні біологічно активні сполуки. Які пептиди, що надходять в кров, здатні впливати на тонус судин?
- A. Кініни
  - B. Енкефаліни
  - C. Йодтироніни
  - D. Лейкотрієни
  - E. Ендорфіни
10. Природні пептиди можуть виконувати різні функції. Який біологічно активний пептид є одним з головних антиоксидантів і виконує коферментні функції?
- A. Ліберин
  - B. Брадикінін
  - C. Окситоцин
  - D. Глутатіон
  - E. Ансерін
11. У результаті оксидазних реакцій утворюється пероксид водню, який є токсичною речовиною для організму. Важливу роль у його відновленні відіграє глутатіон. Назвіть амінокислоти, які входять до складу глутатіону:
- A. Глутамінова кислота, цистеїн, гліцин
  - B. Аспарагінова кислота, валін, серин
  - C. Фенілаланін, лізин, тирозин

- D. Лізин, метіонін, триптофан
- E. Ізолейцин, гістидин, аланін

12. Структурною особливістю фібрилярних білків є утворення мультимолекулярних ниткоподібних комплексів - фібрил, які складаються з декількох паралельних поліпептидних ланцюгів. Назвіть фібрилярний білок, що входить до складу волосся, шкіри, ногтей.

- A. Альфа-кератин
- B. Альбумін
- C. Протромбін
- D. Глобулін
- E. Гістон

13. Біосинтез колагену - основного білка сполучної тканини - пов'язаний із ко і посттрансляційними модифікаціями, що призводять до утворення зрілих колагенових фібрил. В основі формування колагену є процес:

- A. Глікозилування
- B. Протеоліз
- C. Фосфорилування
- D. Карбоксилування
- E. Гідроксилування

14. У хворого порушена проникність судин. Назвіть білок сполучної тканини, синтез якого при цьому порушений.

- A. Колаген
- B. Міоглобін
- C. Альбумін
- D. Глобуліни
- E. Церулоплазмін

15. Вивчення просторової конформації білків здійснюється за допомогою певного методу. Вкажіть його.

- A. Рентгеноструктурний аналіз
- B. Електрофорез
- C. Діаліз
- D. Висолювання
- E. Ізоелектричне фокусування

16. При термічній обробці їжі відбуваються незворотні зміни просторової будови білка. Цей процес називається:

- A. Діаліз
- B. Ренатурація
- C. Висолювання
- D. Денатурація
- E. Гідратація

17. Вкажіть рівень структурної організації білкової молекули, що зберігається після дії денатуруючих агентів:

- A. Первинний
- B. Вторинний
- C. Третинний
- D. Четвертинний
- E. Вторинний і третинний

18. Препарат “Лінетол” використовується в медичній практиці для корекції ліпідного обміну. Яка незамінна жирна кислота (поліненасичена) входить до його складу:

- A. Лінолева
- B. Стеаринова
- C. Капронова
- D. Масляна
- E. Пальмітинова

19. Жировому переродженню печінки запобігають ліпотропні речовини. Які з нижчеперерахованих речовин відносяться до них:

- A. Глюкоза
- B. Холестерин
- C. Білірубін
- D. Гліцин
- E. Метіонін

20. Після перенесеного вірусного гепатиту, для попередження жирового переродження печінки хворому потрібно призначати ліпотропні фактори. Вкажіть один из них

- A. Холін
- B. Аллопуринол
- C. Вікасол
- D. Триптофан
- E. Контрікал

21. Ентеральний обмін ліпідів можливий лише за наявності цілої низки умов. Які з перелічених сполук впливають на процес емульгування жирів, активації ліпази, всмоктування жирних кислот?

- A. Холестерин
- B. Вуглеводи
- C. Амінокислоти
- D. Білірубін
- E. Жовчні кислоти

22. У склад жовчі входять жовчні кислоти. Виберіть одну з них.

- A. Молочна
- B. Глютамінова

- С. Холева
- Д. Арахідонова
- Е. Піровиноградна

23. При зовнішньо секреторної недостатності підшлункової залози іноді з препаратом “фестал”, що містить панкреатичні ферменти, для поліпшення переварювання їжі рекомендують препарати жовчних кислот. З якою метою використовується така добавка?

