

Міністерство освіти і науки України
Національний університет
«Полтавська політехніка імені Юрія Кондратюка»

Кафедра хімії та фізики

Н.Б.СЕНЕНКО

**НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК
з *БІОХІМІЇ***

для студентів спеціальностей
227 «Фізична терапія, ерготерапія»,
017 «Фізична культура і спорт»,
101 «Екологія»,
183 «Технологія захисту навколишнього середовища»
всіх форм навчання



Полтава 2021

УДК 577.1(075)

С 31

Рецензенти: М.Ю. Бабаніна, канд. медичних наук, доцент, завідувач кафедри сімейної медицини і терапії Полтавського державного медичного університету;

Н.В. Бунякіна, канд. хім наук, доцент кафедри хімії та фізики національного університету «Полтавська політехніка імені Юрія Кондратюка»

Рекомендовано до друку науково-методичною радою Національного університету «Полтавська політехніка імені Юрія Кондратюка»

Протокол № 1 від 29 вересня 2021 р.

Сененко Н.Б. Навчальний посібник з біохімії для студентів спеціальностей 227 «Фізична терапія, ерготерапія», 017 «Фізична культура та спорт», 101 «Екологія», 183 «Технологія захисту навколишнього середовища» всіх форм навчання / Н.Б. Сененко. – Полтава: Національний університет «Полтавська політехніка імені Юрія Кондратюка», 2021. – 127 с.: іл.

Навчальний посібник містить основні теоретичні положення з правил роботи в біохімічній лабораторії, візуалізацію необхідного хімічного посуду й обладнання, пояснення їх використання з метою прищеплення студентам основних навичок практичної роботи, опис основних методів біохімічних досліджень, а також такі, що застосовують у спортивній практиці під час визначення реакції організму на фізичні навантаження та ступеня тренуваності, матеріали для теоретичної підготовки з основних питань, методичні вказівки й питання для самостійного вивчення матеріалу.

©Сененко Н.Б., 2021

© Національний університет
«Полтавська політехніка імені Юрія
Кондратюка», 2021

22.21.01.01

ВСТУП

Роль біохімії в сучасному житті, реабілітації організму після захворювань та спортивній практиці все більше зростає. Без цієї науки неможливо здійснювати контроль та регуляцію біохімічних процесів організму людини, особливо в період реабілітації. Крім того, без знання біохімії м'язової діяльності, механізмів регуляції метаболізму при виконанні фізичних вправ неможливе ефективне управління процесом тренування і його подальша раціоналізація. Знання біохімії необхідні для оцінювання рівня тренуваності спортсмена, виявлення перевантажень і перенапруги, для правильної організації режиму харчування. На сьогоднішній день як для реабілітолога, фізіотерапевта, так і для викладача фізичної культури та тренера потрібне не тільки розуміння біохімічних процесів, що відбуваються в організмі пацієнта та спортсмена відповідно, а й уміння виконати нескладні біохімічні аналізи та оцінити їх результати. Це робить необхідним ґрунтовне вивчення біохімії.

Завданням практичних занять з біохімії є поглиблення знань студентів, ілюстрація основних теоретичних положень конкретними практичними роботами, прищеплення студентам елементарних навичок хімічного експерименту, ознайомлення їх з деякими методами біохімічних досліджень, що застосовуються в процесах фізичної терапії, спортивній практиці, при визначенні реакції організму на фізичні, в тому числі й спортивні, навантаження і ступеня тренуваності.

Для того щоб студент міг усвідомлено підійти до пропонованої роботи, пов'язуючи її з теоретичним курсом, кожна тема починається з короткого вступу, в якому в гранично стислій формі наведено зміст і значення виконуваних ним робіт. Кількість окремих практичних робіт, що відповідають курсу й програмі, збільшено з урахуванням принципу їх взаємозамінності. Це дозволить викладачеві вибирати ті чи інші практичні роботи залежно від конкретних умов.

Посібник може полегшити розуміння та засвоєння навчального матеріалу для студентів усіх форм навчання, котрі прямо або непрямо стикаються з питаннями екології людини, тому є корисним для засвоєння основних понять у процесі навчання за спеціальностями 101 «Екологія» й 183 «Технологія захисту навколишнього середовища». У навчальному посібникові детально подано теоретичний матеріал, необхідний для самостійної роботи студентів та для підготовки до аудиторних практичних занять.

СПИСОК ОСНОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АДФ	аденозиндифосфат
АКТГ	адренокортикотропний гормон
АТФ	аденозинтрифосфат
ДНК	дезоксирибонуклеинова кислота
КоQ	убіхінон
НАД	нікотинамідаденіндинуклеотид
РНК	рибонуклеїнова кислота
ФАД	флавінаденіндинуклеотид
ФМН	флавінмононуклеотид
3',5'-Camp	циклічний аденозинмонофосфат
T _з	твердість води загальна
T _{к(т)}	твердість води карбонатна (тимчасова)
T _{нк(п)}	твердість води некарбонатна (постійна)
T _{Ca}	твердість води кальцієва
T _{Mg}	твердість води магнієва
ТХО	трихлороцтова кислота
ФЕК	фотоелектроколориметр
ХСК	хімічне споживання кисню
БСК	біологічне споживання кисню
МБ	мікробіологія

1. ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ В БІОХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

При роботі в лабораторії необхідно дотримуватися запобіжних заходів та виконувати правила.

1.1. Загальні відомості

Забороняється входити в лабораторію у верхньому одязі.

Робота в біохімічній лабораторії допускається тільки в спеціальному халаті, тому що існує ймовірна можливість забруднення, псування одягу при потраплянні на нього їдких реактивів.

За кожним працюючим закріплюється робоче місце, яке повинно зберігатися чистим. Усі зайві предмети мають бути видалені. Робоче місце має містити лабораторний журнал, ручку, необхідні матеріали, реагенти та обладнання.

Перед початком роботи кожний студент повинен пройти інструктаж з техніки безпеки, про що розписатися у відповідному журналі.

Лабораторний зошит має містити детальний опис методики виконання експериментальної роботи із зазначенням застережних засобів і попереджень про можливу небезпеку.

1.2. Правила роботи в біохімічній лабораторії

У процесі виконання кожної лабораторної роботи дотримуйтеся описаних у методичних указівках вимог щодо виконання лабораторного практикуму.

Лабораторні роботи виконуйте на лабораторному столі, де знаходяться необхідні прилади, посуд, реактиви.

Під час проведення дослідів точно дотримуйтеся послідовності, визначеної в їх описі.

Усі досліди проводьте тільки з такими кількостями речовин, концентраціями розчинів і в такому посуді, як зазначено в описі дослідів.

Щоб зберегти реактиви чистими, рештки невикористаних речовин не можна повертати в банки та склянки із зазначеним реактивом. У жодному разі не закривайте банки й склянки іншими пробками.

Не виливайте концентровані кислоти та луги у мийку, не пустивши попередньо сильного струменя води.

Хімічний посуд, у якому проводяться досліди, має бути абсолютно чистим.

Дбайливо ставтеся до майна лабораторії. Дотримуйтеся дисципліни і чистоти в приміщенні.

Усі результати спостережень записуйте у журнал для лабораторних робіт, який показують викладачеві.

Після закінчення роботи вимийте посуд та приберіть робоче місце.

1.3. Поводження з реактивами

Усі концентровані кислоти і луги, леткі речовини повинні знаходитися у витяжній шафі.

Усі досліди з небезпечними речовинами та такими, що мають різкий та неприємний запах, потрібно проводити у витяжній шафі.

Наливати або насипати реактиви слід тільки над столом.

Не слід залишати відкритими банки та бутилі з реактивами.

Пролиті чи розсипані реактиви потрібно негайно видалити з поверхні столу, витерши його ганчіркою і промивши водою.

Пролиті концентровані кислоти слід засипати піском, потім зібрати його лопаткою. Облите місце необхідно обробити розчином соди і витерти ганчіркою.

У процесі роботи з органічними розчинниками (спирти, ефіри, ацетон, бензин тощо) та іншими леткими речовинами потрібно бути особливо обережними. Не можна визначати речовину за запахом, тому що може статися отруєння її парами.

Кожна ємність з реагентом повинна містити міцно закріплену етикетку із зазначенням назви або формули реагента.

Розчини обов'язково, крім назв, мають бути ідентифіковані за концентрацією.

Наповнення піпеток розчинами органічних розчинників, кислот, лугів здійснюють тільки за допомогою груші.

Запобігати потраплянню будь-яких реагентів (особливо кислот і лугів) на обличчя, руки та одяг.

Не ходити по лабораторії з концентрованими кислотами, а наливати їх тільки в певному, відведеному для цього місці.

Контролювати належність пробок до визначеного бутеля чи банки. Не допускається закривання бутеля або банки пробкою від посудини з іншим реагентом.

Надлишок узятого реактиву не виливати знову в склянку.

Кожний реактив відбирати тільки призначеною для цього піпеткою, мірною пробіркою чи циліндром.

При **опіках кислотами** спочатку добре промити місце опіку водою, а потім – розчином гідрокарбонату натрію, при **опіках лугами** – 1-процентним розчином оцтової кислоти.

При потрапленні **лугу або кислоти в очі** промити їх теплою водою, а потім 2-процентним розчином борної кислоти (щоб нейтралізувати луг) чи 1-процентним розчином гідрокарбонату натрію (щоб нейтралізувати кислоту).

1.4. Поводження з нагрівальними приладами

Перед тим як запалити спиртівку, переконатися, що поблизу немає горючих рідин (спирт, ефір та ін.).

Запалювати спиртівку можна тільки сірником.

У пробірці можна нагрівати тільки невелику кількість розчину, рідина повинна займати не більше 1/3 об'єму пробірки. Попередньо пробірку потрібно закріпити у пробірکوутримувачі.

Пробірку при нагріванні слід направити отвором у бік від себе і людей, що перебувають поруч.

Не можна нахилитися над спиртівкою або пальником. Спочатку пробірку з розчином потрібно прогріти всю, а потім нагрівати в потрібному місці, не виймаючи з полум'я спиртівки.

Не можна нагрівати тривалий час одне місце пробірки, оскільки при закипанні може відбутися викид рідини з пробірки.

Нагрівати пробірку потрібно нижче рівня рідини в ній.

З метою запобігання виплискуванню рідини з пробірки під час нагрівання необхідно час від часу відводити пробірку від полум'я.

Забороняється нагрівати пробірку у вертикальному положенні.

Не можна наближати обличчя до посудини, в якій нагрівають рідину.

Після нагрівання слід відразу загасити спиртівку, накривши полум'я ковпачком.

Роботу з водяною банею здійснюють тільки під тягою.

Для запобігання отриманню опіків потрібно користуватися спеціальними «гумовими пальчиками» та спеціальними запобіжниками. При отриманні термічного опіку охолодити уражене місце, промити розчином перманганату калію і змастити емульсією від опіків.

1.5. Поводження з електричними приладами

Перед початком роботи перевірити наявність заземлення.

Перевірити відповідність напруги джерела живлення тій, що зазначена в інструкції до використання приладу.

Перед початком роботи ознайомитися з інструкцією та правилами роботи з електричним приладом.

2. ОБЛАДНАННЯ БІОХІМІЧНОЇ ЛАБОРАТОРІЇ



Рис.1. Загальний вигляд робочого місця в біохімічній лабораторії

Лабораторне обладнання (устаткування) (англ. *Laborator equipment*) – обладнання лабораторій, яке дозволяє аналізувати, робити вимірювання, моделювати технологічні процеси в реальних умовах, а також готувати проби різних матеріалів і робити їх дослідження [1].

Лабораторне обладнання поділяється на загальнолабораторне, вимірювальне, спеціалізоване, дослідне та аналітичне.

Основний лабораторний посуд: алонж, апарат Кіппа, бюкс, бюретка, воронка, колби (Бунзена, Вюрца, Ерленмєєра, Кляйзена, круглодонна плоскодонна, конічна, мірна), кювета, циліндр товстостінний, циліндр мірний, трубка осушувальна, піпетка Мора, піпетка мірна, дозатор, пробірка мірна («пальчик» мірний), посудина Дьюара, посудина Ландольта, пробірка, реторта, склянка, скло часове, скло предметне, скло з лункою, скло покривне, тигель, чашка фарфорова, чашка Петрі, шербер.

Апаратура для розділення: абсорбер, ділильна лійка, ексикатор, екстрактор Сокслета, роторний випаровувач, скрубєр, фільтр, хроматограф, центрифуга.

Засоби вимірювання: ареометр, ваги (терези), евідіометр, калориметр, пікнометр, термометр.

Спеціальне вимірювальне обладнання: рН-метр, колориметр, мас-спектрометр, спектроскоп, спектрофотометр, стилоскоп.

Мікроскопи: електронний мікроскоп, оптичний мікроскоп, сканувальний електронний мікроскоп, тунельний мікроскоп.

Нагрівачі: водяна баня, муфельна піч, пальник Бунзена, пальник Теклу, піщана баня, спиртівка.

Допоміжне обладнання: ламінарний бокс, бокс з рукавичками, вакуум-насос, магнітна мішалка, хімічний реактор, холодильник, штативи.

Безпека: витяжна шафа, вогнегасник, захисні окуляри, респіратор, рукавиці, халат лабораторний.

2.1. Хімічний посуд

У процесі біохімічних досліджень доводиться проводити чимало дослідів, для чого використовують спеціальне обладнання і посуд [1, 2].

Застосовують особливий посуд із тонко- й товстостінного скла. Вироби з тонкостінного скла стійкі до зміни температур, в них проводять хімічні операції, які потребують нагрівання. Хімічний посуд із товстостінного скла нагрівати не можна.

За призначенням скляний посуд поділяють на:
загального призначення (рис.2);

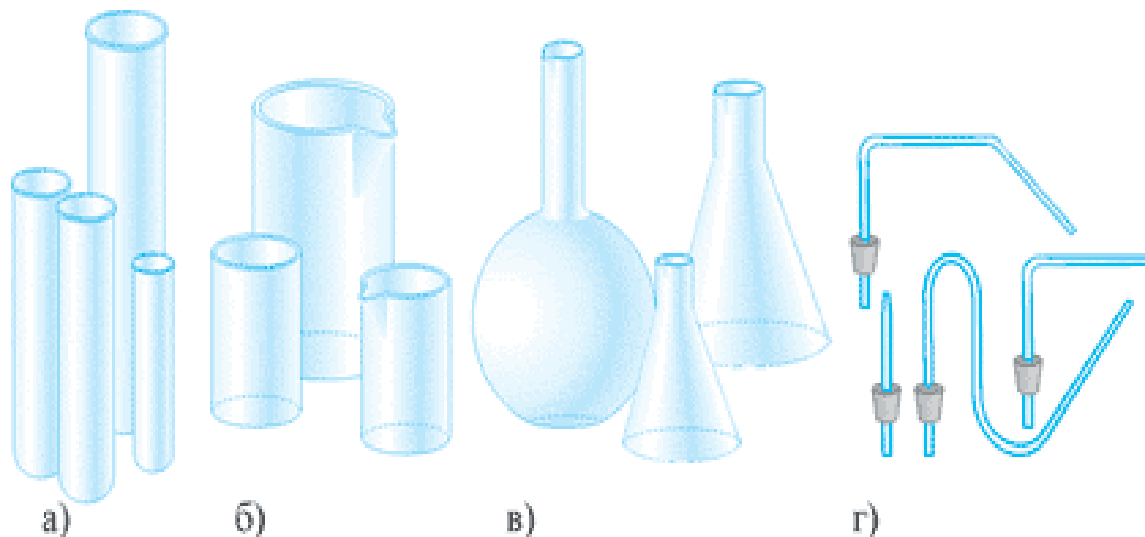


Рис. 2. Посуд загального призначення (тонкостінний): а) пробірки; б) хімічні склянки; в) колби (плоскодонна, конічні); г) пробки з газовідвідними трубками

Посуд загального призначення використовують для виконання більшості робіт. Пробірки використовують для виконання дослідів з невеликими кількостями розчинів або твердих речовин, для демонстраційних дослідів. У колбах розчиняють речовини, здійснюють

фільтрування, титрування розчинів. Хімічні склянки застосовують для проведення реакцій осадження, розчинення твердих речовин під час нагрівання. Через газовідвідні трубки вловлюють або видаляють газ;

спеціального призначення (рис. 3);

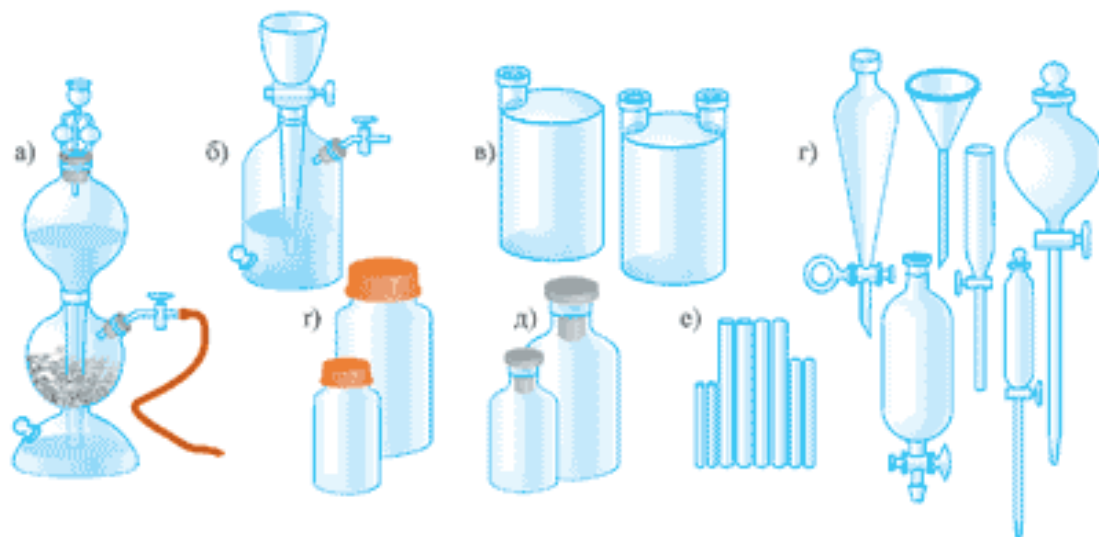


Рис. 3. Посуд спеціального призначення (товстостінний): а) апарат Кіппа; б) прилад для збирання газів; в) склянки; г) крапельні лійки (крапельні, ділильні); ґ) склянки для зберігання твердих речовин; д) склянки з притертими пробками; е) скляні палички й трубочки

мірний посуд (рис. 4).

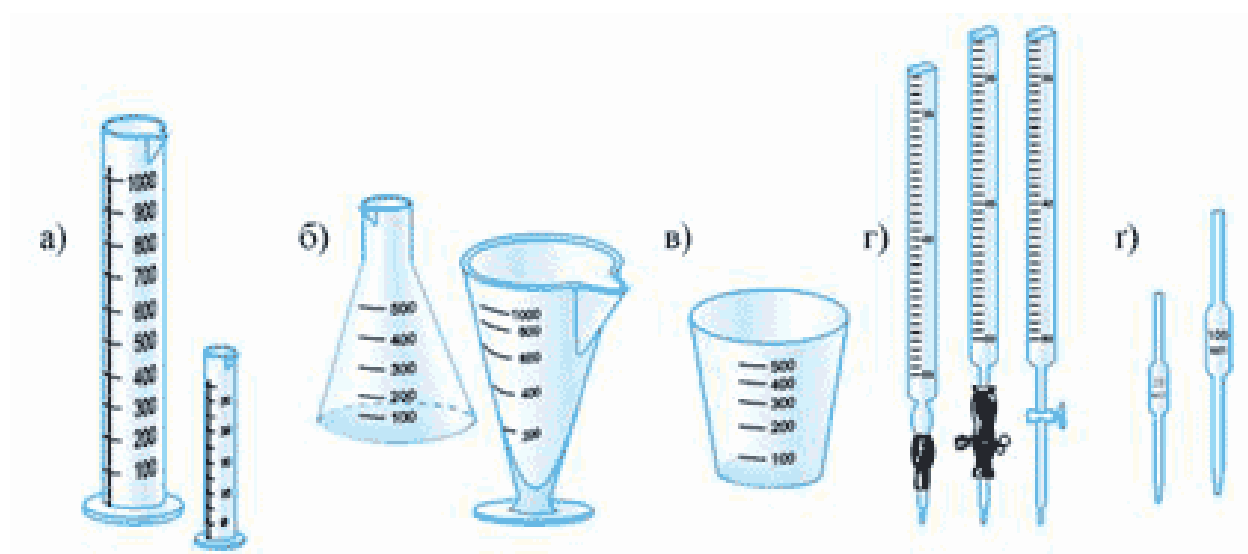


Рис. 4. Мірний посуд: а) мірні циліндри; б) мірна колба; в) мірні склянки; г) бюретки; ґ) піпетки Мора

Мірним посудом точно визначають об'єм рідин, виготовляють розчини різних концентрацій. Бюретки застосовують для об'ємного аналізу (процес титрування).

Крім скляного, в лабораторії використовують фарфоровий посуд: чашки, тиглі, ступки (рис. 5).



Рис. 5. Фарфоровий посуд: а) тигель; б) чашка; в) ступка з товкачиком

Фарфорові чашки застосовують для випаровування розчинів, а фарфорові тиглі – для прожарювання речовин у муфельних печах. У ступках подрібнюють тверді речовини.

2.2. Основне лабораторне обладнання

Нагрівальні прилади зображено на рис.6.

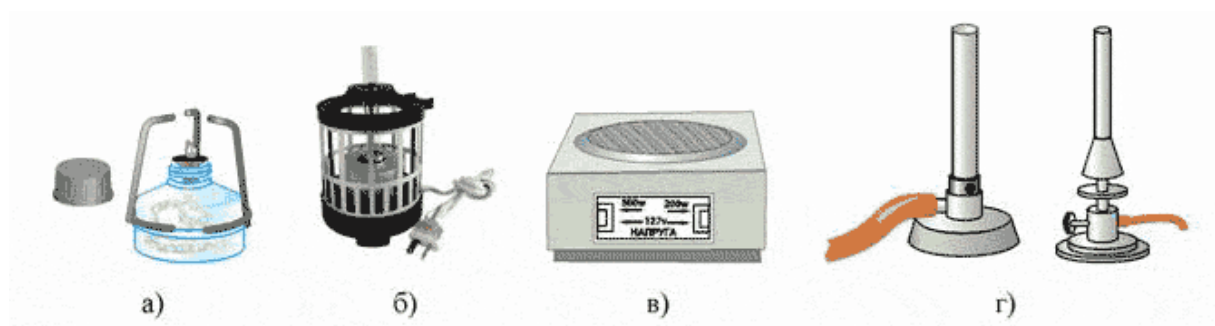


Рис. 6. Нагрівальні прилади: а) спиртівка; б) електрична баня зі штативом для пробірок; в) електрична плита; г) газові пальники

Для нагрівання речовин у хімічних лабораторіях використовують спиртівки, електричні плити із закритою спіраллю, водяні бані, а за наявності газу – газові пальники. Можна користуватися і сухим палим, спалюючи його на спеціальних підставках.

Для висушування речовин або нагрівання застосовують шафи сушильні (рис.7).



Рис. 7. Шафа сушильна

Для прожарювання речовин використовують печі муфельні (рис. 8).



Рис. 8. Піч муфельна

Після висушування у сушильній шафі чи після прожарювання у муфельній печі бюкси та тиглі з речовинами (відповідно) поміщують в ексикатор (рис. 9) для охолодження.



Рис. 9. Ексикатори

Ексикатор – товстостінна скляна посудина з ретельно притертою кришкою, в нижній частині якої розміщений осушувач. Над осушувачем розташована керамічна підкладка, на котру поміщають, наприклад, бюкси (рис.10, а), тиглі (рис.10, б) після висушування у сушильній шафі або прожарювання у муфельній печі відповідно як порожні, так і з речовинами. Кришку ексикатора потрібно зсовувати у горизонтальному напрямку, не можна відкривати рухом вертикально. Кладуть на стіл кришку внутрішньою стороною вгору. Не можна тримати ексикатор відкритим, оскільки осушувач набирає вологість повітря. Постійно потрібно стежити за своєчасною заміною осушувача.



Рис.10. Посуд для висушування та прожарювання речовин: а) бюкси;
б) тиглі фарфорові

Велике значення під час виконання хімічних експериментів має допоміжне приладдя: металевий штатив, штатив для пробірок, тигельні щипці, азбестова сітка (рис.10).

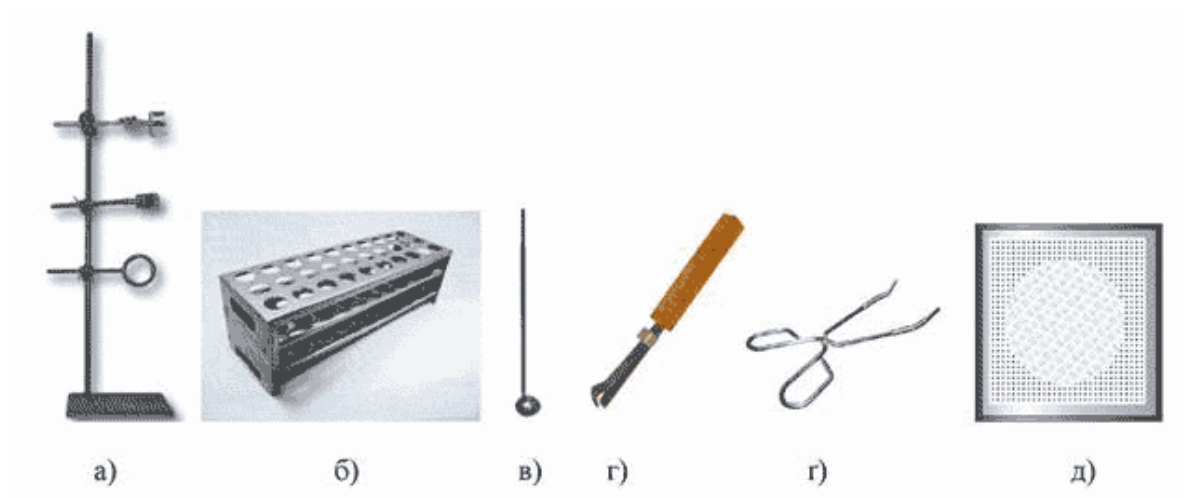


Рис.11. Допоміжне лабораторне обладнання: а) штатив металевий; б) штатив для пробірок; в) металева ложечка для спалювання речовин; г) тримач для пробірок; г) тигельні щипці; д) азбестова сітка

Для зважування речовин використовують терези (рис.12).

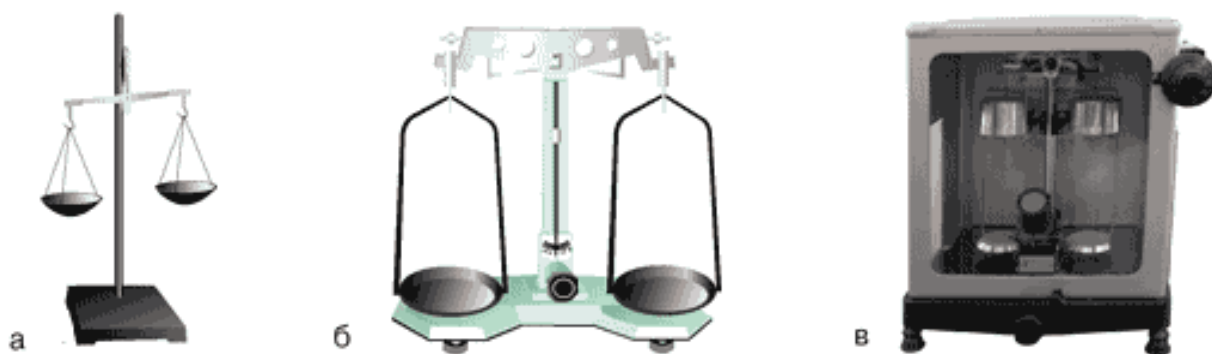


Рис. 12. Терези: а – аптечні; б – технічні хімічні; в – аналітичні електричні

Важки для електричних аналітичних терезів зображено на рис.13.



Рис. 13. Важки для електричних аналітичних терезів

Терези аналітичні електронні наведено на рис.14.



Рис. 14. Терези аналітичні електронні

3. ПРАВИЛА РОБОТИ З ОБЛАДНАННЯМ ТА ПРИЛАДАМИ

3.1. Техніка роботи з мікроскопом

Будова оптичного мікроскопа [3]

Мікроскоп – оптичний прилад, що збільшує зображення дрібних об'єктів, які не можна побачити неозброєним оком. Використовуючи мікроскоп, можна одержати збільшення у 1350 – 2500 разів. Мікроскоп складається з трьох основних частин: *механічної, оптичної та освітлювальної* (рис. 15) [4].

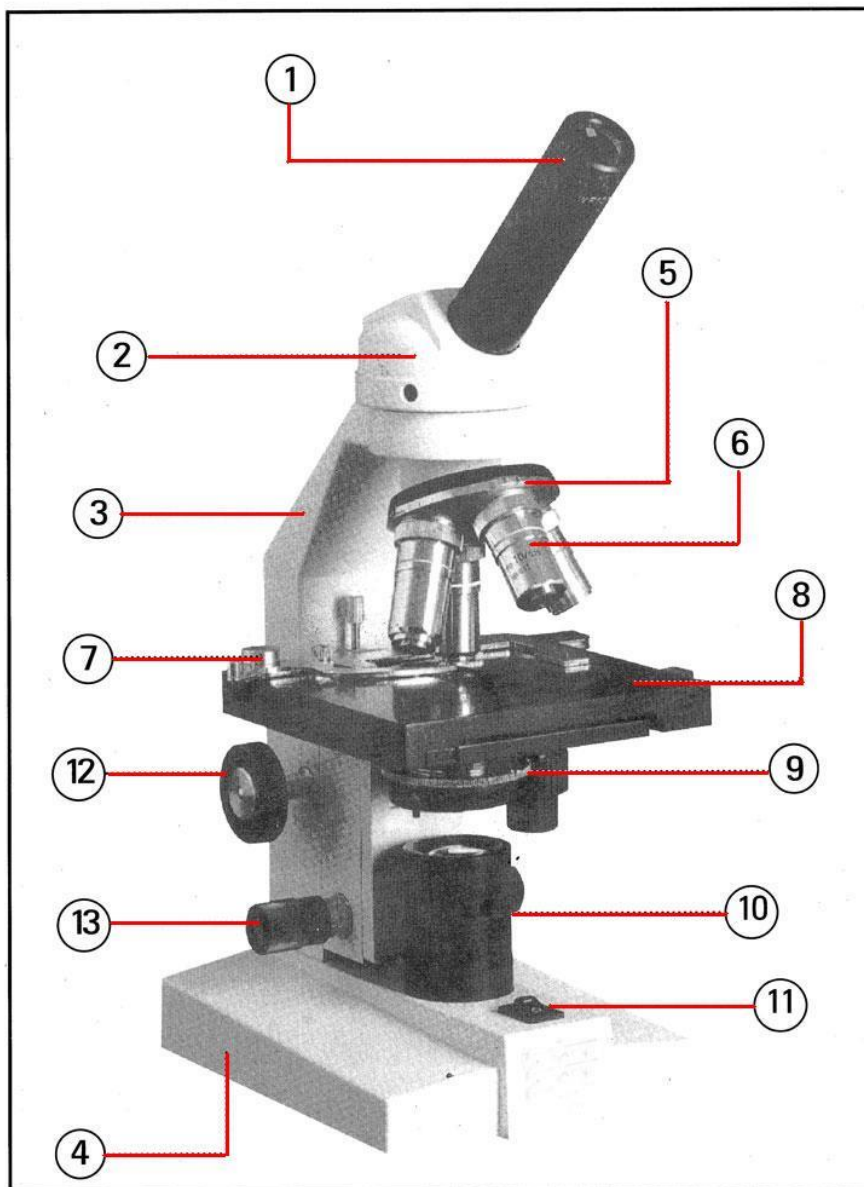


Рис.15. Мікроскоп оптичний: 1 – окуляр; 2 – насадка; 3 – штатив; 4 – основа; 5 – револьверна головка; 6 – об'єктиви; 7 – координатний столик; 8 – предметний столик; 9 – конденсор з ірисовою діафрагмою; 10 – освітлювач; 11 – перемикач (ввімк./вимк.); 12 – гвинт

макрометричного (грубого) фокусування; 13 – гвинт мікрометричного (точного) фокусування

Механічна частина мікроскопа складається зі штатива, тубуса, револьвера, гвинтів для пересування тубуса та предметного столика.

Складові штатива – тубусоутримувач та нижня підставка, що надає мікроскопу більшої стійкості. До тубусоутримувача приєднані тубус та револьверна пластина. Для налаштування мікроскопа існують два гвинти:

1) **макрогвинт, або кремальєр**, – механізм для швидкого пересування тубуса у вертикальному напрямку (грубе наведення на фокус);

2) **мікрогвинт** – механізм для повільного пересування тубуса (точне наведення на різкість).

Предметний столик мікроскопа містить у центрі отвір для пропускання променів світла, котрі освітлюють досліджуваний об'єкт. Столик пересувається у двох взаємно перпендикулярних напрямках, що дозволяє досліджувати різні місця препарату.

Основною частиною **оптичної системи** мікроскопа є об'єктив. Він складається з ряду лінз, розміщених у металевій трубці. На ній є різьба, за допомогою якої об'єктив загвинчується у гніздо револьвера. У мікроскопі є три або чотири об'єктиви, що надають різні збільшення. Про те, яке збільшення надає об'єктив, можна дізнатися за цифрами, розміщеними на об'єктивах. Наприклад, 8, 40, 90 означає, що об'єктиви збільшують зображення предмета відповідно у 8, 40, 90 разів. Об'єктиви зі збільшенням у 8 та 40 разів називають сухими, а об'єктив із збільшенням у 90 разів – імерсійним.

Окуляр установлюється у верхню частину тубуса. Він складається із двох плоскоопуклих лінз, поміщених у металеву трубку. На окулярі, так само як і на об'єктиві, розміщено цифри: 7х, 10х, 15х. Вони означають збільшення, яке він надає. Загальне збільшення зображення дорівнює добутку збільшення об'єктива та окуляра.

Освітлювальний пристрій складається з конденсора з ірис-діафрагмою та дзеркала. При роботі з денним світлом використовується плоске дзеркало, при роботі з освітлювачем – увігнуте. Над дзеркалом розміщено конденсор із діафрагмою для збирання променів, що відбиваються від дзеркала для освітлення об'єкта. Конденсор складається з двох лінз, поміщених разом із діафрагмою у загальну оправу. За допомогою гвинтів конденсор можна опускати та піднімати, причому у верхньому положенні він надає максимальне освітлення. Діафрагму розміщено під нижньою лінзою конденсора. Вона складається з ряду рухомих платівок, які можна зсовувати за допомогою важеля. За допомогою конденсора та діафрагми регулюють освітлення.

3.1.1. Налаштування мікроскопа

Установлюють освітлення поля зору мікроскопа за допомогою дзеркала при об'єктиві зі збільшенням 8. Обирають об'єктив для роботи і ставлять його у робоче положення під нижню частину тубуса. На предметному столику розташовують препарат з об'єктом, який досліджують, і за допомогою макрогвинта опускають тубус з об'єктивом до препарату на відстань 3 – 4 мм.

Увага! При цьому потрібно вести спостереження збоку, щоб не розчавити препарат!

Спостерігаючи в окуляр одним оком, намагаючись не закривати друге, повільно та плавно піднімають тубус за допомогою макрогвинта. При появі зображення досліджуваного об'єкта мікрогвинтом доводять на точність.

3.2. Виготовлення препаратів мікроорганізмів [5]

3.2.1. Препарат «розчавлена крапля»

На предметне скло вміщують краплю водопровідної води та переносять у неї культуру мікроорганізмів. Потім рівномірно перемішують і накривають покривним склом. Якщо утворюється надлишок води, його видаляють за допомогою фільтрувального паперу. Одержаний таким чином препарат досліджують з використанням об'єктивів зі збільшенням у 8 та 40 разів. Препарат «розчавлена крапля» дозволяє встановити форму клітин мікроорганізмів, їх розміри, розташування й спосіб спороутворення, а також наявність або відсутність рухомості.

3.2.2. Препарат «повисла крапля»

Краплю суспензії мікроорганізмів поміщають на покривне скло, перевертають його краплею вниз і розміщують на спеціальному предметному склі із заглибленням (лункою) у центрі. Крапля повинна вільно висіти, не торкаючись краю та дна заглиблення. Препарат «повисла крапля» використовують для виявлення рухомості, розмноження мікроорганізмів, пророщування спор, реакції клітин на дію хімічних речовин.

3.2.3. Препарат «відбиток»

Зі щільного середовища з колоніями мікроорганізмів вирізають невеликий кубик та розміщують його на предметному склі. До колонії прикладають покривне скло, злегка надавлюють і знімають, намагаючись не зсунути вбік. Одержаний препарат розміщують відбитком униз у краплі води на предметному склі й досліджують під мікроскопом. Препарати використовуються для вивчення природного розташування клітин у колоніях мікроорганізмів, для дослідження форми спор та спороносіїв.

