



МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНИЙ БІОТЕХНОЛОГІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

Факультет ветеринарної медицини
Кафедра фізіології та біохімії тварин

БІОХІМІЯ

Робочий зошит для лабораторно-практичних занять
студента _____ групи _____ курсу

Викладач: _____
Прізвище, ім'я, по-батькові

Харків–2023

Затверджено
Науково-методичною радою факультету ветеринарної медицини ДБТУ
протокол № 5 від 07.06.2023 р
Схвалено на засіданні
кафедри фізіології та біохімії тварин ДБТУ
протокол № 15 від 28.03.2023 р.

Рецензенти:

Щербак О. В. - к.с/г.н., професор, декан факультету біотехнологій Державного біотехнологічного університету.

Данілова Т. М. – к.с/г.н., доцент, завідувач кафедри технологій тваринництва і птахівництва Державного біотехнологічного університету.

Біохімія. Робочий зошит для лабораторно-практичних занять / Якименко Т.І., Денисова О.М., Приходченко В.О., Гладка Н.І. – Харків: ДБТУ, 2023. – 76 с.

Робочий зошит спрямований на вивчення біохімії, науки, яка є фундаментальною загально біологічною навчальною дисципліною під час підготовки фахівців із технологій виробництва та переробки продукції тваринництва, теоретичною основою для вивчення фізіології сільськогосподарських тварин, годівлі, генетики та інших навчальних дисциплін.

Кількість лабораторних робіт розраховано на більший час, ніж передбачено робочим планом. Це дає можливість вибору робіт, в залежності від можливостей кафедри. Крім того, ми вважали за необхідне дещо розширити обсяг практичних робіт включенням деяких кількісних біохімічних мікрометодів, найбільш необхідних при біохімічних дослідженнях. Розглядається матеріал, що сприяє вивченню перетворення сполук, що входять до складу організму, а також біологічно активних речовин (ферментів, вітамінів, гормонів). Далі передбачено розгляд енергетичного і пластичного метаболізму, формування гомеостазу, основних його біохімічних показників.

Для підготовки фахівців у вищих аграрних навчальних закладах III–IV рівнів акредитації за спеціальністю 204 – «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва».

Видання вперше

© Якименко Т.І., Денисова О.М., Приходченко В.О., Гладка Н.І. 2023

Мета та завдання навчальної дисципліни «Біохімія»

Мета курсу – сформувати у студентів цілісну систему знань про хімічний склад живих організмів, фізико-хімічні і біологічні властивості природних сполук, основні шляхи обміну речовин, механізми регуляції та взаємозв'язку біохімічних перетворень, тобто оволодіти теоретичними основами метаболічних процесів та їх регуляції у тварин і практичними навичками їх вивчення.

Завдання курсу «Біохімія» – вивчити основи життєдіяльності організмів, а саме: структуру, фізико-хімічні та біологічні властивості речовин, їх обмін і його регуляцію та зміни метаболічних процесів за допомогою як кормових, так і лікарських засобів з метою зміцнення здоров'я та підвищення рівня продуктивності тварин.

У результаті вивчення навчальної дисципліни студент повинен

знати:

- хімічні основи життєдіяльності організмів, зокрема хімічну будову та властивості природних сполук і їх комплексів, основні шляхи і механізми регуляції метаболізму, біохімічні механізми реалізації генетичної інформації;
- теоретичне і практичне значення біохімії, її взаємозв'язок з іншими природничими науками;
- новітні досягнення біохімії та перспективи їх використання у різних галузях народного господарства, особливо у ветеринарній медицині;

вміти: орієнтуватися в біохімічних дослідженнях на сучасному рівні, а саме: обирати відповідні фізико-хімічні і біохімічні методи й методологічні підходи та обладнання, відбирати біологічні зразки, володіти загальноприйнятими методиками з визначення у біологічних об'єктах різних метаболітів, показників за допомогою приладів біохімічної лабораторії з метою характеристики фізіологічного стану тварин та його змін.

ЗМІСТ

Загальні правила техніки безпеки при роботі студентів у навчальній хімічній лабораторії	5
---	---

Частина I.

<i>Розділ 1. Основи фізичної та колоїдної хімії</i>	
Тема 1: рН розчинів і біологічних рідин. Буферні розчини	6
Тема 2: Колоїдні розчини. Методи їх отримання та властивості	15

Частина II. Основи біохімії

<i>Розділ 1. Статична біохімія</i>	
Тема 3: Білки. Якісні реакції на білки та амінокислоти	24
Тема 4: Фізико-хімічні властивості білків. Класифікація білків	28
Тема 5: Нуклеїнові кислоти	32
Тема 6: Загальні властивості ферментів	35
Тема 7: Специфічність дії ферментів. Класифікація	37
Тема 8: Жиророзчинні вітаміни	39
Тема 9: Водорозчинні вітаміни	41
Тема 10: Гормони	44
<i>Розділ 2. Динамічна біохімія</i>	
Тема 11: Біологічне окислення	46
Тема 12: Цикл Кребса (цикл трикарбонових кислот)	48
Тема 13: Хімія вуглеводів	49
Тема 14: Обмін вуглеводів	52
Тема 15: Хімія ліпідів	54
Тема 16: Обмін ліпідів	57
Тема 17: Обмін простих білків: біологічна роль, потреба і засвоєння	60
Тема 18: Біосинтез білків	62
Тема 19: Загальні та специфічні шляхи перетворення амінокислот	64
Тема 20: Обмін складних білків	68
Рекомендована література	73

ЗАГАЛЬНІ ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ СТУДЕНТІВ У НАВЧАЛЬНІЙ ХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

1. Перебуваючи в хімічній лабораторії, необхідно суворо дотримуватись загальних правил техніки безпеки, пам'ятати, що будь-яке порушення може призвести до нещасного випадку.
2. У хімічній лабораторії працювати тільки в медичних халатах та шапочках. Довге волосся має бути акуратно підібране.
3. На робочому місці залишати тільки необхідні речі (книгу, зошити, ручки), всі інші речі (портфелі, сумки, одяг) зберігати в спеціально відведеному для цього місці.
4. Кожен студент повинен працювати за закріпленим за ним місцем, перехід на інше робоче місце без дозволу викладача не допускається. Категорично забороняється виконувати в лабораторії роботи, не пов'язані із виконанням навчального практикуму. Реактиви після їх використання необхідно ставити на спеціально відведене місце.
5. Роботи з концентрованими кислотами, лугами слід проводити обережно, під витяжною шафою, щоб виключити можливість їх потрапляння в очі, а також появи опіків і пошкодження одягу. Для уникнення нещасних випадків не працювати з леткими та легкозаймистими речовинами поблизу запаленого пальника.
6. Користуватись горючими і токсичними речовинами (галогени, концентровані кислоти, луги, сірководень і т.д.), а також проводити дослідження, які супроводжуються виділенням шкідливих парів, газів, дозволяється тільки у витяжній шафі. При нагріванні речовин у пробірці – не направляти її отвір у бік іншого студента, який працює, або до себе.
7. Не можна залишати в лабораторії без нагляду включені фотоелектроколориметри, водяні бані, газові пальники, центрифуги тощо.
8. При опіках: а) сильними лугами – необхідно промити уражені ділянки тіла водою і накласти компрес, змочений 1% розчином оцтової кислоти; б) сильними кислотами – необхідно промити уражені ділянки тіла водою і накласти компрес, змочений 1% розчином соди; в) фенолом – необхідно розтерти побілілу від опіку ділянку до нормального стану шкіри, а потім промити водою і накласти пов'язку з гліцерином.
9. Не виливати в раковину вміст пробірок з концентрованими кислотами та лугами. Не кидати папір, сірники, побитий посуд у водостічну раковину, для цього користуватись ємностями для сміття.
10. Після закінчення роботи привести в порядок своє робоче місце, протерти полиці і стіл вологою ганчіркою, поставити посуд з реактивами на відведене місце, виключити воду та газ.
11. *Після ознайомлення з правилами роботи в лабораторії, студент бере на себе письмові зобов'язання строго їх дотримуватися, про що підтверджує, розписуючись у журналі викладача.*

ЧАСТИНА I

Розділ 1. Основи фізичної та колоїдної хімії

ТЕМА 1. рН РОЗЧИНІВ І БІОЛОГІЧНИХ РІДИН

Мета: Вивчити біологічну дію іонів, особливо H^+ та OH^- - іонів, явище іонного антагонізму, принципи методів вимірювання рН.

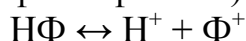
Завдання: Засвоїти методи колориметричного і електрометричного визначення рН розчинів і біологічних рідин.

Запитання для самопідготовки:

1. Поняття про іони. Біологічна дія іонів.
2. Досліди Жака Леба і його висновки. Іонний антагонізм.
3. Фізіологічно еквілібровані розчини. Їх властивості і призначення.
4. Іонний добуток води.
5. Водневе число (сН) і водневий показник (рН) та їх значення для нейтрального, кислого і лужного середовищ.
6. Що таке активна кислотність? Від чого вона залежить?
7. Методи визначення рН.
8. Колориметричний метод визначення рН, принцип методу, його переваги та недоліки.
9. Індикатори: визначення, механізм дії.
10. Що таке зона віражу індикатора?
11. Що таке універсальний індикатор?
12. Принцип електрометричного методу визначення рН.
13. рН-метри, їх призначення та застосування.
14. Величини рН крові сільськогосподарських тварин.

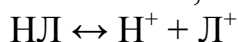
Індикаторами називаються речовини, що змінюють своє забарвлення в залежності від рН середовища.

За хімічною будовою індикатори – це органічні сполуки, що проявляють у водних розчинах властивості слабких кислот або слабких основ, у яких недисоційовані молекули мають одне забарвлення (або безбарвні), а що утворилися з них іони – інше. Індикатори, молекули яких безбарвні, а забарвлені тільки іони, називаються *одноколірними* (наприклад, фенолфталеїн):



Фенолфталеїн безбарвний → червоний

Індикатори, молекули яких мають одне забарвлення, а що утворилися з них іони – інше, називаються *двоколірними* (наприклад, лакмус):



Лакмус червоний → синій

Ступінь забарвлення одноколірного індикатора прямо пропорційно залежить від концентрації забарвленого іона: чим більше концентрація, тим інтенсивніше забарвлення.

Ступінь двоколірного забарвлення індикатора залежить від співвідношення концентрацій недисоційованих молекул та іонів, що у свою чергу визначає рН розчину.

Залежність ступеня дисоціації індикаторів від реакції середовища визначається формулою: $[H^+] = K \times \frac{[HInd]}{[Ind^-]}$

Інтервал значень рН, у межах якого спостерігається зміна забарвлення індикатора, називається *зоною переходу або зоною віражу індикатора*.

Суміш індикаторів, підібраних так, що зони їх переходу перекривають шкалу рН (1-14) називається *універсальним індикатором*.

Лабораторні роботи:

1. Колориметричний метод визначення рН

Принцип методу. Метод заснований на зміні характеру або інтенсивності забарвлення досліджуваного розчину при додаванні до нього індикатора.

Обладнання та реактиви. Досліджувані розчини: хлоридна кислота (HCl) – 0,1н розчин; оцтова кислота (CH₃COOH) – 0,1н розчин; вода дистильована; вода водопровідна, а також біологічні рідини – сироватка крові, сеча.
Обладнання: фарфорові чашки, піпетки градуйовані на 1 мл.

1.1. Визначення рН розчинів за допомогою індикаторного паперу різних зразків

Хід роботи.

1. У фарфорові чашки налити приблизно по 0,5 мл досліджуваних розчинів.
2. Опустити в розчин смужку індикаторного паперу.
3. Порівняти характер забарвлення індикатора з кольоровою шкалою та відповідно до неї визначити рН розчинів.

1.2. Визначення рН розчину за допомогою універсального індикатора (з точністю±1)

Хід роботи.

1. У фарфорові чашки налити приблизно по 0,5 мл досліджуваних розчинів.
2. Додати по 2 краплі універсального індикатора.
3. Перемішати.
4. Порівняти характер забарвлення розчину з кольоровою шкалою і визначити рН розчинів.

2. Електрометричний метод визначення рН

Принцип методу. Метод ґрунтується на визначенні електрорушійної сили (ЕРС), що виникає за рахунок різниці потенціалів між стандартним електродом (електрод порівняння) і електродом визначення. Потенціал стандартного електрода – постійний, потенціал електрода визначення – змінюється в залежності від рН розчину, в який він занурюється.

Обладнання та реактиви. Досліджувані розчини: хлоридна кислота (HCl) – 0,1н розчин; оцтова кислота (CH₃COOH) – 0,1н розчин; вода дистильована; вода водопровідна, а також біологічні рідини – сироватка крові, сеча.
Обладнання: рН-метр, хімічні стакани на 50 мл.

Хід роботи.

Прилад для визначення рН електрометричним методом (рН-метр) попередньо налаштовується для роботи, згідно доданої до приладу інструкції.

Після калібрування приладу приступають до вимірювання рН досліджуваних розчинів. Перед кожним дослідженням електроди промивають дистильованою водою і просушують фільтрувальним папером.

1. У чистий хімічний стакан наливають досліджувану рідину (20-25 мл), занурюють у нього електроди і вимірюють приблизне рН по нижній шкалі значень при включених кнопках на панелі "рН" і "1-14".

2. Прилад переводять у діапазон вимірювань у відповідності з наближеним рН, для чого натискають кнопки (відповідно) "1-4", "4-9", "9-14". Параметри відраховують по верхній шкалі значень в межах показань встановленого діапазону.

Після кожного вимірювання електроди і стакан для досліджуваної рідини 5-6 разів ретельно промивають дистильованою водою.

Точність визначення за допомогою рН-метра: $\pm 0,05 \dots 0,005$.

Отримані дані оформляють у вигляді таблиці:

№ пробірки	Досліджуванний розчин	Значення рН, отримане за допомогою			
		паперов. індикатору	універсального індикатору	рН-метру	Характер серед-ща
1.					
2.					
3.					
4.					
5.					
6.					

У висновках дати порівняльну характеристику вивчених методів визначення рН (їх переваги і недоліки); вказати від чого залежить активна кислотність (рН) досліджуваних розчинів.

Висновки: _____

БУФЕРНІ РОЗЧИНИ. МЕТОДИ ОДЕРЖАННЯ ТА ВЛАСТИВОСТІ

Мета: Вивчити основні методи одержання і властивості буферних розчинів, механізм їх дії та роль в біології.

Завдання: Освоїти методику приготування буферних розчинів, визначення буферної ємності різних біологічних рідин.

Запитання для самопідготовки:

1. Які розчини називаються буферними?
2. Які властивості мають буферні розчини?
3. З яких компонентів складаються буферні системи?
4. Наведіть формули буферних систем крові.
5. Наведіть формули гемоглобінової, гідрокарбонатної та фосфатної буферних систем. Покажіть на хімічних реакціях механізм їх дії.
6. Покажіть механізм буферної дії білків і амінокислот на прикладі конкретної амінокислоти.
7. Покажіть на прикладі хімічних реакцій механізм дії ацетатної буферної системи.
8. Чому не має буферної дії дистильована вода?
9. Від чого залежить рН буферного розчину?
10. Залежить рН буферного розчину від розведення? Чому?
11. Що таке буферна ємність? Як вона змінюється?
12. Змінюється буферна ємність при розведенні? Чому?
13. Чи проявляють буферні розчини стійкість до дії кислот і лугів або тільки до однієї з цих речовин?
14. Що таке резервна лужність?
15. Чому дорівнює рН крові і завдяки яким факторам підтримується його сталість?
16. Яким методом і в яких одиницях вимірюється буферна ємність розчину?
17. Чому організму необхідна сталість рН крові?

18. Чи мають буферні властивості біологічні рідини: слина, сеча, лімфа? Якщо так, то завдяки чому?

19. Які буферні системи обумовлюють буферну ємність крові?

20. Ацидоз та алкалоз: характер захворювань, різновиди, причини.

21. В чому проявляється негативна дія ацидозу та алкалозу на клітинному рівні?

Буферними називаються розчини, які здатні стійко підтримувати сталість рН при додаванні до них кислот або лугів, а також при їх розведенні. рН буферних розчинів, у першу чергу, залежить від співвідношення концентрацій компонентів буферного розчину:

$$[H^+] = K \frac{[\text{кислота}]}{[\text{сіль}]}; \quad [H^+] = K \frac{[\text{сіль}]}{[\text{основа}]}.$$

При розведенні буферного розчину рН його практично не змінюється, оскільки співвідношення компонентів не змінюється.

Здатність розчинів протистояти зміні рН середовища при додаванні кислот чи лугів називається буферною дією (або буферністю) і кількісно виражається **буферною ємністю**.

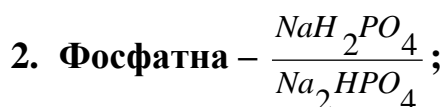
Буферна ємність вимірюється кількістю сильної кислоти або основи, яку необхідно додати до 1 л розчину, щоб змінити його рН на одиницю. В результаті розведення буферного розчину буферна ємність зменшується пропорційно до ступеня розбавлення, оскільки її величина залежить від концентрації компонентів буфера.