- А. Для емульгування жирів
- В. Для активації протеолітичних ферментів
- С. Для активації  $\alpha$ -амілази
- Д. Для стимуляції секреції панкреатичного соку
- Е. Для стимуляції перистальтики кишечника

24. Хворому для покращення травлення жирної їжі призначено препарат жовчі. Які компоненти даного препарату приймають участь в емульгуванні жирів?

- А. Жовчні кислоти
- В. Холестерин і його ефіри
- С. Дигліцерид
- Д. Білірубінглюкуронід
- Е. Вищі жирні кислоти

25. Пацієнту похилого віку з ціллю попередження розвитку жирової інфільтрації печінки рекомендовано вживати в їжу сир. Яка незамінна амінокислота, що необхідна для синтезу фосфоліпідів, знаходиться у сирі?

- А. Аргінін
- В. Метіонін
- С. Лізин
- Д. Валін
- Е. Пролін

26. Хворому із виразковою хворобою лікар призначив протизапальний засіб, який є похідним простагландину E1. Що є метаболічним джерелом цієї речовини?

- А. Арахідонова кислота
- В. Масляна кислота
- С. Олеїнова кислота
- Д. Пальмітинова кислота
- Е. Стеаринова кислота

27. Яка сполука є кінцевим продуктом гідролізу крохмалю?

- А. D-глюкоза
- В. мальтоза
- С. D-фруктоза
- Д. D-галактоза
- Е. сахароза

28. Дефіцит якої сполуки в кишківнику може бути причиною порушення всмоктування жирів?
- A. бікарбонати
  - B. жовчні пігменти
  - C. лецитин
  - D. холестерин
  - E. жовчні кислоти
29. Хворому з діагнозом атерогенез лікар рекомендував обмежити споживання тваринних жирів і замінити їх рослинними, які багаті на есенціальні (незамінні) жирні кислоти. До таких сполук відносяться:
- A. Лінолева кислота
  - B. Олеїнова кислота
  - C. Аскорбінова кислота
  - D. Пальмітинова кислота
  - E. Стеаринова кислота
30. У чоловіка 30 років гіпоенергетичний стан, пов'язаний з порушенням функціонального стану цитохромів дихального ланцюга мітохондрій, які за хімічною природою є:
- A. Глікопротеїнами
  - B. Гемпротеїнами
  - C. Флавопротеїнами
  - D. Ліпопротеїнами
  - E. Ретинолпротеїнами
31. У закритому гаражі водій знаходився у машині із включеним двигуном. Через деякий час він відчув головний біль, почалось блювання. Утворення якої сполуки призводить до такого стану?
- A. Метгемоглобіну
  - B. Ціанметгемоглобіну
  - C. Дезоксигемоглобіну
  - D. Карбоксигемоглобіну
  - E. Оксигемоглобіну
32. Хворому після операції призначили глікозаміноглікан, що виявляє антикоагулянтну дію. Назвіть цю речовину:
- A. Гепарин
  - B. Хондроїтін4сульфат
  - C. Гіалуронова кислота
  - D. Кератансульфат
  - E. Хондроїтін6сульфат
33. Для зниження активності системи згортання крові призначають природний антикоагулянт. Назвіть його.
- A. Вікасол



- В. Аскорбінова кислота
- С. Вітамін В12
- Д. Алопуринол
- Е. Гепарин

34. В організмі людини присутні як прості так і складні білки. Чим відрізняються за будовою білки складні від простих?

- А. Просторовою організацією білкової молекули
- В. Відсутністю небілкового компонента
- С. Наявністю небілкового компонента
- Д. Послідовністю амінокислотних залишків
- Е. Кількістю амінокислотних залишків

35. Простетична група складних білків приєднується до поліпептидного ланцюга за допомогою різних зв'язків. Через яку групу приєднується залишок фосфорної кислоти до білків у фосфопротеїнах?

- А. СОО-групу глутаміну
- В. СН-групу метионіну
- С. NH-групу лізину
- Д. SH-групу цистеїну
- Е. OH-групу серину

36. Вуглеводний компонент протеогліканів представлений глікозаміногліканами (ГАГ). Який з глікозаміногліканів локалізований переважно в печінці, легенях, судинній стінці?