3.3. Техніка роботи з бюретками [6]

Бюретка – циліндрична скляна трубка з поділками, краном або затискачем, проградуйована в мілілітрах (мл, см³). **Бюретки** застосовують для точного вимірювання невеликих обсягів, а також при титруванні.

Титриметричний аналіз (титрування) (англ. Titrimetric analysis, analysis by titration) – сукупність методів кількісного аналізу, в основі котрих є вимірювання об'єму розчину реактиву відомої концентрації (титранту), що витрачається на реакцію з розчином речовини, концентрацію якої визначають [3].

У титриметричному аналізі використовуються реакції нейтралізації, окиснення-відновлення, осадження, комплексоутворення. Методи титриметричного аналізу класифікують за типом реакцій, які протікають між компонентом, що визначається, і титрантом:

- кислотно-основне титрування ґрунтується на застосуванні реакцій нейтралізації;
- окисно-відновне титрування (редокс-титрування) засноване на застосуванні реакцій окиснення-відновлення;
- осаджувальне титрування – на застосуванні реакцій осадження;
- методи комплексоутворення – на використанні реакцій комплексоутворення;
- деривативне потенціометричне титрування – це титрування, що включає вимірювання, записування та обчислення перших похідних потенціалу індикаторного електрода відносно об'єму чи іншої кількісної характеристики реагенту;
- вагове титрування – титрування, в якому кількість титранту знаходять зважуванням стандартного розчину, витраченого до кінцевої точки.

Титриметричний аналіз здійснюють шляхом титрування, кінцеву точку котрого знаходять за допомогою хімічних індикаторів або за різкою зміною фізичних характеристик досліджуваного розчину (електропровідності, оптичної густини тощо).

Розчини заданої концентрації готують у мірних колбах (рис.16, а). Мірною піпеткою, або піпеткою Мора, відбирають необхідний об'єм цього розчину (аліквоту) (рис.16, б) і поміщають у конічну колбу для титрування (рис.16, в). Відбирають аліквоту за допомогою мірної піпетки, або піпетки Мора. Для цього її носик занурюють у розчин, «затягують» у піпетку Мора за допомогою гумової груші, з якої попередньо стисканням видаляють повітря, і щільно приставляють звужену частину груші до отвору верхньої частини піпетки. Заповнюють піпетку вище рівня мірної риски, відокремлюють гумову грушу, швидко закриваючи отвір піпетки вказівним пальцем. Трохи відводячи палець убік, доводять рівень рідини в піпетці до мірної риски, знову щільно закривають отвір піпетки вказівним пальцем, припинивши витікання рідини та фіксуючи її рівень. Усі дії й

спостереження здійснюють стежачи за рівнем рідини та мірної риски піпетки «на рівні очей» (рис.17). Переносять піпетку в конічну колбу, відкривають отвір піпетки та виливають аліквоту.

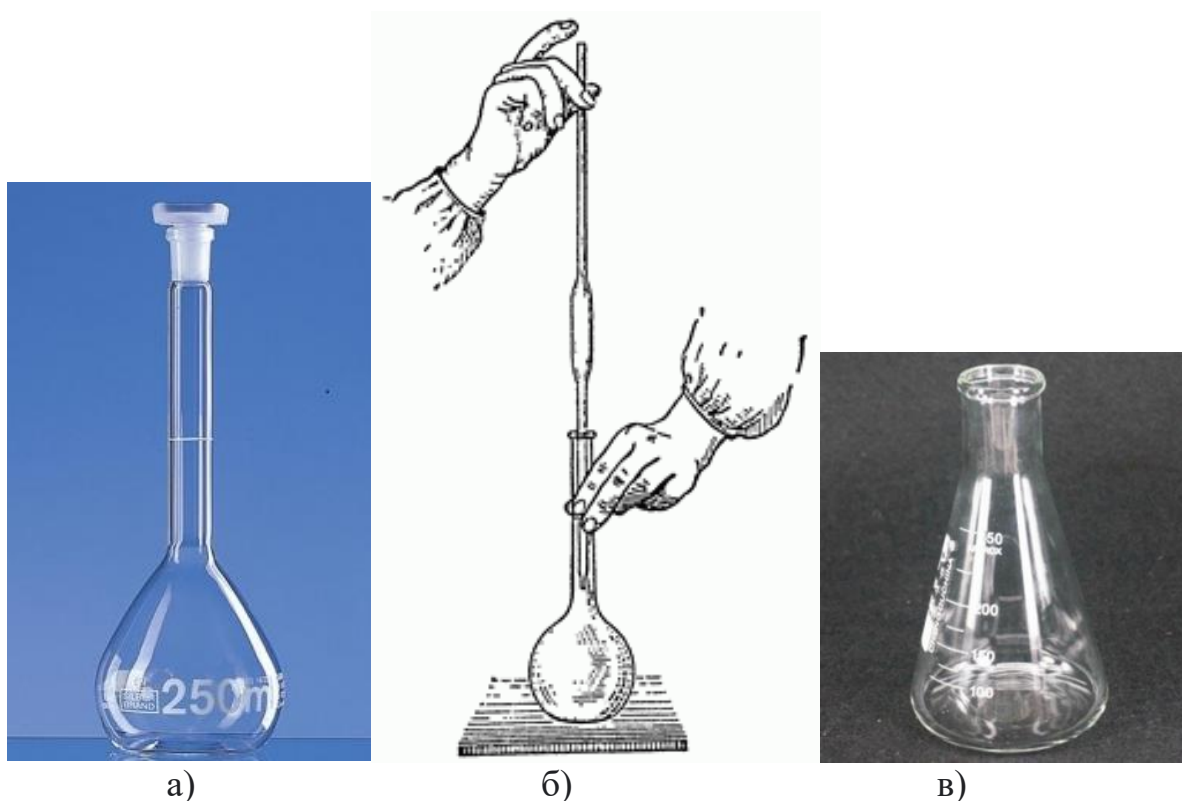


Рис. 16: а) мірна колба; б) приклад відбирання аліквоти досліджуваного розчину піпеткою Мора з мірної колби; в) конічна колба для титрування

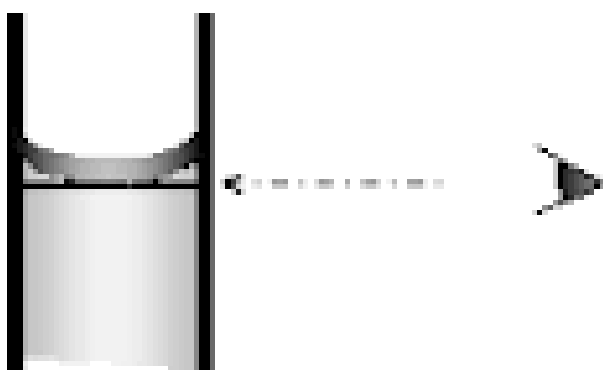


Рис. 17. Утворення «вгнутого» меніска рідини при явищі змочування в скляній трубці (бюретці, піпетці Мора, мірній піпетці, циліндрі, мірній пробірці чи в горловині мірної колби) та обрання правильного рівня спостереження дослідником (при доведенні до нульової позначки, при визначенні об'єму, при доведенні рівня рідини до мірної риски)

Розрізняють **бюретки** об'ємні, вагові, поршневі, газові й мікробюретки [6]. Зазвичай у біохімічній лабораторії застосовують об'ємні бюретки ємністю 25 см³. Ціна поділки становить 0,1 см³ (рис. 18).

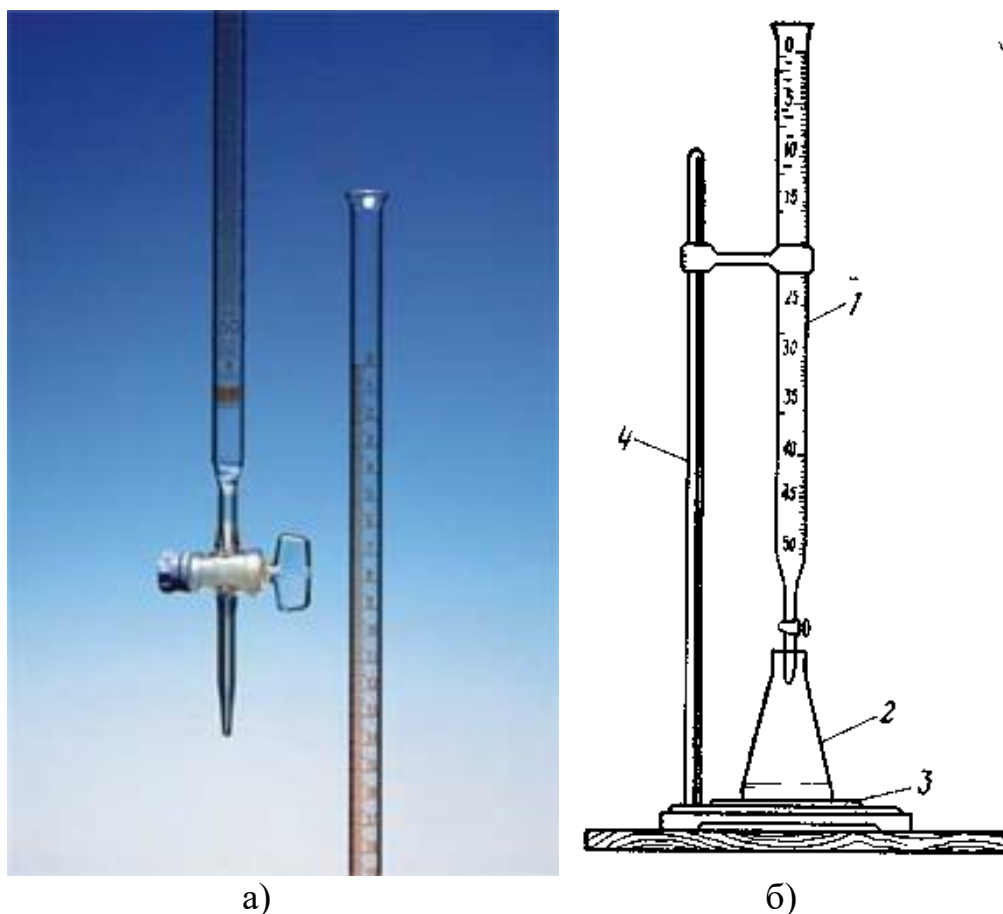


Рис. 18. Бюретка об'ємна: а) фото нижньої та верхньої частин бюретки; б) схема установки для титрування: 1 – бюретка; 2 – колба конічна для титрування; 3 – підкладка білого кольору; 4 – штатив металевий

Збирають установку для титрування (рис. 18, б). Якщо установка попередньо зібрана, то бюретка містить дистильовану воду. Зливають у хімічний стакан з носиком дистильовану воду з бюретки, видаляють у мийку. Ополіскують стаканчик титрантом (розчином заданої концентрації, яким будуть здійснювати процес титрування). Наливають трохи більше, ніж 25 см³ розчину титранту в склянку, через верхній отвір заповнюють бюретку, виливають через носик бюретки у склянку (перше промивання бюретки). Таким чином тричі промивають бюретку, заливаючи нові порції титранту й виливаючи промивні частини рідини в раковину. Після промивання за допомогою склянки заповнюють бюретку новою порцією титранту трохи вище нульової відмітки, видаляють пухирці повітря з

носіка бюретки та доводять рівень титранту до нуля за нижнім меніском (рис. 17). Спостереження виконують «на рівні очей» (рис. 17).

Схеме правильного та неправильних положень меніска у мірному посуді наведено на рис. 19.

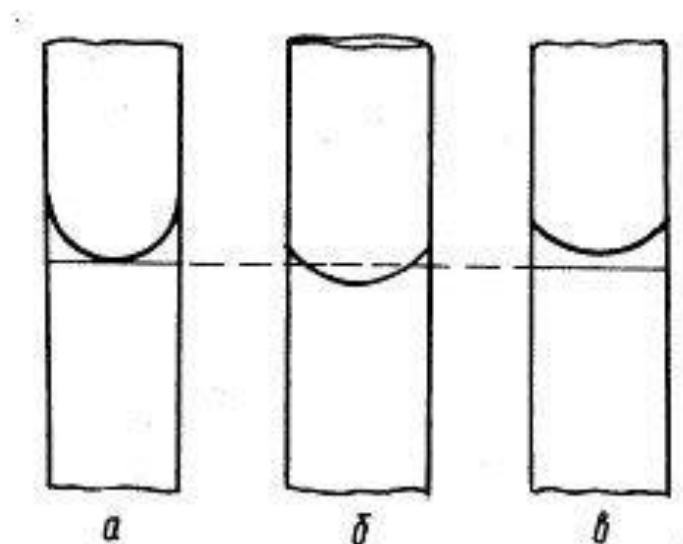


Рис. 19. Положення меніску рідини у мірному посуді:
а – правильне; б, в – неправильне

Титрування виконують крапельним методом: однією рукою здійснюють перемішування коловими рухами вмісту конічної колби, тримаючи її за горловину, а другою рукою додають титрант крапельно в колбу, запобігаючи торкання носика бюретки до внутрішньої стінки горловини колби (рис. 20). У міру наближення до точки еквівалентності місце рідини в колбі, куди потрапляє крапля титранту, почне забарвлюватися в очікуваний колір. Це означає, що потрібно зменшити швидкість додавання крапель титранту до такої, щоб локальне забарвлення розчину в колбі зникало. Зміна кольору всього розчину в колбі від однієї краплі свідчить про досягнення точки еквівалентності та про необхідність припинення процесу титрування.

Визначають за шкалою бюретки об'єм титранту, записують у лабораторний зошит. Уміст колби виливають у раковину. Колбу миють, ополіскують дистильованою водою. Відбирають аліквоту, доливають зі склянки титрант в бюретку вище нульової позначки, знову доводять рівень титранту в бюретці до нульової позначки (готують бюретку до титрування) і виконують процес титрування. Усі дії повторюють до тих пір, доки не отримують не менше трьох значень об'ємів титранту, які різняться один від одного не більше, ніж на $0,1 \text{ см}^3$. При отриманні такого результату процес титрування вважають завершеним. Розраховують середній об'єм титранту, за відповідною формулою роблять розрахунки.



Рис. 20. Процес титрування: правильне розміщення конічної колби, розташування носика бюретки

Об'єм розчину титранту, який витратили на титрування, визначають за тією самою методикою, як і встановлення рівня рідини. Для цього бюретку можна зміщувати у вертикальному напрямку таким чином, щоб рівень титранту був розміщений на рівні очей дослідника (рис. 21). На цьому рисунку наведено правильне значення об'єму ($48,4 \text{ см}^3$) та неправильні значення, якщо рівень рідини розташований нижче рівня очей дослідника ($48,27 \text{ см}^3$) та вище рівня очей дослідника ($48,51 \text{ см}^3$). Неправильне визначення об'єму призводить до спотворення кінцевих результатів, що є неприпустимим.

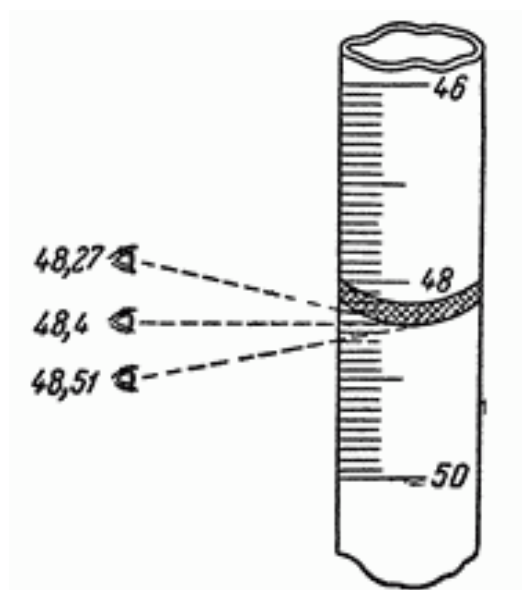


Рис. 21. Визначення об'єму титранту: правильне значення об'єму ($48,4 \text{ см}^3$), неправильні значення, якщо рівень рідини розташований нижче рівня очей дослідника ($48,27 \text{ см}^3$) та вище рівня очей дослідника ($48,51 \text{ см}^3$)

Якщо при визначенні об'єму титранту нижній рівень меніска не збігається з мірною рисою бюретки, об'єм можна встановити більш точно, враховуючи масштаб відстані між поділками бюретки. Приклад наведений на рис. 22.

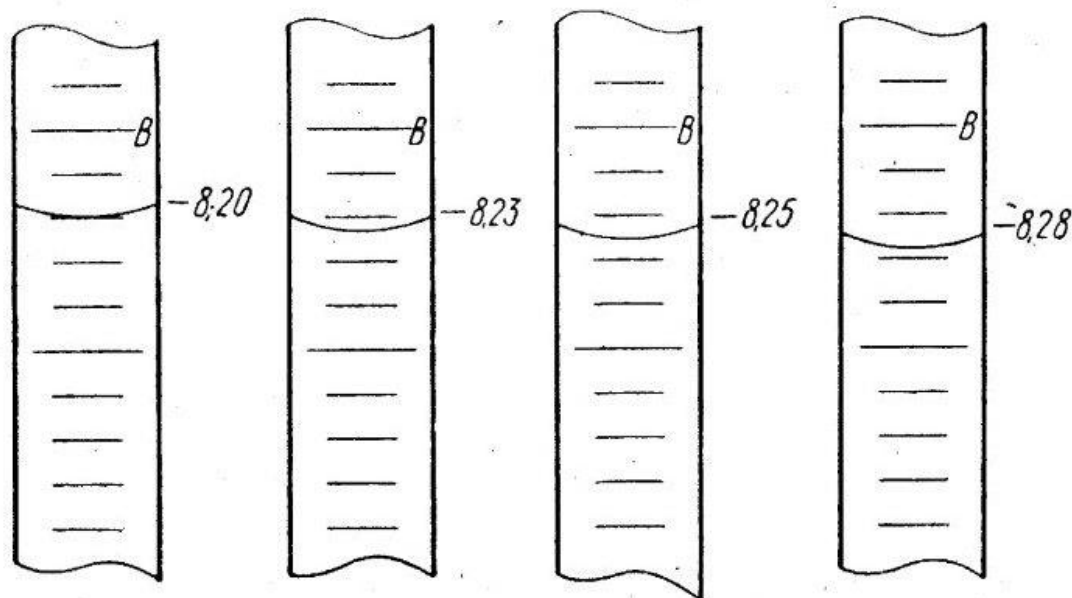


Рис. 22. Приклади визначення об'ємів титранту в бюретці

4. ВУГЛЕВОДИ

Вуглеводи – група біоорганічних сполук, які є важливою складовою частиною всіх живих організмів, а також джерелом енергії, що утворюється внаслідок обміну речовин. Інші назви: глюкози, цукри. Уміст вуглеводів у тканинах рослин становить 70 – 80%, тварин – 1 – 2% сухої маси. Вуглеводи утворюються в процесі фотосинтезу з діоксиду вуглецю і води в рослинах та деяких мікроорганізмах і складають основну масу органічного вуглецю біосфери. Рослинні вуглеводи – це одне з основних джерел вуглецю для тваринних організмів. Загальна формула вуглеводів $C_n(H_2O)_n$ або $C_nH_{2n}O_n$. За хімічним складом вуглеводами називають поліоксиальдегіди і поліоксикетони із загальною формулою $(CH_2O)_n$, а також похідні цих сполук. В організмі людини й тварин вуглеводи виконують різноманітні функції. Вони слугують джерелом енергії, є пластичним матеріалом для побудови клітин, а також використовуються як вихідні продукти для синтезу ліпідів, білків і нуклеїнових кислот. Залежно від складу, структури та властивостей вуглеводи класифікують на моносахариди, олігосахариди і полісахариди [7 – 10].

Моносахариди, або прості цукри, складаються з однієї поліоксиальдегідної чи поліоксикетонної одиниці. Моносахариди не гідролізуються на простіші сполуки. Їх класифікують за наявністю альдегідної або кетонної групи (альдоза та кетози) і за кількістю атомів вуглецю (тріози, пентози, гексози тощо). Найбільш поширені пентози і гексози. До альдоз належать рибоза, дезоксирибоза, глюкоза, галактоза; кетоз-рибулоза, фруктоза, седогептулоза; тріоз-гліцеральдегід, дигідроксиацетон; тетроз-еритроза; пентоз-ксилоза, ксилоза, рибоза; гексоз-глюкоза, фруктоза, маноза, галактоза. До моносахаридів належать також дезоксицукри, в молекулах котрих один чи декілька гідроксилів заміщені атомами водню (наприклад, 2-дезоксирибоза). Похідними моносахаридів є аміноцукри, в молекулах яких один або декілька гідроксилів заміщені на аміногрупи: глюкозамін, галактозамін, манозамін, N-ацетилглюкозамін, N-ацетилгалактозамін. Унаслідок відновлення карбонільних груп моносахаридів утворюються спирти – сорбіт, маніт, арабіт, рибітол. Більшість природних моносахаридів оптично активні і належать до D-ряду. Моносахариди, у яких первинна спиртова група окиснюється до карбоксильної, називають урановими (глюкуроновими) кислотами. У результаті окиснення альдегідної групи утворюються альдонові (глюконові) кислоти; окиснення альдегідної та первинної спиртової групи дає двоосновні альдарові (глютарові) кислоти. Існують вищі цукри з ланцюгом більше шести атомів вуглецю (седогептулоза, сіалові кислоти). Сіалові кислоти є важливим структурним елементом глікопротеїнів і гліколіпідів клітинних мембран тваринних тканин. За

винятком D-глюкози та D-фруктози, вільні моносахариди зустрічаються в природі нечасто. Як правило, вони входять до складу різноманітних глікозидів, оліго- та полісахаридів і можуть бути отримані з них кислотним гідролізом, ферментативно.

Олігосахариди містять у своєму складі від двох до десяти моносахаридів, з'єднаних глікозидними зв'язками. Найпоширенішими у природі є дисахариди: сахароза складається із глюкози та фруктози; лактоза – з галактози й глюкози; трегалоза – з двох молекул α -глюкози; целобіоза – з α - та β -глюкози. Серед глікозидів олігосахаридів відомі фізіологічно активні: флавоноїди, серцеві глікозиди, сапоніни, антибіотики, гліколіпіди.

Полісахариди містять більше десяти залишків моносахаридів і поділяються на гомо- і гетерополісахариди. Полісахариди – високомолекулярні лінійні або розгалужені сполуки, побудовані із залишків моносахаридів та їх похідних, які сполучені між собою глікозидними зв'язками. До складу полісахаридів можуть входити також сполуки неуглеводневої природи (залишки фосфорної, сірчаної, жирних кислот). Найбільш поширеними полісахаридами є крохмаль, глікоген, целюлоза (клітковина), що складаються із залишків молекул глюкози, інулін – фруктози, галактан – галактози тощо. Велике значення мають глікозамінглікани, сформовані з дисахаридних залишків, котрі повторюються. Моносахаридними компонентами дисахаридних залишків найчастіше є глюкуронова кислота та N-ацетилпохідні глюкозаміну, галактозаміну. До глікозамінгліканів належить гіалуронова кислота, гепарин, хондроїтин-, дерматан-, кератан- і гепаринсульфати. Усі глікозамінглікани, поєднуючись з білками, утворюють протеоглікани та глікопротеїни. Протеоглікани – гібридні молекули (глікокон'югати), де білки ковалентно зв'язані з полісахаридами (глікозамінгліканами), що становлять 90 – 95% від загальної маси молекули. Глікопротеїни – це складні білки, до яких ковалентно приєднані олігосахаридні (гліканові) ланцюги, вміст котрих невеликий (від 1 до 15 моносахаридних залишків). Глікопротеїнами є більшість позаклітинних білків: структурні білки біомембран, сполучної тканини (колагени, еластини), муцин, слизові секрети, білки кісткового матриксу, білки крові (фактори зсідання), гормони, білки імунної системи тощо. Основу клітин оболонки бактерій складають пептидоглікани – особливі гетерополісахариди, сполучені з мембранними білками. Наявність великої кількості полярних груп (гідроксильних, карбонільних) у молекулах моносахаридів забезпечує їх добру розчинність у воді й нерозчинність в органічних речовинах. Значна кількість глікозидів з малополярними групами проявляють властивості поверхнево-активних речовин (сапонінів). Полісахариди є гідрофільними полімерами, молекули яких асоціюють з утворенням високов'язких розчинів (слизів); при відповідному співвідношенні вільних та

асоційованих ділянок молекул полісахариди утворюють гелі (агар, пектинові речовини). В окремих випадках полісахариди є високовпорядкованими надмолекулярними структурами, нерозчинними у воді (целюлоза, хітин). Біологічна роль вуглеводів надзвичайно велика. У рослинах моносахариди виступають первинними продуктами фотосинтезу, вони є вихідними сполуками для біосинтезу різноманітних глікозидів, полісахаридів, а також амінокислот, жирних кислот, поліфенолів тощо. Моносахариди – джерело утворення складних вуглеводів (у рослин – крохмаль, у тварин, бактерій і грибів – глікоген), які є енергетичним джерелом для життєдіяльності організмів. З утворенням глікозидів у рослинах та тваринах відбувається транспортування різних продуктів обміну речовин. Багато полісахаридів виконують у живих організмах опорну функцію. Вуглеводи застосовують у харчовій, спиртовій, хімічній і текстильній промисловості, в медицині. Вуглеводам присвячені спеціалізовані міжнародні видання («Advances in Carbohydrate chemistry and biochemistry», «Carbohydrate research»). В Україні дослідження вуглеводів, їх обміну, ролі та використання з практичною метою здійснюють в Інституті біохімії ім. О.В. Палладіна НАНУ, Інституті мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАНУ, ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМНУ (м. Київ), Національному медичному університеті ім.О.О. Богомольця та ін. [7 – 10].

Лабораторна робота № 1

Фізико-хімічні властивості вуглеводів

Мета лабораторної роботи – вивчити основні властивості вуглеводів.

Завдання

1. Провести реакції на відкриття в розчині вуглеводів, фруктози і крохмалю.
2. Визначити, які вуглеводи мають відновлювальні властивості.
3. Виконати гідроліз крохмалю.

Відео «Вуглеводи. Фізичні властивості»

https://www.youtube.com/watch?v=bNmQEPauY6E&ab_channel=%D0%94%D1%96%D1%82%D0%B8%D0%9D%D0%B0%D1%83%D0%BA%D0%B8

Відео «Вуглеводи: глюкоза, сахароза»

https://www.youtube.com/watch?v=gC8n8-3qTZU&ab_channel=%D0%A5%D0%BC%D0%B5%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%B8%D1%86%D1%8C%D0%BA%D0%B8%D0%B9%D0%9E%D0%86%D0%9F%D0%9F%D0%9E

Дослід № 1. Реакція Подобєдова-Моліша

Чутливими реакціями на вуглеводи є реакції з α -нафтолом і тимолом.

Реактиви: розчин сахарози, α -нафтол, тимол, концентрована H_2SO_4 .

Обладнання: пробірки, крапельниці, піпетки.

Хід роботи. У дві пробірки наливають по 0,5 мл розчину сахарози. У першу пробірку додають 1 – 2 краплі розчину α -нафтолу, в другу – 1 – 2 краплі розчину тимолу. В обидві пробірки обережно нашаровують концентровану сірчану кислоту. Остання опускається на дно пробірки, і на межі двох рідин утворюється у разі з α -нафтолом фіолетове кільце, у випадку з тимолом – червонувате. Фурфурол та 5-оксиметилфурфурол, що утворюються з вуглеводів під дією сірчаної кислоти, конденсуючись з двома молями сульфованого α -нафтолу або тимолу, дають хромогени, які окиснюються сірчаною кислотою в забарвлену хіноїдну сполуку.

Подібні реакції дають усі вуглеводи (крім глюкозаміну).

Дослід № 2. Відкриття фруктози (реакція Селіванова)

Реактиви: розчин фруктози, розчин глюкози, реактив Селіванова.

Обладнання: пробірки, піпетки, спиртівка.

Хід роботи. У першу пробірку вносять 0,5 мл розчину фруктози, в другу пробірку – 0,5 мл розчину глюкози. В обидві пробірки додають по 0,5 мл реактиву Селіванова. Обережно нагрівають на спиртівці. У пробірці з фруктозою поступово з'являється червоне забарвлення. На першій стадії утворюється оксиметилфурфурол, який у другій стадії, конденсуючись з резорцином, дає червоне забарвлення.

Відео «Якісна реакція на фруктозі»

https://www.youtube.com/watch?v=HQM1QBWoJ2w&ab_channel=%D0%A1%D0%BD%D1%96%D0%B4%D0%B0%D0%BD%D0%BE%D0%BA%D0%B71%2B1

Відео «Глюкоза, фруктоза або сахароза?»

https://www.youtube.com/watch?v=sL5Ls_AGpCI

Дослід № 3. Реакція крохмалю і глікогену з йодом

Реактиви: 1-процентний розчин крохмалю, розчин Люголя, 10-процентний розчин NaOH, етиловий спирт.

Обладнання: пробірки, піпетки, спиртівка.

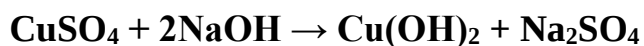
Хід роботи. До 2 мл розчину крохмалю додають 1 – 2 краплі розчину Люголя. Розчин забарвлюється в синій колір. Уміст пробірки ділять на три частини: до першої частини додають 1 мл розчину NaOH, до другої – 2 мл етилового спирту, третю частину нагрівають. У всіх випадках забарвлення зникає, але в третій пробі забарвлення знову з'являється при охолодженні.

Реакція заснована на утворенні нестійкого адсорбційного з'єднання йоду та амілози.

Дослід № 4. Реакція Троммера

Вуглеводи, у складі яких є вільні карбонільні групи, дають ряд реакцій, що ґрунтуються на окиснюваності цієї групи.

В основі реакції Троммера лежить окисно-відновний процес: у лужному середовищі при нагріванні альдегідна група цукру окиснюється, а гідрат окису міді (осад блакитного або синього кольору) відновлюється в гідрат закису міді (цегляно-червоний осад). Вуглевод при цьому дає різні продукти окиснення, оскільки при окисненні в лужному середовищі моносахариди зазнають глибоких змін з розщеплення вуглецевого ланцюга. Серед продуктів окиснювання не вдається виділити кислоту з тим же числом атомів вуглецю, як у вихідного цукру (на відміну від окиснення звичайних альдегідів). Цукри, що не мають вільної альдегідної групи, пробу Троммера не дають. Окисно-відновну реакцію можна представити у вигляді такої схеми:



Пояснення візуалізації реакції:

*Гідрат окису міді (блакитний осад) → процес окиснення глюкози
→ Гідрат закису міді (жовтий осад)*



Пояснення візуалізації реакції:

*Гідрат окису міді (блакитний осад) → процес окиснення глюкози
→ Закис міді (цегляно-червоний осад)*

Реактиви: 0,5-процентний розчини глюкози, фруктози, сахарози, мальтози і крохмалю; 2 н. розчин NaOH; 0,2 н. розчин CuSO₄.

Обладнання: пробірки, піпетки, спиртівка.

Хід роботи. У пробірку наливають розчин глюкози і 6 – 8 крапель розчину NaOH. Потім по краплях додають розчин CuSO₄ до появи нерозчинного блакитного осаду. Обережно нагрівають пробірку на спиртівці. Блакитний, нерозчинний у воді осад гідрату окису міді (II) поступово переходить у жовтий, а потім у цегляно-червоний осад закису міді (I). Це вказує на позитивну реакцію Троммера.

Надлишок мідної солі маскує реакцію, оскільки гідроокис міді (II) при нагріванні втрачає воду й утворює чорний оксид міді (II).

Аналогічний дослід проводять реакції із сахарозою, мальтозою, фруктозою і крохмалем. Роблять висновок про відновлювальні властивості цих вуглеводів.

Відео «Ракція Троммера»

https://www.youtube.com/watch?v=w-Axu0Cfeho&ab_channel=%D0%95%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%82%D1%80%D0%BE%D0%BD%D0%BD%D1%96%D0%BA%D0%BD%D0%B8%D0%B3%D0%B8%22%D0%A0%D0%90%D0%9D%D0%9E%D0%9A%22

Відео «Ракція Троммера»

https://www.google.com/search?sxsrf=ALeKk03zvlKyOdUw_arnLz7OhsQ-n_jx_Q%3A1605128777814&ei=SVKsX-imMa-SwPAPnY6HwA8&q=%D0%B4%D0%BE%D1%81%D0%BB%D1%96%D0%B4%D0%B8+%D0%B4%D0%BE%D1%81%D0%BB%D1%96%D0%B4%D0%B6%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8F+%D0%B2%D1%83%D0%B3%D0%BB%D0%B5%D0%B2%D0%BE%D0%B4%D1%96%D0%B2+%D0%B2%D1%96%D0%B4%D0%B5%D0%BE&oq=%D0%B4%D0%BE%D1%81%D0%BB%D1%96%D0%B4%D0%B8+%D0%B4%D0%BE%D1%81%D0%BB%D1%96%D0%B4%D0%B6%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8F+%D0%B2%D1%83%D0%B3%D0%BB%D0%B5%D0%B2%D0%BE%D0%B4%D1%96%D0%B2+%D0%B2%D1%96%D0%B4%D0%B5%D0%BE&gs_lcp=CgZwc3ktYWIQAzIFCCEQoAEyBQghEKABMgUIIRCgATIFCCEQoAE6BAgAEEdQ7D1YjERgzUhoAHACeACAACiIiAHDD5IBBTYtMS4xmAEAoAEBqgEHZ3dzLXdpesgBA8ABAQ&scclient=psy-ab&ved=0ahUKEwio7_rUsvvsAhUvCRAIHR3HAfgQ4dUDCA0&uact=5

Дослід № 5. Кислотний гідроліз крохмалю

Реактиви: 0,1-процентний розчин крохмалю; 2 н. розчин H_2SO_4 ; розчин Люголя; 2 н. розчин CuSO_4 ; 2 н. розчин NaOH .

Обладнання: колба, пробірки, піпетки, спиртівка.

Хід роботи. У колбу поміщають 5 мл розчину крохмалю, 3 мл розчину сірчаної кислоти. Нагрівають на спиртівці протягом 5 хв, відбираючи піпеткою кожен хвилину по 0,5 мл гідролізату і додаючи в них по 1 краплі розчину Люголя.

Звернути увагу на зміну забарвлення гідролізату з йодом у ході гідролізу. З рештою гідролізату проводять реакцію Троммера. За результатами реакції зробити висновок про будову крохмалю.

Дослід № 6. Виділення глікогену з печінки

Досліджуваний матеріал: печінка щура.

Реактиви: 5-процентний розчин ТХО; дистильована вода; розчин Люголя.

Обладнання: ступка, товкачик, фільтри, пробірки, піпетки.

Хід роботи. 0,5 г печінки щура поміщають у ступку, додають 3 мл розчину ТХО і розтирають товкачиком протягом 10 хв. Потім до екстракту додають 5 мл дистильованої води, суспензію перемішують і фільтрують через паперовий фільтр, змочений водою. З фільтратом проробляють реакцію з розчином Люголя. Зробити відповідний висновок.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. У звіті вказати мету, завдання, хід виконання роботи, результати і висновки.

Контрольні питання

1. Які речовини називають вуглеводами?
2. Класифікація вуглеводів.
3. Напишіть структурні формули глюкози і фруктози (лінійні й циклічні) та відзначте асиметричні атоми.
4. Напишіть структурні формули альдотріози і кетотріози. Чи мають вони стереоізомери? Якщо мають, напишіть їх структурні формули.
5. Які вуглеводи належать до відновлювальних?
6. Опишіть основні принципи методів виявлення: а) глюкози; б) фруктози; в) сахарози.
7. У чому подібність і відмінність в будові крохмалю та глікогену?

5. ЖИРИ (ЛІПІДИ)

Жири – велика група органічних сполук, які з фізичного погляду мають меншу від одиниці питому вагу і, як правило, розчинні в органічних розчинниках, зазвичай нерозчинні у воді й під звичайним тиском їх не можна перегнати, не розклавши. Хімічно жири є тригліцеридами, сполукою складних ефірів триатомного спирту (гліцерину) і будь-якої з кількох жирних кислот. Містяться у тваринних та рослинних організмах. Кожна молекула рослинного або тваринного жиру являє собою змішаний естер гліцерину. Такий жир може бути моно-, ди- та тригліцеридом різних органічних кислот [7, 8, 10, 11].

На позначення жирів використовуються також слова «олії», «масла» і «ліпіди».

Поняття «ліпіди» використовується для позначення рідких і твердих жирів, а також інших пов'язаних з жиром речовин, як правило, в медичному або біохімічному контексті. До ліпідів належать нейтральні жири й жироподібні речовини (ліпоїди). Ліпіди екстрагують з тканин за

допомогою органічних розчинників (хлороформ, спирт, ефір та ін.) За своєю хімічною природою ліпіди частіше за все є складними ефірами жирних кислот і багатоатомних спиртів.

Біологічна роль ліпідів різноманітна, але в основному вони виконують структурну функцію (входять до складу мембран) і енергетичну (при окисненні ліпідів звільняється велика кількість енергії).

Класифікація ліпідів

1. Прості ліпіди: а) нейтральні жири (гліцериди, гліцероли); б) воски.
2. Складні ліпіди: а) фосфоліпіди; б) гліколіпіди.
3. Ліпоїди: а) стерини та стероїди, каротиноїди; в) терпеноїди.

