

ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ТА БІОТЕХНОЛОГІЙ
імені С.З.ГЖИЦЬКОГО

КАФЕДРА БІОЛОГІЧНОЇ ТА ЗАГАЛЬНОЇ ХІМІЇ

БІОХІМІЯ

З ОСНОВАМИ ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ

Посібник для лабораторних робіт та
самопідготовки здобувачів вищої освіти
першого (бакалаврського) рівня за спеціальністю
162 Біотехнології та біоінженерія

Львів 2024

Рецензенти:

Фоменко І. С., д.б.н.; професор, професор кафедри біохімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького.

Посібник для лабораторних робіт з дисципліни “Біохімія з основами фізичної та колоїдної хімії” для здобувачів вищої освіти першого (бакалаврського) рівня за спеціальністю 162 Біотехнології та біоінженерія / Уклад. С.С. Грабовський, О.М. Федець, В.Л. Галяс, Є.М. Верес, О.Є. Возна, І.М. Курляк, О.І. Заяць. Львів. 2024. 104 с.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри біологічної та загальної хімії
(протокол № 4 від 19.06.2024)

Допущено до друку навчально-методичною радою факультету харчових технологій та біотехнології
(протокол № 9 від 19.11.2024)

УДК 571.1:544.77(074)

ПРАВИЛА РОБОТИ І ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ ПРИ ПРОВЕДЕННІ ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ.

При виконанні лабораторних робіт з фізичної, колоїдної і біологічної хімії треба дотримуватись таких основних правил роботи в біохімічній лабораторії:

1. У лабораторії можна працювати тільки в спеціальному одязі (халат, шапочка).

2. На робочому місці підтримувати чистоту і порядок.

3. Всі пляшки, флакони, колби і склянки після відбору реактиву відразу закривати корками і ставити на місце.

4. Щоб зберегти реактиви чистими, рештки невикористаної речовини не можна повертати в реактивні пляшки, флакони, колби і склянки. Реактиви загального користування не можна переносити на свої робочі місця.

5. Концентровані луги і кислоти наливати під витяжною шафою. При розбавленні концентрованих кислот завжди кислоту лити у воду, а не навпаки.

6. Пробувати реактиви на смак, а також їсти і курити в лабораторії категорично забороняється.

7. При роботі з отруйними речовинами (спирти, ефіри, ацетон, бензол, фенол, солі важких металів та ін.) дотримуватись застережних заходів, щоб уникнути попадання їх на шкіру і слизові оболонки.

8. У випадку попадання кислоти або лугу на руки або обличчя необхідно швидко змити їх водою і нейтралізувати (кислоту – розчином питної соди; луг – 2% розчином борної кислоти) і повторно промити водою.

9. Після закінчення роботи злити з пробірок розчини до відповідного посуду і привести робоче місце до порядку.

10. Не можна залишати в лабораторії без догляду включені електричні прилади і газові пальники.

Дата: "_____" "_____" 20__ р.

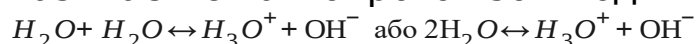
ТЕМА 1. ВИЗНАЧЕННЯ pH. Пояснення до завдання.

Виступаючи як універсальний розчинник, вода є основою рідин живої природи. Організм тварини містить 66% води, жива клітина – 85%.

За теорією Бернстеда, вода є амфолітом:



Така реакція називається автопротолізом води:



Кількісно автопротоліз води характеризується йонним добутком води. Константа рівноваги при 298 К:

$$K = \frac{[H_3O^+][OH^-]}{[H_2O]^2} ; K = 3,24 \cdot 10^{-18}$$

Оскільки ступінь електролітичної дисоціації води дуже низький (дисоціює 1 на 550 млн. молекул) то можна вважати її концентрацію постійною і рівною масі 1л води при 25°C (998,07 г), поділеною на її молярну масу:

$$C_{H_2O} = \frac{998,07}{18,05} = 55,35 \text{ кмоль/м}^3$$

Виходячи з виразу константи дисоціації:

$$K_{H_2O} = [H_3O^+][OH^-] = (55,35)^2 \cdot 3,24 \cdot 10^{-18} (\text{кмоль/м}^3)^2 = 1,00 \cdot 10^{-14} (\text{кмоль/м}^3)^2 = K_w$$

K_w – йонний добуток води. Згідно вище приведенного, $[H_3O^+] = [OH^-] = 10^{-7} \text{ кмоль/м}^3$.