- А. Дерматансульфат
- В. Гіалуронова кислота
- С. Кератансульфат
- Д. Гепарин
- Е. Хондроїтинсульфат

37. Зміна рівня ліпопротеїнів плазми крові свідчить про патологію ліпідного обміну. Підвищення рівня яких ліпопротеїнів може привести до розвитку атеросклерозу?

- А. Ліпопротеїнів низької густини (В-ЛП)
- В. Ліпопротеїнів високої густини (а-ЛП)
- С. Ліпопротеїнів структурних
- Д. Хіломікронів
- Е. Ліпопротеїнів середньої густини

38. Гемоглобін має властивість утворювати з угарним газом дуже стійку, небезпечну для життя сполуку. Яку вона має назву?

- А. Карбоксигемоглобін
- В. Метгемоглобін
- С. Карбгемоглобін
- Д. Оксигемоглобін

Е. Міоглобін

39. Серповидно - клітинна анемія обумовлена мутацією гена, який відповідає за синтез білкової частини гемоглобіну. При цьому полярна амінокислота замінюється на неполярну, що призводить до зменшення розчинності гемоглобіну і зміни розчинності еритроцитів. Вкажіть, яка заміна має місце в молекулі гемоглобіну ?

- А. Валін - на серин
- В. Аланін на фенілаланін
- С. Глутамінова кислота - на аспарагінову кислоту
- Д. Глутамінова кислота на валін
- Е. Глутамінова кислота - на лізин

40. У хворого спостерігається виділення іонізованої міді із сечею, відкладання її в органах і тканинах. Вкажіть синтез якого білка порушений, що приводить до таких наслідків.

- А. Кріоглобуліну
- В. Трансферину
- С. Пропердину
- Д. Гаптоглобіну
- Е. Церулоплазміну

41. Для розсмоктування рубців після опіків та операцій, а також гематом в клініці використовується препарат лідаза. Даний препарат містить фермент, який розщеплює:

- А. Кератансульфат
- В. Хондроїтин<sup>4</sup>сульфат
- С. Гіалуронову кислоту
- Д. Гепарин
- Е. Дерматансульфат

42. Для поліпшення тканинного дихання при асфіксії новонароджених та для відновлення окиснювальних процесів в організмі використовують цитохром С. До якого класу речовин належить ця сполука?

- А. Глікопротеїни
- В. Фосфопротеїни
- С. Нуклеопропротеїни
- Д. Ліпопротеїни
- Е. Гемопропротеїни

43. 40-річного чоловіка госпіталізовано внаслідок отруєння чадним газом. Яка з перелічених фракцій гемоглобіну буде підвищеною у даного пацієнта?

- А. Карбгемоглобін
- В. Метгемоглобін
- С. Карбоксигемоглобін
- Д. Оксигемоглобін
- Е. Глікозильований гемоглобін

44. Який газ утворює стійку сполуку з гемоглобіном крові?  
A. CO  
B. O<sub>2</sub>  
C. N<sub>2</sub>  
D. CO<sub>2</sub>  
E. NO
45. Транспортною формою ліпідів в крові є ліпопротеїни. Яка з фракцій ліпопротеїнів транспортує холестерин від периферичних тканин до печінки?  
A. ЛПСГ  
B. ЛПНГ  
C. ЛПДНГ  
D. Хіломікрони  
E. ЛПВГ
46. Основну субстанцію міжклітинного матриксу сполучної тканини утворюють протеоглікани, вуглеводним компонентом яких є глікозаміноглікани. Який глікозаміноглікан грає важливу роль в регуляції проникності тканин?  
A. Гепарансульфат  
B. Гепарин  
C. Гемоглобін  
D. Кератансульфат  
E. Гіалуронова кислота
47. У хворого виявлена серпоподібноклітинна анемія, що відноситься до гемоглобінопатій. Заміна якої амінокислоти на валін приводить до цього порушення?  
A. Глутамінова кислота  
B. Аргінін  
C. Метіонін  
D. Гістидин  
E. Триптофан
48. Гепарин є потужним природним антикоагулянтом, який синтезується в тучних клітинах. Яка хімічна природа цієї сполуки?  
A. Гетерополісахарид  
B. Простий білок  
C. Складний білок  
D. Гомополісахарид  
E. Фосфоліпід
49. В процесі катаболізму гемоглобіну звільняється залізо, яке в складі спеціального транспортного білку надходить в кістковий мозок і знову використовується для синтезу гемоглобіну. Цим транспортним білком є  
A. Транскобаламін  
B. Трансферин (сидерофілін)

- C. Гаптоглобін
- D. Церулоплазмін
- E. Альбумін

50. Яке похідне гемоглобіну буде переважати в крові хворого, в якого виявили ознаки гіперкапнії?