Слово «олії», як правило, використовується для позначення жирів, які є рідкими при кімнатній температурі, у той час як слово «жири» зазвичай використовується для позначення жирів, котрі є твердими речовинами при нормальній кімнатній температурі.

Слова «олії» та «масло» також використовуються для будь-яких речовин незалежно від їхньої хімічної структури, вони не змішуються з водою і жирні на дотик: ефірні олії, терпентинова олія, мінеральні олії, солярове масло, синтетичні масла. Мінеральні олії також називають мінеральними оливами та мінеральними маслами.

Ефірні олії, отримані з різних частин деяких рослин, з фізичного погляду подібні до жирів (олій), але хімічно вони дуже відрізняються від них: зовсім не мають у своєму складі гліцеринових ефірів жирних кислот, а містять різні спирти, альдегіди та органічні сполуки.

Мінеральні олії добувають перегонкою нафти, і складаються з вуглеводнів та зовсім не мають у своєму складі гліцеринових ефірів жирних кислот.

Жири містяться майже в усіх частинах і органах рослин та тварин, проте розміщені вони нерівномірно. У рослинах найбільше жиру скупчено в насінні й у їхньому зародку, рідше у плодовій оболонці, що оточує ядро: пальмовий горіх, маслини.

У тілі тварин жир розподіляється нерівномірно і головним чином накопичується в зашкірній клітковині, тканинах, що обволікають органи, які визначаються посиленою діяльністю: серце, нирки та ін. У кістковому мозку міститься до 90% жиру.

У клітинах рослин і тварин жир має вигляд дрібних краплинок, що утворюють разом з іншим вмістом клітин емульсію.

Класифікація жирів

Органічні речовини, що називаються жирами, містяться у тваринних і рослинних організмах. Тому за походженням вони поділяються на *тваринні* й *рослинні*, які зі свого боку підрозділяються на *тверді* та *рідкі*.

Рідкі жири інколи називають *жирною олією*, щоб диференціювати їх від мінеральних і ефірних олій. Найчастіше *рідкі жири* називають просто *олією*.

Тверді жири тваринного походження часто називають *салом*. Деякі тверді тваринні й рослинні жири називають *маслами*: кров'ячий молочний жир і жир бобів какао. Жири тваринного походження мають при кімнатній температурі, як правило, тверду консистенцію, а риба́чий жир та більшість рослинних жирів – рідку. З рослинних жирів твердими є масло какао й пальмове масло.

Рідкі жири тваринного походження добуваються майже лише з морських тварин та риб, і їх поділяють залежно від кількості в них холестерину. Печінкова олія деяких риб вирізняється високим умістом холестерину. *Трини* і *трани* витоплюються з усього тіла морських тварин. У тринах, на відміну від транів, міститься багато гліцеридів твердих жирних кислот. Рослинні жири бувають рідкими (соняшникова, бавовникова, соєва, ріпакова, кукурудзяна олії й ін.) та твердими (кокосове, пальмове масло, масло какао тощо).

Хімічний склад жирів

Звичайний жир складається з ліпідів, не жирових та азотовмісних речовин, вуглеводів і мінеральних елементів. Чистий жир являє собою складні ефіри триатомного спирту гліцерину $\text{CH}_2\text{OH} - \text{CHOH} - \text{CH}_2\text{OH}$ і різноманітних жирних кислот. Серед них можуть бути як насичені жирні кислоти, наприклад пальмітинова $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$ і стеаринова $\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COOH}$, так і ненасичені жирні кислоти (у тому разі з одним подвійним зв'язком, наприклад олеїнова кислота $\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOH}$); з двома – лінолева кислота і ліноленова кислота з трьома подвійними зв'язками, а також з потрійним зв'язком, наприклад тариринова кислота $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH}$, або навіть чотири (як у арахідонової кислоти) подвійні зв'язки між атомами вуглецю). Вони трапляються лише в рослинних жирах і так званому риба́чому жирі, в організмі людини не синтезуються, але потрібні для багатьох біохімічних процесів, і тому їх відносять до незамінних продуктів живлення. Суміш ненасичених жирних кислот називають вітаміном F.

Жирно-кислотний спектр жирів є різноманітним. У рослинному й тваринному світі налічується близько 1300 видів жирів, але елементний склад їх відносно мало коливається й дорівнює в середньому, %,

C – 76–79, H – 11–13 і O – 10–12.

Шляхом гідролізу (омилення) жири легко розщеплюються на гліцерин та жирні кислоти, причому різні кислоти проявляють неоднакову стійкість до дії високих температур і мікроорганізмів. Так, насичені жирні кислоти досить стійкі не тільки при звичайних температурах, але й при нагріванні навіть до 400 C, вони важко втрачають свою карбоксильну групу та не розкладаються.

Досить стійкими є й ненасичені жирні кислоти з одним подвійним зв'язком (типу олеїнової).

Ненасичені кислоти із двома та більшою кількістю подвійних зв'язків менш стійкі; вони окиснюються, твердіють, стають темними,

набирають неприємного запаху. На це потрібно звертати увагу при їх використанні. Вони легко окиснюються й полімеризуються, а при нагріванні до 300°C розпадаються з розривом вуглецевого ланцюга й утворенням суміші насичених і ненасичених вуглеводнів жирного ряду.

Для хімічної характеристики жирів та інших ліпідів визначають температуру плавлення й числа – йодне, омилення й кислотності.

Гідрогенізація жирів

Методом каталітичного гідрування (з використанням нікелевих каталізаторів) рослинні олії й рідкі тваринні жири морських ссавців, риби переводять у тверді жири. Продукт реакції називається саломасою (штучним салом). Саломаси використовуються як основа для виготовлення маргарину, інших харчових жирів, мила. Уперше гідрогенізацію жирів здійснив С. Фокін в 1906 році.

Існує думка про шкідливість систематичного споживання не повністю гідрованих олій (транс-карбонових кислот) і продуктів на їх основі (печиво, чіпси, картопля фрі) для людини. Вони збільшують ризик ішемічних захворювань серця, мозку, сприяють іншим видам атеросклерозу, викликають порушення процесів синтезу холестеролу.

На перших етапах вживання гідрованих олій кількість транс-карбонових кислот у складі маргаринів досягала 50%, що не дозволяло уникнути негативних наслідків для здоров'я. Для зниження рівня транс-карбонових кислот у маргарини додають більшу кількість нативних рослинних олій, таким чином кількість транс-карбонових кислот у кінцевому продукті може досягати 15 – 20%.

Біологічне значення жирів

Біологічне значення жирів зумовлене тим, що вони є носіями таких життєво необхідних для організму речовин, як поліненасичені жирні кислоти, жиророзчинні вітаміни, фосфоліпіди, стерини. Отже, біологічна роль жирів залежить від жирнокислотного складу та наявності інших компонентів – фосфоліпідів, вітамінів тощо.

Жири – важливий продукт харчування людини. Вони становлять головний компонент таких продуктів харчування, як вершкове масло, рослинні олії, маргарин, смалець. Багато жирів міститься у свинячому салі та у сирі. Недостатнє надходження жирів у їжу негативно впливає на різні види обміну речовин, функціональний стан окремих органів і систем а, зрештою, на працездатність і опірність організму несприятливим чинникам навколишнього середовища, у тому числі інфекційним агентам. Недостатня енергетична цінність раціонів харчування призводить до виснаження жирових депо у підшкірній основі. Остання виконує низку важливих функцій в організмі: теплоізоляційну (захищає глибоко розміщені тканини від надмірного впливу холоду й тепла), амортизаційну (охороняє кістки, тканини і внутрішні органи від поштовхів та ударів), естетичну (надає формам тіла ніжну округлість).

Жири є найважливішим енергетичним компонентом харчового раціону – 1 г жирів дає 37,7 кДж (9 ккал) енергії, їх біологічне значення зумовлене тим, що вони виступають носіями таких життєво необхідних для організму речовин, як поліненасичені жирні кислоти, жиророзчинні вітаміни (D, E і K), тобто ті вітаміни, які можуть тільки перетравлюватися, всмоктуватися, та транспортуватися в поєднанні з жирами, фосфоліпіди, стерини. Вони поліпшують смакові якості їжі, впливають на засвоюваність низки нутрієнтів. Так, засвоюваність каротину у присутності оптимальної кількості жиру в їжі досягає 80 – 90%, тоді як за умови його недостатності β-каротин майже не засвоюється. Однак надмірне споживання жирів погіршує засвоюваність білків, кальцію, магнію, підвищує потребу у вітамінах, що беруть участь у жировому обміні. Надмірне споживання жирів гальмує секрецію шлунка і затримує евакуацію з нього їжі, спричиняючи перенапруження функцій інших органів травлення. Достатня кількість жирів у харчовому раціоні забезпечує його енергетичну адекватність енерговитратам організму й високу інтенсивність пластичних процесів, зокрема синтез білка. Вони входять до складу тканин тварин, рослин. Вегетативні частини рослин накопичують не більше 5% ліпідів, насіння – до 50% і більше. В організмі людини в нормі міститься 10 – 20% жиру, але за наявності деяких порушень жирового обміну його кількість може змінюватися. На відміну від вуглеводів і тим більше білків, жири відкладаються у великих кількостях у депо (підшкірна основа, сальник) і створюють в організмі великі запаси енергії. Нормальної комплекції доросла людина має у своєму організмі 9 – 12 кг жиру, що відповідає 251000 – 377000 кДж (60000 – 90000 ккал). Ця енергія витрачається в усіх випадках недостатнього харчування.

Безпосередньо з лікарською метою на жирах готують мазі, емульсії, пасти, які сприяють поглинанню активних речовин організмом, пом'якшують і продовжують їхню дію.

Деякі жири (здебільшого рослинного походження) використовуються для виробництва мила.

Лабораторна робота № 2

Фізико-хімічні властивості ліпідів

Мета лабораторної роботи – вивчити деякі властивості ліпідів та параметри, за якими визначають їх якість.

Завдання:

1. Визначити кислотне число рослинної олії.
2. Визначити число омилення рослинної олії.
3. Провести якісні реакції на відкриття в розчині жовчних кислот

Дослід № 1. Визначення кислотного числа

Кислотне число характеризує кислотність жиру і вимірюється кількістю міліграмів гідроксиду калію, необхідного для нейтралізації вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру.

Кислотне число поряд з іншими фізико-хімічними показниками характеризує якість олії. Наприклад, якщо олія одержана зі зрілого насіння, то вільних жирних кислот у ній мало, в олії ж незрілого насіння вміст вільних жирних кислот значний. При зберіганні олії спостерігається гідроліз гліцеридів, який призводить до накопичення вільних жирних кислот, тобто до наростання кислотності. Підвищена кислотність олії вказує на зниження її якості.

Метод визначення кислотного числа заснований на тому, що вільні жирні кислоти, наявні в олії, відтитровують 0,1 н. розчином КОН. Зазвичай титрування проводять гідроксидом калію, а не гідроксидом натрію, тому що утворені калієві мила краще розчинні в умовах дослідів.

Реактиви: олія рослинна або жир тваринний; етиловий спирт; 0,1 н. розчин КОН в етиловому спирті; фенолфталеїн.

Обладнання: ваги, колба конічна, циліндр мірний, піпетки, бюретка.

Хід роботи. Для визначення кислотного числа наважку жиру (олії) масою 2 г поміщають у конічну колбу і розчиняють в 10 мл нейтральної суміші спирту і ефіру (1:1). Після розчинення жиру в колбу вносять 1 – 2 краплі розчину фенолфталеїну і титрують 0,1 н спиртовим розчином гідроксиду калію до слабо-рожевого забарвлення. Забарвлення після збовтування не повинно зникати протягом 1 хв. Кислотне число визначають за формулою

$$\text{Кислотне число} = V \cdot T / m,$$

де **V** – кількість (мл) 0,1 н розчину КОН, витраченого на титрування взятої наважки жиру;

T – титр 0,1 н розчину КОН (мг);

m – наважка жиру (г).

Дослід № 2. Визначення числа омилення

Числом омилення називають кількість міліграмів КОН, необхідну для нейтралізації як вільних, так і зв'язаних жирних кислот, що містяться в 1 г олії.

Уміст вільних жирних кислот в олії характеризується кислотним числом, а вміст зв'язаних у вигляді ефірів кислот – ефірним числом, тобто кількістю міліграмів КОН, необхідною для нейтралізації вивільнених при омиленні ефірних зв'язків жирних кислот на 1 г масла.

Експериментально ефірне число визначається за різницею між числом омилення і кислотним числом.

Реактиви: 0,5 н. спиртовий розчин КОН; 0,5 н. розчин НСІ; фенолфталеїн.

Обладнання: ваги, водяна баня, конічні колби, пробірки зі зворотним холодильником, піпетки, бюретка.

Хід роботи. В одну пробірку вносять 0,5 г жиру, а в іншу – 0,5 мл води. Потім в обидві пробірки додають по 5 мл 0,5 н спиртового розчину КОН. Пробірки закривають пробками зі зворотними повітряними холодильниками і нагрівають на киплячій водяній бані протягом 30 хв, періодично струшуючи. Після закінчення омилення вміст пробірок виливають у колби, додають по 5 мл води, по 3 – 4 краплі фенолфталеїну і титрують 0,5 н. розчином НСІ до зникнення рожевого забарвлення (визначають кількість незв'язаного лугу). Виходячи з того, що 1 мл 0,5 н. розчину КОН відповідає 28 мг, розрахунок числа омилення ведуть за формулою

$$\text{Число омилення} = (V_1 - V_2)28/m,$$

де V_1 – кількість (мл) 0,5 н. розчину НСІ, витрачена на титрування контролю (колба з водою);

V_2 – кількість (мл) 0,5 н. розчину НСІ, витрачена на титрування досліду (колба з жиром);

m – наважка жиру (г).

Дослід № 3. Виявлення жовчних кислот у сечі (проба Петенкофера)

Проба заснована на утворенні забарвленого продукту при взаємодії жовчних кислот і оксиметилфурфуролу, який утворюється із сахарози при дії концентрованої сірчаної кислоти.

Досліджуваний матеріал: сеча.

Реактиви: концентрована сірчана кислота, 5-процентний розчин сахарози.

Обладнання: пробірки, піпетки.

Хід роботи. У пробірку налити 5 мл сечі, додати 10 крапель розчину сахарози й обережно по стінці пробірки додати 10 крапель концентрованої сірчаної кислоти. Не збовтувати! Залишити на 10 – 15 хв пробірку в штативі.

За наявності в сечі жовчних кислот на межі рідин утворюється червоно-фіолетове кільце.

Дослід № 4. Якісні реакції на виявлення вітаміну Е

Взаємодія α -токоферолу з концентрованою азотною кислотою призводить до переходу забарвлення реакційної суміші в червоний колір. Це обумовлено тим, що продукт окиснення α -токоферолу має хіноїдну структуру. При взаємодії з хлорним залізом (III) α -токоферол окиснюється до α -токоферілхінона – сполуки червоного кольору.

Реактиви: спиртовий розчин α -токоферолу, концентрована HNO_3 , 1-процентний розчин FeCl_3 .

Обладнання: пробірки, піпетки.

Хід роботи. *Реакція з азотною кислотою.* У суху пробірку вносять 5 крапель спиртового розчину вітаміну Е і додають 1 мл концентрованої азотної кислоти. Пробірку інтенсивно струшують та спостерігають поступову появу червоного забарвлення.

Реакція з хлорним залізом. У суху пробірку вносять 0,5 мл спиртового розчину вітаміну Е, потім додають 0,5 мл розчину хлорного заліза і ретельно перемішують вміст пробірки, спостерігаючи появу червоного забарвлення.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. У звіті вказати мету, завдання, хід виконання роботи, результати і висновки.

Контрольні питання

1. Класифікація ліпідів.
2. Що являє собою число омилення і як його визначають?
3. Який показник називають «кислотним числом», як його визначають? Що воно характеризує?
4. Принцип методу визначення жовчних кислот.
5. Принцип методу визначення вітаміну Е.

6. БІЛКИ

Білки – складні високомолекулярні природні органічні речовини, які складаються з амінокислот, сполучених пептидними зв'язками. В однині (**білок**) термін найчастіше використовують для посилення на білок як речовину, коли неважливий її конкретний склад, та на окремі молекули або типи білків, у множині (**білки**) – для посилення на певну кількість білків, коли точний склад важливий [7, 8, 10, 12].

Зазвичай білки є лінійними полімерами – поліпептидами, хоча інколи мають складнішу структуру. Невеликі білкові молекули, тобто олігомери поліпептидів, називаються пептидами. Послідовність амінокислот у конкретному білку визначається відповідним геном і зашифрована генетичним кодом. Хоча генетичний код більшості

організмів визначає лише 20 «стандартних» амінокислот, їхнє комбінування уможлиблює створення великого різноманіття білків із різними властивостями. Крім того, амінокислоти у складі білка часто піддаються посттрансляційним модифікаціям, які можуть виникати і до того, як білок починає виконувати свою функцію, і під час його «роботи» в клітині. Для досягнення певної функції білки можуть діяти спільно, вони часто зв'язуються, формуючи великі стабілізовані комплекси (наприклад, фотосинтетичний комплекс).

Функції білків у клітині різноманітніші, ніж функції інших біополімерів – полісахаридів і нуклеїнових кислот. Так, білки-ферменти каталізують протікання біохімічних реакцій і відіграють важливу роль в обміні речовин. Деякі білки виконують структурну або механічну функцію, утворюючи цитоскелет, що є важливим засобом підтримки форми клітин. Також білки відіграють важливу роль у сигнальних системах клітин, клітинній адгезії, імунній відповіді та клітинному циклі.

Білки – важлива частина харчування тварин і людини, оскільки ці організми не можуть синтезувати повний набір амінокислот і повинні отримувати частину з них із білковою їжею. У процесі травлення протеолітичні ферменти руйнують спожиті білки, розкладаючи їх до рівня амінокислот, які використовуються при біосинтезі білків організму або піддаються подальшому розпаду для отримання енергії.

Білки були вперше описані шведським хіміком Єнсом Якобом Берцеліусом у 1838 році, він і дав їм назву *протеїни*, від грец. *Прότα* – «першорядної важливості». Проте їхня центральна роль у життєдіяльності всіх живих організмів була виявлена лише у 1926 році, коли Джеймс Самнер показав, що фермент уреаза також є білком. Секвенування першого білка – інсуліну, тобто визначення його амінокислотної послідовності, принесло Фредерикові Сенгеру Нобелівську премію з хімії 1958 року. Перші тривимірні структури білків гемоглобіну й міоглобіну були отримані за допомогою рентгеноструктурного аналізу, за що автори методу, Макс Перуц і Джон Кендрю, отримали Нобелівську премію з хімії 1962 року [7, 8, 12].

Основні рівні структурної організації білків

Крім послідовності амінокислот поліпептиду (первинної структури), для функціонування білків украй важлива тривимірна структура, яка формується в процесі згортання білків (або фолдинга, від англ. *folding*). Ця структура утримується в результаті взаємодії структур нижчих рівнів. Тривимірна структура білків за нормальних природних умов називається нативним станом білка. Хоча чимало білків здатні згортатися та набувати нативного стану самостійно, завдяки властивостям свого поліпептидного ланцюжка, інші вимагають допомоги інших білків, молекулярних шаперонів. Виділяють чотири рівні структури білків.

Первинна структура – пептидна або амінокислотна послідовність, тобто послідовність амінокислотних залишків у пептидному ланцюжку. Саме первинна структура кодується відповідним геном і найбільшою мірою визначає властивості сформованого білка.

Вторинна структура – локальне впорядкування фрагменту поліпептидного ланцюжка, стабілізоване водневими зв'язками і гідрофобними взаємодіями. Найпоширеніші типи вторинної структури білків включають: α -спіралі (спіраль, що має чотири залишки на виток, стабілізована водневими зв'язками між пептидними групами з кроком у чотири ланки) і β -листи (кілька зигзагоподібних поліпептидних низок, у яких водневі зв'язки утворюються між відносно віддаленими ділянками ланцюжка або між різними ланцюжками, а не між близько розташованими пептидними групами, як це має місце для α -спіралі). Інші елементи вторинної структури включають π -спіралі (спіралі з кроком водневих зв'язків у три ланки), спіралі (спіралі з кроком водневих зв'язків у п'ять ланок), повороти, невпорядковані фрагменти та інші. Найпоширеніша єдина класифікація таких структур – номенклатура DSSP.

Третинна структура – повна просторова будова цілої білкової молекули, просторове взаємовідношення вторинних структур одна до одної. Третинна структура загалом стабілізується нелокальними взаємодіями, найчастіше формуванням *гідрофобного ядра*, а також завдяки утворенню водневих зв'язків, сольових містків, інших типів іонних взаємодій, дисульфідних зв'язків між залишками цистеїну.

До третинної структури зазвичай відносять і проміжні рівні між основними елементами вторинної структури та повною структурою білка – «надвторинну» структуру, що складається зі структурних мотивів та доменів. Структурні мотиви – невеликі усталені поєднання кількох елементів вторинної структури, що мають схожу структуру, важливу для виконання білком певних функцій. Схожі структурні мотиви, як правило, виконують схожі функції, завдяки чому за ними можна передбачити функцію невідомого білка. Хоча структурні мотиви можуть бути аналогічними, частіше за все вони зберігаються в процесі еволюції видів. Домени – дещо більші елементи структури білка, які характеризуються стабілізацією, незалежною від решти поліпептидного ланцюжка, і такі, що часто виконують окрему функцію. У процесі еволюції елементи надвторинної структури можуть передаватися між генами, надаючи їм нові функції, таким чином існує набагато менше різновидів цих елементів, ніж різних білків. Процес передачі доменів можна здійснити і штучними методами генної інженерії, створюючи химерні білки.

Четвертинна структура – структура, що виникає в результаті взаємодії кількох білкових молекул, які в цьому контексті називають субодинамиціями. Повна структура кількох поєднаних субодинамиць, що разом виконують спільну функцію, називається білковим комплексом.

Розмір білка може вимірюватися за числом амінокислот або в одиницях молекулярної маси – дальтонах (Да) (частіше, у зв'язку з великими розмірами молекул, у похідних одиницях – кілодальтонах (кДа). Найбільшим відомим одиничним білком є титин (компонент саркомерів м'язів), що містить понад 29 тис. амінокислот і має молекулярну масу 3 МДа, а найбільший внутрішньоклітинний білковий комплекс – комплекс ядерної пори хребетних тварин – має масу близько 125 МДа. Проте загалом важко говорити про найбільший розмір білкового комплексу, тому що часто комплекси мають дуже обмежений час існування, крім того, весь цитоскелет клітини або позаклітинна матриця цілого організму може вважатися єдиним комплексом. Найменший білок також важко визначити, багато білків, що мають ензиматичну активність, не перевищують за розміром кілька десятків амінокислот, багато пептидних гормонів мають ще менші розміри. Інколи найменшим білком вважають єдину невелику амінокислоту пролін, що має самостійну каталітичну активність [7, 8, 10, 12].

Фізико-хімічні властивості

За зовнішнім виглядом білки можуть бути порошками, кристалами, волокнами чи колоїдами. В окремих випадках можливі переходи з одного стану в інший, наприклад, білок, що перебуває у стані колоїдного розчину при висолюванні може випасти в осад, а при відновленні оптимального рН повернутися до колоїдної форми.

Білки також характеризуються ізоелектричною точкою (pI) – кислотністю середовища рН, при якому молекула цього білка не несе електричного заряду. Чим більше в такому білку гідроксильних груп (основних залишків), тим вище у нього pI. Білки з pI, меншим за 7, називаються кислотними, а з більшим за 7 – основними. У цілому pI білка залежить від функції, яку він виконує; так, білки, що зв'язуються з нуклеїновими кислотами, часто належать до основних. Прикладом таких білків є гістони [8, 10].

За ступенем розчинності у воді білки бувають розчинними (гідрофільними) і нерозчинними (гідрофобними). До останніх відносять більшість білків, що входять до складу біологічних мембран, тобто інтегральних мембранних білків, які взаємодіють з гідрофобними ліпідами мембрани.

Класифікація білків

Білкові молекули класифікують за їхньою формою, хімічним складом і властивостями.

За формою молекули розрізняють два типи білків: фібрилярні та глобулярні. У фібрилярних білків поліпептидні ланцюги просторово розташовані вздовж однієї осі, внаслідок чого вони набувають шаруватої чи волокнистої будови. Більшість фібрилярних білків нерозчинні у воді, тому пов'язані зі структурною чи моторною функціями. У глобулярних

білків поліпептидні ланцюги розташовані у різних площинах, унаслідок складення (скручування) молекули в глобулу. Такі білки, як правило, розчинні у воді й виконують сигнальну, регуляторну, каталітичну, захисну функції.

За хімічним складом розрізняють прості та складні білки. Прості містять тільки амінокислоти, зв'язані в ланцюжки. На відміну від них, складні білки мають також неамінокислотний компонент – простетичну групу. За типом простетичної групи складні білки поділяють на глікопротеїни (з вуглеводним залишком), ліпопротеїни (включають ліпіди), хромопротеїни (містять пігмент), нуклеопроетїни (сполучені з нуклеїновими кислотами), фосфопроетїни (містять фосфатні групи), металопротеїни (містять іони металів), флавопротеїни (включають флавіни) тощо. Деякі простетичні групи слугують кофакторами, необхідними для роботи ферментів. Інші, такі як полісахаридні ланцюжки, допомагають білку приймати потрібну конформацію і надають додаткову стабільність. Прикладами органічних простетичних груп у складі білків слугують гем (у складі гемоглобіну), тіамін, біотин та ін. Неорганічні простетичні групи найчастіше складаються з іонів металів, найпоширенішими з яких є цинк, магній і молібден.

Прості білки за здатністю розчинятися поділяють на такі групи: гістони – розчинні лише у воді; альбуміни – розчинні у воді та сольових розчинах; глобуліни – розчинні тільки у слабких сольових розчинах; склеропроетїни – не розчинні у воді, кислотах, лугах, сольових розчинах.

Денатурація білка

Як правило, білки протягом досить довгого часу зберігають структуру, отже, фізико-хімічні властивості, наприклад, розчинність, в умовах (таких як рН, температура), до яких пристосований певний організм чи які підтримуються в його межах у результаті збереження гомеостазу. Різка зміна цих умов, наприклад унаслідок нагрівання або обробки білка кислотою чи лугом, призводить до втрати четвертинної, третинної і вторинної структур білка, а також обумовлених ними природних властивостей, – цей процес називається денатурацією. Відомий випадок денатурації білка в побуті – приготування курячого яйця, коли під впливом високої температури розчинний у воді прозорий білок овальбумін стає щільним, нерозчинним і непрозорим.

Білки, що використовуються в технологічних методах і вимагають нетипових умов, часто підбираються з екстремофілів – організмів, здатних проживати в екстремальних умовах. Так, наприклад, ДНК-полімераза Таq, яка використовується в полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР), може витримувати без денатурації багаторазове нагрівання до температури 95°C. Вона була спочатку виділена з бактерії *Thermus aquaticus*. Денатурація в деяких випадках оборотна, як, наприклад, при преципітації водорозчинних

білків за допомогою солей амонію, і використовується як спосіб їхнього очищення.

Функції білків в організмі людини

Класифікація білків за функцією може бути як біохімічною, тобто за типом безпосередньої біохімічної функції, яку білок виконує в організмі, так і заснованою на головних клітинних процесах, один із кроків котрих виконує цей білок. В останньому випадку класифікація включає такі категорії:

- обробка та збереження інформації (процеси реплікації, експресії генів та підтримки геному);

- клітинні процеси й сигнали (контроль клітинного циклу, підтримка структури клітини та органів, транспорт, модифікації макромолекул, сигнальні системи);

- метаболізм (отримання й перетворення енергії, синтез та транспорт ліпідів, амінокислот, цукрів, неорганічних молекул, вторинних метаболітів).

У кожному організмі є невелика кількість білків, які виконують дві або більше операцій. Найчастіше ці операції належать до одного функціонального блока. Аналіз геномів показав, що у різних організмів існує велика різниця у кількості білків, що виконують ту чи іншу функцію. Особливо це стосується операційних білків, від яких залежить адаптація організму до його екологічної ніші. Цікаво, що у людини та деяких інших організмів частина білків не повністю закодована в успадкованому геномі. Так, велика різноманітність імуноглобулінів досягається за рахунок рекомбінації та мутацій відповідних генів, що тривають протягом усього життя в клітинах імунної системи. Також не треба забувати, що виявлення функцій білків ще не завершено: у будь якому організмі 20% або більше білків виконують функції, про які ще нічого не відомо.

У деяких системах класифікації виділяється окрема група білків, що виконують переважно резервну і харчову функцію. Проте майже всі білки використовуються в організмі як джерело амінокислот. Твердження, що резервна є головною функцією якогось білка, може виявитися необґрунтованим просто через недолік знань. Наприклад, вивчення овальбуміна (основного компонента яєчного білка) показало, що він не тільки слугує джерелом сировини, але також бере участь у транспорті іонів металів і може відігравати захисну роль, викликаючи алергію у тварин, у тому числі в людини.

Харчові білки молока – казеїни відрізняються від більшості інших (нормальних) білків тим, що вони не утворюють твердої просторової структури й радше нагадують денатуровані білки. У кишечнику казеїни розрізаються протеазою й коагулюють на стінках. Вивільнення пептидів і амінокислот з коагульованого білка відбувається повільно, з підживленням організму в період між годівлями. Крім харчової, в казеїнів молока були

виявлені й інші важливі функції. Короткі пептиди, що виходять із казеїнів під дією кишкових протеаз, можуть модулювати сорбцію амінокислот стінками кишечника, тиск і згортваність крові, імунну реакцію, а також мати сильні опіюючі властивості. Таким чином білкова дієта слугує не тільки джерелом амінокислот, а має набагато глибший вплив на організм.

Білок у харчуванні

Білки надходять в організм разом з їжею й слугують основним джерелом амінокислот. Обов'язкове використання білків у їжі обумовлене потребою в незамінних амінокислотах, які не можуть синтезуватися людиною з інших речовин. Травлення починається з кислотної денатурації білків у шлунку – необхідної стадії для кулінарно необробленої їжі. Денатуровані білки стають субстратом для протеаз, спочатку в шлунку, а потім у слаболужному середовищі тонкого кишечника. Продукти протеазного розщеплення – короткі пептиди й амінокислоти всмоктуються ентероцитами, розташованими в епітелії тонкого кишечника. Основним транспортером ди- і трипептидів слугує мембранний білок Pept1, через який проходить 65 – 80% усіх усмоктуваних організмом людини амінокислот. Активний перенос пептидів білком Pept1 здійснюється за рахунок одночасного транспорту протонів. Pept1 перебуває у дванадцятипалій і порожній кишках та меншою мірою у клубовій кишці. Pept1 був виявлений у товстому кишечнику тільки у новонароджених. Інші 20 – 35% амінокислот усмоктуються ентероцитами за допомогою набору амінокислотних транспортерів різної специфічності. Увесь процес усмоктування білкових продуктів триває близько чотирьох годин. В ентероцитах частина пептидів розщеплюється до окремих амінокислот. Потім амінокислоти й пептиди переправляються транспортерами через протилежну мембрану та розносяться по всьому тілу з током крові. Амінокислотне харчування інших клітин організму відбувається за допомогою мембранних транспортерів амінокислот, а також заковтування й протеазного розщеплення зовнішніх білків і пептидів. Для запобігання надлишковим втратам амінокислот з організму в нирках відбувається всмоктування пептидів та амінокислот із крові в цілому це схоже на всмоктування таких речовин у тонкому кишечнику.

Регуляція транспорту й метаболізму амінокислот – складний, ще не досить вивчений процес. У ньому беруть участь різні системи організму, у тому числі нервова система, що відповідає за формування відчуття голоду й ситості в головному мозку. Інтерес до механізму білкового травлення проявляють не тільки фізіологи й дієтологи. У медичній практиці виникають питання, пов'язані з персональною алергією до деяких білків. У складніших випадках розробляються спеціальні білкові дієти. У деяких випадках використовують суміші чистих амінокислот. Пептидні транспортери травної системи та нирок активно вивчаються фармакологами, оскільки ряд ліків усмоктується й утримується в організмі

за рахунок Рерт білків. Білкові й амінокислотні суміші викликають інтерес у спортсменів з метою нарощування м'язів. Слід зазначити, що засвоювання чистих амінокислот організмом сильно відрізняється від звичайного переварювання різноманітних білків їжі.

Білкові лікувальні препарати

Значна кількість досліджень у медицині направлена на використання білків як терапевтичних препаратів та засобів діагностики захворювань. Фармацевтичне застосування білків почалося з природних білків, отриманих з різноманітних живих організмів. Нові препарати створюються штучно, рекомбінантними методами або за допомогою проектування білків. Фармацевтичні препарати, що знаходять широке використання, включають білки крові (наприклад, для лікування гемофілії), тромболітичні ферменти, гормони, цитокіни та фактори росту, білки імунної системи (інтерферони й антитіла, що використовуються для лікування інфекційних захворювань та деяких видів раку) і вакцини.

Прагнення до перемоги будь-якою ціною штовхає деяких спортсменів, культуристів та спецназівців до вживання білкових ліків, що сприяють витривалості та нарощуванню м'язів. Найпопулярнішими є еритропоетин та гормон росту людини.

Уживання цих препаратів заборонено в багатьох змаганнях, але скандали з відомими спортсменами відбуваються щороку. Фармацевтичні білки, як і інші ліки, можуть являти загрозу здоров'ю.

Використання в промисловості

Серед усіх білків у харчовій промисловості активно використовуються численні ферменти. Так, у пекарській промисловості застосовуються альфа-амілаза і протеази; у пивоварінні використовуються численні ферменти ячменю (амілаза, глюканази, протеази); целюлази й пектинази застосовуються для освітлення соків; хімосин, ліпаза і лактаза використовуються для виготовлення кисломолочних продуктів; а папаїн застосовується для пом'якшення м'ясних продуктів. Для виготовлення крохмалю використовують амілазу й глюкоамілазу, а для виготовлення паперу – целюлази і ксиланазу. Також протео- й ліполітичні ферменти часто додаються до мийних засобів.

Іншим застосуванням білків є використання фібрилярних білків для виготовлення волокон, що використовуються, зокрема, в текстильній промисловості. Інші застосування включають використання білків у ряді технологічних процесів у хімічній промисловості, створення біосенсорів тощо [10, 12].

Лабораторна робота № 3

Фізико-хімічні властивості білків

Білки – високомолекулярні полімерні органічні сполуки, структурними одиницями яких є амінокислоти. Останні в молекулі білка з'єднані між собою пептидними зв'язками ($-\text{CO}-\text{NH}-$), утворюють поліпептидні ланцюги. Пептидний зв'язок виникає між карбоксильною групою однієї амінокислоти й аміногрупою іншої, що супроводжується виділенням молекули води. У білків розрізняють кілька рівнів структурної організації. *Первинна структура* білка визначається числом і послідовністю амінокислотних залишків, з'єднаних між собою за допомогою пептидного зв'язку. *Вторинна структура* виникає за рахунок утворення водневих зв'язків між групами $\text{N}-\text{H}$ і $\text{O}=\text{C}$ певного поліпептидного ланцюга, що призводить до впорядкованого розташування гнучкого поліпептидного ланцюга у вигляді спіральної або складчастої структури. *Третинна структура* виникає в результаті взаємодії між бічними ланцюгами амінокислотних залишків поліпептидних ланцюгів. До таких взаємодій належать водневі, дисульфідні та іонні зв'язки, ван-дер-ваальсові й гідрофобні сили. У результаті цих взаємодій поліпептидний ланцюг згортається дуже складним, але разом з тим певним чином, приймаючи характерну просторову конфігурацію. Міжмолекулярні взаємодії між окремими поліпептидними ланцюгами, що мають вторинну та третинну структури, можуть призводити до утворення агрегатів, тобто до виникнення четвертинної структури білка. Структура білкової молекули дуже лабільна й легко руйнується під впливом різних фізичних і хімічних впливів, у результаті чого змінюються її біологічні та фізико-хімічні властивості.

Мета лабораторної роботи – визначити хімічну природу білків.

Завдання

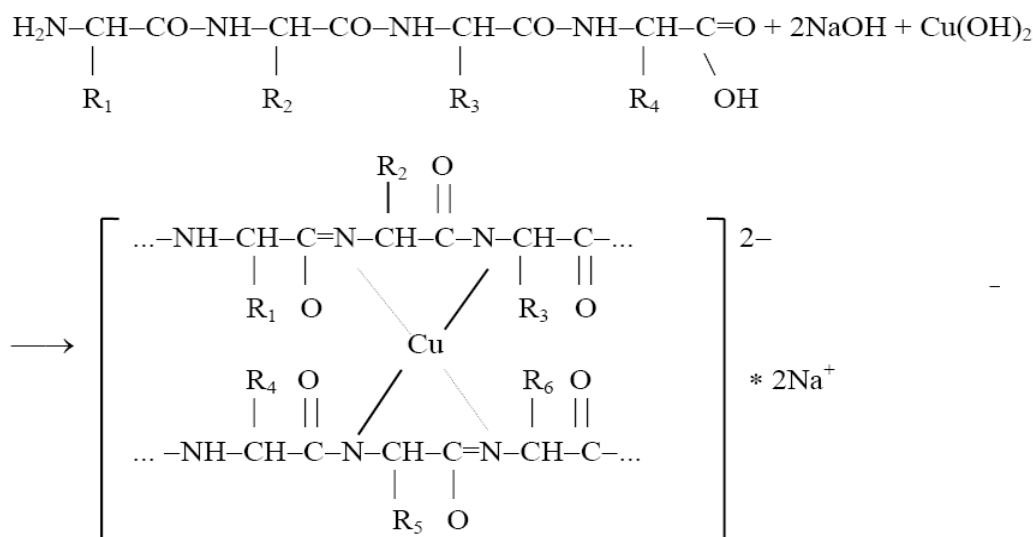
1. Провести реакцію на виявлення пептидного зв'язку.
2. Довести, що до складу білків входять α -амінокислоти.
3. Знайти у складі білків ароматичні та сірковмісні амінокислоти.
4. Визначити склад складних білків.