Характерною особливістю живих організмів є їх здатність підтримувати сталість рН внутрішнього середовища організму. Кров вищих тварин має досить постійну концентрацію іонів Гідрогену, і в межах норми можливі лише незначні зміни рН крові.

Таблиця значень рН крові с.-г. тварин

Тварини	рН крові
Кінь	7,32
ВРХ	7,36
Баран	7,82
Свиня	7,97

Стійкість рН крові досягається завдяки наявності в ній ряду буферних систем:



3. Гемоглобінова – $\frac{Hhb}{KHb}$;
4. Оксигемоглобінова – $\frac{HhbO_2}{KHbO_2}$;
5. Білкова – $\frac{H - Pr (плазми)}{Na - Pr (плазми)}$ та інші.

Лабораторні роботи:

1. Приготування буферних розчинів

Принцип методу. Активна кислотність буферних розчинів залежить від природи хімічних речовин, що утворюють буферну систему і від співвідношення цих речовин у розчині. Змінюючи співвідношення компонентів буферу, можна приготувати буферний розчин з різним значенням рН.

Обладнання та реактиви. Оцтова кислота, 0,1н розчин; натрію ацетат, 0,1н розчин; індикатор метил-рот; рН-метр; штатив з пробірками, піпетки градуйовані.

Хід роботи.

1. У попередньо пронумеровані пробірки наливають розчини оцтової кислоти та ацетату натрію в співвідношеннях (мл), наведених у таблиці.
 2. Приготовлені суміші ретельно перемішують.
 3. Додають до них по три краплі (в усі пробірки однаково) індикатора метил-роту.
 4. За характером забарвлення визначають, однакове чи різне рН приготовлених сумішей.
- *На одному робочому місці індикатор до приготованих сумішей не додають і використовують їх для вимірювання рН електрометрично за допомогою рН-метра.*
5. Одержані дані записують у таблицю і роблять висновок, в якому дають пояснення: від чого залежить рН буферного розчину.

Досліджуваний розчин	Номер пробірки		
	№1	№2	№3
0,1н розчин CH ₃ COOH (мл)	9 мл	5 мл	1 мл
0,1н розчин CH ₃ COONa (мл)	1 мл	5 мл	9 мл
рН за метил-ротом*			
рН, виміряне на рН-метрі			

Висновок: _____

2. Вплив розведення на рН буферного розчину і його буферну ємність

Принцип методу. Буферні розчини здатні підтримувати сталість рН за умов додавання до них невеликих кількостей кислот, лугів або при їх розведенні нейтральним розчинником. В останньому випадку зменшується концентрація обох компонентів буферу як кислотного, так і лужного, а співвідношення між ними залишається незмінним. Оскільки рН буферного розчину залежить від співвідношення його компонентів, розведення не впливає на рН буферу, тоді як концентрація буферних речовин зменшується, а отже зменшується і сила (ємність) буферного розчину.

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками, піпетки градуйовані, бюретка, 0,1н оцтова кислота; 0,1н розчин натрію ацетату; вода дистильована; індикатор універсальний; фенолфталеїн; 0,1н розчин натрію гідроксиду.

Хід роботи.

2.1. Приготування нерозбавлених і розбавлених буферних розчинів:

1. У три пробірки відміряють по 2 мл розчину оцтової кислоти і стільки ж розчину ацетату натрію.
2. Вміст пробірки №1 перемішують і залишають без змін.
3. До вмісту пробірки №2 додають 4 мл води (розведення вдвічі).
4. В пробірку №3 додають 12 мл води (розведення в 4 рази).
5. Розчини перемішують і використовують:
 - 1) для вимірювання рН приготованих буферів;
 - 2) для вимірювання буферної ємності буферів.

2.2. Визначення впливу розведення на рН буферного розчину:

1. Пронумерувати три нових пробірки.
2. Перенести в них по 2 мл приготовлених у роботі 2.1. буферних розчинів: в 1-у – нерозбавленого, у 2-у – розбавленого вдвічі, в 3-ю – розбавленого в 4 рази.
3. В кожну з цих пробірок додати по 2-3 краплі (однаково) універсального індикатора і за характером забарвлення визначити, чи змінилось рН розчину внаслідок його розведення. Якщо ні, то обґрунтуйте чому?

Висновок: _____

2.3. Визначення впливу розведення буферного розчину на його буферну ємність:

1. Пронумерувати три нових пробірки.
2. В них вливають по 2 мл приготовлених у роботі 2.1. (відповідно) нерозбавленого, розбавленого вдвічі і розбавленого в чотири рази буферних розчинів.
3. В кожну з цих пробірок приливають по 2-3 краплі фенолфталеїну.
4. Титрують з бюретки 0,1н розчином натрію гідроксиду, при цьому рахують краплі до появи рожевого забарвлення. Кількість крапель гідроксиду є умовною мірою буферної ємності даних буферів по відношенню до лугу.

Одержані дані записують у вигляді таблиці і роблять висновки, відповідаючи на поставлені запитання:

1. Однакова чи різна буферна ємність досліджуваних буферів?
2. Як впливає розведення на буферну ємність розчину?

Ступінь розбавлення буферу	Кількість буферу, мл	pH по універсальному індикатору	Кількість буферу, мл	Кількість крапель гідроксиду по фенолфталеїну
Нерозбавлений	2		2	
Розбавлений в 2 рази	2		2	
Розбавлений в 3 рази	2		2	

Висновок: _____

3. Буферна ємність біологічних рідин

Принцип методу. Біологічні рідини містять у своєму складі речовини, що утворюють буферні системи, а тому проявляють буферну дію. Буферну ємність вимірюють шляхом титрування цих рідин кислотою (**лужний резерв**) або лугом (**кислотний резерв**).

Обладнання та реактиви. Колби на 50 мл, піпетки градуйовані, бюретки, натрію гідроксид, 0,1н розчин; хлоридна кислота, 0,1н розчин; фенолфталеїн; метил-рот; сироватка крові; сеча.

3.1. Визначення буферної ємності по відношенню до лугу
(кислотний резерв)

Хід роботи.

1. В одну конусну колбу відміряють 5 мл сироватки крові.
2. У другу – 5 мл сечі.
3. У кожну з них додають по три краплі фенолфталеїну.
4. Титрують із бюретки лугом, рахуючи кількість крапель до появи рожевого забарвлення. *Результати записують у таблицю.*

3.2. Визначення буферної ємності по відношенню до кислоти
(лужний резерв)

Хід роботи.

1. В одну конусну колбу відміряють 5 мл сироватки крові.
2. В другу – 5 мл сечі.
3. У кожну додають по три краплі метил-роту.
4. Титрують з бюретки хлоридною кислотою, рахуючи краплі до зміни жовтого забарвлення в рожеве.

Результати записують у таблицю:

Рідина для досліджу	Кількість, мл	Кількість крапель NaOH по фенолфталеїну	Кількість, мл	Кількість крапель HCl по метил-роту
Сироватка крові	5		5	
Сеча	5		5	

Відповісти на питання:

1. Яка з досліджуваних рідин має більшу буферну ємність?

2. По відношенню до якої речовини (кислоти чи лугу) буферна ємність у біологічних рідин виражена більше?

3. Які буферні системи містяться в сироватці крові?

ТЕМА 2. КОЛОЇДНІ РОЗЧИНИ. МЕТОДИ ЇХ ОДЕРЖАННЯ ТА ВЛАСТИВОСТІ

Мета: Вивчити методи одержання колоїдних розчинів та їх молекулярно-кінетичні та оптичні властивості.

Завдання: Оволодіти конденсаційними методами одержання колоїдних розчинів та ознайомитися з характерними ознаками, за якими їх відрізняють від істинних розчинів.

Запитання для самопідготовки:

1. Дисперсні системи: поняття, класифікація. Гомогенні та гетерогенні дисперсні системи. Колоїдні розчини або мікрогетерогенні дисперсні системи.
2. Колоїдний стан: золь, гель, драгли.
3. Методи одержання та очищення колоїдних розчинів.
4. Молекулярно-кінетичні властивості колоїдних розчинів: дифузія, броунівський рух, осмотичний (онкотичний) тиск.
5. Оптичні властивості колоїдних розчинів: опалесценція, ефект Фарадея-Тіндаля (світлорозсіювання).
6. Будова колоїдної міцели.
7. Що таке ядро, адсорбційний і дифузний шар, колоїдна міцела?
8. Що таке дзета-потенціал і як він виникає?
9. Чим відрізняються між собою колоїдна гранула і колоїдна міцела?
10. Написати рівняння реакції одержання колоїдного розчину та послідовні етапи формування міцел: а) берлінської блакиті, б) гідроксиду заліза.
11. Макрогетерогенні дисперсні системи (суспензії та емульсії). Їх відмінність від золів.

Лабораторні роботи:

1. Приготування колоїдних розчинів каніфолі і фенолфталеїну та спостереження явища опалесценції

Принцип методу. Колоїдні розчини каніфолі та фенолфталеїну одержують методом заміни розчинника (різновидність конденсаційних методів). Каніфоль і фенолфталеїн добре розчиняються у спирті, з яким утворюють істинні розчини, але майже нерозчинні у воді. Вода ж добре розчиняє спирт – вихідний розчинник. Якщо змішати спиртові розчини названих речовин з водою, то молекули каніфолі або фенолфталеїну втрачають розчинність і будуть конденсуватись з утворенням агрегатів колоїдної ступені дисперсності.

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками, піпетки на 1-2 мл, каніфоль, 1% спиртовий розчин; фенолфталеїн, 1% спиртовий розчин; вода дистильована.

Хід роботи.

1. У дві пробірки наливають по 3-4 мл дистильованої води.
2. Додають в одну з них 3-4 краплі спиртового розчину каніфолу, а в другу – 6-8 крапель фенолфталеїну (пересвідчившись, що вони прозорі і не мають здатності до опалесценції).
3. Перемішують.
4. Отримані розчини розглядають в прохідному і відбитому світлі.

*Спостерігають здатність одержаних розчинів до зміни характеру їх забарвлення в променях світла, що проходять через розчин (набувають оранжевого кольору) та відбитих від нього (виникає блакитно-синій колір). Здатність колоїдних розчинів змінювати характер забарвлення в світлі, що проходить через них і що відбивається від них, називається **опалесценцією**.*

Ця оптична властивість характерна тільки для колоїдних розчинів, частки яких завдяки своїм розмірам (1-100 нм) викликають дифракцію білого променя. В істинних та в грубодисперсних системах (суспензіях і емульсіях) вона не проявляється. Чому?

Спостереження та висновки: _____

2. Приготування золю берлінської блакиті

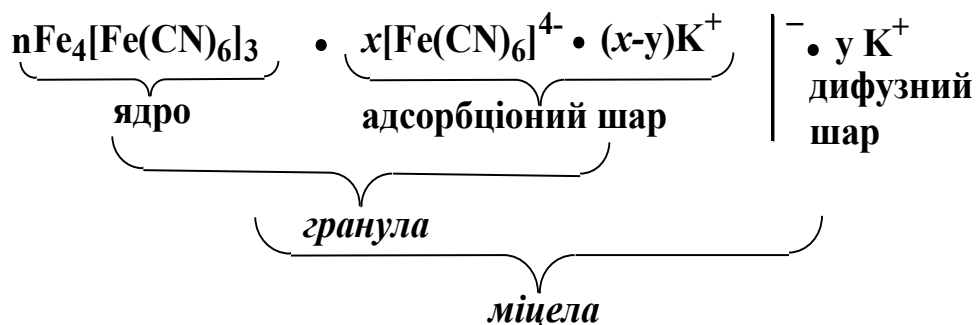
Принцип методу. При взаємодії надлишку гексаціаноферату (II) калію з хлоридом заліза (III) утворюється гексаціаноферат (II) заліза (берлінська блакить), речовина малорозчинна у воді. Її частинки конденсуються до розмірів колоїдної дисперсності і стабілізуються молекулами гексаціаноферату (II) калію (що є у надлишку).

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками, гексаціаноферат (II) калію, 1% розчин; хлорид заліза (III), 2% розчин.

Хід роботи.

1. У пробірку наливають 4-5 мл розчину гексаціаноферату (II) калію.
2. Додають 1-2 краплі 2%-го розчину хлориду заліза (III). Утворюється сіль – гексаціаноферат (II) заліза (берлінська блакить).

Про утворення колоїдного розчину (золю) берлінської блакиті свідчить поява характерного блакитного забарвлення, якого набуває розчин.

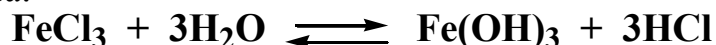


де: $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ – потенціалвизначаючі іони
 K^+ – протиіони

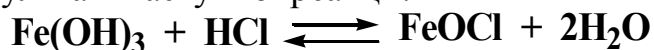
Одержаний колоїдний розчин залишають для наступного дослідю!

3. Приготування золю гідроксиду заліза (III)

Принцип методу. В основі дослідю лежить реакція гідролізу хлориду заліза (III), солі, утвореної сильною кислотою та слабкою основою. В реакції гідролізу ця сіль утворює гідроксид заліза $\text{Fe}(\text{OH})_3$, практично нерозчинний у воді. Його частинки конденсуються в міцели колоїдної дисперсності і адсорбують на своїй поверхні з розчину електроліт FeOCl (оксихлорид заліза), який утворюється як додатковий продукт реакції з деякої частини гідроксиду заліза:



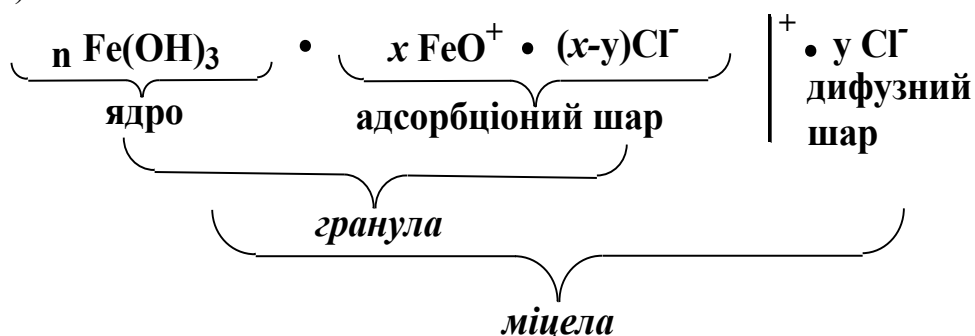
Іонним стабілізатором для $\text{Fe}(\text{OH})_3$ є FeOCl (оксихлорид заліза), що утворюється в результаті наступної реакції:



Молекула стабілізатора дисоціює у реакції:



Далі з названих речовин утворюється колоїдна міцела золю гідроксиду заліза (III):



де: FeO^+ – потенціалвизначаючі іони
 Cl^- – протиіони

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками, водяна баня, хлорид заліза (III), концентрований розчин; дистильована вода.

Хід роботи.

1. У дві пробірки наливають по 4-5 мл дистильованої води.
2. Нагрівають в одній з них воду до кипіння.
3. В обидві пробірки (з холодною і гарячою водою) додають по 3-4 краплі концентрованого розчину хлориду заліза (III).

У якій із пробірок утворився колоїдний розчин?

Одержаний золь гідроксиду заліза (III) залишають для наступного дослідю!

Спостереження та висновки: _____

4. Визначення знаку заряду колоїду

Принцип методу. Відомо, що поверхня капілярів фільтрувального паперу у воді заряджається негативно. Якщо в забарвлений розчин колоїду занурити одним кінцем смужку фільтрувального паперу, то вода буде підніматись по капілярам смужки, а разом з нею буде підніматись і колоїдна речовина, якщо її міцели заряджені негативно. Позитивно заряджені колоїдні міцели зв'язуються електростатичними силами з негативно зарядженими стінками капілярів і разом з водою по смужці паперу підніматися не зможуть.

Обладнання та реактиви. Хімічні склянки на 100 мл; скляні палички; канцелярські скріпки; смужки фільтрувального паперу; одержані в попередніх дослідах колоїдні розчини гідроксиду заліза (III) і гексаціаноферату (II) заліза (берлінської блакиті).

Хід роботи.

1. В одну хімічну склянку наливають золь гідроксиду заліза (III).
2. В другу – золь берлінської блакиті.
3. На скляних паличках за допомогою скріпок фіксують смужки фільтрувального паперу, регулюючи їх довжину (по висоті хімічної склянки) таким чином, щоб кінець смужки занурювався у розчин, але не торкався до дна і стінок склянки.
4. Скляну паличку кладуть на стінки склянки. Вільний кінець фільтрувального паперу повинен зануритись у досліджуваний колоїдний розчин на 2-3 мм.
5. Результати дослідю враховують через 10-15 хвилин.

Спостереження і висновки: _____

5. Спостереження ефекту Фарадея-Тіндаля (демонстративно)

Принцип методу. При пропусканні в колоїдний розчин через отвір малого діаметру яскравого світла, останнє розповсюджується в колоїдному розчині у вигляді конуса, що світиться, за рахунок розсіяння світла колоїдними частинками. Вперше цей ефект спостерігав М. Фарадей і пояснення йому дав Д. Тіндаль.