- A. Карбгемоглобін
- B. Оксигемоглобін
- C. Карбоксигемоглобін
- D. Метгемоглобін
- E. Глікозильований гемоглобін

51. У хворого на атеросклероз біохімічний аналіз плазми крові виявив підвищення в плазмі крові:

- A. Ліпопротеїнів низької щільності
- B. Хіломікронів
- C. Ліпопротеїнів проміжної щільності
- D. Ліпопротеїнів високої щільності
- E. Триацилгліцеролів

52. Білок крові фібриноген має за класифікацією відношення до певної групи складних білків. А саме:

- A. Глікопротеїнів
- B. Металопротеїнів
- C. Ліпопротеїнів
- D. Нуклеопропротеїнів
- E. Фосфопротеїнів

53. Детоксикація важких металів в організмі людини на молекулярному рівні є наслідком:

- A. Взаємодії з церулоплазміном
- B. Мікросомального окислення
- C. Комплексоутворення з активною формою глюкуронової кислоти
- D. Комплексоутворення з активною формою сірчаної кислоти
- E. Активації синтезу металотіонеїну

54. При обстеженні хворого атеросклерозом судин серця та головного мозку відмічені зміни ліпідного спектру крові. Збільшення вмісту яких ліпопротеїнів має особливо істотне значення в патогенезі атеросклерозу?

- A. ліпопротеїнів низької густини
- B. ліпопротеїнів дуже низької густини
- C. ліпопротеїнів високої густини
- D. ліпопротеїнів проміжної густини
- E. хіломікронів

55. Яка речовина не визначається при електрофоретичному розділенні ліпопро-

теїнів у здорової людини?

- A. ЛДНЩ
- B. Проміжні ЛП
- C. Хіломікрони
- D. ЛНЩ
- E. ЛВЩ

56. Функція кожного класу ліпопротеїнів, що транспортують нерозчинні чи малорозчинні у воді жири, холестерин та його ефіри, специфічна. Які з них транспортують жири від кишечника до тканин?

- A. Хіломікрони
- B. Пре-бета-ліпопротеїни
- C. ЛДНГ
- D. ЛНГ
- E. ЛВГ

57. Вкажіть ліпіди, транспорт яких, переважно, забезпечують хіломікрони крові:

- A. Екзогенні тригліцериди
- B. Холестерол та його ефіри
- C. Ендогенні тригліцериди
- D. Холестерол
- E. Фосфоліпіди

58. У клітинах організму еукаріотів ДНК знаходиться у зв'язаній з білками формі. Вкажіть білки, що з'єднані з ниткою ДНК та стабілізують її:

- A. Глобуліни
- B. Проламіни
- C. Гістони
- D. Альбуміни
- E. Глютеліни

59. У структурі тРНК на теперішній час окрім головних азотистих основ виявлено понад 50 мінорних. Назвіть одну з них.

- A. Урацил
- B. Цитозин
- C. 5-метилурацил
- D. Дигідроурацил
- E. Аденін

60. Знаючи хімічну будову біологічно активних речовин, можна зробити висновок про їх біологічні функції в організмі. До якого класу біологічно активних речовин належить полінуклеотид побудований з дезоксирибонуклеотидів?

- A. РНК
- B. Білки
- C. ДНК
- D. Полісахарид

Е. Ліпіди

61. Нуклеотиди є мономерами нуклеїнових кислот. Які сполуки можуть утворюватись при повному гідролізі рибонуклеотидів?

- А. Цитозин, тимін, ортофосфорна кислота
- В. Гуанін, дезоксирибоза, ортофосфорна кислота
- С. Ортофосфорна кислота, рибоза, урацил
- Д. Ортофосфорна кислота, аденін, дезоксирибоза
- Е. Рибоза, тимін, цитозин

62. До складу хроматину входять гістонові білки, що мають позитивний заряд. Яка з наведених амінокислот у великій кількості входить до складу гістонових білків та несе позитивний заряд?