Якщо водний розчин має нейтральну реакцію, то це означає, що у ньому концентрації H_3O^+ і гідроксид-йонів є однакові і рівні $[H_3O^+] = [OH^-] = 10^{-7}$ (при 298 К).

У кислих розчинах $[H_3O^+] > 10^{-7} \text{ кмоль/м}^3$, у лужних $[H_3O^+] < 10^{-7} \text{ кмоль/м}^3$.

Розрахунок концентрації гідроген-йонів і гідроксид-йонів за допомогою йонного добутку води проводять, виходячи з постійного значення:

$$K_w = [H_3O^+][OH^-] = 1,00 \cdot 10^{-14} (\text{кмоль/м}^3)^2$$

При будь-яких змінах молярних концентрацій гідроген-йонів $[H_3O^+]$ і гідроксид-йонів добуток їх концентрацій при постійній температурі залишається незмінним. Наприклад, в 0,001 М HCl концентрація OH^- буде $10^{-11} \text{ кмоль/м}^3$

$$[OH^-] = \frac{K_w}{[H^+]} = \frac{10^{-14}}{10^{-3}} = 10^{-11} \text{ кмоль/м}^3$$

У розчині лугу (концентрацією 0,02 М) концентрація йонів H_3O^+ становитиме:

$$[\text{H}^+] = \frac{K_w}{[\text{OH}^-]} = \frac{10^{-14}}{2 \times 10^{-2}} = 5 \times 10^{-13}$$

Характеризувати кислотність або основність розчину числами з від'ємними показниками ступеня незручно. Тому кислотність розчинів виражають не концентрацією йонів $[\text{H}_3\text{O}^+]$, а її від'ємним десятковим логарифмом. Цю величину називають *показником йонів гідрогену* і позначають через рН:

$$\text{pH} = -\lg[\text{H}_3\text{O}^+]$$

Показник рН вперше був запропонований як міра кислотності середовища С.Зеренсенем у 1909 р. Визначається як від'ємний десятковий логарифм активності йонів $[\text{H}_3\text{O}^+]$:

$$\text{pH} = -\lg a_{\text{H}_3\text{O}^+}$$

Аналогічно рОН – це від'ємний десятковий логарифм активності йонів OH^- : $\text{pOH} = -\lg a_{\text{OH}^-}$

Оскільки активності йонів у чистій воді приблизно дорівнюють їх концентраціям, то формула $K_w = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] = 1,00 \cdot 10^{-14} (\text{кмоль/м}^3)^2$ має вигляд:

$$-\lg K_w = -\lg [\text{H}_3\text{O}^+] + (-\lg [\text{OH}^-]) = -\lg (1,00 \cdot 10^{-14});$$

$$\text{p}K_w = \text{pH} + \text{pOH} = 14$$

Останнє рівняння дає змогу розрахувати значення рН, якщо відома одна з величин. Наприклад, концентрація йонів $[\text{H}_3\text{O}^+]$ становить $10^{-6} \text{ кмоль/м}^3$, то $\text{pH} = -\lg[\text{H}_3\text{O}^+] = -\lg 10^{-6} = 6$

Методи визначення рН.

Для визначення рН застосовують такі методи:

- 1) колориметричний або індикаторний;
- 2) електрометричний або потенціометричний.

Колориметричний метод оснований на тому, що індикатори, залежно від реакції середовища, проявляють забарвлення недисоційованих молекул або поєднуються кольори недисоційованих молекул і аніонів. На основі того, що індикатори при різних значеннях рН мають різне забарвлення, будуються шкали еталонів.

Електрометричний принцип визначення рН ґрунтується на вимірюванні електрорушійної сили між електродами, потенціал одного з яких є відомим, а другий служить для зрівноваження. Для визначення рН цим методом використовують прилади рН-метри (йонметри).

Порядок виконання дослідів.

Студенти визначають рН розчинів №1 і №2, а також сечі корови і свині колориметричним і електрометричним методами.

1. Визначення рН досліджуваних розчинів колориметричним методом.

Хід роботи: Спочатку визначають наближене значення рН досліджуваних розчинів за допомогою універсального індикаторного папірця: на смужку папірця наносять краплю розчину №1 і №2 та за допомогою кольорової шкали знаходять рН. Воно служить орієнтиром для підбору індикаторів:

Індикатор	межі рН	
1. Метиловий червоний	від 3,6 (червоний колір)	до 5,8 (жовтий колір)
2. Бромтимоловий синій	від 5,8 (жовтий колір)	до 7,6 (синій колір)

Остаточне визначення рН проводять так: у пробірку додають 6 крапель відповідного індикатора, відміряють 10 мл розчину. Суміш добре перемішують і за утвореним забарвленням знаходять значення рН за допомогою відповідної шкали еталонів.