Обладнання та реактиви. Джерело яскравого світла (електролампа на 200 ват); фанерний або інший ящик з боковим отвором діаметром 1-2 мм (передня стінка ящика відкрита для спостережень), всередині ящик потрібно обклеїти темним папером; плоскі ємності; каніфоль, 1% спиртовий розчин; флуоресцеїн, 5% розчин; перманганат калію, 1% розчин; суспензія крейди (або глини) у воді.

Хід роботи.

1. Встановлюють джерело світла як можна ближче до бокового отвору ящика.
2. В ящик послідовно поміщають плоскі склянки з розчинами досліджуваних речовин. Склянки повинні щільно прилягати до бокової стінки ящика, а боковий отвір повинен співпадати з центром бокової стінки склянки.
3. Коли промінь світла проходить через колоїдний розчин, що знаходиться в склянці, *спостерігається утворення конуса, що світиться*. Це явище носить назву ефекту Фарадея-Тіндаля.
4. По черзі в камеру поміщають посудини з розчинами берлінської блакиті (колоїдний розчин), перманганату калію (істинний розчин) і крейди (суспензія).

В істинних розчинах (розчин перманганату калію) це явище відсутнє, тобто такий розчин залишається «оптично пустим». Суспензії і емульсії також не дають ефекту Фарадея-Тіндаля – вони каламутні і, завдяки великим розмірам часток дисперсної речовини, світло зовсім не пропускають.

ЕЛЕКТРОКІНЕТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ КОЛОЇДІВ

Мета: Закріпити теоретичні знання студентів про головні електрокінетичні властивості колоїдів та їх практичне використання.

Завдання: Ознайомити студентів з електрофорезом колоїдів, явищами коагуляції колоїдів електролітами та колоїдного захисту. Навчити студентів визначати ІЕТ колоїдів (білків).

Запитання для самопідготовки:

1. Електрокінетичні властивості колоїдних розчинів. Електрофорез та його практичне використання.
2. Міцелярна будова колоїдних частинок. Виникнення електрокінетичного потенціалу.
3. Види стійкості колоїдних систем: кінетична та агрегативна. Фактори агрегативної стійкості у гідрофобних та гідрофільних колоїдів.
4. Виникнення електричного заряду в розчинах ВМС (на прикладі білків). Вплив амінокислотного складу та рН середовища на заряд білка (позитивний чи негативний).
5. Ізоелектричний стан та ізоелектрична точка (ІЕТ) колоїдів.
6. Гідратна оболонка гідрофільних колоїдів.
7. Коагуляція колоїдів – причини, механізм. Коагуляція колоїдів електролітами. Правило Гарді-Шульце.
8. Види коагуляції у розчинів ВМС – оборотна (висолювання) та необоротна (з денатурацією).
9. Колоїдний захист: визначення, механізм, біологічне значення.
10. Драгли – їх будова та властивості. Тиксотропність драглів і синерезис.
11. Седиментація колоїдів.

Лабораторні роботи:

1. Електрофорез гідрозолу берлінської блакиті (демонстративно)

Принцип методу. При пропусканні через колоїдний розчин постійного електричного струму спостерігається переміщення колоїдних частинок до протилежно зарядженого електроду. Це явище називається *електрофорезом*.

Прилади та реактиви. Випрямляч, який здатний давати постійний струм напругою 100-120 В і силою до 10 мА; U-подібна трубка, закріплена в штативі; мідні електроди; золь гексаціаноферату (II) заліза.

Хід роботи.

1. В U-подібну трубку заливають золь берлінської блакиті.
2. Занурюють в розчин два електроди, які підключають до випрямляча. Режим електрофорезу 100-120 В напруги і 4-5 мА за силою струму.

3. Через деякий час спостерігають просвітлення розчину в одному коліні трубки та підсилення забарвлення в іншому коліні за рахунок збільшення концентрації колоїду, що переміщується в процесі електрофорезу.

Спостереження ведуть протягом 5-10 хвилин.

Висновки: _____

2. Коагуляція золю гідроксиду заліза електролітами

Принцип методу. Якщо до ліофобного колоїду додати розчин електроліту, то іони останнього, що мають заряд, протилежний заряду гранули, будуть адсорбуватись на колоїдних частинках і позбавляють їх заряду. Електронейтральні частинки об'єднуються між собою, що з рештою призводить до коагуляції колоїду. Коагулююча дія іонів тим вище, чим вище їх заряд (правило Гарді-Шульце).

Прилади та реактиви. Колби на 100 мл; бюретки на 25-50 мл у штативі; піпетки градуйовані на 5 та 10 мл; золь гідроксиду заліза; натрію хлорид, 1М розчин; натрію сульфат, 0,01М розчин; калію гексаціаноферат (III), 0,001М розчин.

Хід роботи.

1. У три колби відміряють по 5 мл золю гідроксиду заліза.
2. Титрують із бюретки до перших ознак помутніння (початок коагуляції):
 - А) вміст 1-ої колби – розчином натрію хлориду;
 - Б) вміст 2-ої – 0,01 М розчином натрію сульфату;
 - В) вміст 3-ої – 0,001 М розчином калію гексаціаноферату (III).
3. Результати титрування заносять в таблицю, а об'єми розчинів електролітів перераховують на 0,001 М концентрацію.

Результати записують у таблицю.

Електроліт – коагулятор	Осаджуючий іон і величина його заряду	Концентрація електроліту (вихідна)	Кількість електроліту, необхідна для коагуляції, мл
NaCl	Cl ⁻	1 М	
Na ₂ SO ₄	SO ₄ ²⁻	0,01 М	
K ₃ [Fe(CN) ₆]	[Fe(CN) ₆] ³⁻	0,001 М	

Висновки: _____

3. Колоїдний захист

Принцип методу. Якщо високомолекулярні сполуки (ВМС), наприклад, білки, додати до мінерального колоїду, відбувається їх адсорбція на поверхні міцел гідрофобного колоїду. Оскільки білки є гідрофільними колоїдами, то вони передають свою підвищену стійкість до коагуляції і гідрофобному колоїду. Стабілізація золь гідрофобних колоїдів шляхом введення в них невеликої кількості ВМС, називається *колоїдним захистом*.

Обладнання та реактиви. Колби на 50 мл; піпетки градуйовані; бюретка на 25-50 мл; золь гідроксиду заліза; желатин, 0,5% розчин; калію гексаціаноферат (III), 0,001М розчин.

Хід роботи.

1. У колбу відміряють 5 мл золь гідроксиду заліза (гідрофобний колоїд).
2. Додають 1 мл розчину желатину (гідрофільний колоїд).
3. Перемішують.
4. Суміш титрують із бюретки 0,001М розчином гексаціаноферату (III) калію до помутніння розчину (початок коагуляції).
5. Порівнюють об'єми електроліту, які визвали коагуляцію колоїду в досліді 2 і досліді 3, записують висновки.

Висновки: _____

4. Визначення ізоелектричної точки (ІЕТ) білка

Принцип методу. Стан колоїду, коли загальний заряд всіх колоїдних міцел в розчині рівний нулю, називають *ізоелектричним станом*.

Значення рН, за якого білок переходить в ізоелектричний стан, називають *ізоелектричною точкою (ІЕТ)*. В цьому стані білок найменш стійкий і легко коагулює.

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками; піпетки; буферні розчини з рН 4,5; 6,0; 6,5; молоко.

Хід роботи.

1. Пронумерувати три пробірки.
2. Відміряти в них по 2 мл буферних розчинів із різним значенням рН: у першу пробірку з рН 4,5, у другу – з рН 6,0, у третю – з рН 6,5.
3. У кожну пробірку прилити по дві краплі молока.
4. Перемішати.
5. Визначити пробірку з тим значенням рН, де білок випадає в осад (коагулює). Це і буде ІЕТ білка.

Висновки: _____

ПОВЕРХНЕВІ ЯВИЩА ТА АДСОРБЦІЯ

Мета: Закріпити теоретичні знання студентів про явища в гетерогенних системах, їх значення для організму тварин.

Завдання: Освоїти хроматографічний метод розділення суміші речовин.

Запитання для самопідготовки:

1. Поверхневі явища на межі поділу фаз, вільна енергія поверхні (ВЕР) і поверхневий натяг.
2. Методи вимірювання поверхневого натягу.
3. Поверхнево-активні речовини (ПАР) – особливості їх будови, властивості, застосування. Роль ПАР у живому організмі.
4. Вільна енергія поверхні та її практичне використання.
5. Адсорбція – механізм, види. Роль адсорбційних процесів в організмі тварин, використання в побуті та дослідницьких роботах.
6. Хроматографія – принцип методу, призначення, види.
7. В'язкість розчинів. Методи вимірювання в'язкості.

Лабораторна робота:

1. Хроматографія рослинних пігментів

Принцип методу. Розділ рослинних пігментів базується на різному коефіцієнті розподілу, тобто на різному співвідношенні швидкості руху речовини до швидкості руху розчинника або різній адсорбційній спорідненості суміші пігментів до адсорбенту.

Обладнання та реактиви. Фарфорова ступка з пестиком; хімічна склянка на 250 мл; лійка; паперові фільтри; скляні палички; смужка фільтрувального паперу; скляний пісок; свіже зелене листя; ацетон, 85% водний розчин; крейда (порошок).

Хід роботи.

1. У фарфорову ступку поміщають подрібнене зелене листя (2-3 г), засипають скляним піском і розтирають до однорідної маси.
2. До одержаної маси додають 0,2-0,3 г розтертої крейди і 8-10 мл ацетону.
3. Суміш ретельно перемішують і фільтрують у хімічну склянку.
4. В одержаний профільтрований екстракт занурюють смужку фільтрувального паперу, заздалегідь закріпленого скріпкою на скляній паличці. Папір занурюють в екстракт на 2-3 мм так, щоб він не торкався до дна і стінок склянки.
5. Через 20-30 хвилин спостерігають розподіл різнозбарвлених пігментів зеленого листя по зонам на папері.

Спостереження і висновки: _____

ЧАСТИНА II. ОСНОВИ БІОХІМІЇ

Біохімія – це наука, яка вивчає хімічний склад органів і тканин тварин, структуру і властивості компонентів клітин, обмін речовин та енергії в організмі.

Історично біохімія тісно пов'язана з біоорганічною хімією, що вивчає структуру і властивості речовин, які містять Карбон, і фізіологією, яка вивчає функції живих організмів, а в практичній діяльності спеціалістів досягнення цієї науки широко використовуються у годівлі тварин та їх відтворенні; при з'ясуванні патогенезу та діагностиці різних хвороб, їх лікуванні та профілактиці; в організації гігієни утримання тварин та вивченні патологічної фізіології.

У живому організмі постійно відбуваються витрати енергії, яка поглинається із зовнішнього середовища в складі кормів і перетворюється клітиною в корисну енергію для забезпечення всіх видів діяльності організму. Нормальний перебіг процесів життєдіяльності організму потребує збереження сталого хімічного складу його клітин, органів і організму в цілому (гомеостаз). Ця сталість забезпечується здатністю живих систем відтворювати, ресинтезувати і оновлювати зруйновані речовини завдяки реакціям синтезу.

Історично склались три форми досліджень в біохімії, в відповідності з якими цю науку умовно ділять на три підрозділи.

Статична біохімія – досліджує хімічний склад організму, тобто якісний склад і структуру сполук, а також кількісний їх вміст у біологічних об'єктах.

Динамічна біохімія – досліджує хімічні перетворення речовин і енергії в організмі і значення цих перетворень для процесів життєдіяльності.

Функціональна біохімія – розкриває зв'язки між структурою хімічних сполук і процесами їх перетворення, з одного боку, і функцією тканин і органів – з іншого.

Біохімія розвивається дуже інтенсивно, має пізнавальне і велике практичне значення для тваринництва, рослинництва, генетики, мікробіології, вірусології, медицини та ветеринарної медицини взагалі.

Розділ 1. Статична біохімія.

ТЕМА 3. БІЛКИ. ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА БІЛКИ ТА АМІНОКИСЛОТИ

Мета: перевірити та закріпити теоретичні знання студентів з розділу «Білки», ознайомити їх з методами якісного визначення білків та амінокислот.

Завдання: навчити студентів проводити якісний аналіз розчинів та біологічних рідин для визначення в них білків і окремих амінокислот.

Запитання для самопідготовки:

1. Білки: визначення, розповсюдження в природі, біологічне значення білків.
2. Різноманітність білків, чим вона обумовлена?
3. Елементарний склад білків. Молекулярна маса білків та методи її визначення.
4. Амінокислотний аналіз білків. Методи його визначення.
5. Як поділяються амінокислоти в залежності від їх будови?
6. Що значить нейтральні, кислі та лужні амінокислоти; циклічні та ациклічні амінокислоти; ароматичні та гетероциклічні амінокислоти?
7. Будова окремих (замінних і незамінних) амінокислот. Утворення пептидного зв'язку.
8. Рівні структурної організації білків: первинна, вторинна, третинна та четвертинна структури.
9. Типи хімічних зв'язків у білковій молекулі: головні і додаткові.
10. Глобулярні та фібрилярні білки.
11. Кольорові реакції на білки (з нінгідрином, біуретова, ксантопротеїнова, на сульфурвмісні амінокислоти, аргінін, тирозин та інші). Їх практичне значення.

Лабораторні роботи:

Якісні реакції на білки та амінокислоти

1. Реакція з нінгідрином

Принцип методу. При нагріванні розчинів α -амінокислот або речовин, що містять вільні аміногрупи (білки, пептиди), з нінгідрином утворюються комплексні сполуки, що мають блакитне, фіолетове або червоне забарвлення.

Хід роботи.

1. Беруть 3 пробірки.
2. В 1-у вносять 1 мл дистильованої води (контроль).
3. У 2-у – 1 мл розчину амінокислоти (дослід 1).
4. У 3-ю – 1 мл розчину білка (дослід 2).
5. В усі пробірки прилити по 2-3 краплі розчину нінгідрину.
6. Вміст пробірок перемішати і кип'ятити на спиртівці 1-2 хвилини.

Отримані результати оформити у вигляді таблиці:

Пробірки	Спостереження	Висновки
Контроль		
Дослід 1		
Дослід 2		

2. Біуретова реакція

Принцип методу. В лужному розчині речовини, які містять не менше двох пептидних зв'язків (білки, пептиди, біурет), з сульфатом міді утворюють комплексні солі, забарвлені від рожевого до фіолетового (а іноді навіть синього) кольору.

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками; спиртівка; гідроксид натрію, 30% розчин; сульфат міді, 1% розчин; білок, 0,2% розчин; амінокислота, 0,1% розчин; сечовина кристалічна.

Хід роботи.

1. Спочатку одержують біурет, для чого в суху пробірку насипають 0,5-1,0 г сечовини і нагрівають до плавлення останньої та виділення газу – амоніаку (визначають за запахом). Пробірку охолоджують і одержаний біурет розчиняють у 2-3 мл води (перша пробірка).
2. У другу пробірку наливають 2-3 мл розчину білка.
4. У третю – таку ж кількість розчину амінокислоти (гліцин).
5. У кожну з трьох пробірок прилити по 1-2 мл 30% розчину гідроксиду натрію і по 2-3 краплі розчину сульфату міді.
6. Вміст пробірок добре перемішують і порівнюють забарвлення.

Спостереження і висновки: _____

3. Ксантопротеїнова реакція

Принцип методу. При нагріванні з концентрованою нітратною кислотою розчини фенолу, ароматичних амінокислот і білків, до складу яких входять ароматичні амінокислоти, нітруються і їх нітропохідні забарвлюють розчин у жовтий колір. Забарвлення змінюється до помаранчевого після нейтралізації розчином гідроксиду натрію.

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками; спиртівка; білок, 0,2% розчин; фенол, 0,1% розчин; гідроксид натрію, 20% розчин; нітратна кислота, концентрована.

Хід роботи.

1. Беруть 3 пробірки.
2. В 1-у вносять 1-2 мл білка, у 2-у – стільки ж фенолу, і в 3-ю – води.
3. До всіх пробірок приливають по 8-10 крапель нітратної кислоти і підігрівають (обережно) до появи забарвлення.
4. Пробірки охолоджують і по краплях додають надлишок 20% розчину гідроксиду натрію для нейтралізації нітратної кислоти.

Спостереження і висновки: _____

4. Реакція на триптофан

Принцип методу. Триптофан утворює комплекс вишнево-червоного кольору з оксиметилфурфуролом, який виникає при взаємодії сахарози з сульфатною кислотою внаслідок реакції дегідратації.

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками; піпетки; сахароза, 10% розчин; сульфатна кислота, концентрована; білок, 0,2% розчин.

Хід роботи.

1. В одну пробірку наливають 1-2 мл розчину білка.
2. Додають 2-3 краплі розчину сахарози, перемішують.
3. Обережно по стінці приливають 1 мл сульфатної кислоти.
4. Подібним чином проводять реакцію з водою.