- А. Серін
- В. Лізін
- С. Валін
- Д. Аланін
- Е. Треонин

63. Пацієнту з діагнозом рак шлунку призначили препарат, який є похідним піримідинової азотистої основи, тобто його антиметаболітом. Назвіть цей препарат:

- А. 5-Метилурацил
- В. Аденін
- С. Цитозин
- Д. 5-Фторурацил
- Е. Гуанін

64. Деякі синтетичні похідні піримідину й пурину використовуються як лікарські засоби, що виступають у ролі антиметаболітів. Знайдіть такий:

- А. Тимін
- В. Аденін
- С. Гуанін
- Д. Цитозин
- Е. 5-фторурацил

65. Стабілізують нуклеїнові кислоти в клітині і беруть участь в регуляції зчитування генетичної інформації з молекул ДНК білки:

- А. Гістони
- В. Альбуміни
- С. Глобуліни
- Д. Проламіни
- Е. Міозини

66. Онкохворим призначили фторурацил, який є конкурентним інгібітором тімідинсинтетази. З пригніченням якого процесу пов'язана його дія?

- А. Синтезу піримідинових нуклеотидів

- В. Розпаду вуглеводів
- С. Синтезу пуринових нуклеотидів
- Д. Розпаду пуринових нуклеотидів
- Е. Синтезу ліпідів

67. Кумарини - антивітаміни вітаміну К чинять протикоагулянтну дію. Утворення якого білка вони інгібують?

- А. Альбуміну
- В. Протромбіну
- С. Трансферину
- Д. Гаммаглобуліну
- Е. Церулоплазміну

68. На останньому місяці вагітності лікар рекомендує жінкам приймати вікасол за схемою. Аналогом якого вітаміну він являється.

- А. Вітаміну В6
- В. Вітаміну В12
- С. Вітаміну В5
- Д. Вітаміну К
- Е. Вітаміну А

69. Рослинні олії є обов'язковим компонентом раціону живлення людини. Назвіть один з вітамінів, який входить до їх складу.

- А. Вітамін Р
- В. Вітамін В6
- С. Вітамін В3
- Д. Вітамін F
- Е. Вітамін С

70. Відомо, що введення в організм людини лікарського препарату дикумаролу (дикумарину) викликає різке зниження в крові вмісту протромбіну і інших білкових факторів згортання крові. Антивітаміном якого вітаміну є дикумарол?

- А. Вітаміну Е
- В. Вітаміну Р
- С. Вітаміну К
- Д. Вітаміну С
- Е. Вітаміну А

71. Хворий страждає тромбофлебітом. Який з вітамінів, що приймає участь в утворенні факторів згортання крові у печінці, може провокувати його загострення?

- А. Вітамін Е
- В. Вітамін В2
- С. Вітамін К
- Д. Вітамін D
- Е. Вітамін В1

72. Вітаміни - це аміни життя. Який вітамін в організмі утворюється з провітаміну бета-каротину?

- A. A1
- B. B1
- C. B12
- D. C
- E. Д

73. Для профілактики тромбозів призначено дикумарол. Антивітаміном якого вітаміну він є?

- A. PP
- B. D
- C. C
- D. A
- E. K

74. Хворий з симптомами підвищеного згортання крові тривалий час приймав антикоагулянтні препарати - похідні кумаролу. Як наслідок у хворого з'явилися ознаки кровоточивості. Призначення якого вітаміну швидко і ефективно усуне небажані ускладнення?

- A. A
- B. K
- C. Д
- D. C
- E. E

75. У хворого з хронічним гепатитом спостерігається кровоточивість ясен, крововиливи в шкіру навіть при незначній травмі. З порушенням обміну якого вітаміну найбільш імовірно можуть бути пов'язані ці прояви?