Результати та висновки: _____

2. Визначення рН досліджуваних розчинів електрометричним методом.

Хід роботи: В склянку об'ємом 100 мл вливають 50-70 мл досліджуваного розчину і визначають рН на рН-метрі, керуючись правилами рН-метрії, передбаченими інструкцією по експлуатації приладу (основні положення інструкції і порядок роботи на рН-метрі пояснює викладач).

Результати та висновки: _____

Контрольні питання.

1. Дати визначення поняття рН.
2. В яких межах змінюється рН?
3. Яке значення концентрації гідроген-йонів для біологічних процесів?

- 4.Що називається йонним добутком води і чому він дорівнює при 25°C?
- 5.Визначити рН розчину, якщо концентрація йонів H^+ дорівнює 10^{-4} г-йон/літр.
- 6.Вирахувати рН розчину, якщо концентрація йонів OH^- дорівнює 10^{-9} г-йон/літр.
- 7.В чому суть колориметричного методу визначення рН?
- 8.В чому суть електрометричного методу визначення рН?
- 9.Що таке розчин?
10. Типи розчинів.
11. Як приготувати 300 мл 0,9% розчину $NaCl$?
12. Як приготувати 200 мл 2 н розчину H_2SO_4 ?
13. Визначити молярність розчину, який містить 4,0 г $NaOH$ у 100 г розчину.
14. Як приготувати 1 л 1 моляльного розчину глюкози?
15. Дати визначення процесу дифузії.
16. Суть процесу осмосу. Його значення в біологічних процесах.
17. Поняття про онкотичний тиск і його біологічне значення.
18. Привести формули залежності осмотичного тиску від концентрації для розчинів неелектролітів і для розчинів електролітів.
19. Дати визначення ізотонічного, гіпотонічного і гіпертонічного розчинів.
20. Вирахувати осмотичний тиск при 37°C: а) 0,2 М розчину натрію хлориду; б) 0,15 М розчину глюкози; в) 0,05 М розчину кальцій хлориду (дисоціація солей 100%).

Дата: "_____" _____ 20__ р.

ТЕМА 2. БУФЕРНІ РОЗЧИНИ.

Пояснення до завдання.

В процесі обміну речовин утворюється значна кількість кислих продуктів. Так, у корів тільки в рубці за добу утворюється до 4,5 кг летких жирних кислот (ацетатної, пропанової, бутанової та ін.). Незважаючи на це, в організмі концентрація гідроген-іонів підтримується на постійному рівні. Збереження сталості їх в організмах забезпечується існуванням в них буферних систем.

Буферними системами називаються такі розчини, які здатні підтримувати в певних межах рН на одному рівні при додаванні до них кислот або основ. Буферні властивості мають розчини, що складаються із слабкої кислоти і її солі від сильної основи, наприклад:

- | | | |
|----|------------------------------|----------------------|
| а) | $\frac{H_2CO_3}{NaHCO_3}$ | карбонатний
буфер |
| б) | $\frac{KH_2PO_4}{Na_2HPO_4}$ | фосфатний
буфер |
| в) | $\frac{CH_3COOH}{CH_3COONa}$ | ацетатний
буфер |

В організмі людини і тварин найважливішими є карбонатний, фосфатний, білковий і амонійний буфери. Буферні властивості білків обумовлені тим, що в їх структурі є карбоксильні та аміногрупи. Тому вони реагують як з основами, так і з кислотами.

Кожний буферний розчин має певну буферну ємність (В). Буферна ємність характеризується кількістю еквівалентів лугу чи кислоти, яку потрібно додати до 1 л буферного розчину, щоб змінити його рН на одиницю: $B = \frac{\text{моль-екв}}{pH_2 - pH_1}$

рН буферного розчину можна визначити колориметричним і електрометричним методами. Якщо відомо співвідношення компонентів у буферній системі, то рН буферного розчину можна вирахувати за формулою:

$$pH = - \left(\lg K + \lg \frac{[\text{кислота}]}{[\text{сіль}]} \right)$$

Для цього потрібно знати константу дисоціації відповідної кислоти і співвідношення об'ємів розчину кислоти і солі однакової концентрації.