Спостереження і висновки: _____

5. Реакція на сульфурвмісні амінокислоти

Принцип методу. Білок при нагріванні з розчином гідроксиду натрію руйнується з утворенням сульфідів натрію, який з оцтовокислим свинцем перетворюється на сульфід свинцю темно-коричневого кольору.

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками; спиртівка; білок, 0,2% розчин; гідроксид натрію, 20% розчин; ацетат свинцю, 5% розчин.

Хід роботи.

1. В першу пробірку налити 1-2 мл розчину білка і такий же об'єм 20% розчину гідроксиду натрію.
2. У другу пробірку налити 1-2 мл води і 20% розчину гідроксиду натрію (1:1).
3. Пробірки нагріти до кипіння (обережно) і кип'ятити 2-3 хвилини.
4. В обидві пробірки додати декілька крапель (4-5) оцтовокислого свинцю.

Спостереження і висновки: _____

6. Реакція на аргінін

Принцип методу. Білки, до складу яких входить аргінін, дають червоне забарвлення з гіпобромітом натрію і α -нафтолом в лужному середовищі.

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками; спиртівка; гідроксид натрію, 10% розчин; α -нафтол, 0,04% спиртовий розчин; гіпоброміт натрію; білок, 0,2% розчин.

Хід роботи.

1. В пробірку наливають 2-3 мл розчину білка.
2. Додають 3-5 крапель 10% розчину гідроксиду натрію, 3-5 крапель α -нафтолу та 2-3 краплі гіпоброміту натрію (можна трішки підігріти).

3. Таким же чином для порівняння проводять дослід з водою.

Спостереження і висновки: _____

ТЕМА 4. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ. КЛАСИФІКАЦІЯ БІЛКІВ.

Мета: перевірити знання студентів про фізико-хімічні властивості білків (коагуляція зворотна і незворотна, денатурація, електрокінетичні властивості, класифікація та характеристика простих і складних білків).

Завдання: вивчити методи розділення білків, дію на білки різних факторів, що викликають їх коагуляцію (кислоти, солі, температура, деякі органічні речовини), визначення ізоелектричної точки.

Питання для самопідготовки:

1. Колоїдні властивості розчинів білка: дифузія, онкотичний тиск, броунівський рух, опалесценція та ефект Фарадея – Тіндала.
2. Електрофорез, коагуляція (оборотна і необоротна) і седиментація.
3. Осадження білків солями лужних і важких металів, мінеральними і органічними кислотами, алкалоїдними реактивами. Дія на білки лугів.
4. Прості білки: визначення, класифікація (альбуміни і глобуліни, гістони і протаміни, глютеліни і проламіни, протеноїди або структурні білки), особливості їх будови, фізико-хімічні властивості, окремі представники.
5. Складні білки: визначення, класифікація (нуклеопротеїни, хромопротеїни, глікопротеїни, фосфопротеїни, ліпопротеїни, металопротеїни).
6. Характеристика кожної з груп. Окремі представники:
 - нуклеопротеїнів (рибо- і дезоксирибонуклеопротеїни),
 - хромопротеїнів (гемоглобін, міоглобін, цитохроми та ін.),
 - глікопротеїнів (фібриноген, муцини),
 - фосфопротеїнів (казеїноген, ововітеллін, іхтулін та ін.),
 - металопротеїнів (трансферин, церулоплазмін та ін.).
7. Поняття про простетичні групи. Будова гема та його похідні.

Лабораторні роботи:

Реакції осадження білків

Принцип методу. Осадження білків буває зворотне і незворотне. Вони оснований на втраті здатності до розчинення в першому випадку без хімічних перетворень молекули, а в другому – за рахунок глибоких змін в їх просторовій структурі (денатурації).

1.Зворотне осадження (висолювання) білків.

В його основі лежить тимчасова втрата гідратної оболонки і позбавлення білкових молекул електричного заряду. Такі зміни з боку білків виникають в концентрованих розчинах нейтральних солей лужних металів, а також при дії спирту. При усуненні факторів коагуляції осад білка легко розчиняється і знову переходить у стан золю.

Принцип методу. Під дією солі чи іншого фактору осадження білок втрачає гідратну (водну) оболонку, молекули якої більш активно зв'язуються іонами солі або спирту. Паралельно з дегідратацією колоїдних міцел вони також стають електронейтральними завдяки адсорбції на них противоіонів електроліту. Втративши фактори захисту, молекули білка об'єднуються між собою і утворюють осад.

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками; розчин яєчного білка; насичений розчин сульфату амонію.

Хід роботи.

1. В пробірку наливають 2-3 мл розчину білку.
2. Додають рівний об'єм розчину сульфату амонію.

За цих умов утворюється осад білка, який при змішуванні з водою знову розчиняється.

2. Виділення окремих фракцій яєчного білка методом висолювання

Принцип методу. В складі яєчного білка є альбуміни (низькомолекулярні) і глобуліни (високомолекулярні) білки. Глобуліни випадають в осад при напівнасиченій концентрації сульфату амонію, а альбуміни – при повній насиченості останнього.

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками; лійка з фільтром; сульфату амонію, насичений розчин; сульфат амонію, порошок.

Хід роботи.

1. У пробірку наливають 2-3 мл розчину яєчного білку.
2. Додають 2-3 мл насиченого розчину сульфату амонію. Утворюється осад.
3. Вміст пробірки відфільтровують у чисту пробірку.
4. До прозорого фільтрату додають кристалічний сульфат амонію до повної насиченості фільтрату. *За цих умов утворюється осад альбумінів.* Про це свідчить утворення в пробірці білої каламуті. Таким чином, при напівнасиченості розчину білка сульфатом амонію в осад випадають білки з більш великими розмірами молекул – глобуліни, а при створенні насиченого розчину в осад випадають менші за розмірами і масою білки – альбуміни.

Денатурація білків

Під дією зовнішніх факторів може відбуватися порушення структурної організації білкової молекули при збереженні первинної структури. При цьому білок втрачає свої нативні фізико-хімічні та біологічні властивості.

Цей процес називається денатурацією. В основі денатурації лежить руйнування зв'язків, які стабілізують вищі структури білків (четвертинна, третинна, вторинна). Більшість білків денатурують при нагріванні їх розчинів вище 50-60°C, хоча відомі термофільні бактерії, білки яких витримують температуру до 90°C. До хімічних чинників, що спричиняють денатурацію, належать кислоти, луги, органічні розчинники (спирт, ацетон), детергенти, алкалоїди, солі важких металів (олова, ртуті, міді, кадмію та ін.). Найкраще білки денатурують у дуже кислих (рН≈1,0) середовищах.

Механізм денатурації білка при підвищеній температурі пов'язаний з перебудовою структури білкової молекули, в результаті чого зменшується її розчинність. Присутність солей і рН середовища відіграють важливу роль у випаданні в осад денатурованого при нагріванні білка. Найбільш повне і швидке осадження відбувається в ізоелектричній точці білка (pI), тобто при такому значенні рН середовища, при якому колоїдні частинки білка є найменш стійкими і сумарний заряд молекули дорівнює нулю. Білки, які проявляють кислотні властивості (тобто мають високий вміст глутамінової та аспарагінової кислот), осаджуються у слабокислому середовищі, а білки, які проявляють лужні властивості (мають високий вміст аргініну, лізину та гістидину), – у слаболужному. У сильнокислих і сильнолужних розчинах денатурований при нагріванні білок не випадає в осад, оскільки білкові молекули перезаряджаються (або відбувається посилення наявного заряду) і несуть в першому випадку позитивний, у другому – негативний заряд.

3. Теплова денатурація білків

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками; спиртівка; білок, 0,2% розчин; молоко; скляні трубочки.

Хід роботи.

1. В 1-у пробірку наливають 2 мл яєчного білка, в 2-у – 2 мл молока.
2. Обидві пробірки нагрівають до кипіння.

Спостереження і висновки: _____

4. Денатурація білків яйця і молока в ізоелектричному стані

ІЕТ яєчних білків дорівнює 4,6; **ІЕТ** казеїногена молока – 4,7; їх ізоелектричні точки знаходяться в слабокислій зоні рН.

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками; спиртівка; білок, 0,2% розчин; молоко; оцтова кислота, 1% розчин; скляні трубочки.

Хід роботи.

1. В 1-у пробірку наливають 2 мл яєчного білка, в 2-у – 2 мл молока.
2. В обидві пробірки додають по 1 краплі 1%-го розчину оцтової кислоти і нагрівають.

3. Спостерігають появу осаду білка і порівнюють швидкість осадження білків у цьому досліді зі швидкістю цього ж процесу в попередньому.

Висновки: _____

5. Денатурація білків при дії солей важких металів

Катіони солей важких металів з білками утворюють нерозчинні солі, які і випадають в осад.

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками; білок, 0,2% розчин; сульфат міді, 1% розчин; ацетат свинцю, 5% розчин.

Хід роботи.

1. У дві пробірки наливають по 2 мл розчину яєчного білка.
2. В 1-у пробірку добавляють 1-2 краплі розчину ацетату свинцю.
3. В 2-у – 1-2 краплі розчину сульфату міді.
4. Спостерігається утворення осаду білка, який не розчиняється в надлишку води.

Висновки: _____

6. Денатурація білків при дії мінеральних та органічних кислот

Мінеральні та органічні кислоти викликають зміни просторової структури білків, що супроводжується незворотною втратою їх нативних властивостей, в тому числі і здатності до розчинення у воді.

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками; концентровані нітратна, сульфатна, трихлороцтова та сульфосаліцилова кислоти; білок, 0,2% розчин.

А. Хід роботи.

1. У дві пробірки наливають по 2 мл розчину яєчного білка.
2. В 1-у пробірку додають 1 краплю сульфатної кислоти, в 2-у – одну краплю нітратної кислоти.
3. Спостерігають утворення осаду.

Висновки: _____

Б. Хід роботи.

1. У дві пробірки наливають по 2 мл розчину яєчного білка.
2. В 1-у пробірку додають 1-2 краплі розчину трихлороцтової кислоти.
3. В 2-у – 1-2 краплі розчину сульфосаліцилової кислоти.
4. Спостерігають утворення осаду.

Висновки: _____

7. Денатурація білків при дії органічних сполук

Принцип методу. Танін, фенол та формальдегід, утворюючи з білками нерозчинні у воді комплекси, денатурують білки. Ця властивість таніну була використана в процесі обробки шкіри тварин (дублення) у шкіряній промисловості. Фенол застосовується як дезінфікуючий засіб. Формальдегід використовується як дезінфікуючий, консервуючий та дубильний засіб для анатомічних препаратів, а також для виробництва уротропіну (консервант у харчовій промисловості).

Обладнання та реактиви. Штатив з пробірками; розчини таніну, фенолу та формальдегіду (40%); розчин оцтової кислоти, 1%; білок, 0,2% розчин.

Хід роботи.

1. В три пробірки наливають по 2 мл розчину яєчного білка.
2. У 1-у пробірку додають рівний об'єм насиченого розчину фенолу.
3. В 2-у пробірку – рівний об'єм формаліну.
4. У 3-ю – 3-4 краплі розчину таніну (підкислюють 1%-м розчином оцтової кислоти).
5. Пробірки з фенолом і формаліном залишають на 15-20 хвилин.
6. Спостерігають денатурацію білка.

Висновки: _____

ТЕМА 5. НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ

Мета: перевірити і закріпити знання студентів про будову і біологічну роль нуклеїнових кислот.

Запитання для самопідготовки:

1. Визначення та біологічна роль нуклеїнових кислот.
2. Структурні компоненти нуклеїнових кислот: азотисті основи, пентози, фосфатна кислота.
3. Нуклеозиди і нуклеотиди (склад, будова, назви).
4. Види нуклеїнових кислот – РНК і ДНК. Їх відмінності.
5. ДНК: будова, біологічна роль. Поняття комплементарності. Комплементарні ланцюги ДНК. Правила Чаргаффа.
6. Особливості будови РНК. Різновиди РНК (транспортна, матрична, рибосомальна). Їх біологічна роль.

7. Азотисті основи, що входять до складу РНК. Вуглеводний компонент РНК.
8. Азотисті основи, що входять до складу ДНК. Вуглеводний компонент ДНК.
9. Поняття про кодони (триплети) і антикодони.
10. Вільні нуклеотиди та макроергічні сполуки (АТФ, ГТФ, УТФ, ЦТФ): будова, біологічна роль.
11. Написати тринуклеотид, до складу якого входить аденін, цитозин, урацил.
12. Написати фрагмент (з трьох нуклеотидів) однієї з полінуклеотидних ланцюгів ДНК. Як з'єднуються комплементарні азотисті основи в подвійній спіралі ДНК? Показати (формулами) утворення водневих зв'язків між комплементарними нуклеотидами.
13. Які азотисті основи називаються мінорними?

Лабораторні роботи

1. Виділення нуклеопротейдів.

Принцип методу. Дезоксирибонуклеопротейди (ДНП) добре розчиняються у лужних та сольових розчинах і осідають після нейтралізації розчинів або розведенні розчинів солей. Рибонуклеопротейди (РНП) також розчиняються в лужних розчинах і можуть випадати в осад в ізоелектричній точці шляхом додавання неорганічних кислот (наприклад, оцтової).

1.1. Виділення ДНП

Хід роботи.

1. 2,0 г печінки (чи іншої тканини) подрібнюють у фарфоровій ступці, додаючи невеликими порціями 50 мл 1н розчину NaCl протягом 10-15 хвилин.
2. Отриманий в'язкий розчин перенести в мірні центрифужні пробірки (10 мл) і центрифугувати 10 хв. при 2500-3000 об/хв.
3. Центрифугат зливають в циліндр і вимірюють об'єм.
4. Відмірюють 6-кратний об'єм води (по відношенню до центрифугату), наливають у склянку, повільно обертаючи в ній дерев'яну паличку, вливають центрифугат.
5. Намотують на паличку утворені волокна ядерного нуклеопротейда.
6. Обережно переносять їх в пробірку для подальших досліджень.

1.2. Виділення РНП

Хід роботи.

1. Наважку (5 г дріжджів) ретельно розтирають у фарфоровій ступці протягом 15 хвилин з 30 мл 0,4% розчину NaOH, який додаємо невеликими порціями.

2. Вміст ступки перенести в 3 мірні центрифужні пробірки, доводячи об'єм до 10 мл.
 3. Центрифугувати 10 хв. при 2500 об/хв.
 4. Центрифугат зливають в 1 склянку.
 5. При помішуванні склянкою паличкою доливають 15 мл 5% розчину оцтової кислоти до повного осадження.
 6. Осад відділяють центрифугуванням протягом 10 хвилин при 1500 об/хв..
 5. Видалити надосадову рідину.
 6. Осад розчинити в 15-20 мл розчину лугу (0,4%).
- Отримані розчини нуклеопротейнів (НП) використовують у подальшому для проведення якісних реакцій.

Якісні реакції:

1. Виділення вуглеводів у складі НП

Принцип методу. Проводять одну з реакцій окислення альдопентоз. Проводять реакцію Фелінга.

2. Виявлення пуринових основ у складі НП.

Принцип методу. Метод заснований на утворенні комплексів пуринових основ з солями аргентуму.

Хід роботи:

1. До 1 мл гідролізату додають 0,5 мл розчину AgNO_3 (3%).
2. Через 3-5 хвилин утворюється рихлий осад срібних солей пуринових основ.

3. Виявлення фосфорної кислоти у складі НП.

Принцип методу. Метод заснований на взаємодії фосфорної кислоти з молібденовим реактивом з утворенням забарвленої сполуки – солі фосфорного молібдату амонію.

Хід роботи:

1. До 1 мл гідролізату додають 1 мл молібденового реактиву і кип'ятять.
2. Рідина забарвлюється в лимонно-жовтий колір.
3. При охолодженні випадає кристалічний осад жовтого кольору.

4. Виявлення білків у складі НП.

Принцип методу. Проводять біуретову реакцію, характерну для сполук, що містять більше 2-х пептидних зв'язків. Такі з'єднання в лужному середовищі утворюють з сульфатом купруму забарвлені комплексні сполуки, колір яких залежить від довжини поліпептидного ланцюга. Розчин нативного білка дає синьо-фіолетове забарвлення, а продукти його гідролізу (пептиди) – червоно-фіолетове.

Хід роботи:

1. В пробірку вносять 0,5 мл гідролізату.

2. Додати 0,5 мл розчину NaOH і 1 краплю 1% розчину CuSO₄.
3. Суміш перемішати.
4. Спостерігати появу забарвлення.

Висновки: _____

ТЕМА: ЗАГАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ

Мета: перевірити теоретичні знання студентів по розділу "Ферменти". Ознайомити студентів з методами, що дозволяють визначити активність деяких ферментів, і вивчити їх загальні властивості.

Завдання: навчити студентів визначати активність ферментів і вплив на неї умов зовнішнього середовища.

Питання для самопідготовки.