Хімічна природа білка (кольорові реакції)

Присутність білка у розчинах можна виявити за допомогою кольорових реакцій, обумовлених наявністю в білку амінокислот, їх специфічних груп і пептидних зв'язків. Існують універсальні кольорові реакції – на всі білки (біуретова і нінгідринова) та специфічні – на певні амінокислоти (ксантопротеїнова, Міллона, Фоля й ін.)

Дослід № 1. Біуретова реакція на пептидний зв'язок (Піотровського)

Реакція заснована на утворенні внутрікомплексного з'єднання іонів міді з двома пептидними зв'язками. У лужному середовищі розчин білка при додаванні розчину сульфату міді забарвлюється в рожево-фіолетовий колір. Реакція називається біуретовою, тому що вона характерна і для біурета, складається з двох молекул сечовини $\text{NH}_2\text{-CO-NH-CO-NH}_2$.



Біуретова реакція обумовлена наявністю в білку пептидних зв'язків, які в лужному середовищі утворюють із сірчанокислою міддю комплекси фіолетового кольору з червоним або синім відтінком. Група, що утворює пептидний зв'язок, у лужному середовищі наявна у своїй таутомірній енольній формі.



За надлишку лугу відбувається дисоціація OH -групи, з'являється негативний заряд, за допомогою якого кисень взаємодіє з міддю, виникає солеподібний зв'язок, крім того, мідь утворює додаткові координаційні зв'язки з атомами азоту, котрі беруть участь у пептидному зв'язку, шляхом використання їх електронних пар. Виникаючий таким чином комплекс дуже стабільний. Інтенсивність його забарвлення залежить від концентрації білка та кількості мідної солі в розчині. Біуретовою реакцією виявляються всі без винятку білки, а також продукти їх неповного гідролізу – пептони і поліпептиди. Для ди- та трипептидів біуретова

реакція ненадійна. Відтінок залежить від довжини поліпептидного ланцюга. Пептони при цій реакції дають рожеве або червоне забарвлення. Біуретова реакція позитивна і з речовинами небілкового характеру, що мають у складі не менше двох $-CO-NH_2$ -груп, до них належить, наприклад, оксамід – $NH_2-CO-CO-NH_2$, біурет – $N_2H-CO-NH-CO-NH_2$.

Досліджуваний матеріал: розчин яєчного білка; 1-процентний розчин желатину.

Реактиви: 10-процентний розчин NaOH, 1-процентний розчин $CuSO_4$.

Обладнання: пробірки, крапельниці.

Хід роботи. До п'яти крапель водного розчину білка додають три краплі 10-процентного розчину NaOH і одну краплю 1-процентного розчину $CuSO_4$, перемішують. Уміст пробірки набуває синьо-фіолетового забарвлення. Не можна додавати надлишок $CuSO_4$, оскільки синій осад маскує характерне фіолетове забарвлення біуретового комплексу.

Дослід № 2. Нінгідрінова реакція на α -амінокислоти

Білки, поліпептиди і вільні α -амінокислоти дають синє або фіолетове забарвлення з нінгідрином. При нагріванні білка з водним розчином нінгідрину амінокислоти окиснюються і розпадаються, утворюючи CO_2 , NH_3 і відповідний альдегід. Нінгідрин, будучи сильним окиснювачем, спричиняє окисне дезамінування α -амінокислоти, що приводить до утворення аміаку, двоокису вуглецю, відповідного альдегіду і відновленої форми нінгідрину. Нінгідрин відновлюється та зв'язується з другою молекулою нінгідрину за допомогою молекули аміаку, утворюючи продукти конденсації, пофарбовані в синій, фіолетовий, червоний, а у випадку проліну – в жовтий колір.

Досліджуваний матеріал: розчин яєчного білка, 1-процентний розчин желатину.

Реактиви: нінгідрин, 1-процентний водний розчин.

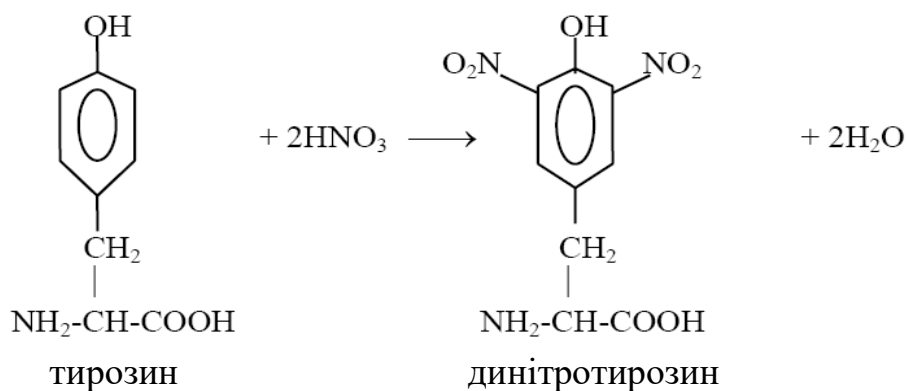
Обладнання: пробірки, крапельниці.

Хід роботи. До п'яти крапель розчину білка доливають п'ять крапель 0,1-процентного водного розчину нінгідрину і кип'ятять протягом 1 – 2 хвилин. З'являється рожево-фіолетове забарвлення. З плином часу розчин синіє. Така реакція не є специфічною, оскільки її дають деякі аміни та аміди кислот.

Дослід № 3. Ксантопротеїнова реакція на циклічні амінокислоти (Мульдера)

Ксантопротеїнова реакція відкриває наявність у білках циклічних амінокислот – триптофану, фенілаланіну, тирозину, що містять у своєму складі бензольне ядро. Більшість білків при нагріванні з концентрованою азотною кислотою дають жовте забарвлення, котре переходить у

помаранчеве при підлюговуванні. Реакція обумовлена нітруванням бензольного кільця цих амінокислот з утворенням нітросполук жовтого кольору. При підлюговуванні виникає хіноїдна структура, пофарбована в оранжевий колір.



Досліджуваний матеріал: розчин яєчного білка, 1-процентний розчин желатину.

Реактиви: концентрована HNO_3 , 10-процентний розчин NaOH .

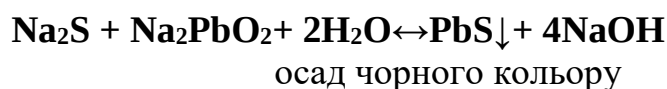
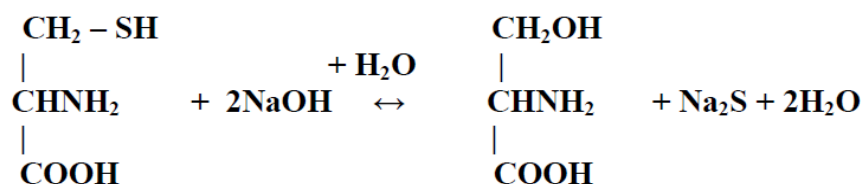
Обладнання: пробірки, крапельниці.

Хід роботи. До п'яти крапель розчину білка додають три краплі концентрованої HNO_3 і обережно кип'ятять. Спочатку з'являється осад згорнутого білка (під впливом кислоти), який при нагріванні забарвлюється в жовтий колір. Після охолодження в пробірку наливають по краплях 10-процентний розчин NaOH до появи оранжевого забарвлення внаслідок утворення натрієвої солі динітротіроzinу.

Дослід № 4. Реакція Фоля на амінокислоти, що містять слабозв'язну сірку (цистеїн, цистин)

Реакція Фоля вказує на наявність у білку амінокислот цистину і цистеїну, що містять слабозв'язну сірку. У метіоніні сірка має міцне з'єднання, тому цю реакцію не дає. Реакція полягає в тому, що при кип'ятінні білка з лугом цистеїн або цистин легко відщеплює сірку у вигляді сірчистого натрію, який з плюмбітом дає чорний чи бурий осад сірчистого свинцю. Інтенсивність забарвлення залежить від кількості в білка амінокислот цистину і цистеїну і від концентрації білка в розчині.

Реакція протікає за такими рівняннями:



Досліджуваний матеріал: розчин яєчного білка, 1-процентний розчин желатину.

Реактиви: 30-процентний розчин NaOH, 5-процентний розчин $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$.

Обладнання: пробірки, крапельниці.

Хід роботи. В одну пробірку наливають розчин яєчного білка, в іншу – розчин желатину. У кожену пробірку додають по п'ять крапель розчину 30-прцентного NaOH і по одній краплі 5-процентного розчину $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$. При інтенсивному кип'ятінні рідина в пробірці з яєчним білком темніє, утворюючи чорний осад сірчистого свинцю. У пробірці з желатином чорного осаду не утворюється, оскільки желатин майже не містить сірковмісних амінокислот.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. У звіті вказати мету, завдання, хід виконання роботи, результати і висновки. Результати роботи оформити у вигляді таблиці 1.

Таблиця 1

Кольорові реакції на білки

Назва реакції	Досліджуваний матеріал	Використані реактиви	Забарвлення	Чим обумовлена реакція?

Дослід № 5. Хромопротеїни

Хромопротеїни є складними білками, простетична група яких представлена будь-яким забарвленням з'єднанням небілкового характеру (пігментом). Забарвлена простетична група різних хромопротеїнів може належати до різних класів органічних сполук (порфірини, каротиноїди, похідні вітамінів та ін.). Найважливішу групу хромопротеїнів складають білки, що містять забарвлене з'єднання порфіринової природи, до них відносять гемоглобін крові, міоглобін м'язів, деякі ферменти (каталаза, пероксидаза, цитохроми й ін.)

Гемоглобін складається з білка глобіну і пігментної частини – гема. За хімічною природою гем являє собою з'єднання протопорфірина з двовалентним залізом, яке за особливих умов може переходити в тривалентне.

Гемінова проба Тейхмана

При нагріванні висушеної крові з крижаною оцтовою кислотою кров'яний пігмент розпадається на глобін і гематин. Гематин при дії хлористого водню, що виникає при взаємодії хлористого натрію (наявного в крові або доданого) й оцтової кислоти, переходить у хлорпохідну – гемін, який викристалізовується при охолодженні. Пробою Тейхмана користуються в судово-медичній експертизі для доведення наявності

кров'яних плям. Гемін відрізняється від гема наявністю тривалентного заліза, поєднаного з атомом хлору.

Досліджуваний матеріал: кров.

Реактиви: крижана CH_3COOH , насичений розчин NaCl .

Обладнання: скло предметне, скло покривне, скляна паличка, мікроскоп.

Хід роботи. Краплю свіжої крові поміщають на, предметне скло і дають їй висохнути, тримаючи скло високо над полум'ям пальника, щоб уникнути нагрівання вище температури 60°C (не кип'ятити, контролювати нагрів дотиком скла до тильної поверхні кисті руки). До підсушеної крові додають 1 – 2 краплі концентрованої оцтової кислоти, ретельно перемішують скляною паличкою, накривають покривним склом і обережно нагрівають до початку кипіння кислоти. При цьому предметне скло слід тримати високо над полум'ям пальника, щоб уникнути википання рідини. Потім препарат охолоджують і розглядають під мікроскопом кристали солянокислого геміну, що утворилися при руйнуванні гемоглобіну. Вони мають форму ромбоїдальних паличок. Якщо виявити кристали не вдається, то піднімають покривне скло, додають 2 – 3 краплі концентрованої оцтової кислоти, нагрівають і після охолодження знову досліджують під мікроскопом.

При дослідженні старих плям гемінову пробу готують із зішкрібом плями або ж шматочок тканини з плямою ріжуть на дрібні частини. Перед обробкою крижаною оцтовою кислотою додають один маленький кристалик хлористого натрію.

Дослід № 6. Фосфопротеїни

Фосфопротеїни являють собою складні білки, що складаються з простого білка й небілкової частини – фосфорної кислоти. Фосфорна кислота пов'язана з білком через гідроксильну групу оксіамінокислот – серину і треоніну. До цієї групи білків належать казеїноген молока, вітелін яєчного жовтка, іхтулін ікри та деякі інші. Фосфопротеїни слугують одним з поживних матеріалів для розвитку ембріонів.

Досліджуваний матеріал: казеїн.

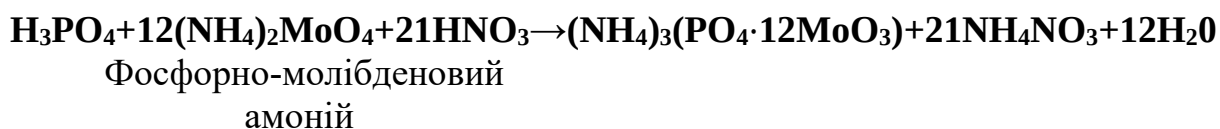
Реактиви: CH_3COOH , 1-процентний розчин CuSO_4 , 10-процентний розчин NaOH , 10-процентний розчин HNO_3 , фенолфталеїн, молібденовий реактив.

Обладнання: воронки, фільтри, пробірки, скляна паличка, піпетки, спиртівка.

Хід роботи. 1. Гідроліз казеїну. У пробірку поміщають виділений з молока казеїн і доливають 2 мл 10-процентного розчину їдкого натру. Кип'ятять 10 – 15 хв на азбестовій сітці зі зворотним холодильником, потім охолоджують пробірку та проводять реакцію на продукти гідролізу.

2. **Виявлення білка.** Білок виявляють біуретовою реакцією. У пробірку до трьох крапель гідролізату додають одну краплю 1-процентного розчину сірчаної кислоти. З'являється рожево-фіолетове забарвлення.

3. **Виявлення фосфату.** Гідролізат, що залишився, підкислюють декількома краплями 10-процентного розчину азотної кислоти в присутності 1–2 крапель фенолфталеїну до знебарвлення і відфільтровують у суху пробірку. До п'яти крапель фільтрату доливають 20 крапель молібденового реактиву й кип'ятять кілька хвилин. Рідина забарвлюється в жовтий колір, а потім при охолодженні випадає жовтий осад фосфорно-молібденового амонію, який указує на наявність фосфату в гідролізаті.



Дослід № 7. Глікопротеїди. Відкриття вуглеводного компонента в яєчному білку

Глікопротеїди – складні білки, до простетичної групи яких входять вуглеводи та їхні похідні. Глікопротеїди містяться майже в усіх тканинах і рідинах організму, носять загальну назву муцинів та мукоїдів і виконують опорну й захисну функції.

Досліджуваний матеріал: яєчний білок.

Реактиви: концентрована H_2SO_4 , 1-процентний розчин тимолу, концентрована CH_3COOH .

Обладнання: пробірки, крапельниці.

Хід роботи. При взаємодії концентрованої сірчаної кислоти з гексозами або пентозами відбувається дегідратація їх: з пентоз утворюється фурфурол, а з гексоз – оксиметилфурфурол. Вони дають з тимолом або α -нафтолом в присутності концентрованої сірчаної кислоти продукти конденсації червоного кольору. До 10 крапель профільтрованого гідролізату додають 2–3 краплі 1-процентного розчину тимолу, перемішують і по стінці пробірки обережно нашаровують 20 крапель концентрованої сірчаної кислоти. При струшуванні на дні пробірки утворюється червоне забарвлення, внаслідок утворення продукту конденсації фурфуролу з тимолом.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. У звіті вказати мету, завдання, хід виконання роботи, результати і висновки. Результати робіт зі складними білками оформити в таблицю 2.

Таблиця 2

Якісні реакції на відкриття складових частин складних білків

Найменування складного білка	Хімічна структура простетичної групи	Використані реактиви	Продукти реакції	Чим обумовлена реакція?

Контрольні питання

1. Що являє собою білок?
2. Як пов'язані між собою амінокислоти в молекулі білка? Напишіть трипептид з різних амінокислот. За допомогою якої реакції можна їх відкрити?
3. Напишіть амінокислоти, якщо мають у своєму складі бензольне кільце. За допомогою якої реакції їх можна відкрити?
4. Напишіть амінокислоти, що містять сірку. За допомогою якої реакції їх можна відкрити?
5. Що відкриває нінгідрінова реакція?
6. Значення кольорових реакцій на білки.
7. Класифікація амінокислот. Будова (формули) і номенклатура амінокислот.
8. Перелічіть існуючі структури білків.
9. Які існують додаткові зв'язки (крім основного пептидного), що зберігають просторову конфігурацію молекули білка?

7. НУКЛЕОТИДИ

Нуклеотиди – фосфорні ефіри нуклеозидів, нуклеозідфосфати. Вільні нуклеотиди, зокрема АТФ, цАМФ, АДФ, відіграють важливу роль в енергетичних та інформаційних внутрішньоклітинних процесах, а також виступають складовими частинами нуклеїнових кислот і багатьох коферментів.

Нуклеотиди – складні ефіри нуклеозидів та фосфорних кислот. Нуклеозиди зі свого боку є N-глікозидами, що містять гетероциклічний фрагмент, пов'язаний через атом азоту з C-1 атомом залишку цукру [7, 8, 10, 13].

Будова нуклеотидів

У природі найбільш поширені нуклеотиди, які є β -N-глікозидами пуринів або піримідинів і пентоз – D-рибози чи D-2-дезоксирибози. Залежно від структури пентози розрізняють рибонуклеотиди і дезоксирибонуклеотиди, котрі є мономерами молекул складних

біологічних полімерів (полінуклеотидів) – відповідно РНК або ДНК [12]. Фосфатний залишок у нуклеотидах зазвичай утворює складноєфірний зв'язок з 2', 3' чи 5'-гідроксильних груп рибонуклеозид, у разі 2'-дезоксинуклеозидів етерифікування 3' чи 5'-гідроксильні групи. Більшість нуклеотидів є моноєфіри ортофосфорної кислоти, проте відомі і дієфіри нуклеотидів, у яких етерифіковані два гідроксильних залишки наприклад циклічні нуклеотиди циклоаденін і циклогуанін Монофосфат (цАМФ і цГМФ). Поряд з нуклеотидами ефірами ортофосфорної кислоти (Монофосфат) у природі також поширені й моно- і дієфіри пірофосфорної кислоти (дифосфати, наприклад, аденозиндифосфат) та моноєфіри тріполіфосфорної кислоти (трифосфати, наприклад, аденозинтрифосфат).

Сполуки, що складаються з двох нуклеотидових молекул, називаються динуклеотид, з трьох – трінуклеотидами, з невеликого числа олігонуклеотидами, а з багатьох – полінуклеотидами, або нуклеїновими кислотами.

Назви нуклеотидів є аббревіатурами у вигляді стандартних три- або чотирибуквених кодів. Якщо аббревіатура починається з малої літери «д» (англ. d), значить, мають на увазі дезоксирибонуклеотиди; відсутність букви «д» означає рибонуклеотид. Якщо аббревіатура починається з малої літери «ц» (англ. c), значить мова йде про циклічну форму нуклеотиду (наприклад, цАМФ). Перша велика літера аббревіатури вказує на конкретне значення азотистих основ чи групу можливих нуклеїнових складових, друга буква – на кількість залишків фосфорної кислоти в структурі (М– моно-, Д – ди, Т – три-), а третя велика буква – завжди буква Ф («фосфат»; англ. P).

Латинські й українські коди для нуклеїнових складових:

А – А: Аденін;

Г – Г: Гуанін;

Ц – Ц: Цитозин;

Т – Т: Тимін (5-метилурацил), не зустрічається в РНК, займає місце урацилу в ДНК;

У – У: Урацил, зустрічається в ДНК у бактеріофагів, займає місце тиміну в РНК.

Загальноприйняті буквені коди для позначення нуклеотидних складових відповідають номенклатурі, прийнятій Міжнародним товариством теоретичної та прикладної хімії (International Union of Pure and Applied Chemistry, скорочено – англ. IUPAC, «ІЮПАК») і Міжнародним товариством біохімії та молекулярної біології (International Union of Biochemistry and Molecular Biology (англ.), скорочено – англ. IUBMB). Якщо при секвенування послідовності ДНК або РНК виникає сумнів у точності визначення того чи іншого нуклеотиду, крім п'яти основних (А, С, Т, Г, У), використовують інші літери латинського алфавіту залежно від того, які найбільш імовірні нуклеотиди можуть перебувати в певній

позиції послідовності. Ці ж додаткові літери використовують для позначення вироджених (не збігаються у різних гомологічних послідовностях) позицій, наприклад під час запису послідовності праймерів для ПЛР.

Довжину секвенування ділянок ДНК (гена, сайта, хромосоми) або всього генома вказують у парах нуклеотидів (пн), чи парах підстав (англ. Basepairs, скорочено bp), маючи на увазі елементарну одиницю дволанцюгової молекули нуклеїнової кислоти, складену з двох спарених комплементарних складових.

У домоллекулярній генетиці для позначення найменшого елемента в структурі ДНК, який може бути підданий спонтанній або індукованій мутації, застосовувався особливий термін «рекон». Нині показано, що таким найменшим елементом є один нуклеотид, тому цей термін більш не вживається. Для визначення поняття «одиниця мутації» застосовувався термін «мутон». На сьогодні показано, що фенотипічно мутація може проявитися навіть при заміні одного нуклеотиду (або азотистої складової в складі нуклеотиду), таким чином, термін «мутон» відповідає одному нуклеотиду.

Лабораторна робота № 4

Фізико-хімічні властивості нуклеотидів

Нуклеїнові кислоти – високомолекулярні сполуки, побудовані з великої кількості моонуклеотидів, з'єднаних один з одним фосфодієфірним зв'язком. Моонуклеотиди складаються з пуринової або піримідинової основи, вуглеводного компонента (рибози або дезоксирибози) і фосфорної кислоти. Нуклеїнові кислоти мають кислотні властивості внаслідок дисоціації наявних у них залишків фосфорної кислоти. Різні нуклеїнові кислоти характеризуються пуриновими й піримідиновими основами, що входять до їх складу, і пентозами. Дезоксирибонуклеїнова (ДНК) кислота являє собою полімер, що складається з мономерів-дезоксирибонуклеозидмонофосфатів. Рибонуклеїнова кислота є полімером, що складається з рибонуклеозидмонофосфатів.

Мета лабораторної роботи – визначити структурні компоненти нуклеотидів.

Завдання

1. Виконати кислотний гідроліз нуклеотидів.
2. Визначити склад нуклеотидів за допомогою якісних реакцій.

Дослід № 1. Кислотний гідроліз нуклеїнових кислот

Для вивчення складу нуклеїнових кислот виконують кислотний гідроліз дріжджів у присутності сірчаної кислоти. При тривалому гідролізі нуклеїнові кислоти розпадаються на мононуклеотиди, які зі свого боку гідролізуються на пуринові або піримідинові основи, пентозу і фосфорну кислоту.

Досліджуванний матеріал: дріжджі.

Реактиви: 10-процентний розчин H_2SO_4 , концентрований розчин аміаку, 1-процентний розчин AgNO_3 , молібденовий реактив, концентрована H_2SO_4 , тимол.

Обладнання: круглодонна колба з повітряним холодильником, воронка з фільтром, мірний циліндр, пробірки.

Хід роботи. Поміщають 1 г пекарських дріжджів у круглодонну колбу ємністю 100 мл, додають 20 мл 10-процентного розчину сірчаної кислоти і 20 мл дистильованої води. Колбу закривають пробкою з довгою скляною трубкою і кип'ятять у витяжній шафі протягом години на азбестовій сітці при слабкому нагріванні. Через годину після початку кипіння нагрівання рідини припиняють, дають охолонути, уміст колби переносять у циліндр, доводять водою до початкового об'єму і фільтрують. З фільтратом проробляють якісні реакції на складові частини нуклеїнових кислот.

Дослід № 2. Срібна проба на пуринові основи

Хід роботи. Нейтралізують 10 крапель гідролізату однією краплею концентрованого аміаку і додають п'ять крапель 1-процентного розчину азотнокислого срібла. Через 3 – 5 хв випадає слабкий бурий осад срібних похідних пуринових основ.

Дослід № 3. Якісна реакція Моліша на пентозне угруповання

Хід роботи. При взаємодії концентрованої сірчаної кислоти з гексозами або пентозами відбувається дегідратація їх: з пентоз утворюється фурфурол, а з гексоз – оксиметилфурфурол. Вони дають з тимолом чи α -нафтолом у присутності концентрованої сірчаної кислоти продукти конденсації червоного кольору.

До 10 крапель профільтрованого гідролізату додають 2 – 3 краплі 1-процентного розчину тимолу, перемішують і по стінці пробірки обережно нашаровують 20 крапель концентрованої сірчаної кислоти. При струшуванні на дні пробірки утворюється червоне забарвлення внаслідок утворення продукту конденсації фурфуролу з тимолом.

Дослід № 4. Молібденова проба на фосфорну кислоту

Хід роботи. До 3–5 крапель гідролізату доливають 20 крапель молібденового реактиву і кип'ятять протягом кількох хвилин. Рідина

забарвлюється в лимонно-жовтий колір. При охолодженні утворюється жовтий кристалічний осад комплексної сполуки фосфорно-молібденовокислого амонію.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. У звіті вказати мету, завдання, хід виконання роботи, результати і висновки.

Контрольні питання

1. Яку кислоту називають нуклеїною і яка її будова?
2. Що являють собою ДНК і РНК? Види РНК.
3. Який принцип виділення з тканини ДНК і її виявлення?
4. Якісні реакції на складові частини нуклеїнових кислот.
5. Що являють собою мононуклеотиди? Які продукти їх гідролізу? Написати реакцію гідролізу мононуклеотида (формулами).
6. Як з'єднуються між собою мононуклеотиди в молекулі нуклеїнових кислот? Напишіть формулу динуклеотида.

8. ФЕРМЕНТИ

Ферменти (лат. *Fermentum* – закваска, бродіння) – біологічні каталізатори білкової природи, які синтезуються в клітинах живих організмів, прискорюють і координують біохімічні реакції, що регулюють обмін речовин (метаболізм) [7, 8, 10, 14].

Залежно від типу хімічної реакції, котру каталізують ферменти, розрізняють шість класів ферментів:

- 1-й клас – оксидоредуктази (каталізують окисно-відновні реакції);
- 2-й клас – трансферази (каталізують реакції перенесення окремих атомів та груп від одних субстратів до інших);
- 3-й клас – гідролази (каталізують реакції гідролітичного розщеплення субстратів);
- 4-й клас – ліази (каталізують процеси відщеплення певних груп негідролітичним шляхом з утворенням подвійного зв'язку або приєднання будь-яких груп за місцем подвійного зв'язку);
- 5-й клас – ізомерази (прискорюють процеси ізомеризації органічних сполук);
- 6-й клас – лігази (синтетази), каталізують реакції синтезу різних речовин, використовуючи енергію АТФ та інших макроергічних сполук.

Згідно з «Номенклатурою ферментів», яку в 1972 р. видала Міжнародна біохімічна спілка, використовують дві назви ферментів – систематичну, що вказує на дію ферментів, ідентифікуючи їх, та робочу (тривіальну), якою користуються у щоденній практиці та яка повинна бути короткою. Усі ферменти також мають певний шифр, де чотири відокремлені крапками цифри мають конкретний зміст: перша цифра

вказує на належність ферментів до певного класу, друга – до підкласу, третя – до підпідкласу, четверта – на порядковий номер ферменту в його підпідкласі. На початку шифру того чи іншого ферменту ставляться дві літери – КФ, що означає «класифікація ферментів». Так, фермент ліпаза, котра каталізує розщеплення триацилгліцеринів до гліцерину й жирних кислот, належить до 3-го класу (гідролаз), до першого підкласу, тобто до гідролаз, які діють на складноефірні зв'язки, до першого підпідкласу – каталізаторів гідролітичного розщеплення ефірів карбонових кислот і спиртів. Порядковий номер цього ферменту в підпідкласі – 3, його шифр – КФ 3.1.1.3.

Залежно від хімічного складу ферменти прийнято поділяти на прості та складні. Прості ферменти – прості білки, побудовані лише із залишків амінокислот. Складні ферменти – білки, молекула яких має небілкову частину, зокрема кофермент. Останній з'єднується з білковою частиною ферменту – апоферментом слабким нековалентним зв'язком, здатним легко розщеплюватися, іноді – міцним ковалентним зв'язком, утворюючи так звані простетичні групи, котрі залишаються приєднаними до молекули білка протягом усього каталізу. Природний комплекс апоферменту з коферментом називається холоферментом.

У молекулі ферменту розрізняють активні й алостеричні центри. В активному центрі зі свого боку розрізняють субстратну та каталітичну ділянки. Перша відповідає за приєднання субстрату до ферменту, а друга – за його перетворення. У складних ферментів роль активних центрів виконують кофермент та частина апоферменту, яка безпосередньо сполучається з ними. До алостеричного центру приєднуються молекули, але не субстрати, які зв'язуються із цим центром (так звані модулятори, або алостеричні ефектори) і за будовою (стерично) не схожі на субстрат, а, зв'язуючись з алостеричним центром, змінюють конформацію молекули ферменту, формуючи активний центр чи роз'єднуючи його. Відповідно алостеричні ефектори називаються позитивними (активатори) або негативними (інгібітори). Алостеричними ефекторами можуть бути гормони та їхні похідні, різні метаболіти (нормальні продукти обміну речовин), медіатори тощо.

Для ферментів характерна абсолютна (до неї належать стереоізомерна) й відносна специфічність. У першому випадку фермент діє на один субстрат чи групу субстратів з однаковим типом будови (групова абсолютна специфічність), у другому – фермент перетворює групу близьких за структурою речовин з однаковим типом зв'язку. Прикладом ферментів з абсолютною специфічністю є уреаза, аргіназа, а з відносною – протеолітичні ферменти, які розщеплюють білки, жири, вуглеводи; кожний з них діє на групу субстратів однакової природи.

Для ферментів є характерним вплив на швидкість ферментативного перетворення активаторів та інгібіторів. Розрізняють зворотне й

незворотне гальмування каталітичної дії. Незворотне гальмування викликають сильні реагенти, солі важких металів, температурні фактори, що призводять до порушення нативної структури ферментів. Зворотне гальмування може бути конкурентним і неконкурентним. Конкурентне гальмування зумовлюють інгібітори, подібні за структурою до субстрату, внаслідок чого виникає конкуренція між субстратом та інгібітором за активні центри ферменту.

Швидкість ферментативних реакцій залежить від:

концентрації ферментів;

концентрації субстрату (залежність швидкості ферментативного процесу від концентрації субстрату характеризується константою Міхаеліса);

концентрації водневих іонів (рН) середовища (існують оптимальні значення рН для активної дії кожного ферменту);

температури середовища;

наявності активаторів та інгібіторів.

Сировиною для експериментального й промислового одержання ферменту є, головним чином, біологічний матеріал – мікроорганізми, тканини рослин і тварин. Ферменти застосовують у сироварінні, виноробстві, пивоварінні; протеолітичні ферменти широко використовують для обробки шкіри та м'ясних продуктів.

Великого значення в аналітичній практиці й біохімічній технології набуває гетерогенний ферментативний каталіз, який виконують за допомогою іммобілізованих – нерозчинних високоактивних, стійких до дії денатуруючих агентів комплексів ферментів з різними носіями. У медицині широко застосовують такі очищені ферментні препарати, як трипсин, хімотрипсин кристалічний, хімотрипсин, рибонуклеаза, дезоксирибонуклеаза, колагеназа, еластолітин, фібринолізин, стрептодеказа, стрептоліаза, лідаза, ронідаза, пепсин, панкреатин, ораза та ін. Визначення активності ферментів у рідких біологічних середовищах широко застосовують у медицині для діагностики багатьох захворювань.

Лабораторна робота № 5

Фізико-хімічні властивості ферментів

Ферменти – біологічні каталізатори білкової природи. Вони наявні у всіх тканинах, клітинах, внутрішньоклітинних органелах і біологічних рідинах. Завдяки ферментам обмін речовин у живих організмах протікає з великою швидкістю при температурі тіла і без участі сильнодіючих хімічних реагентів.

Ферменти як каталізатори: 1) не викликають будь-яких реакцій, неможливих за термодинамічними законами; 2) збільшують швидкість як прямої, так і зворотної реакції оборотного хімічного процесу; 3) залишаються хімічно незмінними; 4) у дуже малих кількостях здатні перетворювати незрівнянно великі маси субстратів.

Відповідно до сучасних уявлень ферменти збільшують швидкість хімічної реакції, знижуючи її енергетичний бар'єр. Провідну роль у механізмі ферментативного каталізу відіграють проміжні ферменти–субстратні комплекси, утворення яких визначається тонкою структурою активного центру й унікальною структурою всієї молекули ферменту.

Ферменти ділять на прості та складні. У простих ферментів функції контактних і каталітичних груп активного центру визначаються тільки радикалами амінокислотних залишків, у складних ферментів активний центр включає також коферменти й іони металів.

Мета лабораторної роботи – вивчити деякі фізико-хімічні властивості ферментів.

Завдання

1. Визначити вплив температури і рН на активність ферментів.
2. Вивчити специфічність дії ферментів.
3. Провести відкриття деяких класів ферментів.

Дослід № 1. Вплив температури на швидкість ферментативної реакції

Швидкість ферментативних реакцій, як і неферментативних, збільшується при підвищенні температури. Але, у зв'язку з білковою природою ферментів, підвищення температури може призвести до їх денатурації та зниження швидкості реакції. Денатурація тим значніша, чим вища температура і чим довший час інкубації.

Досліджуваний матеріал: слина.

Реактиви: 1-процентний розчин крохмалю, реактив Люголя, дистильована вода.

Обладнання: піпетки, пробірки, термостат, спиртівка, крижана баня, предметні скельця.

Хід роботи. Наливають в чотири пробірки по 0,5 мл крохмалю. Ще в чотирьох пробірках наливають по 0,5 мл розведеної (1:5) слини. Беруть першу пару пробірок (одна з ферментом, інша – з крохмалем) і поміщають в баню з льодом. Другу пару залишають при кімнатній температурі. Третю пару пробірок поміщають у термостат (37°C), а четверту – в киплячу водяну баню. Через 5 хвилин уміст кожної пари пробірок зливають разом, ретельно перемішують і залишають стояти ще 10 хв за тих же умов. З третьої пробірки піпеткою відбирають три краплі рідини й роблять реакцію з краплею йоду на склі. Якщо з'являється синє забарвлення, розчини залишають стояти ще 10 хв і після цього повторюють реакцію з

йодом на склі. Після цього додають по дві краплі реактиву Люголя в усі пробірки та спостерігають за забарвленням.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. Результати записують у таблицю 3. Роблять висновки про характер впливу температури на активність амілази.

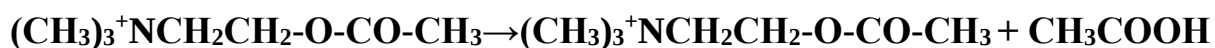
Таблиця 3

Вплив температури на активність ферментів

№ пробірки	Температура інкубації, °С	Забарвлення з йодом
1	0	
2	20	
3	37	
4	100	

Дослід № 2. Вплив температури на активність холіноестерази

Холіноестераза – фермент, який відіграє істотну роль у процесі передачі збудження холінергічними нервами на сприймаючі тканини. Холіноестераза розщеплює ацетилхолін – медіатор нервового збудження на холін і оцтову кислоту.



У процесі реакції відбувається закислення середовища за рахунок накопичення оцтової кислоти, що можна виявити за допомогою індикатора. У роботі використовують двоколірний індикатор бромтимоловий синій. Інтервал зміни забарвлення перебуває в області рН (7,6–6,0), у кислому середовищі забарвлення – жовте, у лужному – синє, проміжне забарвлення – зелене. Інкубацію ферменту і субстрату проводять за різних температурних умов. Про інтенсивність ферментативного гідролізу ацетилхоліну судять за забарвленням інкубаційної суміші.

Досліджуваний матеріал: сироватка крові (розведення 1:50) – джерело холіноестерази.

Реактиви: готують на дистильованій воді, звільненій від CO₂, 0,5-процентний розчин ацетилхоліну, 0,02-процентний розчин бромтимолового синього 2,5г сухого індикатора розтирають у ступці з 4,5 мл 0,1 н. розчину їдкого натру, отриманий розчин переносять у мірну колбу на 50 мл, додають 12,5 мл 0,1 н. розчину борної кислоти, приготованого на 0,1 М розчині KCl, розчин доводять водою до мірної риски, перед дослідом розчин розводять водою в 2 рази.

Обладнання: пробірки, піпетки, термостат, баня з льодом.