- A. Вітаміну PP (нікотинової кислоти)
- B. Вітаміну E (токоферолу)
- C. Вітаміну K (філохінону)
- D. Вітаміну D
- E. Вітаміну B2 (рибофлавіну)

76. Дитині з метою профілактики рахіту лікар призначив вітамін Д в дозі 50 мг/добу, що призвело до появи ознак вітамінної інтоксикації. Виберіть ознаки гіпервітамінозу Д

- A. Порушення згортання крові
- B. "Курина сліпота"
- C. Анемія
- D. Демінералізація кісток
- E. Подагра



77. Вітаміни регулюють різноманітні біохімічні процеси. Який вітамін забезпечує перетворення протромбіна в тромбін?
- A. Вітамін А
  - B. Вітамін К
  - C. Вітамін Е
  - D. Вітамін В1
  - E. Вітамін D
78. Під дією ультрафіолетових променів та іонізуючого випромінювання в організмі утворюються активні форми кисню. Для стабілізації окисновідновних реакцій використовують речовини, які проявляють антиоксидантні властивості. Вкажіть їх.
- A. Вітамін В12
  - B. Вітамін Е
  - C. Вітамін В2
  - D. Вітамін В6
  - E. Вітамін В1
79. Дефіцит якого вітаміну найбільше буде спричиняти активізацію процесів перекисного окиснення ліпідів?
- A. Вітаміну D
  - B. Вітаміну Е
  - C. Вітаміну К
  - D. Вітаміну В12
  - E. Вітаміну С
80. Жінка похилого віку скаржиться на погіршення зору в сутінках. Який з перелічених вітамінів доцільно призначити в даному випадку?
- A. Вітамін РР
  - B. Вітамін А
  - C. Вітамін С
  - D. Вітамін D
  - E. Вітамін Е
81. Пацієнту для попередження атонії кишечника призначено конкурентний інгібітор ацетилхолінестерази. Назвіть його:
- A. Індометацин
  - B. Прозерін
  - C. Зарин
  - D. Аспірин
  - E. Алопуринол
82. У хворих при лікуванні гнійних ран використовують пов'язки з іммобілізованим на них ферментом. Вкажіть цей фермент:
- A. Трипсин
  - B. Аргіназа

- C. Каталаза
- D. Лужна фосфатаза
- E. Кисла фосфатаза

83. Фермент здійснює перенос структурного фрагменту від одного субстрату до іншого з утворенням двох продуктів. Назвіть клас цього фермента.

- A. Гідролази
- B. Лігази
- C. Оксидоредуктази
- D. Трансферази
- E. Ізомерази

84. Пацієнт помилково прийняв велику дозу снодійного препарату ряду барбітуратів (амітал), який є інгібітором НАД-залежної дегідрогенази дихального ланцюга. Який процес порушиться в організмі?

- A. Синтез ліпідів
- B. Синтез АТФ
- C. Синтез амінокислот
- D. Синтез меланіну
- E. Синтез аміаку

85. Біологічне окислення ксенобіотиків відбувається за рахунок мікросомального окиснення, найважливішим ферментом якого є цитохром P450. Який метал є обов'язковою складовою цього ферменту?

- A. K
- B. Zn
- C. Na
- D. Mg
- E. Fe

86. Головна роль у бактерицидній дії лейкоцитів (нейтрофілів) належить:

- A. Пероксиду водню і гіпохлориту
- B. Пероксиду водню і оксиду азоту (II)
- C. Гіпохлориту та синглетному кисню
- D. Гіпохлориту та пероксинітриту
- E. Пероскінітриту та оксиду азоту (II)

87. У фармакології як снодійні засоби застосовують барбітурати. Ці речовини, подібно до ротенону, є інгібіторами тканинного дихання на рівні:

- A. НАДН:коензим Q-редуктази
- B. Цитохромоксидази
- C. Цитохрому b
- D. Цитохрому c1
- E. Сукцинатдегідрогенази

88. Серед роз'єднувачів тканинного дихання та окисного фосфорилування зна-

чну роль відіграє гормон-протонофор:

- A. Тироксин
- B. Інсулін
- C. Адреналін
- D. Паратирин
- E. Кальцітонін

89. Гормони регулюють багаточисельні процеси обміну речовин. Вкажіть, який з наведених гормонів має анаболічну дію:

- A. Окситоцин
- B. Вазопресин
- C. Інсулін
- D. Глюкагон
- E. Адреналін

90. При біохімічному обстеженні у хворого виявлено гіперглікемію, глюкозурію, високу густину сечі, у крові виявлено підвищену кількість глюкокортикоїдів. Одночасно в крові та сечі виявлено підвищений вміст 17- кетостероїдів. Визначте, який тип діабету розвинувся:

- A. Нирковий діабет
- B. Нецукровий діабет
- C. Стероїдний діабет
- D. Цукровий діабет Iго типу
- E. Цукровий діабет IIго типу

91. Спадкові генетичні дефекти призводять до порушення синтезу деяких ферментів в організмі людини. Вкажіть, дефект якого ферменту призводить до порушення розщеплення лактози:

- A. Пептидаза
- B. Сахараза
- C. Мальтаза
- D. Амілаза
- E. Лактаза

92. У новонародженої дитини спостерігається діарея, блювота, а через певний час настає помутніння кристалика (катаракта). З порушенням синтезу якого ферменту пов'язане вказане захворювання?

- A. Глюкозофосфатізомерази
- B. Гексокінази
- C. Глюкозо-6-фосфатази
- D. Глікогенсинтетази
- E. Галактозо-1-фосфатуридилтрансферази

93. В отруті змії міститься речовина, яка при потраплянні в організм людини викликає гемоліз еритроцитів. При аналізі крові, було виявлено велику кількість лізолецитину. Вкажіть, яка сполука призводить до появи та нагромаджен-

ня в крові лізолецитину:

- A. Нейрамінідаза
- B. Фосфоліпаза A2
- C. Фосфоліпаза C
- D. Фосфоліпаза D
- E. Фосфоліпаза A1

94. Біосинтез простагландинів починається з вивільнення арахідонової кислоти з фосфогліцеридів. Який фермент каталізує цей процес?

- A. Ліпопротеїніліпаза
- B. Холестеролестераза
- C. Сфінгомеліназа
- D. Триацилгліцеридліпаза
- E. Фосфоліпаза A<sup>2</sup>

95. Обмін гліцерина в тканинах тісно пов'язаний з гліколізом. Який метаболіт клітинного обміну гліцерину безпосередньо залучається до гліколізу?

- A. Гліцеринова кислота
- B. Триацилгліцерол
- C. Дигідроксиацетонфосфат
- D. Діацилгліцерол
- E. Фосфоенолпіровиноградна кислота

96. Біологічне значення гліколізу зумовлене не тільки тим, що він є джерелом енергії для організму, але також утворює сполуки, які використовуються для синтезу простих і складних ліпідів. Вкажіть яка це сполука.

- A. Дигідроксиацетонфосфат
- B. Фосфоенолпіровиноградна кислота
- C. Молочна кислота
- D. Піровиноградна кислота
- E. Глюконова кислота

97. У хворого спостерігається алергічна реакція, яка супроводжується свербінням, набряками та почервоніннями шкіри. Концентрація якого біогенного аміну підвищилась у тканинах?

- A. Таурину
- B. Серотоніну
- C. Путресцину
- D. Триптаміну
- E. Гістаміну

98. У хворого в результаті дослідження виявлено порушення перетравлювання білків у шлунку та тонкій кишці. Нестача яких ферментів призводить до такого порушення?

- A. Оксидоредуктази
- B. Трансферази

- C. Амілази
- D. Ліпази
- E. Пептидази

99. Протеолітичні ферменти ШКТ каталізують гідроліз білків. Вкажіть, який хімічний зв'язок вони розщеплюють:

- A. Ефірний
- B. Пептидний
- C. Водневий
- D. Фосфодіефірний
- E. Глікозидний

100. Відомо, що непрямий білірубін, що утворюється при розпаді гема, знешкоджується в печінці. Яка органічна сполука бере участь у детоксикації білірубину в гепатоцитах.

- A. Гліцин
- B. Сечовина
- C. Мевалонова кислота
- D. Молочна кислота
- E. УДФглюкуронова кислота

## ПЕРЕЛІК ІНФОРМАЦІЙНИХ ДЖЕРЕЛ

### Основна література:

1. Біологічна і біоорганічна хімія: У 2 кн. - Кн. 2: Біологічна хімія: Підручник для мед. ВНЗ IV р.а. - 2-ге вид., випр. Затверджено МОН / За ред. Ю.І. Губського, І.В. Ніженковської. - К., 2017. 544 с.
2. Біохімія: підручник за загальною редакцією проф. А.Л.Загайка, проф. К.В.Александрової – Х.: Вид-во «Форт», 2014. 728 с.
3. Біологічна і біоорганічна хімія: У 2 кн. - Кн. 1: Біоорганічна хімія: Підручник для мед. ВНЗ IV р.а. - 2-ге вид., випр. Затверджено МОН / За ред. Б.С. Зіменковського, І.В. Ніженковської. - К., 2017. 272 с.
4. Гонський Я.І., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини. Підручник. - Тернопіль: Укрмедкнига, 2013. 744 с.