1. Ферменти: визначення, поширення, хімічна природа, відмінність від мінеральних каталізаторів.
2. В чому суть впливу ферментів на субстрати?
3. Теорії каталітичної дії ферментів (адсорбційна і утворення фермент-субстратних комплексів).
4. Будова ферментів - апоферменти, коферменти, холоферменти.
5. Які вам відомі коферменти, їх хімічна будова?
6. Навести формули ТПФ, ФАД, Н⁺С-КоА, НАД, піридоксальфосфату.
7. Загальні властивості ферментів - термолабільність, чутливість до рН, специфічність та її види.
8. Каталітичні центри ферментів, як вони утворюються? На якому рівні структурної організації ферменти проявляють активність? Чому?
9. Чому зі зміною температури і рН середовища ферменти втрачають активність?
10. Алостеричні центри та їх призначення.
11. Ізоферменти (дати визначення), їх біологічна роль.

Лабораторні роботи

1. Вплив температури на активність ферментів (термолабільність амілази слини)

Принцип методу. В оптимальних умовах амілаза слини гідролізує крохмаль до мальтози, в результаті чого він не виявляється в розчині реакцією з йодом. При зміні температури амілаза або знижує свою активність, що призводить лише до часткового гідролізу крохмалю до декстринів, що

дають з йодом фіолетове або буро-червоне фарбування, або втрачає свою активність зовсім, і тоді в розчині можна за синім забарвленням з йодом виявити не гідролізований крохмаль.

Хід роботи.

1. Пронумерувати 4 пробірки.
2. У всі пробірки наливають по 1 мл розведеної слини, що містить активну амілазу.
3. Вміст 2-ї пробірки кип'ячать протягом 2-3 хвилин.
4. Вміст 4-ї пробірки охолоджують у склянці з льодом.
5. У всі пробірки наливають по 4-5 мл крохмалю.
6. Перемішують і інкубують при різних температурах: 1-у та 2-у - на водяній бані при 37°C, 3-ю - у штативі при кімнатній температурі, 4-у - у склянці з льодом (0°C).
7. Через 5-6 хвилин в кожен пробірку додають по 1-2 краплі реактиву Люголя, перемішують.

Спостереження, результати досвіду і висновки записують у таблицю.

№	Температура, при якій діє амілаза	Забарвлення йодом	Продукти гідролізу
1	37°C		
2	100°C		
3	20°C		
4	0°C		

Висновки: _____

2. Вплив рН середовища на активність ферментів (амілази).

Принцип методу. При оптимальному для дії амілази значенні рН середовища крохмаль повністю гідролізується і не виявляється в реакції з йодом.

Хід роботи.

1. У 3 пронумеровані пробірки наливають по 2-3 мл буферних розчинів з різним значенням рН (відповідно до таблиці).
 2. У кожен доливають по 1 мл розведеної слини і по 4-5 мл розчину крохмалю.
 3. Перемішують і інкубують протягом 5-6 хвилин на водяній бані при температурі 37°C.
 4. В кожен пробірку додають по 1-2 краплі реактиву Люголя.
- Результати досліджень записують у таблицю:

№ пробірки	pH середовища	Забарвлення з йодом	Продукти гідролізу
1	5,0		
2	6,8		
3	8,0		

Висновок: _____

ТЕМА: СПЕЦИФІЧНІСТЬ ДІЇ. КЛАСИФІКАЦІЯ ФЕРМЕНТІВ

Мета: перевірити теоретичні знання студентів по розділу "Ферменти".
 Ознайомити студентів з методами, що дозволяють визначити специфічність деяких ферментів.

Завдання: навчити студентів визначати активність ферментів і вплив на неї умов зовнішнього середовища.

Питання для самопідготовки.

1. Принцип класифікації ферментів. Основні класи ферментів.
2. Оксидоредуктази (визначення), окремі підкласи (дегідрогенази, оксидази, пероксидази), навести приклади реакцій, що каталізуються.
3. Трансферази (визначення), навести приклади реакцій, що каталізуються.
4. Гідролази (визначення), окремі підкласи (пептидази, глікозидази, естерази), навести приклади реакцій, що каталізуються.
5. Ліази - визначення, приклади реакцій, що каталізуються.
6. Ізомерази - визначення, приклади реакцій.
7. Лігази - визначення, приклади реакцій.
8. Номенклатура ферментів.
9. Інгібітори і активатори ферментів.

1. Специфічність дії ферментів.

Ферменти мають високу специфічність дії, забезпечуючи цим перебіг з великою швидкістю лише певних реакцій з величезного розмаїття можливих перетворень в мікропросторі клітин і цілісному організмі, регулюючи тим самим інтенсивність обміну речовин.

Розрізняють ферменти з відносною (груповою) та абсолютною специфічністю. Доведено наявність стереоспецифічності, обумовленої існуванням оптично ізомерних L - і D-форм або геометричних (цис - і транс) ізомерів хімічних речовин.

Принцип методу. У разі дії на субстрат ферменту (крохмаль і сахарозу) в середовищі виявляються кінцеві продукти гідролізу. Сам же субстрат не виявляється.

1.1. Дія амілази і сахарази на крохмаль.

Хід роботи:

1. Беруть 2 пробірки, наливають в них по 4-5 мл крохмалю.
 2. У 1-шу пробірку доливають 2 мл розведеної слини, у 2-у - 2 мл суспензії дріжджів.
 3. Вміст пробірок перемішують і інкубують на водяній бані при температурі 37°C протягом 8-10 хвилин.
 4. В кожен пробірку додають по 1-2 краплі розчину Люголя.
- Спостереження і висновки записують у таблицю.

1.2. Дія амілази і сахарази на сахарозу.

Хід роботи.

1. У 2 пробірки наливають по 2 мл сахарози.
2. В одну з них доливають 2 мл слини, а в другу - 2 мл суспензії дріжджів.
3. Перемішують, інкубують 8-10 хвилин.
4. В кожен пробірку наливають 2-3 мл реактиву Фелінга.
5. Нагрівають до початку закипання.

Спостереження і висновки записують у таблицю:

№	Фермент	Субстрат	Результати	Висновки
1	Амілаза	Крохмаль		
2	Сахараза	Крохмаль		
3	Амілаза	Сахароза		
4	Сахараза	Сахароза		

Загальний висновок:

1.3. Вплив інгібіторів і активаторів на активність амілази слини.

Принцип методу. Відомо, що одні речовини збільшують активність ферменту (активатори), а інші - зменшують або пригнічують її зовсім (інгібітори).

Про активність амілази судять за повнотою гідролізу крохмалю за рівний проміжок часу (за реакцією з реактивом Люголя).

Хід роботи.

1. В 3 пробірки збирають по 1 мл слини.

2. В 1-у доливають 1 мл води, у 2-у - 1 мл хлориду натрію, в 3-ю - 1 мл сульфату купруму.
3. У всі 3 пробірки додають по 3-4 мл крохмалю.
4. Перемішують, інкубують при температурі 37°C протягом 5-6 хвилин.
5. В кожну пробірку додають по 1-2 краплі реактиву Люголя.

Спостереження і висновки:

ТЕМА: ЖИРОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ

Мета: закріпити теоретичні знання студентів про жиророзчинні вітаміни: А, D, Е, К.

Завдання: навчити студентів експрес-методам кількісного визначення каротину і вітаміну А в крові, яйці, окремих тканинах.

Питання для самопідготовки.

1. Визначення поняття вітаміни. Поширення вітамінів в природі, зв'язок з ферментами, номенклатура.
2. Авітаміноз, гіповітаміноз, гіпервітаміноз. Причини цих явищ.
3. Характеристика жиророзчинних вітамінів.
4. Вітамін А - поширення в природі, синоніми назв, провітаміни (каротиноїди), хімічна будова, джерела для тварин, засвоєння і перетворення в активну форму. Роль в обміні речовин. Основні ознаки а - і гіповітамінозів.
5. Вітамін D - поширення в природі, провітаміни, їх перетворення на вітамін. Роль в обміні речовин. Ознаки авітамінозу.
6. Вітаміни Е, К - хімічна будова, поширення в природі, шляхи забезпечення тварин. Роль в обміні речовин. Основні ознаки гіповітамінозів.

Каротиноїди – провітаміни вітаміну А, тому кількість каротиноїдів в сироватці крові тварин на практиці використовується як показник забезпеченості організму вітаміном А.

Норма каротиноїдів в сироватці крові (мг%):

ВРХ – 0,3 (зима, весна) -3,0 (літо, осінь);

Кінь – 0,03 – 0,3 (відповідно).

По концентрації каротиноїдів у жовтку яєць визначається їх придатність до інкубації, оскільки вона є показником забезпеченості майбутнього ембріона вітаміном А. Придатними для інкубації вважаються яйця курей, у жовтку яких каротиноїдів міститься 15-30 мкг/г.

Лабораторні роботи

1. Визначення вмісту каротину в жовтку курячих яєць і сироватці крові.

Принцип методу. Концентрація каротину визначається в екстракті петролейного ефіру з яєчного жовтка (сироватки крові) на підставі вимірювання світлопоглинання на фотоелектроколориметрі (ФЕК) та подальшого розрахунку за калібровочним графіком.

Хід роботи.

1. У 1-шу пробірку поміщають 1 г жовтка і 1 мл фізрозчину.
2. Перемішують скляною паличкою до однорідної маси (при необхідності нагрівають на водяній бані при 38-40°C).
3. В 2-у пробірку - наливають 2 мл сироватки крові.
4. В обидві пробірки додають по 2 мл спирту етилового.
5. Закривають пробками і, енергійно струшуючи, перемішують вміст протягом 2 хв. для денатурації білків.
6. Каротин, що звільнився у результаті денатурації білків яєчного жовтка (сироватки крові) екстрагують петролейним ефіром. Для цього в обидві пробірки додають (із бюретки) по 4 мл петролейного ефіру, пробірки закривають пробками і енергійно струшують 5-10 хв.
7. Для розділення рідини в пробірках їх поміщають в центрифугу і центрифугують при 1,5-2,0 тис. об/хв протягом 2-3 хвилин.
8. По закінченню центрифугування верхній прозорий пофарбований у жовтий колір шар обережно (!) відсмоктують сухою піпеткою з грушею і переносять у мірний циліндр.
9. Об'єм екстракту в циліндрі доливають петролейним ефіром до 4 мл і перемішують.
10. Після цього визначають оптичну густину отриманого екстракту каротину на ФЕКі в кюветах з робочою довжиною 0,5 см і синім світлофільтром, порівнюючи з петролейним ефіром.

Розрахунок кількості каротину проводять за підсумками колориметрії (по знайденій оптичній щільності) з допомогою заздалегідь складеного калібрувального графіка.

Вміст каротину виражають в мкг/г жовткової маси яйця або мг% в сироватці крові.

Розрахунки та висновки:

ТЕМА: ВОДОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ

Мета: вивчити окремі водорозчинні вітаміни, поширення їх у природі, хімічна будова, участь в обміні речовин, основні ознаки недостатності у тварин.

Завдання: студенти повинні оволодіти методами кількісного визначення вітаміну С в кормах і молоці, навчитися якісно виявляти водорозчинні вітаміни в природних об'єктах.

Питання для самопідготовки.

1. Поширення в природі вітамінів: В₁, В₂, В₃, В₆, фолієвої кислоти, біотину.
2. Хімічна будова вітамінів В₁, В₂, В₃, В₄, В₅, В₆, С.
3. Синоніми назв перерахованих вище вітамінів.
4. Зв'язок водорозчинних вітамінів з ферментами.
5. В утворенні яких коферментів беруть участь вітаміни В₁, В₂, В₃, В₄, В₅, В₆, С? Наведіть формули коферментів: ТПФ, ФМН, ФАД, HS-КоА, НАД, НАДФ, ПФ.
6. На які види обміну впливають вітаміни В₁, В₂, В₃, В₄, В₅, В₆, С, фолієва кислота, біотин?
7. Основні ознаки недостатності перерахованих вітамінів.

Лабораторні роботи

1. Якісна реакція на вітамін В₁.

Принцип методу. Розчини, що містять у своєму складі вітамін В₁, з діазореактивом в лужному середовищі забарвлюються в жовто-рожевий колір.

Хід роботи.

1. У пробірці змішують 4 мл розчину гідроксиду натрію і 6 мл діазореактиву.
2. Суміш розливають рівними обсягами в 3 пробірки і додають: в 1-у пробірку - 1-2 мл Н₂О; 2-у - 1-2 мл вітаміну В₁; в 3-ю - 1-2 мл молока.

Порівнюють результати.

Яке забарвлення характерне при позитивній реакції на В₁?

2. Якісна реакція на вітамін С.

Принцип методу. Під дією вітаміну С гексаціаноферрат (III) калію відновлюється в гексаціаноферрат (II) калію, а останній з хлоридом феруму (III) утворює берлінську блакить.

Хід роботи.

1. Готують водну витяжку з корму. Для чого його наважку розтирають у ступці, заливають водою у співвідношенні 1:10, суміш переливають в циліндр, доводять до 100 мл, профільтровують.
2. Взявши 4 пробірки, в 1-ю вносять 2-3 мл розчину вітаміну С, в 2-у - 2-3 мл води, 3-ю - 2-3 мл молока, 4-у - 2-3 мл екстракту корму.
3. У всі пробірки додають 5-6 крапель гексаціаноферрата (III) калію і таку ж кількість хлориду феруму (III).
4. Порівнюють результати реакції.

Яка ознака характерна для позитивної реакції на вітамін С?

3. Кількісне визначення вітаміну С у молоці і кормі.

Принцип методу. При титруванні розчину, що містить вітамін С, розчином 2,6-дихлорфеноліндофенола останній знебарвлюється. Коли весь вітамін С буде відтитровано, то чергова крапля розчину 2,6-дихлорфеноліндофенола забарвить розчин у слабкорожевий колір (у кислому середовищі). Кількість розчину 2,6-дихлорфеноліндофенола, що пішла на титрування пропорційна вмісту в досліджуваному розчині вітаміну С.

Хід роботи.

1. Наважку корму (5-10 г) ретельно подрібнюють ножицями і розтирають у фарфоровій ступці, заливають дистильованою водою (1:10), настоюють 10-15 хвилин, переносять в циліндр і доливають водою до мітки, фільтрують в чистий посуд.
2. У конічну колбу на 50-100 мл відмірюють 5 мл профільтрованого екстракту з корму.
3. В іншу колбу вносять 5 мл попередньо розведеного в 4 рази (1:3) молока.
4. У третю - 20 мл води (контроль).
5. У всі колби додають по 1 мл соляної кислоти, а в 1-у і 2-у - ще по 15 мл води.
6. Вміст кожної колби титрують з мікробюретки 0,001 н розчином 2,6-дихлорфеноліндофенола (обережно, по краплях) до появи не зникаючого протягом 30 секунд рожевого забарвлення.

Розрахунок ведеться за формулами:

а) $X = (C \cdot (A-B) K \cdot (0,088 \cdot 100))$: 5, де

X - вміст вітаміну С в молоці, мг%;

K - коефіцієнт поправки на титр;

A - кількість фарби (мл), що пішла на титрування досліджуваних розчинів;

B - кількість фарби (мл), що пішла на титрування контрольного розчину;

Z - ступінь розведення молока;

0,088 - кількість вітаміну С, еквівалентна 1 мл розчину 2,6-дихлорфеноліндофенола, мг;

100 - коефіцієнт для перерахунку у мг%;

5 - кількість розведеного молока, взятого для титрування.

б) $X = K \cdot ((A-B) 0.088 \cdot (100)) : 5m$, де

X - вміст вітаміну С в кормі, мг%;

У - загальний об'єм водної витяжки з корму, мл;

A - кількість фарби, що пішла на титрування досліджуваного розчину, мл;

B - кількість фарби, що пішла на титрування контрольного розчину, мл;

5 - об'єм витяжки з корму, взятий для титрування;

m - наважка корму, взята для одержання витяжки, г.

Розрахунки та висновки:

а) _____

б) _____

ТЕМА: ГОРМОНИ

Мета: вивчити гормони, що виробляються залозами внутрішньої секреції, їх хімічна будова, механізм дії на процеси обміну речовин, основні ознаки недостатності чи надлишку синтезу (гіперфункції) у тварин.

Завдання: студенти повинні оволодіти методами якісного визначення інсуліну, адреналіну та фолікуліну.