Хід роботи. Беруть три пробірки. Вносять у кожну пробірку по 2,5 мл сироватки крові й по 0,5 мл бромтимолового синього. Одну з пробірок поміщають у термостат (37°C), другу залишають при кімнатній температурі, третю поміщають у крижану баню. Через 5 хв, необхідних

для вирівнювання температури, в усі три пробірки вносять по 0,5 мл розчину ацетилхоліну. Уміст пробірок перемішують і знову залишають за відповідних температурних умов. Через 10 – 15 хв відзначають колір у кожній пробірці.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. Результати записують у таблицю 4. Роблять висновки про залежність швидкості реакції від температури.

Таблиця 4

Вплив температури на активність холіноестерази

№ пробірки	Температура інкубації, °С	Забарвлення з бромтимоловим синім
1	2	3
1	0	
1	2	3
2	20	
3	37	
4	100	

Дослід № 3. Вплив рН на швидкість ферментативних реакцій

Усі ферменти проявляють максимальну активність при певному оптимальному значенні рН. Нижче і вище оптимуму рН спостерігається зниження активності ферментів. Залежність активності від рН пояснюється впливом на ступінь іонізації іоногенних груп ферменту, а також субстрату.

Оптимум рН для дії амілази слини можна визначити при взаємодії її з крохмалем за різних значень рН середовища. Про ступінь розщеплення крохмалю можна судити за реакцією крохмалю з розчином йоду. При оптимальному значенні рН розщеплення крохмалю відбудеться повністю (забарвлення з йодом відсутнє). У міру віддалення від оптимуму рН у кислу або лужну зони розщеплення крохмалю відбудеться тільки частково до стадії декстринів чи крохмаль взагалі не піддається розщепленню.

Досліджуваний матеріал: слина.

Реактиви: 1-процентний розчин крохмалю, реактив Люголя, 15 М фосфатного буферного розчину з різними значеннями рН (5,5 – 8,0).

Обладнання: пробірки, піпетки, термостат.

Хід роботи. Наливають у чотири пробірки по 0,5 мл крохмалю, 0,5 мл розведеної (1:5) слини. Потім у першу пробірку додають 0,5 мл буферного розчину з рН 5,8, у другу пробірку – 0,5 мл буферного розчину з рН 6,5, у третю – 0,5 мл буферного розчину з рН 7,0 і в четверту – 0,5 мл буферного розчину з рН 8,0. Поміщають усі пробірки на 10 хв у термостат (37°C). Після цього додають по дві краплі реактиву Люголя в усі пробірки й спостерігають за забарвленням.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. Результати записують у таблицю 5. Роблять висновки про характер впливу рН на активність амілази.

Таблиця 5

Вплив рН на активність амілази слини		
№ пробірки	Рн	Забарвлення з йодом
1	5,5	
2	6,5	
3	7,0	
4	8,0	

Дослід № 4. Специфічність дії амілази

Специфічність дії виражається у здатності ферментів каталізувати реакції одного стереоізомеру, одного певного субстрату або групи подібних за будовою субстратів, що характеризуються певним типом хімічного зв'язку чи наявністю певного хімічного угруповання. Ця властивість є найбільш важливою серед властивостей біологічних каталізаторів. Вона обумовлена наявністю в молекулі ферменту активного центру, відповідального за каталітичну активність, формування якого відбувається під впливом субстрату в момент взаємодії. Специфічність дії в роботі вивчається на прикладі α -амілази слини і сахарози, отриманої з дріжджів.

α -амілаза каталізує гідролітичні розщеплення крохмалю з утворенням мальтози. Проміжними продуктами в цій реакції є різні декстрини (аміно-, еритро-, хро-, мальтодекстрини). Ступінь гідролізу крохмалю можна контролювати за кольоровою реакцією з йодом. Крохмаль дає з йодом синє забарвлення, декстрини залежно від розмірів молекул фарбуються з йодом у різні кольори (синьо-фіолетовий, червоно-бурий, жовто-бурий), а кінцеві продукти з йодом забарвлення не дають. Другою контрольною пробою може бути реакція на наявність вільних альдегідних груп.

Досліджуваний матеріал: слина.

Реактиви: 1-процентний розчин крохмалю, 1-процентний розчин сахарози, 10-процентний розчин NaOH, 1-процентний розчин CuSO_4 , реактив Люголя, дистильована вода.

Обладнання: пробірки, піпетки, термостат.

Хід роботи. Готують дві інкубаційні проби, як зазначено в таблиці 6, використовуючи як субстрати для амілази дві речовини – крохмаль і сахарозу.

Таблиця 6

Рецептура інкубаційних проб та результати досліджень

№ проби	Амілаза слини (мл)	Крохмаль (мл)	Сахароза (мл)	Реакція Троммера (+, -)	Реакція з йодом (+, -)
1	1	1			
2	1		1		

Проби витримують у термостаті 15 хв при температурі 37°C. Потім з першою пробою виконують дві реакції: Троммера і реакцію з йодом. З другою пробою виконують реакцію Троммера.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. Вносять у таблицю 6 результати реакцій. Роблять висновок про специфічність амілази.

Дослід № 5. Специфічність дії сахарози

Сахараза каталізує розщеплення сахарози з утворенням глюкози і фруктози. Дію сахарози можна виявити за появою в інкубаційному середовищі вільної глюкози, що дає позитивну реакцію Троммера внаслідок наявності в молекулі глюкози вільного напівацетатного альдегіду. Сахараза не володіє відновлювальними властивостями.

Досліджуваний матеріал: препарат сахарози.

Реактиви: 1-процентний розчин крохмалю; 1-процентний розчин сахарози; 10-процентний розчин NaOH; 1-процентний розчин CuSO₄; реактив Люголя; дистильована вода.

Обладнання: пробірки, піпетки, термостат.

Хід роботи. Готують дві інкубаційні проби, як зазначено в таблиці 7, використовуючи як субстрати для сахарози дві речовини – крохмаль і сахарозу.

Таблиця 7

Рецептура інкубаційних проб та результати досліджень

№ проби	Сахараза (мл)	Крохмаль (мл)	Сахароза (мл)	Реакція Троммера (+, -)	Реакція з йодом (+, -)
1	1	1			
2	1		1		

Проби витримують у термостаті протягом 15 хв при температурі 37°C. Потім з другою пробою виконують дві реакції: Троммера і реакцію з йодом. З першою пробою виконують реакцію Троммера.

Вимоги до формлення лабораторної роботи. Вносять у таблицю результати реакцій. Роблять висновок про специфічність сахарози.

Лабораторна роботи № 6.

Відкриття ферментів різних класів

Усі ферменти ділять на шість класів залежно від типу реакцій, котрі вони каталізують.

1. *Оксидоредуктази* – ферменти, що каталізують окиснювально-відновні реакції.

2. *Трансферази* – ферменти, які каталізують реакції перенесення різних груп.

3. *Гідролази* – ферменти, що прискорюють реакції гідролізу.

4. *Ліази* – ферменти, котрі відчеплюють від субстрату певні групи негідролітичним шляхом з утворенням подвійного зв'язку або, навпаки, приєднують групи до подвійних зв'язків.

5. *Ізомерази* – ферменти, що прискорюють реакції ізомеризації.

6. *Лігази (синтетази)* – ферменти, які каталізують реакції синтезу.

Ідентифікація оксидоредуктаз у біологічному матеріалі

У реакціях, що каталізуються оксидоредуктазами, субстрат, який окиснюється, є донором водню або електронів, роль акцептора можуть виконувати різні сполуки: - коферменти НАД(Р), ФМН, ФАД, КоQ, O₂, органічні сполуки, цитохроми, ксенобіотики. Для більшості ферментів цієї групи рекомендовані назви – дегідрогенази або редуктази. Коли акцептором слугує O₂, використовують термін «оксидаза», якщо O₂ впроваджується в субстрат, фермент називається «оксигеназ». Пероксидаза є ферментом, котрий утилізує H₂O₂ як акцептор. Каталаза – фермент, здатний каталізувати реакцію, в яку втягується донорно-акцепторна пара, представлена двома молекулами перекису водню.

Дослід № 1. Відкриття пероксидази

Ферменти, що окиснюють субстрати за участю перекису водню, називаються пероксидазами. Пероксидази зустрічаються особливо широко в рослинних клітинах, у крові тварин, м'язах, молоці. Субстратами пероксидаз є феноли й ароматичні аміни (пірогалол, гваякол, гідрохінон, тирозин, бензидин та ін.). Пероксидази являють собою протеїди, що містять як активну групу залізопорфіриновий комплекс. Унаслідок цього вони пригнічуються HCN, H₂S, гідроксиламіном, тіосечевиною. Пероксидази пригнічуються також перекисом водню, тому необхідно стежити за тим, щоб його надлишку при пробах на пероксидазу не було. Пероксидази порівняно з іншими ферментами досить стійкі до інактивації нагріванням.

Досліджуваний матеріал: екстракт хрону.

Реактиви: 0,5-процентний розчин H₂O₂, гваякова смола.

Обладнання: пробірки, піпетки.

Хід роботи. Додати до 0,5 мл суспензії подрібненого у воді хрону, 0,1 мл перекису водню і 0,5 мл гваякової смоли. З'являється інтенсивне забарвлення утвореної індофенолової сині.

Дослід № 2. Відкриття каталази

Каталаза – фермент, поширений у клітинах як тваринних, так і рослинних організмів. Каталаза прискорює реакцію розкладання перекису водню на воду й молекулярний кисень



Досліджуваний матеріал: кров, картопляний сік.

Реактиви: 3-процентний розчин H_2O_2 .

Обладнання: пробірки, піпетки.

Хід роботи. До кількох краплин крові додають 1 – 2 мл 3-процентного розчину перекису водню. Відбувається рясне виділення кисню. Ту ж реакцію виконати з картопляним соком.

Дослід № 3. Відкриття дії ферментів гідролаз

Ферменти класу гідролаз каталізують реакції розпаду хімічних сполук. Причому ці реакції йдуть з приєднанням елементів води. Дія гідролітичних ферментів зворотна. Усі ферменти травного тракту, що прискорюють переварювання білків, жирів і вуглеводів, відносять до класу гідролаз.

Пепсин – протеолітичний фермент, що належить до класу гідролаз, підкласу пептидгідролаз. Особливістю дії пепсину є те, що оптимум дії ферменту спостерігається при рН 1,5 – 2,5. Тобто він максимально активний у дуже кислому середовищі. Протеолітичну активність ферменту можна спостерігати, додавши до підкисленого розчину невелику кількість білка фібрину. Фібрин, нерозчинний у воді, під дією пепсину розчиняється – відбувається ферментативний гідроліз фібрину до розчинних у воді пептидів.

Досліджуваний матеріал: фібрин.

Реактиви: розчин пепсину.

Обладнання: пробірки, піпетки, термостат.

Хід роботи. У пробірку наливають 0,5 мл розчину пепсину й опускають невелику грудочку фібрину. Обидві пробірки поміщають у термостат (37°C) на 1 годину. Спостерігають розчинення фібрину.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. У звіті вказати мету, завдання, хід виконання роботи, результати, розрахунки та висновки про вплив рН і температури на активність ферментів. Описати хімізм дії ферментів оксидоредуктаз та гідролаз.

Контрольні питання

1. Що називають швидкістю хімічної реакції: а) для гомогенної реакції, б) для гетерогенної реакції?
2. Які фактори впливають на швидкість хімічної реакції?
3. Що являє собою енергія активації?
4. Що називають константою хімічної рівноваги?
5. Який принцип покладено в основу класифікації ферментів? Назвіть основні класи ферментів.
6. Які основні властивості ферментів?
7. Яка будова ферментів? Що називають коферментом, апоферментом? Яка роль цих структурних компонентів ферменту в ферментативному каталізі?
8. У чому сутність активації й інгібування ферментів? Які фактори спричиняють активуючу та інгібуючу дії на ферменти?
9. У чому полягає механізм ферментативного каталізу?

Лабораторна робота № 7

Ферментативний гідроліз жирів. Виявлення кетонових тіл у біологічних матеріалах

Жири, або триацилгліцерини, практично не всмоктуються в травному тракті. У тонкій кишці відбувається їх гідроліз, який каталізується ліполітичними ферментами, виробленими підшлунковою залозою. Існує кілька типів панкреатичних ліпаз. Одні з них специфічні щодо ефірних зв'язків у α -положенні триацилгліцерину, а інші гідролізують зв'язки в β -положенні. Повний гідроліз триацилгліцеринів відбувається постадійно: спочатку гідролізуються α -зв'язки, а потім більш повільно гідролізуються β -моноацилгліцерини. Кінцеві продукти перетравлення (гліцерин, вищі жирні кислоти, моно- і діацилгліцерин) усмоктуються в стінках кишечника.

У процесі травлення й усмоктування ліпідів важливу роль відіграють жовчні кислоти. Вони емульгують жири, активують ліпазу і забезпечують усмоктування нерозчинних продуктів переварювання.

Ліпаза – один з ферментів підкласу 1 класу гідролаз. Ферменти, котрі входять до складу цього підкласу, діють у присутності води на складно-ефірні зв'язки. Ліпаза каталізує гідроліз нейтрального жиру.

***Мета лабораторної роботи** – вивчити умови роботи ліпази.*

Завдання

1. Виконати гідроліз жиру молока в різних умовах.
2. Побудувати графік активності ферменту.

Дослід № 1. Ферментативний гідроліз жиру молока

Ліпазу можна відкрити, додавши її розчин до молока, котре містить емульгований жир. Отриману суміш підлюговують розчином карбонату натрію до блідо-рожевого забарвлення на фенолфталеїн. У присутності ліпази відбувається гідролітичне розщеплення жиру на гліцерин і жирні кислоти, реакція середовища при цьому зміщується в кислу сторону, рожеве забарвлення зникає.

Досліджуваний матеріал: молоко, розведене у співвідношенні 1:10.

Реактиви: спиртовий розчин фенолфталеїну; 0,01-процентний розчин NaOH; панкреатин, що містить ліпазу.

Обладнання: колби на 25 мл, мірні циліндри на 10 мл, піпетки, термостат, кипляча водяна баня, бюретка.

Хід роботи. Готують три колби для піддослідних і контрольної проб. Для контрольної проби ліпазу (міститься в панкреатині) попередньо кип'ятять протягом 10 хв на киплячій водяній бані. У кожену колбу наливають молоко, препарат ліпази і жовч, як зазначено в таблиці 8.

Таблиця 8

Склад і концентрації проб

Компоненти інкубаційної суміші	Дослід 1, мл	Дослід 2, мл	Контроль, мл
Молоко (розведене у співвідношенні 1:10)	10	10	10
Препарат ліпази	1	1	1 (прокип'ячена)
Препарат жовчі	-	1	-

Приготовлені інкубаційні суміші ретельно перемішують. Потім з кожної колби відбирають по 2 мл суміші в заздалегідь приготовані колбочки для титрування. У кожену колбочку додають по дві краплі розчину фенолфталеїну і титрують розчином NaOH до слабо-рожевого забарвлення. При першому титруванні нейтралізуються органічні кислоти – молочна та інші, наявні в молоці до початку дії ліпази.

Суміш, котра залишилась у колбах, поміщають у термостат (температура 38 – 40°C) та через певні інтервали (10, 20, 30, 40 хв) з кожної проби відбирають (не виймаючи з термостата) по 2 мл суміші й титрують 0,01 моль/л розчином NaOH. Час титрування та об'єм гідроксиду натрію фіксують у таблиці 9.

Таблиця 9

Результати дослідження			
Час інкубації, хв	Об'єм NaOH, витрачений на титрування, мл		
	Дослід 1	Дослід 2	Контроль
0			
10			
20			
30			

Результати першого титрування, отриманого до початку дії ліпази, віднімають від результатів наступних титрувань.

На підставі одержаних даних будують графік, де по осі абсцис відкладають час (у хвилинах), а по осі ординат – активність ліпази, виражену об'ємом розчину NaOH (мл), який пішов на нейтралізацію жирних кислот, що утворилися за цей відрізок часу. Роблять висновки про умови дії ліпази.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. У звіті вказати мету, завдання, хід виконання роботи, результати і розрахунки. Зробити висновок про вплив умов на активність ліпази.

Лабораторна робота № 8. Визначення речовини в розчині

Аналітичне заняття

Мета лабораторної роботи – розвиток логічного мислення та перевірка опанування експериментальних навичок.

Завдання – визначити речовину в розчині.

Кожний студент індивідуально отримує по дві пробірки з невідомими розчинами і за допомогою якісних реакцій, описаних у попередніх роботах, визначає речовини, наявні в розчинах.

Досліджуваний матеріал: у розчинах може бути одна з перелічених нижче речовин:

- 1) глюкоза;
- 2) фруктоза;
- 3) сахароза;
- 4) крохмаль;
- 5) глікоген;
- 6) яєчний альбумін;
- 7) желатин;
- 8) глікопротеїн;
- 9) фосфопротеїн;

10) нуклеопротейн;

11) жовчні кислоти.

Реактиви: α -нафтол, тимол, концентрована H_2SO_4 , 30-процентний розчин NaOH , 5-процентний розчин $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$, 2 н. розчин NaOH ; 0,2 н. розчин CuSO_4 ; 5-процентний розчин TXO ; розчин Люголя; 5-процентний розчин сахарози, реактив Селіванова, молібденовий реактив, 1-процентний розчин AgNO_3 .

Обладнання: пробірки, крапельниці, спиртівки, піпетки.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. У звіті вказати мету, завдання, хід виконання роботи, результати і висновок.

9. БІОХІМІЯ СЕЧІ

Сеча (лат. *urina*) – рідкий побічний продукт обміну речовин у людини і в багатьох тварин. Сеча надходить з нирок через сечоводи до сечового міхура. Процес видалення сечі з організму здійснюється через сечовипускний каналі й називається сечовипусканням.

У процесі клітинного метаболізму генерується багато продуктів життєдіяльності, багатих на азот, від яких потрібно очищати кров, зокрема сечовина, сечова кислота і креатинін. Ці побічні продукти виводяться з організму під час сечовиділення, що є основним методом виведення з організму водорозчинних хімічних речовин. Клінічний аналіз сечі може виявити порушення азотистого обміну організму.

Сеча відіграє роль уколообігу азоту на Землі. У збалансованих екосистемах сеча підживлює ґрунт і тим самим допомагає рослинам рости. Через це сечу можна використовувати як добриво. Деякі тварини використовують її для позначення своїх територій. У давнину стару або ферментовану сечу також використовували для виробництва пороху, побутового чищення, дублення шкіри та фарбування текстилю [7, 8, 10, 15].

Лабораторна робота № 9

Дослідження нормальних складових сечі та її біохімічних властивостей

Біохімічне дослідження сечі має важливе значення в спортивній практиці. Воно дозволяє судити про протікання процесів обміну речовин в організмі спортсмена і про реакцію його на ті чи інші фізичні навантаження. Нарешті, дослідження сечі – важливий діагностичний прийом у разі захворювань.

Сеча містить воду, утворену в організмі при окисненні органічних речовин і введена ззовні. У ній розчинені кінцеві або проміжні продукти обміну речовин. Колір сечі залежить від умісту в ній пігментів – урохрому, уробіліну й інших, що утворюються в організмі з жовчних пігментів. Порції сечі, отримані в різний час, мають неоднаковий склад, тому що виділення нирками різних речовин відбувається нерівномірно. Тому для аналізу сечу зазвичай беруть за добу.

При аналізі сечі спочатку визначають її фізичні показники (колір, запах, прозорість, питому вагу), потім хімічні (реакцію й уміст тих чи інших нормальних і патологічних складових).

Зміна кольору сечі може залежати від її концентрації (коли сечі виділяється мало, вона пофарбована більш інтенсивно), так і від наявності в ній жовчних пігментів (зеленувато-коричневий або жовто-коричневий), кров'яних пігментів (червонуваті відтінки) і т.п. Зміна запаху сечі може бути викликане виділенням з нею лікарських препаратів чи побічних продуктів обміну речовин (наприклад, за наявності ацетону сеча набуває запаху гнилих яблук, сильний запах аміаку вказує на лужне бродіння сечі). Помутніння сечі може бути викликане випаданням в осад солей. Питома вага сечі коливається від 1,010 до 1,025. Це залежить від величини сечовиділення. Підвищення питомої ваги може свідчити також про наявність цукру, білка й ін.

Реакція сечі в нормі слабокисла. При переважаючому м'ясному харчуванні вона стає ще більш кислою, при рослинному – слаболужною. Значне виділення кислих продуктів (лактат) після інтенсивних фізичних навантажень призводить до ще більших зміщень реакції в кислотний бік. При значному виділенні лужних речовин (наприклад, у гірських умовах), а також при ряді захворювань реакція сечі може стати більш лужною.

Нормальними складовими сечі є сечовина, креатинін, солі сечової та щавлевої кислот, іони хлору, натрію, амонію, фосфату; незвичайними складовими – білок, який з'являється в сечі після важких фізичних навантажень (спортивна альбумінурія) і при захворюваннях нирок або сечовивідних шляхів; цукор як наслідок значного збільшення його вмісту в крові (аліментарна гіперглікемія; гіпергілемія, пов'язана зі значним емоційним збудженням чи з діабетом); кетонові тіла з'являються в сечі при окисненні (в умовах гір, при нестачі вуглеводів у харчуванні, при цукровому діабеті); жовчні пігменти і жовчні кислоти (при захворюванні печінки і жовчовивідних шляхів); индикан (при посиленні в кишечнику процесів гниття); уробілін (при недостатності печінки або посиленому руйнуванні еритроцитів) тощо.

Мета лабораторної роботи – провести реакцію на визначення нормальних складових частин сечі

Завдання

1. Визначити рН сечі.

2. Дослідити сечу на наявність солей амонію, сечовини, хлорид-іонів, фосфат-іонів, іонів кальцію.

Дослід № 1. Визначення деяких нормальних складових частин сечі

Досліджуваний матеріал: сеча.

Реактиви: суспензія $\text{Ca}(\text{OH})_2$ у воді; 10-процентний розчин NaOH ; 5-процентний розчин HNO_3 ; AgCl ; насичений $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$; 3-процентний $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$.

Обладнання: пробірки, піпетки, лакмусовий та індикаторний папір.

Хід роботи

Реакція. Про реакцію сечі судять за кольором опущеного в неї лакмусового паперу: почервоніння свідчить про кислоту, а посиніння – про лужну реакцію сечі. Для більш точного визначення користуються індикаторним папером. Він має ряд поперечних смужок. Папір занурюють у сечу, а потім порівнюють зі шкалою і визначають рН сечі.

Відкриття солей амонію в сечі. У пробірку наливають 2 мл сечі, додають чотири краплі вапняного молока (суспензія $\text{Ca}(\text{OH})_2$ у воді) й злегка прогрівають, закріпивши на верхньому краю пробірки змочений водою червоний лакмусовий папір. Через деякий час він набуває синього забарвлення.

Результат досліду та рівняння реакції між хлористим амонієм і $\text{Ca}(\text{OH})_2$ записують у лабораторний зошит.

Відкриття сечовини в сечі. У пробірку наливають 2 мл сечі, додають шість крапель 10-процентного розчину NaOH і обережно кип'ятять. У верхньому краю пробірки фіксують змочений водою лакмусовий папір. Унаслідок виділення аміаку, який утворюється при гідролізі сечовини, лакмусовий папір синіє.

Записують результат досліду і рівняння реакції.

Відкриття хлоридів у сечі. У пробірку наливають 2 мл сечі, додають 1–2 краплі 5-процентного розчину HNO_3 та 1–2 краплі AgCl . Випадає білий осад.

Записують результат досліду і рівняння реакції.

Відкриття фосфатів у сечі. У пробірку наливають 1 мл сечі, підкислюють її азотною кислотою, додають 2 мл 3-процентного розчину молібденовокислого амонію $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ і нагрівають на спиртівці. Поступово утворюється осад фосфорномолібденового амонію.

Відкриття іонів кальцію в сечі. У пробірку наливають 2 мл сечі й додають чотири краплі насиченого розчину щавлевокислого амонію $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$. Відразу ж випадає осад щавлевокислого кальцію.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. У звіті вказати мету, завдання, хід виконання роботи. Зробити висновки.

Контрольні питання

1. Для чого визначати біохімічні властивості сечі у спортсменів?
2. Назвіть нормальні складові сечі.
3. Перелічіть незвичайні складові сечі.
4. Кінцевим продуктом обміну яких речовин є сечовина? Креатинін?

Лабораторна робота № 10

Якісні реакції на ацетон і ацетооцтову кислоту

До кетонів належить ацетон, β -оксимасляна й ацетооцтова кислоти. Біосинтез кетонових тіл відбувається в печінці. У здорової людини в печінці ацетоацетил – CoA конденсується з ацетил – CoA з утворенням β -окси- β -метилглутарил-CoA. У крові в нормі вони містяться в дуже невеликій кількості 13,4 – 185 мкмоль/л (0,14 – 1,9 мг), у сечі також наявні ацетонові тіла в невеликій кількості й не виявляються звичайними реакціями.

Підвищене виділення кетонових тіл з організму – ацетонурія-спостерігається при порушенні жирового або вуглеводного обміну. Утворення кетонових тіл відбувається в печінці, звідки вони доставляються іншим тканинам як енергетичний матеріал.

Мета лабораторної роботи – провести реакцію відкриття кетонових тіл у розчині.

Завдання – провести якісну реакцію на кетонові тіла.

Досліджуваний матеріал: сеча, що містить ацетон і ацетооцтову кислоту.

Реактиви: нітропрусид натрію, крижана оцтова кислота, 10-процентний NaOH.

Обладнання: пробірки, піпетки.

Хід роботи. *Проба Легалья на ацетон.* Ацетон і ацетооцтова кислота в лужному середовищі утворюють з нітропрусидом натрію оранжево-червоне забарвлення. Після підкислення крижаною оцтовою кислотою утворюється з'єднання вишневого кольору.

У пробірку наливають 0,5 мл сечі, 0,5 мл NaOH, 0,5 мл нітропрусиду натрію. З'являється оранжево-червоне забарвлення. Додають 1 мл крижаної оцтової кислоти – з'являється вишнево-червоне забарвлення.

Клініко-діагностичне значення. Гіперкетонемія і кетонурія спостерігаються при цукровому діабеті, споживанні кетогенної їжі (дефіцит вуглеводів), голодуванні, гіперпродукції гормонів-антагоністів інсуліну, кортикостероїдів. При цукровому діабеті. Коли печінка збіднена на глікоген, відбувається посилений розпад жирів як джерела енергії. У ранньому (дитячому) віці тривалі шлунково-кишкові захворювання

(дизентерія, токсикози) можуть викликати кетонемії в результаті голоду і виснаження.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. У звіті вказати мету, завдання, хід виконання роботи, отримане забарвлення.

10. ГОРМОНИ

Гормони (грец. Ορμόνη) – це біологічно активні речовини, що виділяються ендокринними залозами безпосередньо у кров і впливають на певні органи та тканини-мішені або на організм у цілому. Гормони є гуморальними (такими, що переносяться з кров'ю) регуляторами певних процесів у певних органах і системах [7, 8, 10, 16].

Існують й інші визначення, згідно з якими трактування поняття «гормони» ширше: «сигнальні хімічні речовини, що виробляються клітинами тіла і впливають на клітини інших частин тіла». Це визначення є більш значущим, оскільки воно охоплює багато речовин, котрі традиційно зараховують до гормонів: гормони тварин, позбавленні кровоносної системи, наприклад екдизони круглих червів (хробаків), гормони хребетних, які виробляються не в ендокринних залозах (простагландини, еритропоєтини тощо), а також гормони рослин [7, 8, 10, 16].

Гормони були відкриті у 1905 році Старлінгом і Бейлісом. Використовуються в організмі для підтримки його гомеостазу, а також для регуляції багатьох функцій (росту, розвитку, обміну речовин, реакції на зміни умов середовища). Усі гормони реалізують свою дію на організм або на окремі органи і системи за допомогою спеціальних рецепторів цих гормонів.

Рецептори гормонів поділяються на три основні класи:

- рецептори, пов'язані з іонними каналами в клітині (іонотропні рецептори);
- рецептори, що є ферментами, або вони пов'язані з білками–передавачами сигналу з ферментативною функцією (метаботропні рецептори, наприклад GPCR);
- рецептори ретиноевої кислоти, стероїдних і тиреоїдних гормонів, які зв'язуються з ДНК і регулюють роботу генів.

Для всіх рецепторів характерний феномен саморегуляції чутливості за допомогою механізму зворотного зв'язку: при низькому рівні певного гормону автоматично компенсаторно зростає кількість рецепторів у тканинах та їх чутливість до цього гормону – процес, що називають сенсibiliзацією (а також ап-регуляцією (посилення, від англ. up-regulation), або сенситизацією (англ. sensitization)) рецепторів. І навпаки, при високому рівні певного гормону відбувається автоматичне

компенсаторне зниження кількості рецепторів у тканинах та їх чутливості до цього гормону – процес, що називається десенсибілізацією (а також даун-регуляцією (від англ. down-regulation – зниження), або десенситизацією (англ. desensitization)) рецепторів.

Збільшення чи зменшення вироблення гормонів, а також зниження, або збільшення чутливості гормональних рецепторів і порушення гормонального транспорту призводить до ендокринних захворювань.

Механізми дії. Коли гормон, що є в крові, досягає клітини-мішені, він вступає у взаємодію зі специфічними рецепторами; рецептори «прочитують послання» організму, і в клітині починають відбуватися певні зміни. Кожному конкретному гормону відповідають виключно «свої» рецептори, що знаходяться в конкретних органах і тканинах. Тільки при взаємодії гормону з ними утворюється гормон-рецепторний комплекс.

Механізми дії гормонів можуть бути різними. Одну з груп складають гормони, які з'єднуються з рецепторами, що знаходяться всередині клітин, як правило, у цитоплазмі. До них належать гормони з ліпофільними властивостями, наприклад стероїдні гормони (статеві гормони, глюко- і мінералокортикоїди), а також гормони щитоподібної залози. Будучи жиророзчинними, ці гормони легко проникають через клітинну мембрану і починають взаємодіяти з рецепторами у цитоплазмі або ядрі. Вони слабо розчинні у воді, при транспортуванні по крові зв'язуються з білками-носіями.

Вважається, що в цій групі гормонів гормон-рецепторний комплекс виконує роль своєрідного внутрішньоклітинного реле: утворившись у клітині, він починає взаємодіяти з хроматином, котрий знаходиться в клітинних ядрах і складається з ДНК та білка, і тим самим прискорює чи сповільнює роботу тих або інших генів. Вибірково впливаючи на конкретний ген, гормон змінює концентрацію відповідної РНК та білка і разом з тим коректує процеси метаболізму.

Біологічний результат дії кожного гормону вельми специфічний. Хоча у клітині-мішені гормони змінюють зазвичай менше 1% білків та РНК, цього виявляється цілком достатньо для отримання відповідного фізіологічного ефекту.

Більшість інших гормонів характеризуються трьома особливостями:

- вони розчиняються у воді;
- не зв'язуються з білками-носіями;
- починають гормональний процес, як тільки з'єднуються з рецептором, який може бути в ядрі клітки, її цитоплазмі, чи розташовуватися на поверхні плазматичної мембрани.

У механізмі дії гормон-рецепторного комплексу таких гормонів обов'язково беруть участь посередники, котрі індукують відповідь клітини. Найважливіші з таких посередників – цАМФ (циклічний аденозинмонофосфат), інозитолтрифосфат, іони кальцію.

Так, у середовищі, позбавленому іонів кальцію, або в клітинах з недостатньою їх кількістю дія багатьох гормонів послаблюється; при застосуванні речовин, що збільшують внутрішньоклітинну концентрацію кальцію, виникають ефекти, ідентичні до дії деяких гормонів.

Участь іонів кальцію як посередника забезпечує вплив на клітини таких гормонів, як вазопресин і катехоламіни.

Виконавши своє завдання, гормони або розщеплюються в клітинах-мішенях чи в крові, або транспортуються до печінки, де розщеплюються, чи, зрештою, видаляються з організму в основному із сечею (наприклад, адреналін).

Лабораторна робота № 11

Визначення впливу адреналіну на вміст глюкози в плазмі крові

Рівень глюкози в крові перебуває під контролем нервової системи й ендокринних залоз, тому в здоровому організмі можливі лише короточасні її коливання. Це відбувається при стресових реакціях, больових нападах, емоційних збудженнях і пов'язано з викидом у кров значної кількості адреналіну та АКТГ. Стійка гіпер- і гіпоглікемія спостерігається при порушенні функції підшлункової залози та надниркових залоз.

Інсулін при введенні в організм спричиняє зниження рівня глюкози в крові і застосовується при лікуванні цукрового діабету. Особливо чутлива до зниження рівня глюкози в крові центральна нервова система, оскільки глюкоза є для неї основним джерелом енергії. Тому, вводячи інсулін з лікувальною метою при цукровому діабеті, необхідно стежити за рівнем глюкози (гіпоглікемія може викликати судоми і привести до летального результату). У таких випадках потрібно терміново ввести глюкозу або адреналін. Зниження рівня глюкози в крові під впливом інсуліну обумовлено тим, що він стимулює синтез глікогену з глюкози в печінці й м'язах і гальмує розпад глікогену в печінці. Інсулін сприяє перетворенню вуглеводів, які всмокталися, в жири, збільшує проникність клітинних мембран м'язової й жирової тканин до глюкози, сприяючи переходу глюкози із крові в тканини та її окисненню. Інсулін усуває гальмівну дію глюкостероїдів на гексокіназу (збільшує її активність), стимулює цикл трикарбонових кислот, пригнічує активність глюкозо-6-фосфатази й аденілатциклази, активує глікогенсинтази.

Адреналін у високих концентраціях є сильною отрутою. Його фізіологічна дія проявляється в мізерно малих кількостях – 0,0001 мг на 1 кг маси. Він швидко руйнується в шлунково-кишковому тракті, тому вводять адреналін підшкірно і внутрішньом'язово. При підшкірному введенні адреналіну вміст глюкози в крові збільшується, настає

гіперглікемія, і, якщо рівень її досягає 8,88 ммоль/л, починається виділення глюкози із сечею (глюкозурія). Він впливає на вуглеводний обмін, посилюючи розпад глікогену в печінці до глюкози. Адреналін через аденілатциклазу та 3'-5'-сАМР викликає перетворення неактивної фосфорилази «б» в активну фосфорилазу «а», каталізує розпад глікогену в печінці. Адреналін у крові інактивується ферментом моноамінооксидазою. У крові в тканинах поряд з вільним адреналіном виявлений комплекс адреналіну з білком, який сприяє збереженню адреналіну в організмі. Уводячи адреналін в організм кролика і визначаючи вміст глюкози до і після введення, можна встановити його вплив на вуглеводний обмін.

Мета лабораторної роботи – вивчити вплив адреналіну на вміст глюкози в крові.

Завдання

1. Визначити вміст глюкози до і після введення адреналіну.
2. Вивчити механізм підвищення вмісту глюкози в крові під впливом адреналіну.

Дослід № 1. Визначення впливу інсуліну й адреналіну на вміст глюкози в плазмі крові

Принцип методу визначення глюкози глюкозооксидантним методом. Метод заснований на специфічному окисненні глюкози під впливом глюкозооксидази (КФ 1.1.3.4), що має високу субстратну специфічність стосовно глюкози. Цей метод дозволяє визначити вміст глюкози в крові за наявності інших відновлювальних речовин.

Глюкозооксидаза – флавопротеїн, простетичною групою якого є ФАД. Окиснення глюкози глюкозооксидазою відбувається біля першого вуглецевого атома до глюконової кислоти через проміжний продукт δ-глюконолактон. Перенесення двох атомів водню на ФАД призводить до його відновлення, а потім ФАДН₂ передає їх на кисень з утворенням перекису водню в еквімолярних кількостях. Утворений пероксид водню визначається по реакції окисної конденсації хлорпохідного фенолу з 4-амінофеназоном, каталізованою пероксидазою. Інтенсивність утвореного забарвлення прямо пропорційна концентрації глюкози і визначається на ФЕК (довжина хвилі 500 нм, кювета з товщиною робочого шару 5 мм).

Досліджуваний розчин: кров інтактного кролика; кров кролика після введення адреналіну; кров кролика після введення інсуліну.

Реактиви: еталонний розчин глюкози (10 ммоль/л); дистильована вода; робочий реактив (містить глюкозооксидазу, пероксидазу, 4-хлор-3-метилфенол, 4-амінофеназон).

Обладнання: піпетки, хімічні пробірки, ФЕК, кювети з товщиною робочого шару 5 мм.

Хід роботи. Кров центрифугують на центрифугі протягом 10 хв при швидкості обертання ротора 3000 об/хв для отримання сироватки. В

отриманій сироватці крові визначають уміст глюкози. Для цього готують проби, відповідно до таблиці 10.

Таблиця 10

Склад і концентрації проб

Розчин	Досліджувана проба (А)	Еталон (Е)	Контроль
1	2	3	4
Сироватка крові (мл)	0,02		
Глюкоза (мл)		0,02	
Дистильована вода (мл)			0,02
Робочий реактив	3	3	3

Уміст кожної пробірки перемішують, після чого пробірки поміщають у термостат на 15 хв при температурі 37°C. Вимірюють оптичну щільність досліджуваних проб (А) й еталона (Е) проти контрольного розчину на ФЕК (довжина хвилі 500 нм).

Розрахунок роблять за формулою

$$C = 10 A/E \text{ (ммоль/л)},$$

де С – концентрація глюкози, ммоль/л;

А – оптична щільність досліджуваних проб;

Е – оптична щільність контрольного розчину.