### Додаткова література:

1. Lippincott Illustrated Reviews: Biochemistry. Philadelphia :Wolters Kluwer, 2017.
2. Москаленко О.В., Циганков С.А., Близнюк О.М., Демченко А.М. Синтез та молекулярний докінг 2-[(5,7-діетиламіно[1,2,4]триазоло[4,3-а][1,3,5]триазин-3-іл)сульфаніл]-n-(4-сульфамоїлфеніл) ацетаміду на мішенях вірусу SARS-CoV-2 // Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації : тези доповідей III науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю (12 травня 2021 р.). – Х. : Вид-во НФаУ. 2021. С. 134–135.
3. Москаленко О.В., Циганков С.А., Близнюк О.М., Демченко А.М. Комп'ютерне моделювання біохімічних параметрів та синтез нових похідних на основі 6-хлор-N<sup>2</sup>,N<sup>4</sup>-діетил-1,3,5-триазин-2,4-діаміну // Сучасні аспекти створення лікарських засобів : тези допов. Міжнар. наук.-практ. дистанц. конф., присвяченої 100-річчю кафедри аналітичної хімії НФаУ (16 квітня 2021 р.). Х. : НФаУ. 2021. С. 154.
4. Козлова Д.С., Москаленко О.В., Потебня Г.П., Суховєєв В.В. Дослідження фармакодинаміки гентаміцину у медичних лабораторіях, що акредитовані відповідно до вимог ДСТУ EN ISO 15189:2015 // «Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії та призначення лікарських засобів»: матеріали V

Міжнар. наук.-практ. конф. (11-12 березня 2021 року). Х. : НФаУ. 2021. С. 448.

5. Близнюк О.М., Москаленко О.В., Циганков С.А., Демченко А.М. Синтез та молекулярний докінг 2-(5,7-біс-етиламіно-[1,2,4]триазоло[4,3-а][1,3,5]триазин-3-ілсульфаніл)-1-пара-толіл-пропан-1-он на мішенях вірусу SARS-CoV-2 // За матеріалами VIII Міжнародної заочної науково-практичної конференції молодих учених «Фундаментальні та прикладні дослідження в сучасній хімії та фармації» (Ніжин, 23 квітня 2021 р.) / заг. ред. В. В.Суховєєва. – Ніжин : НДУ ім. Миколи Гоголя, 2021. С. 10–13.\
6. Козлова Д.С., Ярмошкіна М.О., Москаленко О.В., Циганков С.А. Піотровський М. Оцінка правильності та прецизійності у медичних лабораторіях, що акредитовані згідно вимог ДСТУ EN ISO 15189:2015 // За матеріалами VIII Міжнародної заочної науково-практичної конференції молодих учених «Фундаментальні та прикладні дослідження в сучасній хімії та фармації» (Ніжин, 23 квітня 2021 р.) / заг. ред. В. В.Суховєєва. – Ніжин : НДУ ім. Миколи Гоголя, 2021. С. 55–57.

Навчальне видання

МОСКАЛЕНКО О. В., СЕМЕНІХІН А. В.

## БІОХІМІЯ

*Лабораторний практикум  
для студентів II курсу  
спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація»*

Технічний редактор – І. П. Борис  
*Книга друкується з оригінал-макету замовника.*

---

Підписано до друку  
Гарнітура Times  
Замовлення №

Формат 60x84/16  
Обл.-вид. арк. 4,01  
Ум. друк. арк. 10,23

Папір офсетний  
Електр. вид-ня

---



Ніжинський державний університет  
імені Миколи Гоголя.  
м. Ніжин, вул. Воздвиженська, 3<sup>А</sup>  
(04631) 7-19-72  
E-mail: [vidavn\\_ndu@ukr.net](mailto:vidavn_ndu@ukr.net)  
[www.ndu.edu.ua](http://www.ndu.edu.ua)

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