Питання для самопідготовки:

1. Як регулюється обмін речовин в організмі?
2. Що таке гормони і яка їх участь у регуляції обмінних процесів у клітинах?
3. Що собою являє ендокринна система?
4. Гіпофункція і гіперфункція ендокринної залози. Характеристика цих явищ.
5. Клітина-мішень і орган-мішень. Поняття про рецептори.
6. Класифікація гормонів за хімічною природою.
7. Класифікація гормонів за механізмом дії.
8. Механізм дії гормонів на обмін речовин в організмі через вторинних посередників.
9. Механізм дії гормонів стероїдної природи.
10. Рилізінг-фактори гіпоталамуса. Хімічна природа, механізм дії, орган-мішень.
11. Гормони гіпофіза. Тропні гормони. Хімічна природа, механізм дії, їх органи-мішені.
12. Гормони задньої долі гіпофіза – вазопресин і окситоцин. Хімічна природа, механізм дії, орган-мішень, прояви гіпо - та гіперфункції.
13. Гормони щитовидної залози (тиреоїдні). Хімічна природа, механізм дії, орган-мішень. Вплив на обмін речовин. Прояви гіпо - та гіперфункції.
14. Гормон кальцитонін. Хімічна природа, механізм дії, орган-мішень. Вплив на обмін речовин. Прояви гіпо - та гіперфункції.
15. Гормон паращитовидної залози. Хімічна природа, механізм дії, орган-мішень. Вплив на обмін речовин. Прояви гіпо - та гіперфункції.
16. Гормони підшлункової залози. Хімічна природа, механізм дії, орган-мішень. Вплив на обмін речовин. Прояви гіпо - та гіперфункції.
17. Гормони кори надниркових залоз. Хімічна природа, механізм дії, орган-мішень. Вплив на обмін речовин. Прояви гіпо - та гіперфункції.
18. Гормони мозкової речовини наднирників. Хімічна природа, механізм дії, орган-мішень. Вплив на обмін речовин. Прояви гіпо - та гіперфункції.
19. Гормони статевих залоз. Хімічна природа, механізм дії, орган-мішень. Вплив на обмін речовин. Прояви гіпо - та гіперфункції.
20. Жіночі статеві гормони. Хімічна природа, механізм дії, орган-мішень. Вплив на обмін речовин. Прояви гіпо - та гіперфункції.

21. Чоловічі статеві гормони. Хімічна природа, механізм дії, орган-мішень. Вплив на обмін речовин. Прояви гіпо - та гіперфункції.

22. Тканинні гормони – калікреїни, ангіотензин, простагландини, гастрин, секретин, ентерогастрин.

Лабораторні роботи

1. Якісні реакції на інсулін.

Інсулін є гормоном білкової природи, в молекулі якого поліпептидні ланцюги з'єднані дисульфідними містками. Інсулін дає позитивну біуретову реакцію та реакцію на сірковмісні амінокислоти.

1.1. Біуретова реакція.

Принцип методу. В лужному розчині при додаванні сульфату міді поліпептиди утворюють комплексні солі, забарвлені у фіолетовий колір.

Хід роботи:

1. До 1-2 мл розчину інсуліну додають рівний об'єм розчину гідроксиду натрію.
2. Додають 1-2 краплі розчину сульфату купруму.

1.2. Реакція на сірковмісні амінокислоти.

Принцип методу. При нагріванні з лугом від сірковмісних амінокислот відщеплюється сульфур у вигляді сірководню, який виявляють в реакції з плюмбум ацетатом (з'являється коричневе забарвлення).

Хід роботи:

1. До 1-2 мл розчину інсуліну додають рівний об'єм розчину гідроксиду натрію.
2. Вміст пробірки кип'ятять 1-2 хвилини.
3. Додають 2-3 краплі розчину плюмбуму оцтовокислого.

1.3. Реакція адреналіну з йодом.

Адреналін здатний легко окислюватися з утворенням ряду біологічно активних сполук.

Принцип методу: При нагріванні розчину адреналіну з йодом утворюються продукти окислення адреналіну, пофарбовані в червоний колір.

Хід роботи:

1. В 1 пробірку наливають 1-2 мл води.
2. В іншу – 1-2 мл адреналіну.
3. В обидві пробірки додають по 2 краплі розчину йоду.
4. Пробірки злегка підігривають.

РОЗДІЛ 2. Динамічна біохімія

ТЕМА: БІОЛОГІЧНЕ ОКИСЛЕННЯ.

Мета: закріпити знання студентів про систему ферментів, які каталізують реакції, пов'язані з обміном енергії; механізми тканинного дихання і пов'язаного з ним забезпечення тканин енергією.

Завдання: вивчити ферменти дихального ланцюга; оволодіти методами якісного виявлення оксидоредуктаз у біологічних об'єктах.

Питання для самопідготовки.

1. Поняття про процеси біологічного окислення.
2. Оксидоредуктази: визначення поняття, хімічна структура.
3. Основні підкласи оксидоредуктаз: дегідрогенази (піридинзалежні і флавінзалежні); цитохроми, допоміжні і додаткові - особливості будови, біологічна роль.
4. Коферменти дегідрогеназ (НАД, НАДФ, ФМН, ФАД), будова, механізм участі в реакціях окислення. Написати структурні формули окислених (НАД, ФАД) і відновлених (НАДН⁺ і ФАДН₂) коферментів.
5. Простетичні групи цитохромів, різновиди цитохромів.
6. Дихальний ланцюг або ланцюг переносу електронів (ЛПЕ) - визначення, склад, призначення. В яких морфологічних структурах локалізований дихальний ланцюг?
7. Чому в дихальному ланцюзі відбувається послідовна передача електронів від однієї ланки до іншої?
8. Що таке спряження окиснення і фосфорилування? Які речовини при цьому утворюються?
9. Навести формулу АТФ. Скільки кДж енергії може звільнитися за її розпад?
10. Які фактори викликають роз'єднання окислення і фосфорилування?

Лабораторні роботи

1. Виявлення сукцинатдегідрогенази м'язів.

Принцип методу. Сукцинатдегідрогеназа окиснює бурштинову кислоту і в анаеробних умовах передає протон Гідрогену на метиленову блакить, відновлюючи останню в безбарвну форму. У відсутність сукцинатдегідрогенази знебарвлення метиленової блакиті не відбудеться.

Хід роботи.

1. Попередньо подрібнений ножицями м'яз (2-3 г) розтирають у ступці з скляним піском до однорідної маси, поступово додаючи розчин бурштинової кислоти (1:50).
2. У 2 пробірки наливають по 3-4 мл отриманого гомогенату.

- У 1-шу пробірку (контроль) додають 2 мл ТХУ (денатурує і інактивує фермент), у 2-ю - таку ж кількість води.
- В обидві пробірки додають 0,5-1,0 мл метиленової блакиті, перемішують і додають по 2-3 краплі олії (для ізоляції від кисню повітря).
- Інкубувати у водяній бані при 45°C протягом 10 хвилин.
- По закінченні інкубації враховують результат реакції, порівнюючи дослідну пробу з контрольною. Після цього енергійно струшують вміст 2-ї пробірки.

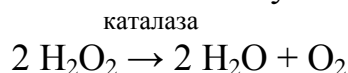
Записати відповіді на запитання:

Що при цьому спостерігається? Чому?

Спостереження і висновки:

2. Якісна реакція на каталазу крові.

Принцип методу. Каталаза розкладає перекис водню, про що можна судити по бурхливому виділенню молекулярного кисню при змішуванні перекису водню з рідиною (кров'ю), що містить каталазу.



Хід роботи.

- У 2 пробірки налити по 1-2 мл води і по 2-3 краплі крові.
- У 1-шу пробірку (контроль) додати 1-2 мл ТХУ (для інактивації ферменту).
- В обидві пробірки додати по 3-5 крапель перекису водню.

Дати пояснення спостережуваних явищ.

Висновки:

Тема: Цикл Кребса (цикл трикарбонових кислот).

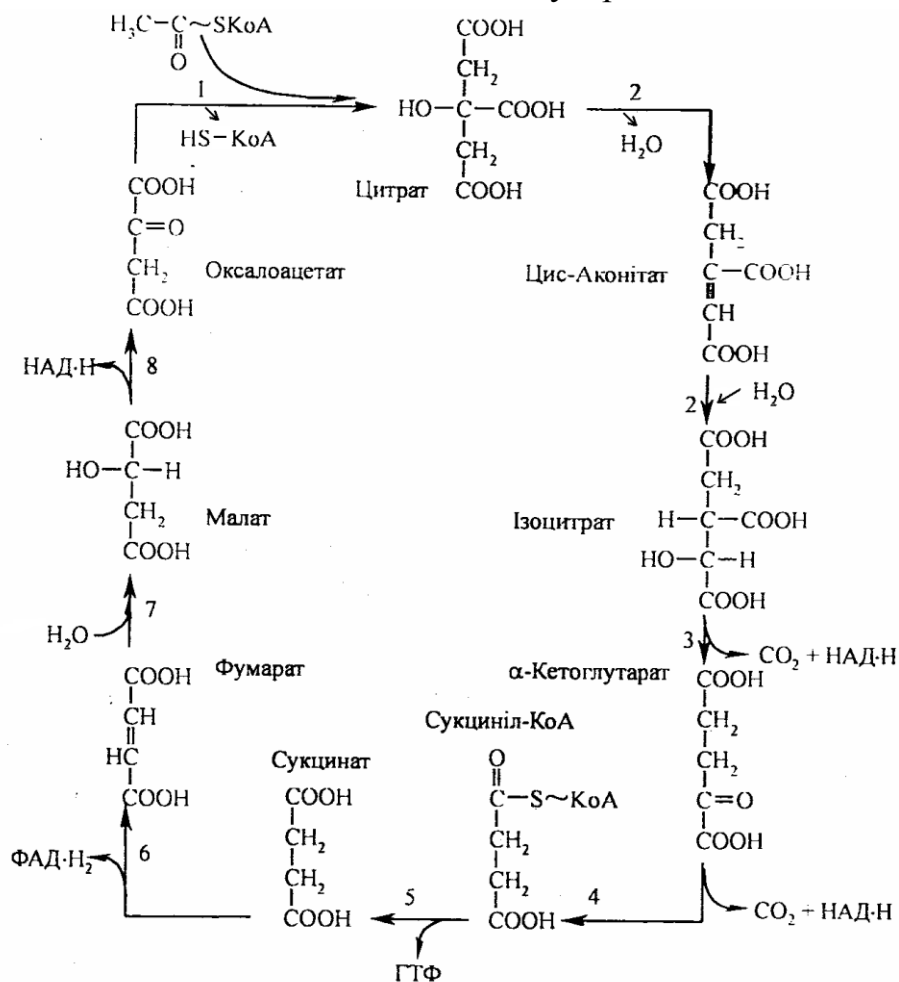
Мета: закріпити знання студентів про загальні шляхи перетворення до кінцевих продуктів всіх органічних сполук і пов'язаного з ним процесу окисного фосфорилування.

Завдання: вивчити послідовність реакцій циклу Кребса; оволодіти методами якісного виявлення оксидоредуктаз, які каталізують ці реакції, в біологічних об'єктах.

Питання для самопідготовки.

1. Механізм окисного декарбоксилювання пірвіноградної кислоти. Роль ЩОК.
2. Де в клітині локалізовані ферменти циклу Кребса?
3. Дати схему циклу Кребса і вказати його енергетичне значення.
4. Написати реакції перетворення ацетил-КоА до кінцевих продуктів.
5. В яких реакціях циклу Кребса утворюється CO_2 ?
6. В яких реакціях циклу Кребса утворюється H_2O ?
7. В яких реакціях циклу Кребса беруть участь НАД-залежні дегідрогенази?
8. В яких реакціях циклу Кребса беруть участь ФАД-залежні дегідрогенази?
9. У якій реакції циклу Кребса синтезується молекула ГТФ в процесі субстратного фосфорилування?

Схема циклу Кребса:



Лабораторна робота

1. Визначення дії дегідрогеназ.

Принцип методу: Окислення речовин під дією дегідрогеназ відбувається без участі кисню (анаеробне окислення). Дію дегідрогеназ визначають, використовуючи метиленову синь, яка приєднуючи гідроген, знебарвлюється.

Хід роботи:

1. У дві пробірки (контроль і досвід) вносять 0,1 - 0,2 г подрібнених м'язів. У контрольну пробірку додають 1-2 мл дистильованої води і ставлять на киплячу водяну баню (5 хв). Охолоджують.
 2. В обидві пробірки додають по 1 мл метиленової сині і кілька крапель олії.
 3. Пробірки ставлять в термостат на 15-20 хвилин.
 4. Спостерігають знебарвлення метиленової сині в дослідній пробі.
-
-
-

Тема: ХІМІЯ ВУГЛЕВОДІВ.

Мета: Перевірити теоретичні знання студентів з теми "Вуглеводи", познайомити з методами, що дозволяють визначити наявність вуглеводів в розчинах.

Завдання: навчити студентів проводити якісні реакції на вуглеводи.

Питання для самопідготовки.

1. Визначення, класифікація та біологічна роль вуглеводів.
2. Моносахариди, їхня класифікація (тріози, пентози, гексози).
3. Тріози: будова і біологічна роль (гліцериновий альдегід, діоксиацетон, фосфорні ефіри тріоз).
4. Пентози: будова і біологічна роль рибози, дезоксирибози і рибульози.
5. Фосфорні ефіри пентоз: рибозо-1-фосфат; рибозо-5-фосфат.
6. Гексози: глюкоза, галактоза і фруктоза. Будова та біологічна роль їх похідних (фосфорні ефіри, аміноспирти та уранові кислоти).
7. Дисахариди: визначення, будова, глюкозидний зв'язок між залишками моносахаридів, значення окремих дисахаридів у тваринництві (сахароза, трегалоза, мальтоза, лактоза, целлобіоза).
8. Полісахариди: визначення, класифікація, відмінності у складі і будові гомо- і гетерополісахаридів.

9. Гомополісахариди: крохмаль, глікоген, клітковина, агар-агар. Їх склад, будова, властивості, біологічна роль. Продукти гідролізу крохмалю і клітковини.

10. Кислі та нейтральні гетерополісахариди. Склад, структура і біологічна роль гіалуронової, хондроїтинсірчаної кислоти і гепарину.

Лабораторні роботи

1. Реакція з α -нафтолом і тимолом.

Принцип методу. У сильнокислому середовищі вуглеводи утворюють з α -нафтолом і тимолом комплекси фіолетового і червоного кольору, відповідно.

Хід роботи.

1. Пронумерувати 4 пробірки.
2. В 1-у і 3-ю налити по 2 мл води.
3. У 2-у і 4-у - по 2 мл розчину сахарози.
4. В 1-у і 2-у пробірки додати по 10 крапель α -нафтолу.
5. У 3-ю і 4-у - по 2-3 краплі тимолу.
6. У всі пробірки обережно підливають, доливаючи по стінці (не перемішуючи) 1-2 мл концентрованої сірчаної кислоти (обережно!).

Спостереження внести в таблицю:

№ пробірки			Забарвлення розчину
1	2 мл H_2O	α -нафтол	
2	2 мл р-ну сахарози	α -нафтол	
3	2 мл H_2O	ТИМОЛ	
4	2 мл р-ну сахарози	ТИМОЛ	

2. Реакція з реактивом Фелінга.

Принцип методу. Зменшення моно - і дисахаридів в лужному середовищі відновлюють гідроксид купруму (II), що міститься в реактиві Фелінга, оксид купруму (I) червоного кольору, за кольором якого судять про наявність у пробі відновлюючих вуглеводів.

Хід роботи.

1. Взяти 2 пробірки.
2. В одну наливають 2-3 мл розчину глюкози.
3. У другу – 2-3 мл дистильованої води.
4. В обидві пробірки додають по 2-3 мл реактиву Фелінга.
5. Пробірки нагрівають до кипіння.

3. Виявлення фруктози в розчині (реакція А. Ф. Селіванова).

Принцип методу. При нагріванні фруктози і речовин, які її містять, з кислотами відбувається дегідратація фруктози з утворенням 5-оксиметилфурфуролу, який з резорцином утворює комплекс рожево-червоного кольору.

Хід роботи.

1. Пронумерувати 3 пробірки.
2. У першу наливають 2-3 мл розчину фруктози.
3. У другу - стільки ж розчину глюкози.
4. У третю – 2-3 мл дистильованої води.
5. У всі пробірки додають по 1-2 мл реактиву Селіванова.
6. Вміст пробірок доводять до кипіння. Кип'ять не більше 20-30 секунд.

4. Кислотний ступінчастий гідроліз крохмалю.

Принцип методу. При нагріванні крохмалю з концентрованою сірчаною кислотою відбувається поступовий його гідроліз з утворенням проміжних (декстрини, мальтоза) і кінцевих (глюкоза) продуктів, що виявляються по кольоровій реакції з йодом і реактивом Фелінга.

Хід роботи.

1. У пробірку наливають 5-6 мл розчину крохмалю.
2. Додають 3-4 краплі концентрованої сірчаної кислоти.
3. Поміщають пробірку в киплячу водяну баню.
4. Через 3-5 хвилин, а потім через кожні 3 хвилини, з пробірки відбирають по 1 мл гідролізату в 4 чисті пробірки (попередньо їх пронумерувати).
5. Залишок гідролізату ділять на дві рівні частини. Одну з них використовують для постановки реакції з йодом, а іншу - для реакції з реактивом Фелінга, попередньо нейтралізувавши її вміст розчином гідроксиду натрію.
6. У всі пробірки (крім останньої) приливають приблизно 2 мл дистильованої води, 1-2 краплі розчину Люголя.
7. Перемішують і спостерігають специфічне забарвлення отриманих гідролігатів.