Уміст глюкози в сироватці крові у людини в нормі коливається від 3,6 до 6,7 ммоль/л.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. У звіті вказати мету, завдання, хід виконання роботи, результати і розрахунки. Зробити висновок про вплив адреналіну на вміст глюкози в крові.

Контрольні питання

1. Складіть сумарні рівняння реакцій розщеплення глюкози до лактату і до кінцевих продуктів окиснення глюкози.
2. Які основні етапи гліколізу?
3. Назвіть гормони, які регулюють уміст глюкози в плазмі крові.
4. З'ясуйте шляхи усунення лактату з тканин.

11. ВІТАМІНИ

Вітаміни (лат. *Vitae* – життя й «амін» – азотиста речовина, що містить NH_2) – низькомолекулярні органічні сполуки різної хімічної природи з високою біологічною дією, необхідні для нормального обміну речовин і життєдіяльності живих організмів в дуже малій кількості [7, 8, 10, 17]. Існування і значення вітамінів відкрив російський лікар М. Лунін у кінці XIX ст. Польський хімік К. Функ назвав біологічно активну речовину вітаміном, бо вона містила у своїй молекулі аміногрупу. У 1912 році для позначення додаткових харчових факторів, що у малих кількостях ефективні для лікування ряду захворювань, Функ увів термін «вітамін». Тоді виділяли лише два вітаміни – А (жиророзчинний), В (водорозчинний).

Вітаміни не синтезуються в організмі людини або накопичуються в недостатній кількості. Ендогенний синтез деяких із них, що здійснюється мікрофлорою тонкої кишки, не може задовольнити потребу організму у вітамінах, і тому потрібне постійне надходження їх із продуктами харчування.

Більшість із вітамінів входить до складу ферментних систем, виконуючи коферментні функції. Вітаміни беруть участь в обміні речовин, переважно регулюючи окремі біохімічні й фізіологічні процеси.

Класифікація

Відомо близько 30 вітамінів і вітаміноподібних речовин.

До вітаміноподібних речовин відносять сполуки, які, на відміну від вітамінів, синтезуються, виконують ще й пластичні чи енергетичні функції. Вони біологічно активні та проявляють лікувальний ефект за багатьох захворювань.

За фізико-хімічними властивостями вітаміни поділяють на дві групи: водо- і жиророзчинні.

Розчинні у воді вітаміни: B_1 (тіамін), B_2 (рибофлавін), B_3 (нікотинамід, нікотинова кислота), B_4 (B_p) (холін), B_5 (пантотенова кислота), B_6 (піридоксин, піридоксаль, піридоксамін), Н (B_7) (біотин), B_9 (B_c) (фолієва кислота), B_{12} (кобаламін), B_8 (інозитол), B_{10} (параамінобензойна кислота), B_{11} (карнітин), С (аскорбінова кислота).

Жиророзчинні вітаміни: А (ретинол), D_2 (кальциферол), D_3 (холекальциферол), Е (токоферол), K_1 (філохінон).

Вплив вітамінів на людський організм

Сучасна наукова інформація свідчить про виключно різноманітну участь вітамінів у процесі забезпечення життєдіяльності людського організму. Одні з них є обов'язковими компонентами ферментних систем і гормонів, які регулюють численні етапи обміну речовин в організмі, інші є початковим матеріалом для синтезу тканинних гормонів. Вітаміни значною мірою забезпечують нормальне функціонування нервової

системи, м'язів та інших органів і багатьох фізіологічних систем. Від рівня вітамінної забезпеченості живлення залежить рівень розумової та фізичної працездатності, витривалості й стійкості організму до впливу несприятливих чинників зовнішнього середовища, включаючи інфекції та дії токсинів.

У харчових продуктах можуть міститися не тільки самі вітаміни, але й речовини-попередники – провітаміни, котрі тільки після ряду перетворень в організмі стають вітамінами. Порушення нормальної течії життєво важливих процесів в організмі через тривалу відсутність у раціоні того чи іншого вітаміну приводять до виникнення важких захворювань, відомих під загальною назвою авітаміноз. У рідких випадках авітамінози можливі внаслідок захворювань, результатом яких є припинення всмоктування вітаміну або його посилене руйнування у шлунково-кишковому тракті. Для авітамінозу характерна виражена клінічна картина із суворо специфічними ознаками. Досить поширеним явищем залишається часткова вітамінна недостатність тією чи іншою мірою виражена гіповітамінозом. Такий стан протікає більш легко, його вияви нечіткі, менш виражені, до того ж існують і його приховані форми, коли гіршає самопочуття та знижується працездатність без яких-небудь характерних симптомів. Поширеність явно виражених гіповітамінозних станів і їх прихованих форм зумовлена в основному неправильним та незбалансованим харчуванням. Також гіповітамінозні стани можуть виникнути при тривалому або неправильному прийомі антибіотиків, сульфаніламідів і інших медичних засобів, які придушують діяльність корисної мікрофлори кишечника, що синтезує істотні кількості деяких вітамінів або засобів, що безпосередньо зв'язують чи руйнують вітаміни. Причиною гіповітамінозів може бути й підвищена потреба у вітамінах при посиленій фізичній і розумовій роботі, при впливі на організм несприятливих чинників, а також під час вагітності та годування дитини. Прийом вітамінів потрібно здійснювати виключно відповідно до рекомендацій або під контролем медичних працівників. Надмірне споживання харчових продуктів, надзвичайно багатих вітамінами, чи самостійний зайвий прийом вітамінних препаратів можуть привести до гіпервітамінозів.

Добова потреба у вітамінах

За нормального раціону і здорового способу життя потреба у вітамінах задовольняється природним шляхом. Однак узимку й навесні відчувається нестача вітамінів, що спричиняє гіповітамінози. Надлишок вітамінів – гіпервітаміноз буває дуже рідко. Одноманітне харчування, бідне на натуральні рослинні продукти, призводить до виникнення захворювання – авітамінозу. Добову потребу населення України у вітамінах наведено у таблиці 11.

Таблиця 11

Добова потреба населення України у вітамінах

Вікова групи	A, мкг	B1, мг	B2, мг	B6, мг	B9, мкг	B12, мкг	B3, мг	C, мг	D, мкг	E, мг	K, мкг
0 — 3 місяці	400	0,3	0,4	0,4	25	0,5	5	30	8	3	5
4 — 6 місяців	400	0,4	0,5	0,5	40	0,5	6	35	10	4	8
7 — 12 місяців	500	0,5	0,6	0,6	60	0,6	7	40	10	5	10
1 — 3 роки	600	0,8	0,9	0,9	70	0,7	10	45	10	6	15
4 — 6 років	600	0,8	1	1,1	80	1	12	50	10	7	20
6 років (учні)	650	0,9	1,1	1,2	90	1,2	13	55	10	8	25
7 — 10 років	700	1	1,2	1,4	100	1,4	15	60	2,5	10	30
11 — 13 років (хлопчики)	1000	1,3	1,5	1,7	160	2	17	75	2,5	13	45
11 — 13 років (дівчатка)	800	1,1	1,3	1,4	150	2	15	70	2,5	10	45
14 — 17 років (хлопці)	1000	1,5	1,8	2	200	2	20	80	2,5	15	65
14 — 17 років (дівчата)	1000	1,2	1,5	1,5	180	2	17	75	2,5	13	55
Чоловіки 18 — 60 років	1000	1,6	2	2	250	3	22	80	2,5	15	
Жінки 18 — 60 років	1000	1,3	1,6	1,8	200	3	16	70	2,5	15	
Чоловіки 60 — 74 роки		1,7	1,7	3,3	250	3	15	100	2,5	25	
Чоловіки >= 75 років		1,5	1,5	3	230	3	13	90	2,2	20	
Жінки 60 — 74 роки		1,5	1,5	3	230	3	13	100	2,5	20	
Жінки >= 75 років		1,5	1,5	3	230	3	13	90	2,2	20	

Класифікація вітамінів**Вітаміни, розчинні в жирах**

Вітамін А – ретинол (антиксерофтальмічний).

Вітамін D – кальциферол (антирахітичний).

Вітамін Е – токоферол (вітамін розмноження).

Вітамін К – філохінон (антигеморагічний).

Вітиміни, розчинні у воді

Вітамін В1 – тіамін (антиневритний).

Вітамін В2 – рибофлавін (вітамін росту).

Вітамін В5 – пантотенова кислота (антидерматитний).

Вітамін В6 – піридоксин (антидерматичний).

Вітамін В9 (Вс) – фолієва кислота (антианемічний).

Вітамін В12 – ціанокобаламін (антианемічний).

Вітамін В15 – пангамова кислота (антигіпоксичний).

Вітамін С – аскорбінова кислота (антицинготний).

Вітамін Р – флавоноїди (в т.ч. рутин) (вітамін проникності).

Вітамін РР – нікотинова кислота (антипелагричний).

Вітамін Н – біотін (антисебореїчний).

Усі вищеперелічені розчинні у воді вітаміни, за винятком інозиту й вітамінів С і Р, містять азот у своїй молекулі, та їх часто об'єднують в один комплекс вітамінів групи В.

Вітамін С (аскорбінова кислота). Біологічна роль аскорбінової кислоти в організмі різноманітна. Вона бере участь в окисно-відновних процесах і пов'язана із системою глутатіону. Аскорбінова кислота бере участь у синтезі стероїдних гормонів у корі надниркових залоз і необхідна для процесу гідроксинювання як фактор для прояву дії ферментів гідроксилаз. Вона бере участь в утворенні тетрагідрофолієвої кислоти з фолієвої кислоти, у гідроксинюванні лізину в оксилізін, проліну в оксипролін, необхідних для утворення колагенових волокон; прискорює всмоктування заліза, активує фермент шлункового соку пепсиноген, що особливо важливо при нестачі соляної кислоти в шлунковому соку.

До групи **вітаміну Р** відноситься ряд речовин – флавоноїдів, що мають здатність (особливо в поєднанні з аскорбіновою кислотою) зменшувати проникність і ламкість капілярних судин [7, 8]. До цієї групи належать рутин та кверцетин, що застосовуються в медичній практиці, а також ряд інших флавоноїдів – гесперидин, еріодиктин, антоціани, катехіни та ін [17]. Р-вітамінну активність проявляє і галова кислота [17]. У 1936 р. біохімік Альберт Сент-Дьордь із цедри лимона виділив речовину, застосування якої зменшувало ламкість і проникність кровоносних капілярів. Вона отримала назву вітамін Р (від англ. Permeability – проникність).

Існування в природі

Флавоноїди з групи вітаміну Р містяться у вигляді глікозидів у багатьох рослинах, особливо багато їх у плодах шипшини, лимонах та інших цитрусових, незрілих волоських горіхах, ягодах чорної смородини, горобини червоної і чорноплідної, в зеленому чаї [15]. Містяться також у гречці, капусті, салаті, помідорах, винограді, малині.

Фізіологічна дія

Спільно з аскорбіновою кислотою Р-вітаміни беруть участь в окисно-відновних процесах, а також гальмують дію гіалуронідази. Підвищується концентрація гіалуронової кислоти, яка збільшує еластичність капілярів і знижує їх проникність. Крім того, вони мають антиоксидантні властивості й, зокрема, оберігають від окиснення аскорбінову кислоту і адреналін; знижують згортання крові й підвищують еластичність еритроцитів.

Застосування в медицині

Препарати вітаміну Р (рутин і кверцетин) застосовують для профілактики й лікування гіпо- та авітамінозу Р, при захворюваннях, що супроводжуються порушенням проникності судин, геморагічних діатезах, крововиливах у сітківку ока, капіляртоксикозах, променевій хворобі, септичному ендокардиті, ревматизмі, гломерулонефриті, артеріальній гіпертензії, арахноїдиті, алергічних захворюваннях, кору, скарлатині, висипному тифі, тромботичній пурпурі та інших захворюваннях [8].

Також призначають для профілактики і лікування уражень капілярів, пов'язаних з використанням антикоагулянтів (неодикумарину, феніліну і їх аналогів) та ацетилсаліцилової кислоти (аспірину) [15].

Препарати вітаміну Р рекомендується поєднувати з аскорбіновою кислотою [17].

У промислових обсягах, для фармацевтичної і харчової індустрії флавоноїди, зокрема дигідрокверцетин, витягують з модрини сибірської та модрини даурської.

Ознаки авітамінозу

При дефіциті вітаміну Р у їжі підвищується проникність капілярів, унаслідок чого з'являються крововиливи на шкірі, слизових оболонках і в підшкірній клітковині, особливо в місцях, схильних до фізичних дій, тиску. Такі крововиливи зазвичай носять дрібний, точковий характер і називаються петехіями. Розвиваються крововиливи в сітківці ока; болі в ногах при ходьбі, болі в плечах; швидка стомлюваність; спонтанні крововиливи; синюшний відтінок шкіри; розвиток вугрової висипки; випадання волосся; кровоточивість ясен.

Вітамін Е (токоферол)

Вітамін Е (токоферол) часто називають вітаміном молодості й плодючості. Він був відкритий Евансом і Бішопом у 1922 році. Під цією назвою відомі вісім сполук: чотири токоферолу (α, β, γ і δ) та чотири токотриєнолу (α, β, γ і δ). Альфа-токоферол найбільш поширений і біологічно активний, тому вітамін Е ще називають альфа-токоферолом або просто токоферолом. Вітамін Е належить до жиророзчинних, стійкий до високих температур, але «боїться» світла.

Роль вітаміну Е

Вітамін Е не дарма називають вітаміном молодості та плодючості, тому що, будучи потужним антиоксидантом, токоферол уповільнює процеси старіння в організмі, а також забезпечує роботу статевих гонад як у жінок, так і у чоловіків. Крім того, вітамін Е необхідний для нормального функціонування імунної системи, поліпшує живлення клітин, сприятливо впливає на периферичний кровообіг, запобігає утворенню тромбів і зміцнює стінки судин, необхідний для регенерації тканин, знижує ймовірність утворення шрамів, забезпечує нормальне згортання крові, знижує кров'яний тиск, підтримує здоров'я нервової системи, забезпечує роботу м'язів, запобігає анемії, полегшує перебіг хвороб Альцгеймера і діабету. Він захищає інші жиророзчинні вітаміни від руйнування киснем, сприяє засвоєнню вітаміну А, запобігає появі старечої пігментації, бере участь у формуванні колагенових волокон міжклітинної речовини, в біосинтезі гема й білків, розвитку плаценти. Вітамін Е є відмінною профілактикою ракових і серцево-судинних захворювань.

Добова потреба у вітаміні Е

Рекомендовану добову дозу вітаміну можна розрахувати за

формулою: добова потреба = діти до 1 року – 0,5 мг/кг, дорослі – 0,3 мг/кг. Для спортсменів у період високих навантажень, вагітним і мамам, які годують, цю дозу рекомендується підвищити. Бажано приймати вітамін Е в комплексі із селеном. Дефіцит вітаміну Е може призвести до зниження рівня магнію в організмі. Неорганічне залізо руйнує вітамін Е, так що їх не слід приймати разом. Глюконат, пептонат, цитрат або фумерат заліза не руйнують вітамін Е. Також посилює симптоми недостатності вітаміну Е дефіцит цинку.

Симптоми дефіциту вітаміну Е: сухість шкіри, ослаблення гостроти зору, ламкість нігтів, м'язова дистрофія, сексуальна апатія, порушення координації рухів, анемія, скорочення тривалості життя еритроцитів, страждає репродуктивна функція, жирові відкладення на м'язах, дегенеративні зміни серцевої та інших м'язів. Ознаки передозування: вітамін Е практично безпечний і нетоксичний, але прийом його великих доз може викликати нудоту, розлад шлунка.

Джерела вітаміну Е: рослинні масла, зародки пшениці, яблука, мигдаль, арахіс, зелені листові овочі, злакові, бобові, хліб з висівками, горіхи, брюссельська капуста, шипшина, соя; яйця, печінка, молоко і молочні продукти, яловичина, свиняче сало. Вітамін Е не синтезується в організмі людини.

Лабораторна робота № 12

Кількісне визначення концентрації аскорбінової кислоти

Вітаміни – низькомолекулярні органічні речовини, що мають різноманітну хімічну природу. Вони умовно об'єднані в одну групу за ознакою життєвої необхідності для організму. Оскільки в організмі людини і тварин вітаміни не синтезуються, за винятком деяких з них, що утворюються симбіотичною мікрофлорою травного тракту, вони належать до незамінних чинників живлення. Надходячи в організм у невеликих кількостях з їжею, вітаміни забезпечують нормальне протікання біохімічних процесів і, таким чином, беруть участь у регуляції багатьох метаболічних функцій організму.

Біологічна роль більшості вітамінів полягає в тому, що багато з них входять до складу простетичної групи ферментів. Недостатнє надходження вітамінів з їжею, а також порушення їх усмоктування в організмі призводить до розвитку важких порушень обміну речовин: авітамінозів і гіповітамінозів.

Захворювання, що виникає в результаті відсутності того чи іншого вітаміну, називають авітамінозом. При відносній нестачі якого-небудь вітаміну спостерігається гіповітаміноз. Оскільки функції вітамінів тісно пов'язані між собою, то зазвичай спостерігають поліавітаміноз чи

полігіповітаміноз. Авітамінози зустрічаються досить рідко, частіше наявний гіповітаміноз як результат нераціонального харчування, порушення обміну речовин або перенесених захворювань і лікарської терапії (антибіотиків та сульфамідів). Надмірний прийом низки вітамінів призводить до порушень метаболічних функцій – гіпервітамінозу.

Антивітаміни – речовини, що зменшують біологічну активність ферментів, будучи або структурними аналогами вітамінів і конкурентно перешкоджаючи утворенню активних форм ферментів, або ферментами, які руйнують вітаміни.

Для відкриття і виявлення вітамінів у харчових продуктах чи інших біологічних об'єктах зазвичай користуються якісними реакціями, заснованими на утворенні характерної кольорової реакції будь-якого вітаміну з відповідним хімічним реактивом.

Мета лабораторної роботи – визначити вміст водорозчинних вітамінів у харчових продуктах.

Завдання

1. Визначити вміст аскорбінової кислоти в картоплі, капусті та інших харчових продуктах.

Дослід № 1. Кількісне визначення аскорбінової кислоти

Принцип методу. *Кількісний метод визначення аскорбінової кислоти заснований на здатності вітаміну С відновлювати 2,6-дихлорфеноліндофенол, який у кислому середовищі має червоне забарвлення, в лужному – синє, а при відновленні знебарвлюється.*

Для збереження вітаміну С від руйнування досліджуваній розчин титрують у кислому середовищі лужним розчином 2,6-дихлорфеноліндофенола до появи рожевого забарвлення.

Досліджуваний матеріал: хвоя, капуста, морква, картопля, сеча.

Реактиви: 0,001 н. розчин натрієвої солі 2,6-дихлорфеноліндофенолу, 10-процентний розчин HCl.

Обладнання: ваги аптечні; мірні циліндри; піпетки на 1, 2, 5 мл; порцелянові ступки з маточки; бюретка; колбочки для титрування; ножиці; скальпель; скляний пісок.

Хід роботи. *Визначення вмісту вітаміну С у капусті.*

Зважують 1 г капусти, розтирають у ступці з 2 мл 10-процентного розчину HCl і скляним піском, доливають 8 мл води і фільтрують. Відбирають для титрування 2 мл фільтрату, додають 10 крапель 10-процентного розчину HCl і титрують 2,6-дихлорфеноліндофенолом до рожевого забарвлення. Обчислюють уміст аскорбінової кислоти в 100 г капусти.

Для розрахунку вмісту аскорбінової кислоти використовують формулу

$$x = \frac{0,088 \cdot A \cdot \Gamma \cdot 100}{B \cdot B},$$

де x – уміст аскорбінової кислоти в міліграмах на 100 г продукту;

0,088 – уміст аскорбінової кислоти, мг;

A – кількість титранту, мл;

B – об'єм екстракту, взятий для титрування, мл;

B – кількість продукту, взята для аналізу, г;

Г – загальна кількість екстракту, мл;

100 – перерахунок на 100 г продукту.

Зазвичай у 100 г капусти міститься 25 – 100 мг аскорбінової кислоти, у 100 г шипшини – 500 – 1500 мг, у 100 г хвої – 200 – 400 мг.

Дослід № 2. Визначення вмісту вітаміну С в картоплі

Хід роботи. Зважують 5 г картоплі, розтирають у ступці зі скляним піском і 20 краплями 10-процентного розчину HCl (щоб картопля не темніла). Поступово доливають 15 мл дистильованої води. Отриману масу зливають у склянку, ополіскують ступку 2 мл води, зливають воду в колбу і титрують 2,6-дихлорфеноліндофенолом до рожевого забарвлення. Розраховують уміст аскорбінової кислоти. У 100 г картоплі міститься 1–5 мг вітаміну С.

Дослід № 3. Визначення вмісту вітаміну С у сечі

Визначення вмісту вітаміну С в сечі дає уявлення про запаси цього вітаміну в організмі, оскільки спостерігається відповідність між концентрацією вітаміну С у крові й кількістю цього вітаміну, виділеною із сечею. Однак при гіповітамінозі вітаміну С уміст аскорбінової кислоти в сечі не завжди знижений. Часто він буває нормальним, незважаючи на велику нестачу цього вітаміну в тканинах.

У здорових людей уведення 100 мг вітаміну С швидко призводить до підвищення його концентрації в крові та сечі. При гіповітамінозі вітаміну С тканини, що відчують нестачу в ньому, затримують прийнятий вітамін і його концентрація в сечі не підвищується. Сеча здорової людини містить 20 – 30 мг вітаміну С, або 113,55 – 170,33 мкмоль/добу. У дітей рівень цього вітаміну знижується при цинзі, а також гострих і хронічних інфекційних захворюваннях.

Хід роботи. У склянку або колбочку відмірюють 10 мл сечі й 10 мл дистильованої води, перемішують, підкислюють 20 краплями 10-процентного розчину HCl і титрують 0,001 н. розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу до рожевого забарвлення. Розрахунок умісту аскорбінової кислоти в сечі роблять за формулою

$$X = \frac{0,088 \cdot A \cdot B}{B},$$

де x – уміст аскорбінової кислоти, мг/добу;

0,088 – коефіцієнт, мг;

A – кількість титранту, мл;

B – об'єм сечі, взятої для титрування, мл;

B – середня добова кількість сечі (для чоловіків – 1500 мл, для жінок – 1200 мл).

Лабораторна робота №13

Кількісне визначення вітаміну Р в чаї

Відомо кілька сполук, які виконують Р-вітамінну дію (рутин та ін.) В основі їх лежить скелет флавону.

Дія вітамінів Р і С взаємно пов'язана, вони беруть участь у окисно-відновних процесах. Терапевтична дія вітаміну С більш ефективна за наявності вітаміну Р. При нестачі в організмі вітаміну Р у людини підвищується проникність капілярів.

Рутин – кристалічна речовина жовто-оранжового кольору. Міститься в тих продуктах, що й вітамін С: в чаї, фруктах, ягодах – брусниці, журавлині та ін. Кількісне визначення вітаміну Р здійснюють витяжці з чаю.

Принцип методу. Рутин здатний окиснюватися перманганатом калію; як індикатор застосовується індигокармін, який і вступає в реакцію з перманганатом калію після того, як окисниться весь рутин. Експериментально встановлено, що 1 мл 0,1 н. розчину перманганату калію окиснює 6,4 мкг рутину.

Досліджуваний матеріал: чай.

Реактиви: перманганат калію 0,05 н. розчин, індигокармін.

Обладнання: скляночки або колбочки, бюретка, піпетки.

Хід роботи. До 100 мг чаю доливають 50 мл гарячої дистильованої води і проводять екстракцію 5 хв. 10 мл екстракту чаю відмірюють у скляночку чи колбочку, додають 10 мл дистильованої води та 5 крапель індигокарміну (з'являється синє забарвлення). Титрують з бюретки 0,05 н. розчином KMnO_4 до появи стійкого жовтого забарвлення.

Визначають процентний уміст рутину в чаї. Розрахунок виконують за формулою

$$X = \frac{3,2 \cdot A \cdot V_1 \cdot 100}{V_2 \cdot P \cdot 1000},$$

де x – уміст вітаміну Р у препараті, %;
 $3,2$ – стандартний перерахунковий коефіцієнт;
 A – кількість титранту, мл;
 V_1 – об'єм, у якому розчинена взята для аналізу наважка, мл;
 100 – загальна кількість речовини для розрахунку процентного вмісту, г;
 V_2 – об'єм розчину, взятого для титрування (аліквота), мл;
 P – наважка, мг;
 1000 – перерахунок мікрограмів у міліграми.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи. У звіті вказати мету, завдання, хід виконання роботи, результати, розрахунки та висновки про вміст вітамінів.

Контрольні питання

1. Дайте визначення поняттю «вітаміни».
2. Як класифікуються вітаміни? Наведіть приклади вітамінів різних класів.
3. Які функції виконують в організмі водорозчинні вітаміни? Наведіть конкретні приклади таких функцій водорозчинних вітамінів.
4. Які хімічна будова та біологічна роль вітамінів B_1 , B_2 , B_6 , B_{12} , РР, Н, С, Р, пантотенової кислоти ?
5. Коферментом яких ферментів є вітаміни B_1 , B_2 , B_6 , B_{12} , РР, Н, С?
6. Які функції в організмі найважливіших жиророзчинних вітамінів А, Д, Е, К?
7. Що розуміють під авітамінозом, гіповітамінозом, гіпервітамінозом?
8. Чому нестача водорозчинних вітамінів швидше призводить до розвитку гіповітамінозів, ніж нестача жиророзчинних ?

12. ВПЛИВ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ НА ДЕЯКІ БІОХІМІЧНІ ПРОЦЕСИ

Будь-яка м'язова діяльність, у тому числі пов'язана зі спортивною діяльністю, призводить до різкого посилення витрачання АТФ в м'язах і збільшення потреби організму в кисні. Це пояснюється підвищенням інтенсивності окиснювальних процесів, що забезпечують ресинтез безперервної витрати АТФ [18, 19].

Найбільш швидким шляхом ресинтезу є реакція перефосфорилювання між АТФ і креатинфосфатом, але можливості цього шляху невеликі через обмеженого вмісту креатинфосфату в м'язах. Якби на ресинтез АТФ витрачався тільки креатинфосфат, всього вмісту його в

м'язах вистачило б на 2 – 3 сек роботи максимальної інтенсивності. Найбільш ефективний шлях ресинтезу АТФ – окисне фосфорилування, тобто генерування АТФ у ході аеробного окислення різних субстратів. Однак щоб воно протікало без ускладнень, необхідна відповідність між потребою організму в кисні й фактичним його споживанням.

При виконанні більшості спортивних навантажень фактичне споживання кисню набагато нижче кисневого запиту. Так, при бігу на 100 м киснева потреба становить 7 л, а фактично споживається не більше 0,5 л. При бігу на 400 м кисневий запит дорівнює 11–13 л, а фактично споживається менше 3 л. При бігу на 10000 м отримуються відповідно такі величини: 150 і 125 л.

У цих умовах істотна роль в енергетичному забезпеченні роботи належить гліколізу, анаеробному розщепленню вуглеводів, котре завершується утворенням лактату, який уже після роботи піддається подальшому окисненню і частково використовується для ресинтезу глікогену.

Чим вища інтенсивність роботи, тим більша інтенсивність гліколізу. Тому при виконанні короточасних фізичних вправ максимальної і субмаксимальної потужності організм використовує як субстрат окиснення переважно вуглеводи, а при тривалих, але менш інтенсивних навантаженнях – ліпіди і продукти їх метаболізму (жирні кислоти, кетонів тіла). У період відпочинку ця група речовин також є основним субстратом окиснювальних реакцій, що постачають енергію (у формі АТФ), необхідну для ресинтезу креатинфосфату, глікогену, білків та ін.

Джерелом використовуваних працюючими м'язами вуглеводів слугує насамперед наявний у них глікоген. При короточасних фізичних навантаженнях (і на початку будь-якої роботи) він переважно й споживається. Але чим довша робота, тим більшого значення набувають глікогенні запаси печінки, в якій посилюється процес глікогенолізу, а утворений цукор надходить у кров і споживається м'язами [18, 19].

Лабораторна робота № 14

Визначення впливу фізичного навантаження на вміст лактату в слині та її рН

Рівень цукру в крові залежить від співвідношення надходження його в кров з печінки та споживання м'язами. Якщо мобілізація глікогену в печінці запізнюється, пригнічується або слабшає внаслідок різкого зниження його вмісту, то концентрація цукру в крові зменшується. При короточасних спортивних навантаженнях зазвичай спостерігається підвищення рівня цукру в крові (аж до високого ступеня гіперглікемії), при дуже тривалих – його зниження. Однак у малотренованих спортсменів

зниження вмісту цукру в крові можуть викликати і короточасні навантаження максимальної інтенсивності.

Використання при м'язових навантаженнях як джерела енергії вуглеводів та ліпідів перебуває в реципрокних відносинах, тобто збільшення споживання вуглеводів супроводжується зменшенням використання ліпідів, і навпаки. При високому рівні цукру в крові вміст у ній вільних жирних кислот невеликий, при низькому рівні цукру він зростає. Інтенсивна мобілізація цукру пригнічує ліполіз та утворення жирних кислот у жирових депо, а підвищений ліполіз різко послаблює процес глікогенолізу в печінці.

Такі ж відносини між вмістом у крові лактату і кетонових тіл: при високому рівні лактату вміст кетонових тіл не вищий, ніж у стані спокою, але при зниженні рівня лактату (під час виконання тривалих навантажень або в період відпочинку) вміст кетонових тіл зростає, що свідчить про посилення окиснення жирних кислот та перехід організму з вуглеводних на ліпідні джерела енергії.

Навантаження високої інтенсивності, що супроводжується активним гліколізом, а отже, різким підвищенням рівня лактату в крові, призводить до зменшення лужного резерву крові. Однак у зв'язку з тим, що буферність крові достатньо велика, істотних змін рН крові зазвичай не відбувається. Інше спостерігається в біологічних рідинах (сеча, слина), що мають меншу буферність, ніж кров: величина рН у них дещо знижується. Таким чином, зміни кислотності сечі й слини можуть також характеризувати реакцію організму на фізичні навантаження, відображаючи до певної міри процеси, що відбуваються в працюючих м'язах.

***Мета роботи** – визначити вплив фізичного навантаження на біохімічні параметри слини.*

Завдання

1. Визначити рН слини.
2. Оцінити вміст лактату в слині.

Дослід № 1. Вплив фізичних навантажень різного характеру на активну реакцію слини й вміст у ній лактату

Досліджуваний матеріал: слина.

Реактиви: дистильована вода.

Обладнання: скляночки, пробірки, індикаторний папір, рН- метр, аналізатор молочної кислоти і глюкози.

Хід роботи. Чотирьом випробуваним пропонують ретельно прополоскати рот. Потім кожному з них дають по 20 мл дистильованої води для того, щоб вони тримали її в роті, розмішуючи протягом 2–3 хв. Отримані проби слини виливають у скляночки із зазначеними ініціалами випробовуваних і цифрою 1 (перша проба – рівень спокою). Після цього

половині випробовуваних пропонують бігти на місці в максимально високому темпі, з підніманням коліна до горизонтального положення стегна й енергійними рухами руками протягом 30 сек. Другій половині випробовуваних – у помірному темпі («підтюпцем» протягом 3 хв. Після закінчення бігу в усіх випробовуваних знову відбирають проби слини (як описано вище) – в нові скляночки (позначивши їх ініціалами і цифрою 2).

У чисті пробірки виливають по 1 мл слини з 1-ї та 2-ї скляночок, визначають її рН за допомогою універсального індикатора (або рН-метра). У пробах слини встановлюють також уміст молочної кислоти за допомогою аналізатора молочної кислоти і глюкози.

Вимоги до оформлення лабораторної роботи . У звіті вказати мету, завдання, хід виконання роботи. Зробити висновки.

Контрольні питання

1. Коли рівень молочної кислоти підвищується більшою мірою – при виконанні темпових вправ зі штангою або при повільно виконуваних жимах?

2. Чи можна очікувати підвищення рівня кетонових тіл у крові після лижних гонок на 30 км? Дайте обґрунтовану відповідь.

3. Що може ви'явитися причиною зменшення вмісту цукру в крові при виконанні короткочасних спортивних навантажень максимальної і субмаксимальної інтенсивності? Дайте обґрунтовану відповідь.

13. ВОДА. ОСНОВНІ ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ. ЖОРСТКІСТЬ (ТВЕРДІСТЬ) ВОДИ

Вода у природі, її кругообіг, значення та використання [5, 21 – 24]

Вода – одна з найрозповсюдженіших речовин у природі. Вона займає $\frac{3}{4}$ поверхні Землі. Загальна кількість води на Земній кулі становить 1350 млн км³. Прісної води менше ніж 3% від загальної кількості. Значна кількість води перебуває у газоподібному стані у вигляді пари в атмосфері; у вигляді великих мас снігу та льоду лежить вона на вершинах високих гір і в полярних краях. У надрах Землі також є вода, що просочує ґрунти і гірські породи. Природні води – океанські, морські, озерні, річні, болотні – за своєю суттю є розчинами, що містять різноманітні солі (NaCl, KCl, Na₂SO₄, CaSO₄, MgSO₄, MgCl₂ та ін.) у водорозчинному стані й деякі інші речовини. Кількість домішок у прісних водах звичайно лежить у межах від 0,01 до 0,1 масового відсотка. Морська вода містить 3,5% (мас.) розчинених речовин і більше, основну частину яких становить натрій хлорид.

Вода перебуває у постійному русі. Частина її безперестанку циркулює над і під поверхнею Землі. Друга її частина випаровується, а

потім завдяки конденсації 65 – 75% її потрапляє знову в океан, решта – падає на сушу (рис. 23).



Рис. 23. Схема кругообігу води в природі

Відео «Кругообіг води у природі»

<https://www.youtube.com/watch?v=HhHoSIxduRg>

Поверхневі води:

- 1) прісні озера – 0,009%;
- 2) солоні озера та внутрішні моря – 0,008%;
- 3) ріки – 0,0001%.

Підземні води:

- 1) ґрунтова вода і вода болота – 0,005%;
- 2) підземна неглибинна вода – 0,31%;
- 3) підземна глибинна вода – 0,31%.

Крім того:

- 1) льодовики (крижані брили) та льодові шапки – 2,15%;
- 2) атмосферна вода – 0,001%;
- 3) океани – 97,2%.

За своїм значенням для різноманітних природних процесів, для життєдіяльності рослинних та тваринних організмів є для людини вода займає перше місце порівняно з іншими хімічними сполуками. Вода становить 50 – 99% маси будь-якого живого організму. Кров людини

містить більш 4/5 води, м'язи – до 35% води. При тривалості життя 70 років людина випиває біля 25 т води.

Вода використовується як:

- джерело електроенергії;
- хімічний реагент;
- сировина для одержання H_2 та O_2 ;
- універсальний розчинник;
- каталізатор;
- теплоносій та охолоджувач тощо.

У зв'язку зі збільшенням кількості населення планети й розвитком промисловості витрати води збільшуються. Тому першочергового значення набуває питання охорони водних джерел від виснаження, а також забруднення стічними та промисловими водами. Цю проблему розв'язують шляхом створення таких технологічних процесів, у яких відпрацьована вода не скидається у водоймища, а після очищення повертається у технологічний процес.

Вода як хімічна сполука

Вода – це найпростіша сполука Гідрогену з Оксигеном. Її склад уперше був запропонований французьким ученим Лавуазьє (1783 р.).

Молекула води має кутову будову. Ядра атомів Гідрогену та Оксигену утворюють рівнобедрений трикутник. Зв'язки **O – H** у молекулі полярні (загальна електронна пара зміщена до атома кисню, який має більшу електронегативність), що призводить до асиметрії у розподіленні електричних зарядів і, відповідно, до полярності молекули.

При взаємодії протилежно заряджених частин окремих молекул утворюються достатньо міцні водневі зв'язки, які на рис. 24. зображено трьома крапками.

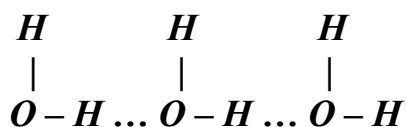


Рис. 24. Водневі зв'язки, утворені між молекулами води

Унаслідок утворення водневих зв'язків молекули води об'єднуються в асоціати $(H_2O)_n$. Водневі зв'язки руйнуються з підвищенням температури, асоціація молекул при цьому зменшується. У парах води існують окремі молекули H_2O .

Вода у твердому стані являє собою кристалічну речовину. У кристалі льоду атом кисню кожної молекули води утворює два водневі зв'язки із сусідніми молекулами (рис. 25).

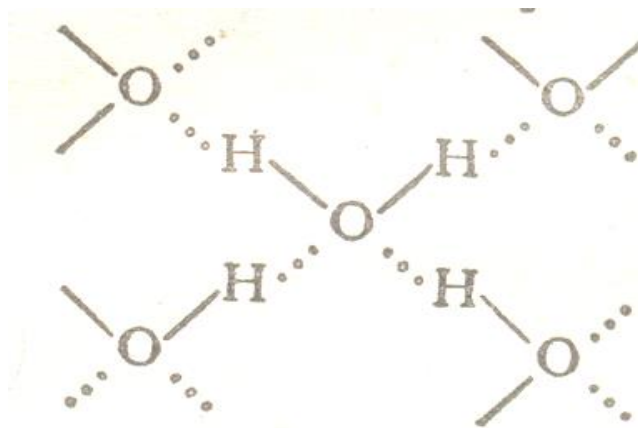


Рис. 25. Водневі зв'язки між молекулами води у твердому стані (льоді)

Фізичні властивості води

Чиста вода – безбарвна прозора рідина, без запаху і смаку.

Густина води при переході її від твердого стану в рідкий не зменшується, як майже в усіх інших речовин, а збільшується й досягає максимального значення при температурі 4°C (1 г/см^3). При подальшому нагріванні значення густини починає зменшуватися.

Вода замерзає при температурі 0°C , кипить при 100°C (за нормального тиску). Достатньо високі температури її кипіння та плавлення обумовлені асоціацією молекул.

Вода має аномально високу теплоємність, завдяки чому вона нагрівається та охолоджується досить повільно.

Діаграма стану води являє собою графічне зображення залежності між величинами, що характеризують стан системи, і фазові перетвореннями в системі. Тобто діаграма стану води (фазова діаграма) характеризує агрегатний стан води залежно від тиску та температури (рис. 26).

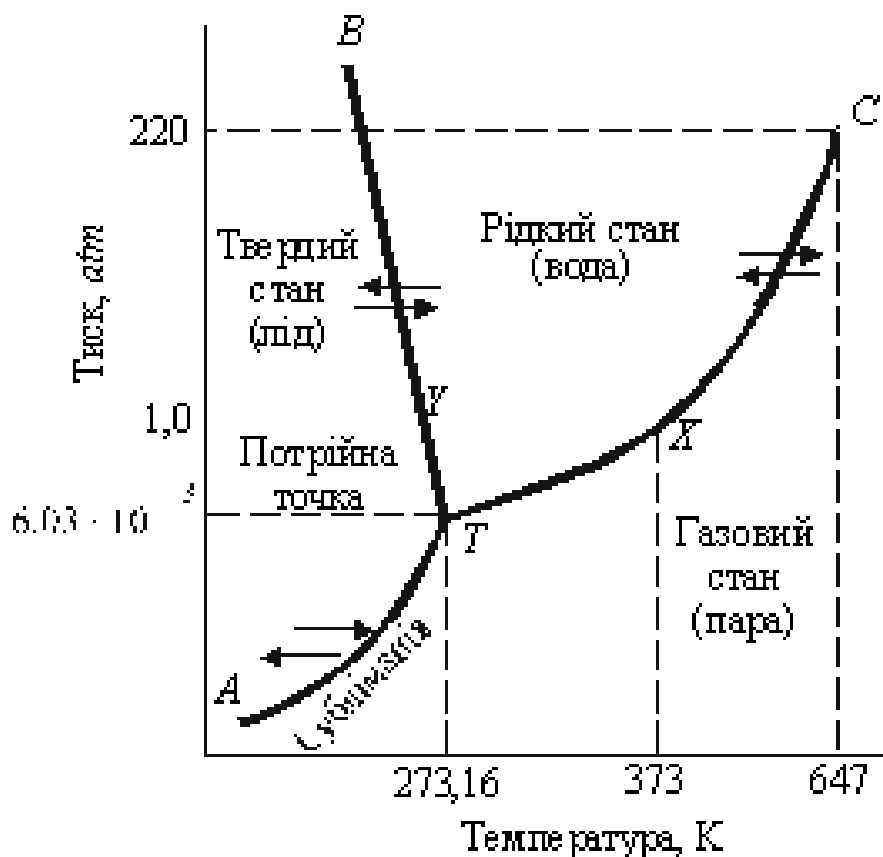


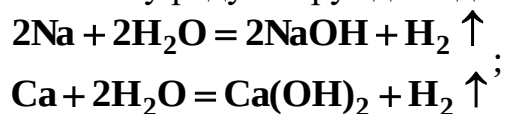
Рис. 26. Діаграма фазового стану води:
 крива TC – крива рівноваги «рідина-пар», або крива кипіння;
 крива TB – крива рівноваги «твердий стан – рідина», або крива плавлення;
 TA – крива рівноваги «твердий стан – пара», або крива сублімації
 Усі криві перетинаються в одній точці T, яка називається потрійною точкою.

Хімічні властивості води

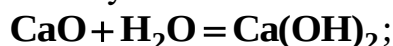
Унаслідок полярності молекул вода проявляє високу активність при різних хімічних взаємодіях. Здатність її молекул утворювати водневі зв'язки, а також їх здатність до утворення донорно-акцепторних зв'язків, у яких вони є донорами неподілених електронних пар атома Оксигену, також обумовлює високу реакційну здатність води.

Вода взаємодіє:

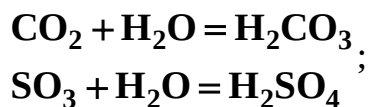
1) з металами, наявними у ряду напруг до водню,



2) з оксидами лужних та лужноземельних металів



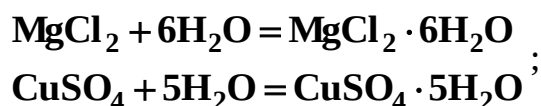
3) з оксидами неметалів



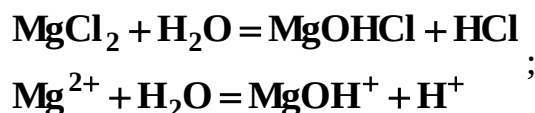
4) із солями

Можливе протікання реакцій гідролізу та гідратації:

а) гідратація – процес приєднання води без розкладання речовини в результаті фізико-хімічної взаємодії. Утворюються кристалогідрати:



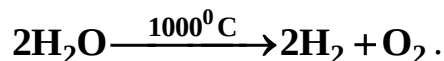
б) гідроліз – взаємодія іонів солі з молекулами води:



5) вода є сильним каталізатором.

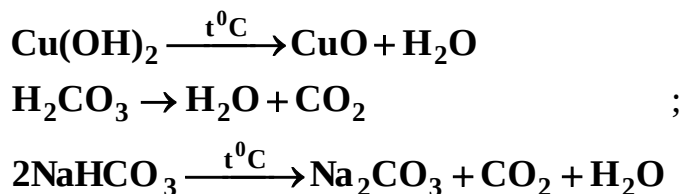
Існує ряд реакцій, які відбуваються тільки у присутності вологи. Наприклад: корозія заліза, взаємодія хлору з металами і т.д. ;

б) при нагріванні вода розкладається

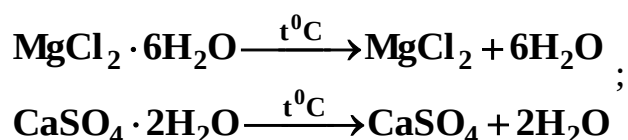


Форми зв'язаної води

1) хімічно зв'язана – вода у складі сполук, що втратила свою індивідуальність. Вона входить до складу гідроксидів металів, кислот, кислих та основних солей, її можна виділити



2) кристалізаційна – входить до складу кристалогідратів у вигляді молекул, може бути виділена



3) вода у гідрогелях (мармелад, холодець, стадія пластичності у бетонних розчинах). Гідрогелі утворюються при коагуляції гідрофільних колоїдних розчинів;

4) адсорбційна – вода поглинена з навколишнього середовища поверхнею якоїсь речовини;

5) капілярна – вода, що утримується за рахунок здатності поверхні матеріалу змочуватися.

Капілярна конденсація – здатність рідини підніматися у капілярі вище її рівня у посудині.

Основні фізичні та фізико-хімічні показники якості води [5, 21, 25, 26]

Температура. Цей показник вимірюють безпосередньо при відбиранні проби води термометром із ціною поділки до $0,1^{\circ}\text{C}$. Точність вимірювання $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Значення температури є дуже важливим для технології очищування води, оскільки температура є тим фактором, який впливає на в'язкість, швидкість осадження твердих частинок, швидкість хімічних і біохімічних реакцій, на розчинність газів. Для питної води бажана температура $+7 - +15^{\circ}\text{C}$.

Реакція середовища. рН вимірюють електрометрично за допомогою скляного та каломельного електродів. Вода господарсько-питного призначення повинна мати рН= 6,5 – 8,5 (для задоволення фізіологічних особливостей людини й тварин та виключення корозії матеріалів труб і споруд). Стічна вода повинна мати рН=7 при спусканні у водоймища, оскільки при рН = 5 гине все живе.

Кольорність та забарвлення. Цей показник спричинений наявністю гумінових речовин і сполук тривалентного заліза у воді. Гумінові речовини – органічні сполуки, що утворюються в процесі хімічного та біохімічного розкладу залишків рослин. Переходячи з ґрунту у воду, вони забарвлюють її в жовтий або коричневий колір залежно від їхньої концентрації. Якщо вода містить значну кількість зважених речовин, то її кольорність визначають після попереднього відстоювання чи у фільтраті.

Необхідно пам'ятати, що немає прямої залежності між кольорністю та вмістом органічних речовин, які забарвлюють воду, тому кольорність виражають не в міліграмах на літр, а в особливих одиницях – градусах кольорності. Вимірювання здійснюють за платино-кобальтовою шкалою. Тобто порівняння виконують зі стандартними розчинами солей K_2PtCl_6 гексахлороплатината калію та хлориду кобальту CoCl_2 . 1 градус

кольорності відповідає розчину, що містить 0,1 мг платини в 1 мл. Крім того, можна використовувати розчин біхромату калію $K_2Cr_2O_7$ з $CoSO_4$. З питною метою можна вживати воду, кольорність якої не перевищує 20 градусів. У виняткових випадках допускається до 35 градусів. Річкова вода може мати кольорність від 35 до 55 градусів, інколи досягає 200 градусів. Повністю знищення забарвлення можна досягти тільки хімічним шляхом – окисненням сильними окиснювачами або сорбцією.

Запах – це органолептичний показник, спричинений, як правило, леткими запашними речовинами, що потрапляють у воду природним шляхом чи зі стічними водами. У природних водах, де містяться тільки неорганічні речовини, може бути запах сірководню. При визначенні спочатку встановлюють його характер (природний або штучний), а потім інтенсивність чи за 6-бальною шкалою, чи на основі «порогового випробування», завдяки якому встановлюють ступінь розведення до зникнення запаху.

Увага! При цьому потрібно визначати температуру, оскільки з підвищенням температури збільшується інтенсивність запаху.

Для води питного призначення при 20°C може бути наявним запах інтенсивності не вище двох балів.

Смак та присмак – це теж органолептичний показник. Визначають тільки для питної води. Смак – солоний, солодкий, гіркий, кислий. Присмак – лужний, металевий і т. ін. У процесі аналізу так само враховують температуру. Для вживання з питною метою можна застосовувати воду зі смаком інтенсивністю не більше двох балів.

Хімічні та біохімічні показники якості води

Під час дослідження якості води визначають:

- 1) домішки у твердому та колоїдному стані;
- 2) загальну мінералізацію або ступінь загальної забрудненості води;
- 3) домішки в розчиненому стані;
- 4) домішки у вигляді газів;
- 5) окиснюваність води (загальну, ХСК, БСК) ;
- 6) токсичні домішки.

Домішки у твердому та колоїдному станах

Каламутність природної води зумовлена наявністю нерозчинених і колоїдних речовин неорганічного (глина, пісок, гідроксид заліза) й органічного (мул, мікроорганізми, нафтопродукти) походження. Методи дослідження засновані на порівняльному оцінюванні досліджуваної проби зі стандартним розчином, мутність якого створюють внесенням у дистильовану воду стандартної суспензії діоксиду кремнію (мг/л) або ваговим методом. Питна вода повинна мати мутність не вищу за 2 мг/л.

Прозорість. Пробу води вважають прозорою, якщо через стовп води в циліндрі, котрий розміщено на відстані 2 см від контрольного тексту, надрукованого спеціальним шрифтом, можна прочитати текст, або хрест

(товщина 1 мм). Так прозорість води, що має мутність 2 мг/л, становить більше ніж 30 см.

Уміст зважених речовин – це кількість наважки, яка затримується на паперовому фільтрі під час фільтрування проби води при тиску 1 атм. Фільтр із наважкою висушують при 105°C до постійної ваги і ваговим методом визначають уміст (мг/л).

Осідаючі речовини – це та частина зважених речовин, котрі осідають на дно відстійного циліндра Лисенка (об'єм – 0,5 л або 1 л, а нижня частина циліндра містить пробірку з точним градуванням до 0,1 мл). Після відстоювання верхню частину рідини декантують, а нижню з осадженою речовиною переносять у склянку й визначають осідаючі речовини по масі тим же методом, як і зважені речовини (мг/л) чи по об'єму (мл/л).

Загальна мінералізація. Сухий та щільний залишки

Сухий залишок – це сума всіх домішок води, яку визначають шляхом випаровування визначеного об'єму проби води у фарфоровій чашці на киплячій водяній бані з подальшим висушуванням при 105°C. У процесі обробки з проби видаляються гази, леткі компоненти і речовини, що розкладаються з утворенням легколетких компонентів. Сухий залишок у воді господарсько-питного призначення не повинен перевищувати 1000 мг/л.

Щільний залишок – це сухий залишок, котрий визначають з фільтрату визначеного об'єму проби води, тобто пробу фільтрують і в ній визначають сухий залишок. Отже, різниця двох показників відповідає вмісту зважених речовин проби. Одиниці вимірювання – міліграми на літр.

За значенням щільного залишку визначають загальну мінералізацію води та встановлюють її належність до певного типу за класифікацією, наведеною у таблиці 12.

Таблиця 12

Класифікація природної води за ступенем загальної мінералізації

№	Назва	Тип	Загальна мінералізація, мг/л
1	2	3	4
1	Ультрапрісна	Гідрокарбонатна	< 200
2	Прісна	Гідрокарбонатна	200 – 500
3	З підвищеною мінералізацією	Гідрокарбонатно-сульфатна	500 – 1000
4	Солонкувата	Сульфатно-хлоридна	1000 – 3000
5	Солонна	Сульфатно-хлоридна	3000 – 10000
6	З підвищеною солоністю	Хлоридна	10000 – 35000

1	2	3	4
7	Перехідна розсолу	Хлоридна	35000 – 50000
8	Розсіл	Хлоридна	50000 – 400000

Втрати при прожарюванні. Зольність твердих домішок

Для визначення вмісту органічної та мінеральної частин твердої фази домішок води беруть висушену тверду фазу будь-якого визначення (зважених речовин, осідаючих речовин, сухого або щільного залишку), яку прожарюють у муфельній пічі за температури 600°C. У вигляді оксидів видаляються вуглець, водень, азот, сірка і т. ін. Залишок після прожарювання називають золою, його зважують після охолодження в ексикаторі на аналітичних терезах. Результат приводять або в абсолютному значенні, або у процентах.

Втрати маси при прожарюванні – це є абсолютна кількість домішок, що видалилися.

Зольність – це відношення маси залишку після прожарювання до маси первинно взятого твердого зразка, виражене у відсотках, %.

Домішки у розчиненому та колоїдному станах

Іонний склад води – це вміст усіх водорозчинних солей. Усі солі, котрі є розчиненими у воді, дисоціюють на іони. Ті речовини, які мають малу розчинність, але подрібнені до розміру колоїдних частинок, називають колоїдними. Ці речовини не визначають іонного складу води.

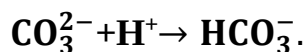
Зазвичай у всіх типах води переважають одні й ті ж самі іони. Тому їх набір називають макрокомпонентним складом води. Одиниці вимірювання їх кількості – міліграми на літр. Вони визначають основні фізичні та хімічні властивості води. Це – іони натрію, калію, кальцію, магнію, гідрогенкарбонат-іони, сульфат-іони й хлорид-іони.

Лужність води. Вуглекислотна рівновага води

Лужність води – це вміст речовин, що вступають у реакцію із сильними кислотами, тобто іонами водню. З кислотами реагують гідроксильні йони, а їх наявність у воді залежить від співвідношення солей, розчинених у воді, та їх гідролізу. Оскільки гідроксильні йони є результатом гідролізу солей, утворених катіоном сильного гідроксиду й кислотним залишком слабкої кислоти, то наявність гідрогенкарбонат-іону і є визначальною для цього показника. На лужність значно впливає стан сполук вуглекислоти. Вона може бути наявною у воді у формі недисоційованих молекул вугільної кислоти (в дуже малій кількості), молекулярно розчиненого вуглекислого газу і гідрогенкарбонат-іонів, якщо $\text{pH} < 8,4$, і карбонат-іонів, якщо $\text{pH} > 8,4$.

Експериментально лужність води визначають титруванням соляною або сірчаною кислотою послідовно з індикаторами фенолфталеїном та

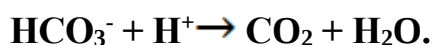
метилоранжем. Забарвлення фенолфталеїну при $\text{pH}=8,2 - 8,4$ переходить з рожевого в безбарвний стан, а це свідчить, що у розчині (пробі води) залишаються лише гідрогенкарбонати



Кислота, якою титрують, витрачається на зв'язування гідроксильної групи та утворення гідрогенкарбонат-іона. Тому лужність дорівнює

$$L = [\text{OH}^-] + 0,5[\text{CO}_3^{2-}] \text{ (ммоль-екв/л)}.$$

Індикатор метилоранж змінює забарвлення при $\text{pH} = 4-4,3$, тобто в той момент, коли в розчині залишається вуглекислота, а саме:



Це реакція нейтралізації гідрогенкарбонат-іонів. Якщо $\text{pH} < 4-4,3$, то лужність води дорівнює 0.

Твердість (жорсткість) води

Твердість води – це її властивості, обумовлені присутністю у ній іонів кальцію та магнію, як свідчення наявності водорозчинних солей цих іонів.

Види твердості: загальна, карбонатна (тимчасова), некарбонатна (постійна), кальцієва та магнієва:

- 1) тимчасова (карбонатна) – обумовлена наявністю у воді гідрогенкарбонатів кальцію й магнію;
- 2) постійна (некарбонатна) – обумовлена присутністю у воді хлоридів і сульфатів кальцію й магнію;
- 3) загальна твердість – сума тимчасової та постійної твердості.

Твердість води виражають сумою мілімоль-еквівалентів іонів кальцію й магнію в 1 л води. 1 мілімоль-еквівалент твердості відповідає вмісту 20,04 мг/л Ca^{2+} або 12,16 мг/л Mg^{2+} в 1 л води. Тому загальну твердість можна визначають за формулою

$$T_z = \frac{[\text{Ca}^{2+}]}{20,04} + \frac{[\text{Mg}^{2+}]}{12,16} \text{ [ммоль-екв/л]},$$

де $[\text{Ca}^{2+}]$ – концентрація йонів кальцію у воді, мг/л;

$[Mg^{2+}]$ – концентрація йонів магнію у воді, мг/л;
20,04 та 12,16 – еквівалентні маси Ca і Mg відповідно (г/моль).

Оскільки кальцієва твердість – це властивість, обумовлена вмістом іонів кальцію (ммоль-екв/л),

$$T_{Ca} = \frac{[Ca^{2+}]}{20,04},$$

а магнієва твердість – умістом іонів магнію (ммоль-екв/л)

$$T_{Mg} = \frac{[Mg^{2+}]}{12,16},$$

то можна записати вираз для загальної твердості як

$$T_3 = T_{Ca} + T_{Mg}.$$

Якщо відома кількість солі, іон якої надає твердості, то її можна визначити за формулою

$$T = \frac{m_{\text{солі}}}{m_e \text{ солі} \cdot V} \quad [\text{ммоль-екв/л}],$$

де $m_{\text{солі}}$ – маса солі, розчиненої у воді, до котрої належить іон твердості, мг;

$m_e \text{ солі}$ – еквівалентна маса цієї солі, г/моль;

V – об'єм води, л.

Залежно від твердості воду класифікують на:

- дуже м'яку – до 1,5 ммоль-екв/л;
- м'яку – 1,5 – 3 ммоль-екв/л;
- середньої твердості – 3 – 4,5 ммоль-екв/л;
- досить тверду – 4,5 – 6 ммоль-екв/л;
- тверду – 6 – 10 ммоль-екв/л;
- дуже тверду – більше 10 ммоль-екв/л.

Згідно з діючим стандартом твердість питної води централізованого водопостачання не повинна перевищувати 7 ммоль-екв/л, для децентралізованої води в окремих випадках дозволяється вживати воду із загальною твердістю до 10 ммоль-екв/л.

Негативні наслідки від застосування твердої води:

- 1) утворення накипу в парових котлах, теплообмінниках та ін.;
- 2) перевитрати мила й інших мийних засобів;

3) передчасний знос тканин при пранні у твердій воді пояснюється тим, що їхні волокна поглинають іони кальцію та магнію, що робить їх крихкими.

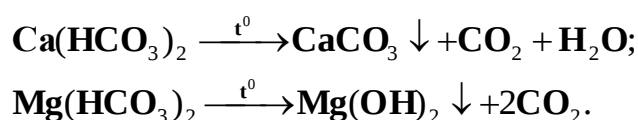
Методи пом'якшення води

Пом'якшення води – це процес зменшення твердості води за рахунок зниження у ній умісту іонів кальцію й магнію.

Виділяють такі методи пом'якшення:

- 1) термічний (кип'ятіння);
- 2) реагентний (хімічний);
- 3) іонообмінний.

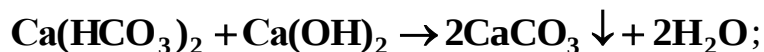
Термічним методом видаляють тимчасову твердість



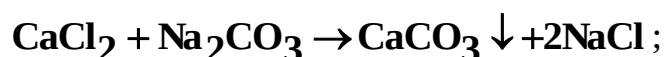
Реагентний метод заснований на тому, що воду обробляють речовинами, які переводять іони Ca та Mg у нерозчинні солі.

Реагентні методи поділяються на:

- 1) вапняний



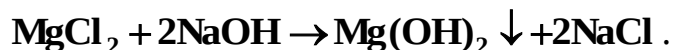
- 2) вапняно-содовий



- 3) фосфатний



- 4) обробка гідроксидом натрію



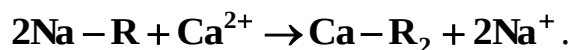
Іонообмінний спосіб полягає у тому, що воду пропускають через іоніти – тверді зернисті речовини, не розчинні у воді й здатні обмінювати свої іони на іони Ca та Mg.

За активними групами іоніти поділяють на катіоніти й аніоніти, за природою – на:

органічні – продукти хімічної переробки вугілля та високомолекулярних сполук;

мінеральні – природного й штучного походження.

Іоніти спроможні вступати в реакції іонного обміну – відповідні йони з води сорбуються адсорбційними центрами іоніту, а активні йони з іоніту десорбуються у воду. Це можна представити реакцією, де йон натрію з іоніту десорбується у воду, а на його місце сортується еквівалентна кількість іонів кальцію,



Карбонатна твердість води – це властивість води, обумовлена кількістю йонів Ca і Mg, яка еквівалентна кількості гідрогенкарбонат-іонів.

Якщо вміст гідрогенкарбонат-іонів є більшим за суму йонів кальцію та магнію, то карбонатна твердість дорівнює загальній твердості

$$T_k = T_z = \frac{[\text{Ca}^{2+}]}{20,04} + \frac{[\text{Mg}^{2+}]}{12,16}.$$

Якщо ж сума гідрогенкарбонат-іонів є меншою за суму йонів кальцію й магнію, то карбонатна твердість дорівнює вмісту гідрокарбонат-іонів

$$T_k = \frac{[\text{HCO}_3^-]}{61,018},$$

де 61,018 – еквівалентна маса гідрогенкарбонат-іону, г/моль.

Некарбонатна твердість – це різниця між загальною та карбонатною твердістю

$$T_{\text{нк}} = T_z - T_k,$$

тобто виходить, що некарбонатна твердість – це вміст іонів кальцію й магнію в еквівалентній кількості хлорид-іонів, сульфат-іонів та інших кислотних залишків, які є у воді.

Лабораторна робота № 15

Визначення твердості води

Біохімічна роль кальцію в організмі людини [7, 8, 10, 27]:

- 1) пластичний матеріал для кісток ($\approx 99\%$ Са міститься у кістках, 1% – у крові й тканинах);
- 2) фактор зсідання крові;
- 3) підтримує збудливість нервової тканини та скорочення м'язів;
- 4) нормалізує діяльність серця і м'язів;
- 5) входить до складу ядра й мембран клітин, клітинних і тканинних рідин;
- 6) підтримує функції клітинних мембран;
- 7) активізує низку ферментів і гормонів;
- 8) зменшує процеси гниття та бродіння у шлунково-кишковому тракті;
- 9) підвищує опірність організму до негативного впливу.

Біохімічна роль магнію в організмі людини [7, 8, 10, 28]:

- 1) відіграє провідну роль в енергетичному, пластичному й електролітному обміні;
- 2) виступає як регулятор клітинного росту, необхідний на всіх етапах синтезу білкових молекул;
- 3) бере участь в обміні фосфору, синтезі АТФ, регуляції гліколізу, побудові кісткової тканини і т.д.;
- 4) відіграє важливу роль у процесах мембранного транспорту;
- 5) є природним антагоністом кальцію;
- 6) сприяє гальмуванню скорочувальної активності гладкої і поперечної мускулатури;
- 7) є природним антистресовим фактором, гальмує розвиток процесів збудження в центральній нервовій системі і знижує чутливість організму до зовнішніх впливів.

Уміст іонів кальцію та магнію в тілі людини наведено в таблиці 13

Таблиця 13

Уміст іонів кальцію та магнію в тілі людини

Органи та тканини	Кальцій (у міліграмах на свіжу тканину)	Магній (у міліграмах на свіжу тканину)
1	2	3
Тіло людини у цілому зі скелетом	2 110	36

Продовження таблиці 13

1		2	3
Кісткова тканина		11 000	105
Зуби	Емаль	36 000	400
	Дентин	27 000	800
М'язи		7	23
Серце		10	17
Легені		17	7
1		2	3
Мозок		12	16
Печінка		12	22
Нирки		20	21
Еритроцити		-	5
Сироватка крові		10	2

Нестача цих іонів у воді питного призначення – основна причина захворювань серцево-судинної системи.

Розподіл причин захворюваності та смертності серед дорослого населення Полтавської області подано на рис. 27 [29]. Є очевидним, що з-за нестачі йонів кальцію та магнію у питній воді основні захворювання населення відносяться до категорії систем кровообігу. Ця картина є характерною для усіх районів області.

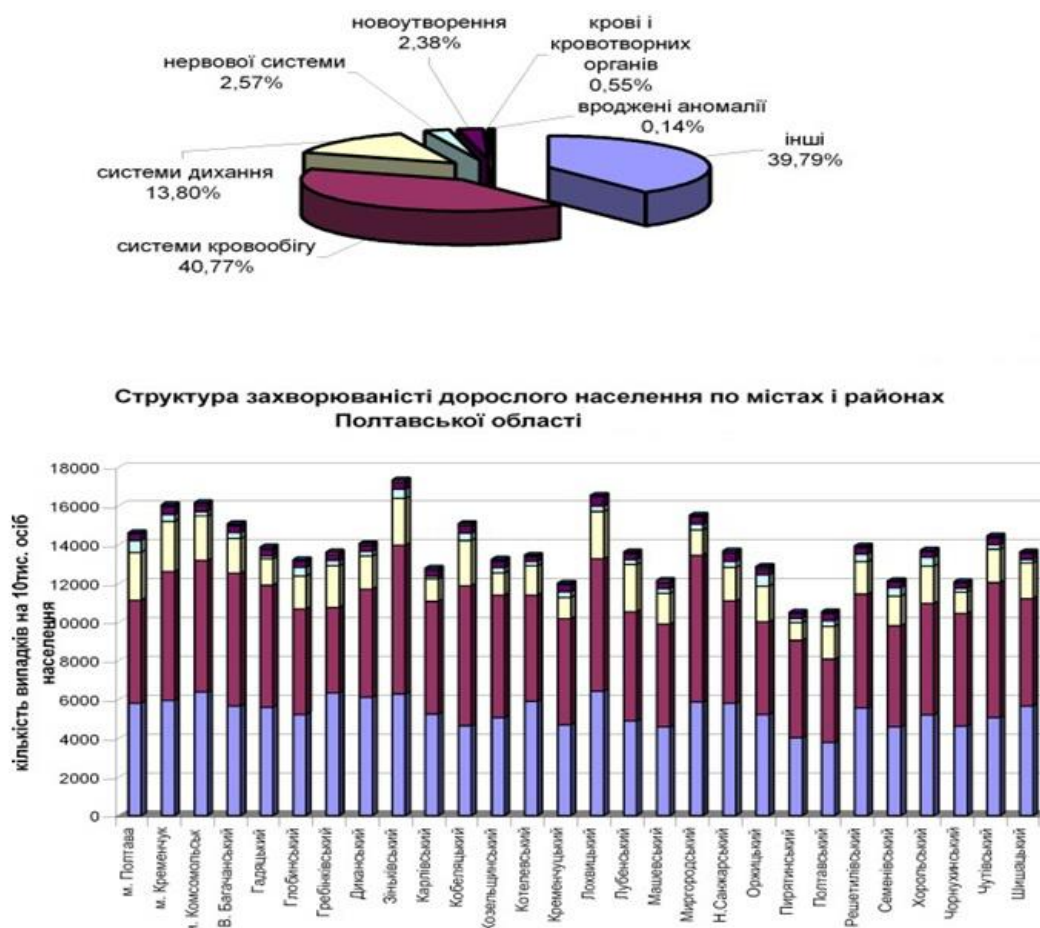


Рис. 27. Розподіл причин захворюваності та смертності серед дорослого населення Полтавської області

Дослід № 1. Визначення вмісту гідрокарбонат-іонів

Хід роботи. У дві конічні колби відберіть піпеткою Мора ємністю 100 мл аліквоту водопровідної води і додайте в кожну по 5 – 6 крапель метилоранжу. Одна з колб буде контрольною. Пробу води в другій колбі титруйте з бюретки по краплях 0,1 н. розчином соляної кислоти доти, поки від однієї краплі кислоти жовте забарвлення розчину не зміниться на оранжеве (колір порівнюйте з кольором у контрольній колбі). Титрування повторіть не менше трьох разів до одержання результатів, що різняться не більше ніж на 0,1 мл. Для розрахунку обчисліть середній результат об'єму титранту.

Уміст гідрокарбонат-іонів визначають за формулою

$$X_{\text{HCO}_3^-} = \frac{V_K \cdot C_K \cdot 1000}{V_B} \text{ ммоль екв/л,}$$

де V_K – середній об'єм кислоти, витрачений на титрування, см³;

C_K – нормальна концентрація розчину кислоти, моль-екв/л;

V_B – об'єм води, мл.

Дослід № 2. Визначення загальної твердості води

Хід роботи. У конічну колбу для титрування відберіть піпеткою Мора ємністю 100 мл аліквоту водопровідної води, долийте мірною пробіркою 20 см³ амонійної буферної суміші й додайте індикатор хромоген чорний ЕТ-00 або кислотний хром темно-синій до появи вишнево-червоного забарвлення розчину. Уміст колби титруйте 0,05 н. розчином трилону Б до переходу вишнево-червоного кольору в синій. Титрування повторіть не менше трьох разів до одержання результатів, що різняться не більше ніж на 0,1 мл. Для розрахунку обчисліть середній результат об'єму титранту ($V_{тр}$).

Загальну твердість води розраховують за формулою

$$T_3 = \frac{V_{тр} \cdot C_{тр} \cdot 1000}{V_B} \text{ м моль екв/л,}$$

де $V_{тр}$ – середній об'єм трилону Б, витрачений на титрування, см³;

$C_{тр}$ – нормальна концентрація розчину трилону Б, моль-екв/л;

V_B – об'єм води, мл.

Порівняйте одержані результати у дослідях № 1 та № 2. Якщо $X_{HCO_3^-} > T_3$, то карбонатна твердість $T_K = T_3$. Якщо $X_{HCO_3^-} < T_3$, то $T_K = X_{HCO_3^-}$.

Дослід № 3. Визначення кальцієвої твердості води

Хід роботи. У конічну колбу для титрування відберіть піпеткою Мора ємністю 100 мл аліквоту водопровідної води, долийте мірною пробіркою 5 мл 10 процентового розчину гідроксиду натрію. Потім внесіть кілька кристалів сухої суміші мурексиду з хлоридом натрію, перемішайте й повільно титруйте 0,05 н. розчином трилону Б до переходу забарвлення з малинового у фіолетове. Титрування повторіть не менше трьох разів до одержання результатів, що різняться не більше ніж на 0,1 мл. Для розрахунку обчисліть середній результат об'єму титранту ($V_{тр}$).

Кальцієву твердість води визначають за формулою

$$T_{Ca^{2+}} = \frac{V_{тр} \cdot C_{тр} \cdot 1000}{V_B} \text{ м моль екв/л,}$$

де $V_{тр}$ – середній об'єм трилону Б, витрачений на титрування, см³;

$C_{тр}$ – нормальна концентрація розчину трилону Б, моль-екв/л;

V_B – об'єм води, мл.

14. ОСНОВИ МІКРОБІОЛОГІЧНОГО АНАЛІЗУ [5, 21, 30 – 32]

Сучасний етап розвитку характеризується тим, що людство намагається позначити фізіологічні та патологічні функції організмів, процеси обміну речовин, закони спадковості й змінності організмів, їх еволюції з точки зору молекулярної біології. Останнім часом в цьому напрямі були отримані визначні результати:

- 1) виявлено генетичну роль ДНК та встановлено її структуру;
- 2) створено теорію регуляції активності генів;
- 3) розшифровано генетичний код;
- 4) здійснено хімічний синтез гена та гена інфекційної ДНК, який має властивості живого вірусу.

Вирішити ці питання було б неможливим без досліджень мікробіології (МБ). Поряд із проведенням теоретичних досліджень, МБ розв'язує проблеми великого практичного значення.

МБ – це наука загальнобіологічного, медичного й екологічного значення, яка надає можливість визначити та зрозуміти загальні й одиничні закономірності розвитку всього живого.

Наприкінці XVII сторіччя голландець Антоній Левенгук відкрив своєрідний невідомий для нього світ дуже дрібних живих істот, котрі можна бачити тільки під мікроскопом. Ці дрібні істоти і назвали мікроорганізмами або скорочено – мікробами, а науку, що їх вивчає, – мікробіологією (від грецького *micros* – малий, *bios* – життя, *logos* – учення).

МБ вивчає морфологію, фізіологію, біохімію, генетику, екологію мікробів, їх роль та значення в кругообігу речовин, у патології людини, тварин і рослин.

МБ розробляє методи й засоби боротьби зі шкідливими мікробами, а також способи використання корисних мікробів.

Мікроорганізми є досить різноманітними за зовнішніми ознакам, внутрішньою будовою та біологічними властивостями.

Їх поділяють на такі класи:

одноклітинні:

- бактерії;
- мікоплазми;
- рикетсії;
- віруси;
- спірохети;
- променисті гриби – актиноміцети;

багатоклітинні:

- цвілеві (плісєневі) гриби;
- дріжджі.

До мікроорганізмів належать також найпростіші (одноклітинні) й водорості (багатоклітинні). Детально їх вивчають такі науки, як протозоологія та альгологія.

Основний критерій, за яким поєднуються живі істоти під назвою мікроорганізмів, є їх малі розміри, що перебувають у межах від 9 – 12 мкм до 15 – 20 мкм.

Систематика та класифікація мікроорганізмів

Систематика (таксономія) створює загальне уявлення про процеси еволюції й походження видів, про систему органічного світу в цілому.

Найнижчою таксономічною одиницею є вид.

Види об'єднуються в роди,

роди – в сімейства,

сімейства – в порядки,

порядки – в класи.

Номенклатура біномінальна, тобто складається з двох слів, запропонована Ліннеєм.

Перше слово означає рід. Воно пишеться з великої літери і є похідним від будь-якого слова, що характеризує морфологічну ознаку, або походить від прізвища автора, який відкрив чи вивчав цей мікроорганізм.

Друге слово означає назву виду і є похідним від іменника, що визначає джерело походження мікроба, характер захворювання, котре він викликає, або інші відмінні ознаки. Його пишуть із маленької літери.

Наприклад, збудник сибірської виразки називається *Bacillus anthracis*. Це означає, що мікроорганізм належить до роду *Bacillus*, тобто спороносних паличкоподібних бактерій, і є збудником сибірської виразки (*anthracis* – означає *сибірська виразка*).

Для характеристики виду використовують усі особливості не тільки зовнішньої, а й внутрішньої будови мікроба, а саме:

- його будову;
- фізіологічні та біохімічні властивості;
- процеси, які виникають у природному середовищі, де цей мікроб існує.

Що ж стосується патогенних мікробів, то тут також треба враховувати спроможність мікроба вироблять токсичні продукти, характер і специфіку патологічного процесу, що викликає присутність цього мікроорганізму, імуногенні властивості.

Вид – це сукупність мікроорганізмів, які мають єдине походження та генотип, подібні за морфологічними й біологічними властивостями, що володіють спадкоємно закріпленою спроможністю викликати в середовищі природного існування якісно визначені специфічні процеси.

У МБ застосовують такі терміни, як «штам» та «клон».