Спостереження і висновки:

Тема: ОБМІН ВУГЛЕВОДІВ

Мета: закріпити теоретичні знання студентів з теми "Обмін вуглеводів".

Завдання: студенти повинні ознайомитися з сучасними методами кількісного визначення глюкози в крові сільськогосподарських тварин.

Питання для самопідготовки.

1. Переварювання вуглеводів в різних відділах травного тракту тварин.
2. Особливості перетравлення вуглеводів у жуйних.
3. Продукти, у вигляді яких засвоюються вуглеводи у різних тварин.
4. Концентрація вуглеводів в крові тварин різних видів та механізм її регулювання. Гіперглікемія, гіпоглікемія, глюкозурія.
5. Основні шляхи використання глюкози в організмі.
6. Глікогенез, гліконеогенез.
7. Окислення вуглеводів в анаеробних умовах. Гліколіз і глікогеноліз. Молекулярні механізми. Біологічне призначення, енергетична ефективність.
8. Шляхи використання молочної кислоти, що виникла при анаеробному окисленні глюкози.
9. Окислення молочної кислоти в аеробних умовах. Енергетична ефективність при її окисленні до піровиноградної та оцтової кислот.
10. Енергетична ефективність аеробного окислення глюкози - повного і на окремих етапах.
11. Пентозний і глюкуронідний шляхи окислення глюкози - біологічне призначення.
12. Можливі причини порушення вуглеводного обміну.
13. Зв'язок обміну вуглеводів та інших речовин.

В результаті процесів гідролізу вуглеводів в Ш-КТ в кров активно всмоктуються моносахариди, в основному – глюкоза.

Наявність глюкози в крові називається глюкоземією. Рівень глюкози в крові – величина постійна, регульована ендокринною системою (гормонами). Підвищений рівень глюкози в крові називається гіперглікемією, знижений – гіпоглікемією.

Гіперглікемія може бути аліментарною, тобто не патологічної, що виникає відразу після великого прийому з їжею вуглеводів. У цьому випадку рівень цукру знижується до норми протягом 2 годин; або патологічною, пов'язаною з недостатнім синтезом або не активацією основного гіпоглікемічного гормону підшлункової залози - інсуліну. В цьому випадку розвивається тяжке захворювання – цукровий діабет.

Для визначення цукру в крові запропоновано багато способів. Раніше широко використовувався метод Хаггедорна-Йенсена. Цей метод має один істотний недолік, який полягає в тому, що він заснований на використанні

редуючих властивостей не тільки глюкози, але і інших речовин, які також володіють цими властивостями.

В даний час більш розповсюдженим, зручним і інформативним у плані визначення саме рівня вмісту глюкози є **глюкозооксидазний метод**.

Лабораторні роботи

1. Визначення глюкози в біологічних рідинах глюкозооксидазним методом

Принцип: Глюкоза в присутності глюкозооксидази окислюється киснем повітря до глюконової кислоти та пероксиду гідрогену. Останній в присутності пероксидази вступає в реакцію з фенолом і 4-амінофенозоном з утворенням хиноніміна червоно-фіолетового кольору, який визначається фотометрично.

Хід роботи:

Аналіз у сироватці крові проводиться у відповідності зі схемою, представленою в таблиці:

Відміряти в кювету	Калібровочна, або дослідна проба		Холоста проба	
	Макро	Мікро	Макро	Мікро
Калібрувальний або аналізований розчин	0,04 (мл)	0,01(мл)	-	-
Фізіологічний розчин	-	-	0,04 (мл)	0,01(мл)
МОНОРЕАГЕНТ (робочий розчин)	4,0 (мл)	1,0 (мл)	4,0 мл	1,0 (мл)

Змішати, витримати 20 хвилин при кімнатній температурі, або 12 хв. при 37°C. Виміряти поглинання (E) калібратора або дослідної проби проти холостої при 500-546 нм в кюветах з робочою відстанню 5 або 10 мм.

Розрахунок концентрації глюкози:

$C=180 \cdot (\text{коэф. розведення}) \cdot E(\text{дослід}) / E(\text{калібр})$, (мг/дкл) або

$C=10 \cdot (\text{коэф. розведення}) \cdot E(\text{дослід}) / E(\text{калібр})$, (ммоль/л) або

$C=0,18 \cdot K (\text{коэф. розведення}) \cdot E(\text{дослід}) / E(\text{калібр})$, (%)

Отриманий результат і висновки:

Тема: ХІМІЯ ЛІПІДІВ.

Мета: перевірити теоретичні знання студентів по розділу "Ліпіди".

Завдання: навчити методам, що дозволяють в лабораторних умовах перевірити ряд фізико-хімічних властивостей жирів.

Питання для самопідготовки.

1. Ліпіди: визначення, поширення в природі, біологічна роль.
2. Класифікація: прості (тригліцериди, воски, стероли і стериди) і складні (фосфоліпіди, гліколіпіди, сульфоліпіди).
3. Вищі карбонові кислоти (насичені і ненасичені), що зустрічаються у складі ліпідів.
4. Жири (тригліцериди): визначення, хімічна будова, фізичні (розчинність, температура плавлення) і хімічні (омилення, прогоркання) властивості.
5. Кислотне і йодне числа жиру, їх практичне значення.
6. Біологічна роль жирів.
7. Воски: хімічний склад, будова, біологічна роль.
8. Стероли і стериди: хімічна будова, біологічна роль (на прикладі холестеролу, 7-дегідрохолестеролу та ергостеролу).
9. Фосфоліпіди (фосфатиди):
 - а) гліцерофосфатиди: хімічна будова, біологічна роль фосфатидної кислоти, лецитинів, кефалінів, серинфосфатидів, ацетальфосфатидів;
 - б) сфінгофосфатиди: хімічний склад, будова, біологічна роль.
10. Сфінгозин як складова частина сфінгофосфатидів.
11. Гліколіпіди (цереброзиди, гангліозиди): хімічний склад, особливості будови, поширення у природі, біологічна роль.

Лабораторні роботи

1. Розчинність жирів у різних розчинниках (демонстраційно).

Принцип методу. Лабораторна робота базується на властивості жирів розчинятися в різних розчинниках.

Хід роботи.

1. Пронумерувати 5 пробірок.
2. У пробірки внести по 2-3 краплі олії.
3. З бюреток, що стоять на окремому столі: в 1-у додати 2-3 мл води, у 2-у - стільки ж діетилового (медичного) ефіру, в 3-ю - хлороформу, в 4-у спирту, в 5-у - ксилолу.
4. Вміст кожної пробірки енергійно перемішати.
5. Після закінчення швидко вимити пробірки!

Спостереження і висновки записати в таблицю:

№ пробірки	Розчинник	Результат
1	Вода	
2	Ефір	
3	Хлороформ	
4	Спирт	
5	Ксилол	

Висновки: _____

2. Отримання жирової емульсії.

Принцип методу. Жир у воді утворює нестійку емульсію. Для її стабілізації використовують детергенти (поверхнево-активні речовини - емульгатори).

Хід роботи.

1. Взяти 6 пробірок (1-а з них - контрольна).
2. У кожену внести по 2-3 краплі олії і по 3 мл води.
3. У 2-у пробірку додати 1 мл розчину мила.
4. У 3-ю - 1 мл розчину білка.
5. В 4-у - 1 мл розчину гідрокарбонату натрію.
6. В 5-у - 3-5 крапель жовчі.
7. У 6-у - 1 мл розчину соляної кислоти.
8. Вміст пробірок ретельно перемішати і залишити на 5 хвилин.

Спостереження і висновки :

3. Визначення йодного числа жиру.

Принцип методу. Метод заснований на здатності ненасичених карбонових кислот, що містяться в жирі, приєднувати йод за місцем розриву подвійного зв'язку. Надлишок йоду визначається йодометрично. Йодне число показує ступінь ненасиченості жиру.

У нормі йодне число жиру становить:

ВРХ = 27-47;

МРХ = 31-46;

свині = 46-66;

соняшникова олія = 129-136;

конопляна олія = 145-162.

Хід роботи.

1. У колбу вносять 0,1 мл жиру.
2. Додають 5 мл хлороформу (із бюретки).
3. Додають точно 5 мл спиртового розчину йоду.
4. Закривають пробкою, ретельно перемішують і ставлять у темне місце.
5. Через 30 хвилин додають 1 мл крохмалю.
6. Титрують з бюретки розчином натрію тіосульфату до зникнення синього забарвлення.
7. Результат титрування записують в зошит і роблять розрахунок йодного числа за формулою:

$$X = (0,0127 \cdot K (A-B) \cdot 100) : m, \text{ де}$$

X - йодне число (кількість грамів йоду на 100 г жиру);

0,0127 - еквівалент одного мл розчину грамам металевому йоду;

A - кількість розчину йоду (5 мл), доданого до проби;

B - кількість розчину йоду (еквівалентне обсягом натрію тіосульфату), що залишився після реакції з жиром;

K - коефіцієнт поправки на титр (1);

m - наважка (г) жиру, взятого для постановки реакції (1,0);

100 - коефіцієнт для перерахунку на 100 р.

Розрахунки та висновки:

4. Визначення кислотного числа жиру.

Принцип методу. Метод заснований на титрометричному визначенні вільних карбонових кислот, що містяться в жирі. **Кислотне число** – це кількість мг КОН, яка йде на нейтралізацію вільних карбонових кислот, що містяться в 1 г жиру. Так як жир – це складний ефір гліцерину та вищих карбонових кислот, при стоянні він гідролізується з утворенням вільних карбонових кислот. Чим «старіше» жир, тим більше його кислотне число. Тобто кислотне число показує ступінь свіжості жиру.

Хід роботи.

1. В одну колбу вносять 1,0 г свіжого жиру.
2. В іншу - 1,0 г старого жиру.
3. Розчиняють жир, доливши у колби по 5 мл спиртово-ефірної суміші (суміш вливати з бюретки).
4. Додають по 2-3 краплі фенолфталеїну.
5. Титрують вміст колб розчином калію гідроксиду (обережно) до появи рожевого забарвлення.

Результати титрування першої та другої проб (роздільно) записують у зошит і на їх підставі роблять розрахунок за формулою:

$$X = (Y \cdot 5,6 K) : m,$$

де:

X - кількість (мг) КОН, що витрачається на титрування 1 грама жиру (кислотне число);

5,6 - кількість (мг) КОН в 1 мл 0,1 н розчину калію гідроксиду;

Y - об'єм розчину КОН, який пішов на титрування проби;

K - коефіцієнт поправки на титр (1);

m - наважка жиру, г (1).

У нормі кислотне число дорівнює 1,2 – 3,5 мг КОН/г жиру.

На підставі виконаного дослідження роблять висновок про якість жиру в першій і другій пробах, при цьому виходять з того, що кислотне число свіжого жиру не повинно перевищувати 2,5.

Розрахунки та висновки:

ТЕМА: ОБМІН ЛІПІДІВ

Мета: закріпити знання про обмін ліпідів, енергетичну ефективність окислення жирів, молекулярні механізми синтезу жирних кислот, жирів, гліцерофосфатидів і деяких сторонах порушення молекулярних механізмів обміну карбонових кислот.

Завдання: освоїти методи кількісного визначення холестеролу і напівкількісні експрес-методи визначення кетонівих тіл в молоці, сечі, сироватці крові.

Питання для самопідготовки.

1. Хімічна будова і біологічна роль ліпідів (жирів, фосфоліпідів, стеролів, гліколіпідів).
2. Перетравлення ліпідів в різних відділах шлунково-кишкового тракту, роль у цьому процесі жовчних кислот.
3. Засвоєння продуктів перетравлення ліпідів. Холеїнові кислоти.

4. Синтез тригліцеридів і фосфоліпідів в стінці кишківника. Роль фосфатидної кислоти як проміжного продукту в цих реакціях.
5. Гідроліз жирів у тканинах і подальше використання продуктів гідролізу.
6. Окислення гліцерину - послідовність реакцій і енергетичний ефект.
7. Окислення карбонових кислот. Бета-окислення окислення, в циклі трикарбонових кислот. Енергетичний ефект.
8. Як розрахувати кількість АТФ, яка утворюється при повному окисленні тригліцеридів (на прикладі трипальмітату, тристеарату).
9. Кетонові тіла - місце та механізм утворення, використання в організмі.
10. Порушення утворення і використання кетонових тіл. Причини і наслідки. Кетонемія, кетонурія.
11. Роль вуглеводів в обміні жирів.
12. Синтез та використання в організмі фосфоліпідів.
13. Біосинтез жирних кислот.
14. Біосинтез холестерину та інших стеролів. Вихідні продукти і місце біосинтезу.
15. Особливості окислення ненасичених карбонових кислот.

Жовчні кислоти відіграють важливу роль в процесах травлення і всмоктування ліпідів: емульгування жирів, активація панкреатичної ліпази, утворення змішаних транспортних міцел.

У нормі жовчні кислоти піддаються ентерогепатичній циркуляції і виводяться з організму через кишківник. Нормальна сеча, як правило, їх не містить. При механічній жовтяниці жовчні кислоти з'являються в сечі і їх кількість збільшується, якщо закупорка жовчних проток триває протягом більш значного проміжку часу. Жовчні кислоти в сечі можуть виявлятися і при паренхіматозній (вірусній) жовтяниці.

Лабораторні роботи

1. Виявлення жовчних кислот у сечі

1. Проба Гея.

Принцип методу. Жовчні кислоти володіють властивістю знижувати поверхневий натяг сечі.

Хід роботи.

1. У склянку налити 20-30 мл сечі.
2. На її поверхню просіяти через марлю тонко подрібнений порошок сірки.
3. Спостерігати як швидко осяде порошок на дно склянки.

При відсутності жовчних кислот у сечі сірка залишиться на поверхні сечі навіть при струшуванні склянки.

Проба стає позитивною при концентрації жовчних кислот і їх солей в сечі вище 0,01%.

1.2. Реакція Петенкофера.

Принцип методу. При взаємодії жовчних кислот з оксиметилфурфуролом утворюються продукти їх конденсації, що обумовлюють червоно-фіолетове забарвлення. Оксиметилфурфурол утворюється з фруктози (сахарози) при взаємодії її з концентрованою сірчаною кислотою.

Хід роботи.

1. На чашку Петрі наносять 2-3 краплі сечі.
2. Додають 2 краплі 10% розчину сахарози і ретельно перемішують скляною паличкою.
3. Додають 7 крапель концентрованої сірчаної кислоти і знову перемішують.
4. Через кілька хвилин спостерігають появу червоного забарвлення, яке при стоянні переходить у червоно-фіолетове.

Ліпіди крові представлені ТАГ, холестерином, його ефірами і фосфатидами. Виділення всіх цих речовин з крові засновано на їх розчинності в органічних розчинниках.

Розлад вуглеводного обміну (цукровий діабет) і супроводжується розладом обміну жирів, що веде до утворення кетонів і до розладу лужно-кислотних відносин. Тому при появі глюкозурії (присутності цукру в сечі) або гіперглікемії виникає необхідність визначення кетонів (ацетону, ацетооцтової і β -гідроксимасляної кислот) в сечі. Глюкозурія без ацетонурії можлива при підвищеному вживанні в їжу вуглеводів, ацетонурія без глюкозурії – при голодуванні.

Нормальні показники (мг%) кетонів у тварин:

корови, телята – 4,0-6,0; свині – 0,25 – 2,0.

Підвищені показники можуть виникати при: кетозі, голодуванні, кахексії, токсичній диспепсії, передпологових токсикозах, гіпотонії, атонії передшлунків, тимпанії рубця, лейкозі.

2. Якісні реакції на ацетонів (кетонів тіла):

2.1. Реакція Лібена

Хід роботи:

1. До 1-2 мл розчину сечі (патологічної) додати 5-6 крапель 10% розчину NaOH.
2. Додати кілька крапель розчину Люголя.
3. По запаху виявити наявність йодоформу.

2.2. Реакція Легалья

Хід роботи:

1. До 1-2 мл розчину сечі (патологічної) додати 5-6 крапель 10% розчину NaOH.
2. Додати кілька крапель нітропрусида натрію.

3. Спостерігати появу або відсутність червоного забарвлення, яке свідчить про наявність ацетону.

Інтенсивність забарвлення посилюється від додавання оцтової кислоти.

2.3. Проба Ланге

Хід роботи:

1. До 1-2 мл розчину сечі (патологічної) додати 0,5 мл концентрованої оцтової кислоти.
2. Додати кілька крапель нітропрусиду натрію.
3. Струсити і обережно нашарувати 1-2 мл 30% розчину NaOH.
4. На межі розділу двох рідин спостерігаємо утворення червоно-фіолетового кільця.

Спостереження:

ТЕМА: ОБМІН ПРОСТИХ БІЛКІВ. БІОЛОГІЧНА РОЛЬ, ПОТРЕБА І ЗАСВОЄННЯ.

Мета: закріпити теоретичні знання про значення білків в годівлі тварин, механізм їхнього перетравлювання і засвоєння у різних видів тварин.

Завдання: навчитися визначати кількість білків у сироватці крові тварин за методом Лоурі, з біуретовим реактивом і рефрактометрично.