Штам – більш вузьке поняття, ніж вид. Штамами називають різні культури, які належать до одного й того ж виду, але різняться одна від одної будь-якими ознаками. Наприклад, якщо збудник черевного тифу одержано з води, говорять про «водяний» штам, якщо цей вірус одержано з крові – його позначають як «гемо»-штам. Однак, слід пам'ятати, що властивості окремих штамів не виходять за межі виду.

Клон – означає популяцію або, як прийнято казати у МБ, культуру, що є нащадком однієї клітини.

Популяція мікробів, яка складається з особин одного виду, називається чистою культурою, а та, що складається з різних видів, – змішаною.

Міжнародна класифікація, яка була розроблена під керівництвом Берджі:

- 1-й клас – синьо-зелені водорості;
- 2-й клас – безхлорофільні бактерії;
- 3-й клас – рикетсії та віруси.

Значення мікроорганізмів

Мікроорганізми надзвичайно поширені в природі. Вони є в повітрі, ґрунті, воді, їжі, на предметах, що нас оточують, на поверхні й усередині наших тіл, на тваринах та рослинах. Мікробів знаходять навіть у гарячих пісках пустель, у холодній Антарктиді, на дні морів та океанів, у шахтах. Факт широкого розповсюдження мікробів свідчить про їх визначну роль у живій природі. Без перебільшення можна сказати, що без мікробів не було б життя, а воно існувало б у якій-небудь іншій формі.

Мікроорганізми в природі:

- 1) зумовлюють кругообіг речовин та енергії;
- 2) здійснюють розщеплення органічних речовин;
- 3) синтезують білок;
- 4) є визначальними в процесах утворення нафти, газу та кам'яного вугілля;
- 5) відіграють визначну роль у родючості ґрунту;
- 6) беруть участь у процесі вивітрювання гірських порід.

Мікроорганізми в промисловості беруть участь у:

- 1) процесі випікання хліба;
- 2) виноробстві;
- 3) виробництві органічних кислот;
- 4) виробництві ферментів, гормонів, антибіотиків, ліків.

Крім користі, бактерії несуть суттєву шкоду. Групу мікроорганізмів, що є збудниками різноманітних захворювань людини, тварин, сільськогосподарських рослин та комах, називають **патогенними організмами**.

Лабораторна робота № 16

Приготування препаратів фіксованих фарбованих мікробних клітин. Фарбування за методом Грама

Мета роботи – вивчити методику виготовлення препаратів простих та складних методів фарбування.

Завдання

1. Ознайомитися з призначенням і методами фіксації.
2. Виготовити препарати простого та складного методів фарбування.
3. Препарати мікроскопіювати, намалювати, відмітити метод фіксації й фарбування препаратів, об'єкт дослідження та збільшення.
4. Виготовити препарати бактерій за методом Грама.
5. Препарати мікроскопіювати (обов'язково показавши викладачу), намалювати, відмітити об'єкт дослідження, збільшення, наявність пофарбованих (грам+) та безбарвних (грам-) бактерій.
6. Показати лабораторний журнал викладачу, захистити виконану лабораторну роботу з теоретичного розділу.

Дослід № 1. Приготування пофарбованих препаратів

Методи фарбування препаратів мікроорганізмів поділяють на прості та складні. Різноманітність способів фарбування заснована на фізико-хімічних особливостях мікробної клітини і взаємодії її структурних одиниць та речовин, що входять до її складу, з реактивами, які використовують.

При простих методах фарбування застосовують один барвник. Метод простого фарбування використовують для ознайомлення з морфологією бактерій. Методика виготовлення препарату складається з таких операцій.

Хід роботи

1. **Готують мазок.** На середину чистого предметного скла наносять маленьку краплю води, в неї додають трохи культури мікробів, узяті з густого живильного середовища, ретельно перемішують. Слабо каламутну бактеріальну суспензію рівномірно розподіляють (розмазують) тоншим шаром по поверхні предметного скла на площині 2 – 3 см².

2. **Одержаний мазок висушують** при кімнатній температурі на повітрі або (для прискорення) у потоці теплого повітря над невеличким полум'ям газового пальника, не допускаючи нагрівання скла (скло при цьому тримають мазком донизу).

3. **Здійснюють фіксацію мазка.** Скло із сухим мазком проводять 3 – 4 рази над полум'ям газового пальника, трохи торкаючись до нього тим боком, де мазка немає. Мазки бактерій можна фіксувати етиловим спиртом, сумішшю етанолу та ефіру, а також іншими речовинами (фіксаторами). Мета фіксації – убити клітини бактерій і закріпити мазок (зафіксувати на склі), оскільки мертві клітини краще фарбуються, ніж живі.

4. **Фарбують мазок.** На охолоджений фіксований мазок наносять 1 – 2 краплі метиленового синього (еритрозину, карболового фуксину Циля). Після витримання мазка у фарбі протягом 20 – 40 секунд її змивають теплою водою з промивалки. Промивання вважається закінченим тоді, коли вода стане безбарвною. Промитий препарат висушують фільтрувальним папером, прикладаючи його до мазка (якщо препарат добре зафіксований, то клітини при промиванні залишаються на предметному склі). За препаратом спостерігають під мікроскопом з об'єктивами 8 і 40. Потім на препарат наносять краплю імерсійного масла та мікроскопіюють з об'єктивом 90.

При складному фарбуванні використовують дві й більше фарбувальних речовин. Крім фарб, застосовують різні знебарвники (спирт і т. ін.). Мета такого фарбування полягає у виявленні особливостей у будові мікроорганізмів та їх диференціації.

Фарбування спор бактерій виконують із використанням витравлювачів (кислоти, лугу) для розрихлення оболонок спор, що значно полегшує проникнення у них фарби.

Методика фарбування складається з таких операцій:

1. На виготовлений за вказаною вище методикою сухий, але нефіксований мазок мікроорганізмів наносять 1 – 2 краплі 0,5-процентного розчину соляної кислоти і підігрівують протягом 1 – 2 хвилин над полум'ям газового пальника (до виділення пари).

2. Кислоту зливають, мазок промивають водою, висушують та фіксують, як було вказано при простому методі фарбування.

3. На охолоджений фіксований мазок наносять 1 – 2 краплини метиленового синього і підігрівують до виділення пари. Необхідно стежити за тим, щоб розчин фарби не підсихав.

4. Барвник ретельно змивають водою. Препарат занурюють у склянку з 5-процентним розчином сірчаної кислоти на 20 – 40 сек і відразу промивають водою. Після цієї операції протоплазма клітин знебарвлюється, але спори залишаються пофарбованими.

5. На промитий препарат наносять 2 – 3 краплини фуксину. Після витримки мазка в барвнику протягом 3 – 5 хв препарат промивають водою, а потім висушують за допомогою фільтрувального паперу. Спори будуть пофарбовані у червоний колір, а клітина – в голубий.

6. Препарат розглядають під мікроскопом з об'єктивами 8, 40. Потім наносять краплю імерсійного масла і мікроскопують з об'єктивом 90.

Дослід № 2. Фарбування за методом Грама

Фарбування за методом Грама має велике значення для визначення грам-позитивних (грам +) бактерій, які фарбують за цим методом, та грам-негативних (грам–) бактерій, котрі залишаються безбарвними. Суть методу полягає в тому, що під час фарбування грам-позитивних бактерій у протоплазмі їх клітин утворюється сполука барвника з йодом, яка утримується в клітині при обробці її спиртом. Тому вони і залишаються пофарбованими, а грам-негативні – знебарвлюються. Причина полягає у різній проникності клітинної оболонки та цитоплазматичної мембрани для комплексу «барвник – йод», що пов'язано з різницею хімічного складу і структури цих двох типів мікроорганізмів. Можливо, що це пов'язано з наявністю у цитоплазмі грам-позитивних бактерій значної кількості магнієвої солі рибонуклеїнової кислоти, яка утворює з барвниками та йодом комплекс, якщо є нерозчинним у воді.

Хід роботи

Методика виготовлення препарату складається з таких операцій:

1) на предметному склі готують фіксований мазок бактерій, як показано при простому методі фарбування;

2) на мазок наносять 2 – 3 краплі розчину метиленового синього і через 2 – 3 хвилини барвник змивають водою за вказаною вище методикою;

3) наносять розчин Люголя (розчин йоду в йодистому калію) та через 1 – 2 хвилини змивають водою;

4) препарат занурюють у склянку з 96-процентним розчином етанолу на 30 – 40 сек, а потім швидко промивають водою;

5) фарбують препарат розведеним розчином фуксину протягом 1 – 2 хвилин, промивають водою та висушують за допомогою фільтрувального паперу. Грам-позитивні бактерії набувають фіолетового кольору, а грам-негативні – червоного (знебарвлені за допомогою спирту, вони сприймають додаткову фарбу фуксину).

Увага! На знебарвлення мазка треба звернути особливу увагу. При недостатньому знебарвленні всі клітини збережуть свою фарбу, при надлишковому – всі стануть безбарвними.

Препарат розглядають під мікроскопом з об'єктивами 8, 40. Потім наносять краплю імерсійного масла і мікроскопують з об'єктивом 90.

Контрольні питання

1. Навіщо фарбують препарати мікроорганізмів?

2. Які методи фарбування ви знаєте?
3. Що таке грам-позитивні та грам-негативні мікроорганізми?
4. Методика фарбування препаратів за методом Грама.

Лабораторна робота № 17

Мікробіологічний аналіз води

При стандартному санітарно-бактеріологічному аналізі води проводять два основних дослідження, що характеризують санітарний стан води:

- загальної кількості бактерій у воді;
- кількості бактерій групи кишкової палички (бактерій *E.coli*).

При температурі 37°C протягом 24 годин із бактеріальних клітин на живильному агарі виростають колонії, які можна спостерігати при збільшенні у 2 – 5 разів.

Під час бактеріального дослідження води ставлять за мету встановити, чи заражена вода патогенними мікроорганізмами, особливо збудниками тифу, холери, дизентерії. Визначити ці мікроорганізми важко. Кишкова паличка *E.Coli* в цьому випадку відіграє роль індикаторного мікроорганізму. Вона є безпечною для людського організму, але наявність її у воді свідчить про забруднення виділеннями людини і наявність патогенними мікроорганізмами.

Кількісний уміст у воді кишкової палички характеризують її титром (колі-титром):

Колі-титр чисельно дорівнює об'єму води, вираженому в мілілітрах, який містить одну кишкову паличку. Титр кишкової палички є вирішальним показником санітарно-епідеміологічного стану води. Для знезараженої та освітленої води, котру використовують із господарсько-питною метою, колі-титр повинен бути не нижчим за 300 – 330 мл. Забрудненість води клітинами *E.Coli* характеризують також колі-індексом. **Колі-індекс** – це кількість клітин *E.Coli*, які містяться в 1 л води. Відповідно до ДСТУ колі-індекс води господарсько-питного призначення не повинен перевищувати 3.

Мета роботи – вивчити методику вирощування колоній мікроорганізмів.

Завдання

1. Підготувати м'ясо-пептонне живильне середовище.
2. Виростити колонії мікроорганізмів.
3. Мікроскопіювати одержані препарати мікроорганізмів, визначити кількість колоній, обов'язково показавши викладачеві. Замалювати одержаний препарат.

4. Показати лабораторний журнал викладачеві, захистити виконану лабораторну роботу з теоретичного розділу.

Дослід № 1. Визначення загальної кількості бактерій у воді

Хід роботи

У чашку Петрі піпеткою вносять 1 мл досліджуваної питної води (якщо аналізують стічну воду, то її розводять стерильною водою у декілька разів). Пробу заливають 10-12 мл живильного м'ясо-пептонного агару ($t \approx 45^\circ\text{C}$). Уміст швидко перемішують, обережно нахилиючи та обертаючи чашку по поверхні стола. Необхідно уникати утворення пухирців повітря, незалитих частин дна чашки, потрапляння середовища на краї та кришку чашки. Потім чашку залишають на горизонтальній поверхні до застигання (загуснення) середовища, після чого поміщають у термостат і витримують при температурі $37,5^\circ\text{C}$ протягом 24 годин. Усі попередні процедури називають посівом. Посів можна виконувати напередодні лабораторної роботи. За цей час у чашках Петрі виростають колонії, які можна спостерігати при збільшенні у 5 разів. Для підрахунку колоній чашку кладуть догори дном на чорний фон. Зазвичай виростає від 30 до 300 колоній.

Для прискорення підрахунку загальної кількості колоній (X) визначають чисельність колоній в 1 см^2 (n) та множать це число на площу чашки Петрі, яку знаходять за формулою

$$S = \pi \tau^2,$$

де τ – радіус чашки, см;

π – 3,14.

n – число колоній в 1 см^2 .

Таким чином, загальна кількість колоній становить

$$X = n\pi\tau^2,$$

де τ – радіус чашки, см;

π – 3,14;

n – число колоній в 1 см^2 .

Використовуючи таблицю 14, за одержаними результатами визначають ступінь забрудненості води.

Таблиця 14

Ступінь забрудненості води залежно від загальної кількості бактерій

Характеристика води	Кількість бактерій в 1 мл води
1	2
Дуже чиста	$a \times 10$
Чиста	$a \times 10^2$
Помірно забруднена	$a \times 10^3$
Забруднена	$a \times 10^4$
Брудна	$a \times 10^5$
Дуже брудна	$a \times 10^6$

Приготування живильного м'ясо-пептонного агару (МПА) для визначення загальної кількості мікробів

1. Приготування м'ясної води. В 1 л дистильованої води уміщують 500 г м'ясного фаршу (без жиру та сухожиль), витримують 12 годин на холоді або 1 годину на водяній бані при температурі $50 - 60^\circ \text{C}$, нагрівають до кипіння, фільтрують через марлю чи вату в автоклаві при $120 \pm 2^\circ \text{C}$. Так отримують м'ясну воду.

2. Приготування м'ясного бульйону. До 1 л м'ясної води додають 10 г пептону та 5 г солі. Нагрівають до розчинення й установлюють рН у межах 7,2 – 7,4, фільтрують, розливають у пробірки та флакони, після чого стерилізують в автоклаві при $120 \pm 2^\circ \text{C}$ протягом 20 хв.

3. Приготування м'ясо-пептонного агару МПА. До 1 л м'ясного бульйону додають 15 г агару, потім нагрівають на водяній бані до повного розчинення агару, установлюють рН=7,2 – 7,4, фільтрують, розливають у пробірки й флакони та стерилізують в автоклаві при $120 \pm 2^\circ \text{C}$ протягом 20 хв при тискові 1,1 атм.

За результатами бактеріологічного аналізу, проведеного за цією методикою, не можна визначити всі бактерії, що містяться у воді, а тільки ті, які розвиваються за цих умов. Тому такий метод дає відносну оцінку якості води. Використовуючи наведену методику, можна порівнювати бактеріальну зараженість різних місць водоймища, а також одного водного джерела у різні пори року.

Контрольні запитання та завдання

1. З'ясуйте мікробіологічні показники якості води.
2. У чому полягає метод визначення загальної кількості бактерій у воді?
3. Навіщо необхідно визначати загальну кількість бактерій у воді? Які вимоги ДСТУ щодо цього показника?
4. Як визначають колі-титр?
5. Які фактори впливають на показники якості води?

6. Які вимоги ДСТУ відносно бактеріологічних показників якості води?

7. Підрахунок кількості колоній на середовищі Ендо показав, що при посіві 1 мл стічної води без розведення виросло три колонії. Визначте колі-титр і колі-індекс цієї води.

Дослід № 2. Визначення кількості бактерій групи кишкової палички (бактерій E.Coli)

Визначення кишкової палички засновано на її здатності, на відміну від інших мікроорганізмів, при розмноженні зброджувати цукор. Якщо живильне середовище містить молочний цукор, то він зброджується до молочної кислоти, яка руйнує сполуку барвника фуксину з сульфїт-іоном. У результаті у місцях зростання колоній E.Coli одержують забарвлені фуксином червоні блискучі бугорки, за чисельністю котрих роблять висновки про кількість бактерій.

Для визначення кількості бактерій групи кишкової палички існують два методи: бродильний та метод мембранних фільтрів. Ми використовуємо метод мембранних фільтрів.

Суть методу полягає у концентруванні бактерій із визначеного об'єму досліджуваної води на мембранний фільтр та вирощуванні їх при температурі $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ на середовищі Ендо. При цій температурі існують оптимальні умови для вирощування бактерій.

Мета роботи – вивчити методику вирощування колоній мікроорганізмів.

Завдання

1. Підготувати живильне середовище Ендо (фуксин сульфїтного агару) для визначення колі-індексу.

2. Виростити колонії мікроорганізмів.

3. Мікроскопіювати одержані препарати мікроорганізмів, визначити кількість колоній, обов'язково показавши викладачеві. Замалювати одержаний препарат.

4. Показати лабораторний журнал викладачеві, захистити виконану лабораторну роботу з теоретичного розділу.

Хід роботи. У фільтрувальний апарат (рис. 28), який стерилізують кип'ятінням протягом 30 – 40 хвилин (ультрафільтри – протягом 10 хв) уміщують стерильний мембранний фільтр, узавши його обпаленим на полум'ї спиртівки пінцетом з посудини, у якій виконувалася стерилізація. Під мембранний ультрафільтр підкладають простерилізований фільтрувальний папір, змочений стерильною водою. Для фільтрування беруть 300 – 500 мл води. Якщо вода стічна, то її попередньо розводять простерилізованою водою у 100 – 1000 разів. Після закінчення фільтрування мембранний ультрафільтр знімають обпаленим пінцетом із приладу та накладають на поверхню фуксин сульфїтного агару

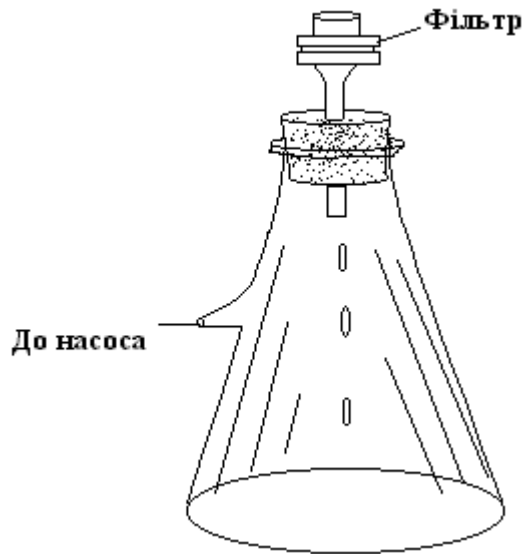


Рис. 28. Фільтрувальний апарат

(середовище Ендо), уміщеного у чашку Петрі, потім чашку в перевернутому вигляді вміщують у термостат при $t=37^{\circ}\text{C}$ на 24 години.

Через 24 години підраховують колонії, забарвлені в червоний колір із металічним блиском.

Колі-індекс розраховують так: кількість бактерій групи кишкових паличок, які вирости з аналізованого об'єму води m , множать на **1000** та ділять на цей об'єм V

$$\text{Колі-індекс} = m \cdot 1000 / V,$$

де m – кількість бактерій групи кишкових паличок, що вирости з аналізованого об'єму води, взятого для аналізу;

V – об'єм води, взятий для аналізу.

Приготування живильного середовища Ендо (фуксин-сульфітного агару) для визначення колі-індексу

Хід роботи

1. Приготування сульфітно-спиртового розчину фуксину. Напередодні проведення аналізу готують 10-процентний розчин основного фуксину в спирті. До 0,5 мл цього розчину додають по краплях 10%-процентний водний розчин сульфіту натрію до отримання яскраво-рожевого забарвлення.

2. Приготування розчину лактози. 0,5 г лактози розчиняють у 2 – 3 мл стерильної води та нагрівають на водяній бані протягом 5 хвилин.

3. Приготування середовища Ендо (фуксин-сульфітного агару). До 100 мл розплавленого м'ясо-пептонного агару додають розчин лактози й

сульфідно-спиртовий розчин фуксину. Одержане середовище ретельно перемішують та розливають у чашки Петрі.

Контрольні запитання та завдання

1. Що являють собою клітини E.Coli?
2. Дати визначення колі-титру та колі-індексу.
3. Як визначають колі-титр?
4. Які фактори впливають на показники якості води?
5. Які вимоги ГОСТу відносно бактеріологічних показників якості води?
6. Підрахунок кількості колоній на середовищі Ендо показав, що при посіві 1 мл стічної води без розведення виросло три колонії. Визначте колі-титр і колі-індекс цієї води.

15. ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ ЗНАНЬ ТА САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ СТУДЕНТІВ

Тема 1. Гліколіз, цикл трикарбонових кислот

1. Як здійснюються анаеробні перетворення глікогену і глюкози (гліколіз)?
2. Як здійснюється ресинтез АТФ у ході гліколізу?
3. Яка енергетична ефективність гліколізу?
4. Які перетворення відбуваються в аеробній фазі вуглеводного обміну?
5. Як перетворення циклу трикарбонових кислот (головного етапу аеробного фази вуглеводного обміну) пов'язані з системою перенесення протонів та електронів на кисень і ресинтезу АТФ?

6. Які хімічні перетворення відбуваються в процесі гліколізу з утворенням молочної кислоти?

Тема 2. Субстратне й окисне фосфорилювання. Хеміосмотична теорія Мітчелла

1. Чим відрізняються процеси біологічного окиснення від окиснення, що відбувається поза організмом?
2. Які проміжні переносники забезпечують транспортування протонів і електронів від окиснюваної речовини до кисню?
3. Які особливості молекулярної будови піридинових і флавинових дегідрогеназ, цитохромів? Які фактори харчування необхідні для синтезу цих ферментів?
4. Який енергетичний ефект біологічного окиснення?
5. Які особливості молекулярної будови АТФ і яка її роль у живих організмах?
6. Що являє собою окисне й субстратне фосфорилювання?
7. Механізм окисного фосфорилювання згідно з хеміосмотичною теорією Мітчелла.

Тема 3. Інтеграція вуглеводного, ліпідного і білкового обмінів

1. У чому проявляється взаємозв'язок перетворень вуглеводів, ліпідів і білків?
2. Які загальні проміжні продукти утворюються при розпаді вуглеводів, ліпідів, білків?
3. У чому полягає центральна роль ацетил-КоА в перетвореннях вуглеводів, ліпідів, білків?
4. Які найважливіші системи забезпечують регуляцію обміну речовин в організмі людини?
5. Написати інтегральну схему метаболізму вуглеводів, ліпідів, білків.

Тема 4. Біохімічні механізми м'язового скорочення

1. Який уміст води, білків, ліпідів, вуглеводів і мінеральних солей у м'язовій тканині?
2. Які макроергічні сполуки містяться в м'язовій тканині, яка їх концентрація і локалізація?
3. Яка молекулярна будова скорочувальних елементів м'язового волокна міофібрил?
4. Які хімічні реакції забезпечують м'язове скорочення?
5. Які хімічні перетворення відбуваються при розслабленні м'язів?
6. Теорія ковзаючих ниток.

Тема 5. Співвідношення анаеробних і аеробних механізмів ресинтезу АТФ в умовах фізичного навантаження

1. Яка швидкість витрачання АТФ при напруженій м'язовій роботі?
2. Що розуміють під ємністю, потужністю, швидкістю розгортання та ефективністю процесів ресинтезу АТФ?
3. Які потужність, ємність і швидкість розгортання креатинфосфокіназної реакції та які біохімічні фактори їх визначають?
4. Яка роль креатинфосфокіназної реакції в енергетичному забезпеченні м'язової роботи?
5. Які потужність, ємність і швидкість розгортання гліколізу та які біохімічні фактори їх визначають?
6. Яка роль гліколізу в енергозабезпеченні м'язової роботи?
7. У чому полягає сутність міокіназної реакції і яка її роль в енергетичному забезпеченні м'язової роботи?
8. Які максимальна потужність, ємність, швидкість розгортання й ефективність аеробного ресинтезу АТФ і які біохімічні фактори їх визначають?
9. Яка роль аеробного шляху ресинтезу АТФ в енергетичному забезпеченні м'язової роботи?

Тема 6. Біохімічний контроль у спорті. Способи підвищення фізичної працездатності

1. Які завдання можна розв'язувати засобами біохімічного контролю в процесі занять фізичною культурою і спортом?
2. Що може бути об'єктом біохімічних досліджень тих, хто займається фізичною культурою та спортом?
3. Схарактеризуйте методи біохімічного контролю, які використовуються для оцінювання термінового тренувального ефекту.
4. Дайте характеристику методів біохімічного контролю, що використовуються для контролю за станом тренуваності.
5. Схарактеризуйте методи біохімічного контролю, котрі використовуються для контролю за ходом відновлення після втоми. Чим різняться відповідні реакції за біохімічними показниками тренуваного і нетренуваного організму на стандартні та граничні навантаження?

ЛІТЕРАТУРА

1. Обладнання хімічної лабораторії [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.chemistry.in.ua/grade-7/introduction-to-laboratory-glassware-and-equipment>
2. Обладнання хімічної лабораторії [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://miyklas.com.ua/p/himija/7-klas/vstup-39119/pravilapovedinki-u-khimichnomu-kabinetikhimichnii-posud-39122/re-ceec1486-1064-4afa-8b2e-32e21ef80b1d>
3. Мікроскоп. Будова [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://www.google.com/search?q=%D0%BE%D0%BF%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%BD%D0%B8%D0%B9+%D0%BC%D1%96%D0%BA%D1%80%D0%BE%D1%81%D0%BA%D0%BE%D0%BF+%D0%BA%D0%B0%D1%80%D1%82%D0%B8%D0%BD%D0%BA%D0%B0+%D0%B1%D1%83%D0%B4%D0%BE%D0%B2%D0%B0&sxsrf=ALeKk01QL2wEKhJMyk5n44kC4YCNwwJmjQ:1622531076453&tbm=isch&source=iu&ictx=1&fir=XlXue89XtQghM%252Cs4tVxTMLgiJWZM%252C_&vet=1&usg=AI4_-kRTrSAvdYOmGCNwR3exBdOZcc7hUg&sa=X&ved=2ahUKEwiOqcu7_XwAhXJl4sKHddwCAQQ9QF6BAgIEAE#imgsrc=XbRE_-Fu1FotfM
4. Мікроскоп. Будова [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A2%D0%B8%D1%82%D1%80%D0%B8%D0%BC%D0%B5%D1%82%D1%80%D0%B8%D1%87%D0%BD%D0%B8%D0%B9_%D0%B0%D0%BD%D0%B0%D0%BB%D1%96%D0%B7
5. Карюхина Т. А. Химия воды и микробиология / Т.А. Карюхина, И.Н. Чурбанова. – М.: Стройиздат, 1983. – 288 с.
6. Бюретки [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.google.com/search?q=%D0%B1%D1%96%D1%80%D0%B5%D1%82%D0%BA%D0%B8+%D0%B2%D0%B8%D0%B7%D0%BD%D0%B0%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8F+%D0%BF%D1%80%D0%B0%D0%B2%D0%B8%D0%BB%D0%B0+%D1%80%D0%BE%D0%B1%D0%BE%D1%82%D0%B8&oq=%D0%B1%D1%96%D1%80%D0%B5%D1%82%D0%BA%D0%B8+%D0%B2%D0%B8%D0%B7%D0%BD%D0%B0%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D1%8F+%D0%BF%D1%80%D0%B0%D0%B2%D0%B8%D0%BB%D0%B0+%D1%80%D0%BE%D0%B1%D0%BE%D1%82%D0%B8&aqs=chrome..69i57.10259j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8>
7. Стеценко О.В. Біоорганічна хімія / О.В. Стеценко, Р.П. Виноградова. – К., 1992. – 328 с.
8. Губський Ю.І. Біологічна хімія / Ю.І. Губський. – К.–Тернопіль: Укрмедкнига, 2000. – 509 с.
9. Виноградова Р.П. Вуглеводи // Енциклопедія сучасної України: електронна версія [веб-сайт] / гол. редкол.: І.М. Дзюба, А.І. Жуковський, М.Г. Железняк та ін.; НАН України, НТШ. – Київ: Інститут

енциклопедичних досліджень НАН України, 2006.
URL: http://esu.com.ua/search_articles.php?id=30077

10. Гонський Я. І. Біохімія людини: підручник / Я.І. Гонський, Г.П. Максимчук, М.І. Калинський. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002. – 744 с.

11. Ліпіди [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.google.com/search?q=%D0%BB%D1%96%D0%BF%D1%96%D0%B4%D0%B8&oq=%D0%BB%D1%96%D0%BF%D1%96%D0%B4%D0%B8&aqs=chrome.0.69i59j0l6j69i61.3678j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

12. Білки [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.google.com/search?q=%D0%B1%D1%96%D0%BB%D0%BA%D0%B8&oq=%D0%B1%D1%96%D0%BB%D0%BA%D0%B8&aqs=chrome..69i57j0i433j0l8.3366j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

13. Нуклеотиди [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.google.com/search?q=%D0%9D%D0%A3%D0%9A%D0%9B%D0%95%D0%9E%D0%A2%D0%98%D0%94%D0%98&oq=%D0%9D%D0%A3%D0%9A%D0%9B%D0%95%D0%9E%D0%A2%D0%98%D0%94%D0%98&aqs=chrome..69i57j0l9.7834j0j7&>

14. Ферменти [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.google.com/search?q=%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D0%B8&oq=%D1%84%D0%B5%D1%80%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D0%B8&aqs=chrome..69i57j0l9.7772j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

15. Біохімія сечі [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://www.google.com/search?q=%D0%B1%D1%96%D0%BE%D1%85%D1%96%D0%BC%D1%96%D1%8F+%D1%81%D0%B5%D1%87%D1%96&sxsrf=ALeKk024WHwb5VYxkZM3nCgjcBXUM5i8Qw:1622649917717&ei=Pay3YJSUK8j2qwHnj4DACA&start=10&sa=N&ved=2ahUKEwjUpsL_qfnwAhVI-yoKHeCHAIgQ8tMDegQIARA9&biw=1024&bih=489

16. Гормони [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.google.com/search?q=%D0%B3%D0%BE%D1%80%D0%BC%D0%BE%D0%BD%D0%B8&oq=%D0%B3%D0%BE%D1%80%D0%BC%D0%BE%D0%BD%D0%B8&aqs=chrome..69i57j0l9.5481j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8>

17. Вітаміни [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1775/vitamini>

18. Биохимия: учебник для институтов физической культуры / под ред. Н.И. Волкова, В.В. Меньшикова. – М. : Физкультура и спорт, 1986. – 384 с.

19. Волков Н.И. Биохимия мышечной деятельности / Н.И. Волков, Э.Н. Несен, А.А. Осипенко, С.Н. Корсун. – Киев: Олимпийская литература, 2000. – 503 с.

20. Яковлев Н.Н. Руководство к практическим занятиям по общей биохимии и биохимии спорта / Н.Н. Яковлев, Н.И. Орещенко, Н.Р. Чаговец. – М. : Физкультура и спорт, 1973. – 112 с.
21. Доливо-Добровольский Л.Б. Химия и микробиология воды/ Л.Б. Доливо-Добровольский, Л.А. Кульский, В.Ф. Накорчевская. – К: Вища школа, 1971. – 308 с.
22. Yatsyk A.V. Water management in Ukraine / A.V. Yatsyk. – K.: Genesa, 2000. – 456 p.
23. Water of the Poltava region [Electronic resource]. – Access mode: [https://uk.wikipedia.org/wiki/Water of the Poltava region](https://uk.wikipedia.org/wiki/Water_of_the_Poltava_region)
24. Lavrynychuk I.M. Water. Water technology. Health / I.M. Lavrynychuk., L.P. Avramenko, V.P. Kryuchkov // Pub. LLP "DSH Ltd." Co-ed "Kievvodokanal", K., 2001. – 72 p. – (Series collections of water "Health to your Home").
25. Національний стандарт України ДСТУ 7525:2014 «Вода питна. Вимоги та методи контролювання якості». Київ. Мінекономрозвитку України, 2014. – 26 с.
26. Директива Ради 98/83/ЄС «Про якість води, призначеної для споживання людиною» від 3 листопада 1998 року [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/994_963
27. Tarasenko L.M. Functional Biochemistry / L.M Tarasenko, V.K. Grigorenko, K.S. Neporada // Textbook for students of Faculty of Dentistry (second edition) / Ed. L.M Tarasenko. – Vinnytsya: New Book, 2007. – 384 p.
28. Marushko Yu.V. Magnesium and its importance for children`s organism/ Yu.V. Marushko, T.V. Taschak// Health Ukraine. – 2013. – № 1. – С. 9 – 12.
29. Голік Ю.С. Екологічний атлас Полтавщини / Ю.С. Голік. – Полтава: Полтавський літератор, 2007. – 127 с.
30. Тимаков В.Д. Микробиология / В.Д. Тимаков. – М.: Медицина, 1973. – 431 с.
31. Вилли К. Биология (биологические процессы и законы) / К. Вилли, В. Детье В. пер. с англ. Н. М. Баевской и др. – М.: Мир, 1974. – 822с.
32. Альбертс Б. Молекулярная биология клетки : в 3 т. / Б. Альбертс, Д. Брей, Дж. Льюис, М. Рафф, К. Робертс, Дж. Уотсон. – 2-е изд. – М.: Мир, 1994. – 517 с.

ЗМІСТ	
ВСТУП	3
СПИСОК ОСНОВНИХ СКОРОЧЕНЬ	4
1. ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ В БІОХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ	5
1.1. Загальні відомості	5
1.2. Правила роботи в біохімічній лабораторії	5
1.3. Поводження з реактивами	6
1.4. Поводження з нагрівальними приладами	7
1.5. Поводження з електричними приладами	7
2. ОБЛАДНАННЯ БІОХІМІЧНОЇ ЛАБОРАТОРІЇ	8
2.1. Хімічний посуд	9
2.2. Основне лабораторне обладнання	11
3. ПРАВИЛА РОБОТИ З ОБЛАДНАННЯМ ТА ПРИЛАДАМИ	16
3.1. Техніка роботи з мікроскопом	16
3.1.1. Налаштування мікроскопа	18
3.2. Виготовлення препаратів мікроорганізмів	18
3.2.1. Препарат «розчавлена крапля»	18
3.2.2. Препарат «повисла крапля»	18
3.2.3. Препарат «відбиток»	18
3.3. Техніка роботи з бюретками	19
4. ВУГЛЕВОДИ	25
Лабораторна робота № 1. Фізико-хімічні властивості вуглеводів	27
5. ЖИРИ (ЛІПІДИ)	31
Лабораторна робота № 2. Фізико-хімічні властивості ліпідів	35
6. БІЛКИ	38
Лабораторна робота № 3. Фізико-хімічні властивості білків	46
7. НУКЛЕОТИДИ	53
Лабораторна робота № 4. Фізико-хімічні властивості нуклеотидів	55
8. ФЕРМЕНТИ	57
Лабораторна робота № 5. Фізико-хімічні властивості ферментів	59
Лабораторна робота № 6. Відкриття ферментів різних класів	65
Лабораторна робота № 7. Ферментативний гідроліз жирів. Виявлення кетонових тіл в біологічних матеріалах	67

	Лабораторна робота № 8. Визначення речовини в розчині. Аналітичне заняття	69
9.	БІОХІМІЯ СЕЧІ	70
	Лабораторна робота № 9. Дослідження нормальних складових сечі та її біохімічних властивостей	70
	Лабораторна робота № 10. Якісні реакції на ацетон і оцтову кислоту	73
10.	ГОРМОНИ	74
	Лабораторна робота № 11. Визначення впливу адреналіну на вміст глюкози в плазмі крові	76
11.	ВІТАМІНИ	79
	Лабораторна робота № 12. Кількісне визначення концентрації аскорбінової кислоти	84
	Лабораторна робота № 13. Кількісне визначення вітаміну Р в чаї	87
12.	ВПЛИВ ФІЗИЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ НА ДЕЯКІ БІОХІМІЧНІ ПРОЦЕСИ	88
	Лабораторна робота № 14. Визначення впливу фізичного навантаження на вміст лактату в слині та її рН	89
13.	ВОДА. ОСНОВНІ ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ. ЖОРСТКІСТЬ (ТВЕРДІСТЬ) ВОДИ	91
	Лабораторна робота № 15. Визначення твердості води	105
14.	ОСНОВИ МІКРОБІОЛОГІЧНОГО АНАЛІЗУ	109
	Лабораторна роботи № 16. Приготування препаратів фіксованих фарбованих мікробних клітин. Фарбування за методом Грама	112
	Лабораторна робота № 17. Мікробіологічний аналіз води.	115
15.	ПИТАННЯ ДЛЯ КОНТРОЛЮ ЗНАНЬ ТА САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ СТУДЕНТІВ	121
	ЛІТЕРАТУРА	123

Сененко Наталія Борисівна
НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК З БІОХІМІЇ

Комп'ютерна верстка В.В.Скриль
Редактор Я.В.Новічкова

Формат 60x84/16. Папір типограф. Гарнітур Times new Roman
Друк офсетний. Ум. друк. Арк 7,38. Обл. вид. арк. 5,86
Тираж екз. Замов. №

Навчальний посібник друкується мовою оригіналу.
За виклад, зміст і достовірність матеріалів відповідає автор.
Електронне видання.

Поліграфічний центр Національного університету
«Полтавська політехніка імені Юрія Кондратюка»
36011, м. Полтава, першотравневий проспект, 24
Свідство про внесення суб'єкта видавничої справи
до Державного реєстру видавців, виготівників і розповсюджувачів
видавничої продукції Серія ДК №7019 від 19.12.2019 р.