Питання для самопідготовки:

1. Біологічна повноцінність білків.
2. Потреба тварин у білках.
3. Поняття про азотистий баланс, його види. Дати визначення позитивного та негативного азотистого балансу, азотистої рівноваги.
4. Ферменти травних соків білків в шлунку, тонкому кишківнику, їх активування та механізм дії. Проміжні й кінцеві продукти перетравлення білків в організмі.
5. Особливості перетравлення білків у жуйних. Біологічна доцільність впливу на білки та інші азотисті речовини корму бактерій і найпростіших.

6. Всмоктування (засвоєння) продуктів перетравлення білків.
7. Гниття білків у товстому відділі кишківника і подальші перетворення продуктів гниття (індол, скатол, фенол, путресцин і ін) в організмі.
8. Формування амінокислотного фонду тканин та основні шляхи використання амінокислот в організмі.
9. Ендогенні та екзогенні амінокислоти.

При видаленні формених елементів крові залишається плазма, при видаленні з неї фібриногену – сироватка крові. Загальна кількість білків у плазмі крові – величина постійна.

Нормальні показники (г%): корови – 7,22 - 8,76; телята – 5,0 - 6,5; свиноматки – 7,2 - 8,8; поросята – 5,0 - 6,5; коні – 6,5 - 7,5; лошата – 5,8 - 6,6; кури – 4,5 - 6,0; курчата – 2,5 - 3,5.

Знижені показники: голодування, нефротичний набряк, вагітність, зтяжний сепсис.

Підвищені показники: дегідратація, проноси, блювання, гострі запалення, флегмони, сепсис, тяжкі інфекції.

Лабораторні роботи

1. Кількісне визначення білків в крові за Лоурі.

Принцип методу. Міститься в білках тваринного походження тирозин (його концентрація в білках відносно постійна) з реактивом Фоліна дає синє забарвлення, інтенсивність якого залежить від абсолютної концентрації білка в розчині. Інтенсивність забарвлення розчину визначають на ФЕКе за ступенем світлопоглинання (екстинкції) розчину, а далі на підставі знайденої екстинкції за калібрувальним графіком знаходять концентрацію білків.

Хід роботи.

1. Взяти 2 пробірки.
2. В 1-у (дослід) додати 0,1 мл досліджуваної сироватки крові (розведеної) і 9,0 мл реактиву С. Перемішати.
3. У 2-у (контроль) вносять 9,1 мл реактиву С.
4. Обидві пробірки залишають у штативі і через 15 хвилин в них додають 0,9 мл реактиву Фоліна. Суміш негайно (!) перемішують і залишають в штативі для розвитку забарвлення.
5. Через 15 хвилин дослідну пробірку фотометрують проти контролю в кюветах з робочою довжиною 10 мм зі світлофільтром № 8 (червоний).
6. Концентрацію білка знаходять за калібрувальним графіком, який складають на підставі вимірювання екстинкції розчинів з різною, заздалегідь відомою концентрацією білка.

Розрахунки та висновки:

ТЕМА: БІОСИНТЕЗ БІЛКІВ

Мета: закріпити знання студентів про використання амінокислот (екзогенних і ендогенних) в тканинах, біосинтезі білків, молекулярних механізмах цих процесів у тканинах.

Завдання: оволодіти методом рефрактометричного визначення білків в крові.

Питання для самопідготовки.

1. Основні джерела амінокислот у тканинах (ендогенні та екзогенні).
2. Роль катепсинів у забезпеченні тканин амінокислотами.
3. Основні шляхи використання амінокислот.
4. Біосинтез білків - місце біосинтезу та основні етапи.
5. Транскрипція - де відбувається, які фактори беруть участь?
6. Рекогніція - де відбувається, які потрібні умови?
7. Трансляція - де відбувається, за участю яких факторів?
8. Поняття про кодони, гени, цистрони, антикодони.
9. Теорії регуляції біосинтезу білків.
10. Як відбувається активування амінокислот, що втягуються в реакції біосинтезу білків?
11. Роль аміноацил-тРНК-синтетаз в біосинтезі білків.
12. На підставі якого принципу здійснюється транскрипція?
13. Яку роль в біосинтезі білків виконує тРНК?
14. Роль іРНК в біосинтезі білків. Звідки вона береться в клітині? Що таке інформосоми?
15. Що таке триплетний код, як він формується?
16. Який код називається виродженим?

Лабораторні роботи:

1. Визначення кількості білків у сироватці крові рефрактометричним методом.

Принцип методу. Метод заснований на здатності різних середовищ по-різному заломлювати промені світла. В сироватці крові величина рефракції (коефіцієнт рефракції світла) залежить головним чином від концентрації в ній білків. Мінеральні речовини та інші складові частини сироватки практично не впливають на її рефракцію.

Рефракція сироватки вимірюється за допомогою приладу, що носить назву рефрактометр.

Хід роботи.

1. Скляні призми камери рефрактометра очищують ватою, змоченою водою, просушують сумішшю спирту з ефіром і фільтрувальним папером.
2. Скляною паличкою наносять на нижню призму камери дві краплі дистильованої води і закривають камеру.
3. Прилад встановлюють біля світла і наводять кордон світла і тіні на перетин ліній.

При 20°C прилад повинен показувати заломлення води, рівне 1,3333. Це означає, що він правильно налаштований і може бути використаний для подальшого визначення рефракції сироватки крові.

1. Камеру відкривають, призми просушують фільтрувальним папером і на нижню призму наносять дві-три краплі сироватки крові.

2. Камеру закривають і знаходять показник рефракції.

Відлік рефракції проводять тричі і з трьох визначень використовують середнє. При невідповідності температури на кожен градус (проти 20°) роблять поправку, додаючи при більш високій температурі до знайденого показника 0,0001 або віднімаючи при більш низькій температурі з нього цю величину.

Використовуючи знайдений коефіцієнт рефракції, за таблицею визначають відповідний вміст білка в сироватці крові.

Показник заломлення	Білок,%	Показник заломлення	Білок,%	Показник заломлення	Білок,%
1,3451	5.30	1,3471	6, 48	1,3491	7,63
1,3452	5.36	1,3472	6,55	1,3492	7,68
1,3453	5.41	1,3473	6,60	1,3493	7,73
1,3454	5.47	1,3474	6,66	1,3494	7,79
1,3455	5.54	1,3475	6,71	1,3495	7,85
1,3456	5.61	1,3476	6,77	1,3496	7,92
1,3457	5.68	1,3477	6,82	1,3497	7,99
1,3458	5.73	1,3478	6,88	1,3498	8,06
1,3459	5.79	1,3479	6,93	1,3499	8,12
1,3460	5.85	1,3480	6,98	1,3500	8,17
1,3461	5.90	1,3482	7,09	1,3501	8,23
1,3462	5.96	1,3483	7,14	1,3502	8,28
1,3463	6.01	1,3484	7,20	1,3503	8,33
1,3464	6.07	1,3485	7,27	1,3504	8,38
1,3465	6.12	1,3486	7,35	1,3505	8,44
1,3466	6.17	1,3487	7,42	1,3506	8,49
1,3467	6.23	1,3488	7,48	1,3507	8,58
1,3468	6.28	1,3489	7,53	1,3508	8,63
1,3469	6.34	1,3490	7,58	1,3509	8,71
1,3470	6.41			1,3510	8,76

Розрахунки та висновки:

ТЕМА: ЗАГАЛЬНІ І СПЕЦИФІЧНІ ШЛЯХИ ПЕРЕТВОРЕННЯ АМІНОКИСЛОТ

Мета: закріпити знання про шляхи перетворення амінокислот, не використаних для біосинтезу білків.

Завдання: освоїти методику визначення амінокислот в крові.

Питання для самопідготовки.

1. Біосинтез амінокислот у тварин. Замінні та незамінні амінокислоти.
2. Декарбоксілювання амінокислот.
3. Шляхи дезамінування амінокислот, у тому числі дезамінування амінокислот у тварин.
4. Первинне і остаточне знешкодження аміаку: місце і механізм синтезу сечовини.
5. Шляхи виведення сечовини з організму у різних видів тварин (з однокамерним шлунком і у жуйних).
6. Особливості знешкодження аміаку у птахів.
7. Обмін окремих амінокислот (гліцину, серину, цистеїну, метіоніну, аспарагінової кислоти, гістидину та інших).
8. Синтез креатину, креатиніну, карнозину.
9. Кетогенні амінокислоти.
10. Залишковий азот крові - його компоненти та кількісні зміни у зв'язку з віком і станом організму.
11. Взаємозв'язок в обміні амінокислот та інших речовин.

Креатинін є нормальною складовою частиною сечі і одним з кінцевих продуктів азотистого обміну. Він є ангідридом креатину і утворюється з макроергічного з'єднання креатинфосфату при відщепленні фосфорної кислоти. Кількість креатиніну, що виводиться з сечею прямо залежить від вмісту фосфокреатину в м'язах. Кількість креатиніну в сечі буде змінюватися і залежно від вмісту креатину в їжі (особливо в білковій). Підвищеною екскрецією креатиніну (гіперкреатиніурія) супроводжуються гарячкові стани, гострі інфекції, цукровий і нецукровий діабет.

Гіперкреатиніурія з одночасною креатинурією зазвичай свідчить про патологію поперечно-смугастих м'язів (м'язова дистрофія, атрофія, міастенія). Гіпокреатинурія спостерігається при захворюваннях нирок, астмі – при хронічному нефриті з уремією, при м'язовій атрофії після перенесених інфекцій, в літньому віці і при аліментарній дистрофії.

Лабораторні роботи

1. Визначення вмісту креатиніну у сироватці крові

Принцип: Креатинін при взаємодії з пікриновою кислотою в лужному середовищі утворює сполуки, забарвлені в помаранчово-червоний колір, інтенсивність якого визначають фотометрично.

Хід роботи:

Визначення проводиться в центрифужних пробірках, які заповнюють наступним чином:

Дослідна проба:

1. Внести 0,5 мл досліджуваної сироватки;
2. Додати 1 мл води;
3. Додати 0,5 мл трихлороцтової кислоти.

Калібрувальна проба:

1. Внести 0,5 мл калібрувального розчину (концентрація креатиніну – 177 мкмоль/л);
2. Додати 1 мл води;
3. Додати 0,5 мл трихлороцтової кислоти.

Вміст обох пробірок перемішують, залишають стояти протягом 5 хв. Центрифугують при 2500-3000 об/хв. протягом 5 хвилин. Надосадову рідину зливають.

1. У 2 центрифужні пробірки внести по 1 мл надосадової рідини з кожної проби.
2. Додати по 0,5 мл гідроокису натрію (0,75 мл/л).
3. Перемішати.
4. Рівно через 20 хв. фотометрувати в кюветах з робочою відстанню 10 мм при 505 нм проти розчину порівняння.

Приготування розчину порівняння (холоста проба):

1. В центрифужну пробірку внести 1,5 мл води.
2. Додати 0,5 мл трихлороцтової кислоти.
3. Перемішати.
4. З цього розчину беремо 1 мл і переносимо в окрему пробірку.
5. Додаємо 0,5 мл пікринової кислоти і 0,5 мл гідроокису натрію.

Розрахувати концентрацію креатиніну в сироватці крові за формулою:

$$C_{оп} = \frac{C_{ст} \cdot E_{оп}}{E_{ст}} = (\text{мкмоль/л});$$

де $C_{оп}$ – концентрація креатиніну в досліджуваній сироватці;
 $C_{ст}$ - концентрація креатиніну в калібрувальній пробі – 177 мкмоль/л;
 $E_{оп}$ – оптична щільність дослідної проби;
 $E_{ст}$ - оптична щільність калібрувальної проби.

Розрахунки та висновки:

Сечовина (діамід вугільної кислоти) є основним кінцевим продуктом знешкодження аміаку в організмі. Нормальний вміст сечовини в крові людини коливається в межах 2,5-8,3 ммоль/л. Близько 75% сечовини виділяється з сечею. Концентрація сечовини в крові залежить від інтенсивності її синтезу і виділення.

Визначення сечовини є діагностичним тестом, який характеризує не тільки стан білкового обміну, але і функціональний стан нирок та печінки. Збільшення концентрації сечовини в крові (азотемія) відзначається при хворобах нирок (порушеннях їх видільної функції), при підвищеному розпаді білків, надмірному білковому харчуванні, у разі зневоднення організму (відносна азотемія), при отруєнні фосфором. Зниження рівня сечовини в крові та виділення її з сечею спостерігається при захворюваннях печінки (дистрофія печінки, цироз, паренхіматозна жовтяниця), пов'язані з порушенням її здатності до сечовиновиділення; при нефриті, ацидозі, уремії.

2. *Визначення вмісту сечовини в сироватці крові колориметричним методом*

Принцип: Сечовина утворює з діацетилмонооксимом при наявності тіосемикарбазиду і солей феруму в сильнокислому середовищі при нагріванні комплекс рожево-червоного кольору. Інтенсивність забарвлення пропорційна вмісту сечовини в сироватці крові.

Хід роботи:

1.Визначення проводиться в тонкостінних пробірках, заповнення яких проводиться за схемою, представленою в таблиці:

ТЕМА: ОБМІН СКЛАДНИХ БІЛКІВ

Мета: на підставі співбесіди зі студентами закріпити знання про обмін простетичних груп різних складних білків (на занятті основна увага приділяється вивченню обміну нуклеїнових кислот і гема хромопротеїнів).

Питання для самопідготовки.

1. Перетравлення і засвоєння складних білків (нуклеопротеїнів, хромопротеїнів, глікопротеїнів, ліпопротеїнів, фосфопротеїнів) - місце перетравлення, кінцеві продукти.
2. Перетворення продуктів перетравлення нуклеїнових кислот в тканинах.
3. Кінцеві продукти катаболізму аденіну, гуаніну, цитозину, урацилу, тиміну. Джерела при їх синтезу.
4. Синтез пуринових і піримідинових нуклеотидів.
5. Синтез РНК - транскрипція - вихідні продукти, ферменти, місце синтезу, принцип, що лежить в основі транскрипції.
6. Синтез ДНК - редуплікація: (реплікація), місце редуплікації, вихідні продукти, принцип реплікації; ферменти, які беруть участь у цьому процесі.
7. Перетворення гема при катаболізмі хромопротеїнів.
8. Вихідні продукти для синтезу гема.
9. Білірубін і білівердин, перетворення їх в стеркобілін і уробілін.
10. Сечова кислота і алантоїн - вихідні продукти і механізм утворення.

Сечова кислота відноситься до важливих нітрогенвмісних складових частин сечі. Сечова кислота у людини, приматів, більшості тварин, птахів і деяких рептилій є кінцевим продуктом пуринового обміну. В інших рептилій і деяких ссавців сечова кислота розщеплюється до алантоїну і у риб – до аллантоїнової кислоти і сечовини. Її кількість залежить як від вмісту пуринів в їжі, так і від кількості нуклеїнових кислот, які розпалися в організмі. При гарячкових станах, лейкемії виділення сечової кислоти збільшується. Солі сечової кислоти (урати) є головною складовою частиною відкладень, що виникають при подагрі в хрящах, сухожильних пазухах і слизових сумках суглобів.

Лабораторні роботи

1. Визначення сечової кислоти в сироватці крові

2.

Принцип: Сечова кислота відновлює фосфорно-вольфрамовий реактив, в результаті чого утворюються нижчі оксиди вольфраму синього кольору. Інтенсивність забарвлення пропорційна кількості сечової кислоти.

Хід роботи: відповідно до поданої таблиці:

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Кононський О.І. Фізична і колоїдна хімія: Підручник. – 2-е вид., доп. і випр./ О.І. Кононський – К.: Центр учбової літератури, 2009. – 312с.
2. Чечоткін О.В. Біохімія с.-г. тварин / О.В. Чечоткін, В.І. Воронянський, М.І. Карташов. – Харків, РВВ ХЗВІ, 2000 р. – 464 с.
3. Губський Ю.І. Біологічна хімія. Підручник / Ю.І. Губський. – Київ – Вінниця: НОВА КНИГА, 2009. – 664 с.
4. Практикум з біологічної хімії. Навчально-методичний посібник для студентів с.-г. закладів освіти III-IV рівнів акредитації / під редакцією професора О.В. Жегунова. – Харків: «БУРУН і К», 2014. – 304с.
5. Біохімія. Практикум / Л. І. Остапченко, І. В. Компанець, О. В. Скопенко та ін. – К. : Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2018. – 296 с.
6. Система MOODLE. Кафедра фізіології та біохімії тварин, 2023.

Навчальне видання

ЯКИМЕНКО Тетяна Ігорівна
ДЕНИСОВА Ольга Миколаївна
ПРИХОДЧЕНКО Віта Олександрівна
ГЛАДКА Наталія Іванівна

БІОХІМІЯ
Робочий зошит

Формат 60x84/16. Гарнітура Times New Roman
Папір для цифрового друку. Друк ризографічний.
Ум. друк. арк. 73,47.
Наклад ___ пр.
Державний біотехнологічний університет
61002, м. Харків, вул. Алчевських, 44