При виконанні лабораторної роботи студенти готують буферні розчини найважливіших буферних систем організму, визначають їх буферні ємкості і навчаються вираховувати рН за відомими співвідношеннями компонентів буферної системи.

Порядок виконання дослідів.

1. Виготовлення ацетатного і фосфатного буферів та підрахунок їх рН.

Хід роботи: Для виготовлення кожного із буферних розчинів беруть по 7 пробірок. У кожену пробірку додають по 10 крапель індикатора (для ацетатного буферу використовують метиловий червоний, для фосфатного – бромтимоловий синій). Відмірюють певний об'єм розчину кислоти і солі за схемою таблиці №1. При виготовленні фосфатного буферу використовують як кислоту KH_2PO_4 і як сіль Na_2HPO_4 . Вміст кожної пробірки збовтують і визначають рН за допомогою шкали еталонів. Одержані дані записують в таблицю. Після цього обчислюють рН кожної пробірки за вищенаведеною формулою і дані також записують у таблицю. (Константи дисоціації (K) фосфатної кислоти – 2×10^{-7} ; ацетатної кислоти – $1,8 \times 10^{-5}$). Порівнюють результати колориметричного визначення з даними одержаними шляхом математичних розрахунків.

Таблиця № 1.

№ пробірки	Кислота, мл	Сіль, мл	Результати визначення рН			
			ацетатний буфер		фосфатний буфер	
			колориметрично	розрахунково	колориметрично	розрахунково
1	9	1				
2	7	3				
3	6	4				
4	5	5				
5	4	6				
6	3	7				
7	1	9				

Таблиця логарифмів.

$\lg 1 = 0$	$\lg 5 = 0,69$	$\lg 1,8 = 0,25$
$\lg 2 = 0,3$	$\lg 6 = 0,77$	$\lg 10^{-7} = -7$
$\lg 3 = 0,47$	$\lg 7 = 0,84$	$\lg 10^{-5} = -5$
$\lg 4 = 0,60$	$\lg 9 = 0,95$	

Приклад обчислення рН ацетатного буферного розчину (для пробірки №1):

$$\text{pH} = -\left(\lg K + \lg \frac{[\text{кислота}]}{[\text{сіль}]}\right) = -\left(\lg 1,8 \cdot 10^{-5} + \lg \frac{9}{1}\right) = -(\lg 1,8 + \lg 10^{-5} + \lg 9 - \lg 1) =$$

$$-(0,25 - 5 + 0,95 - 0) = -0,25 + 5 - 0,95 + 0 = 5 - 1,2 = 3,8$$

Результати та висновки:_____

[illegible]

[illegible]

2. Визначення буферної ємності:

а) ацетатного буферу.

Хід роботи: В склянку відміряють 37,5 мл 0,2 М розчину ацетатної кислоти і 2,5 мл 0,2 М розчину натрій ацетату. В окрему пробірку додають 10 крапель метилового червоного і 10 мл виготовленого ацетатного буферу. Визначають рН колориметричним методом. Наливають у склянку 5 мл цього буферу, додають 2 краплі розчину фенолфталеїну і титрують 0,1 н розчином NaOH до появи слабо рожевого забарвлення (це відповідає рН 9,0). Буферну ємність (В) вираховують за формулою:

$$B = \frac{\text{моль-екв. NaOH}}{pH_2 - pH_1}$$

Наприклад: на титрування 5 мл буферної суміші з рН 6,0 затрачено 3 мл 0,1 н розчину NaOH. Щоб знайти кількість моль-еквівалентів лугу (X), затраченого на титрування, потрібно об'єм лугу (V) помножити на його нормальність (n) і поділити на 5:

$$X_{(\text{NaOH})} = \frac{V_{(\text{NaOH})} \cdot n_{(\text{NaOH})}}{5}$$

Підставляємо цифрові дані нашого дослідження: $\text{NaOH} = \frac{3 \cdot 0,1}{5} = 0,06$.
При титруванні буферної системи рН змінилося із 6,0 (рН₁) до 9,0 (рН₂). Звідси:

$$B = \frac{\text{моль-екв. NaOH}}{pH_2 - pH_1} = \frac{0,06}{9,0 - 6,0} = 0,02$$

Отже буферна ємність складає 0,02 моль/л.

б) сироватки крові.

Хід роботи: В склянку відміряють 1,0 мл сироватки крові, додають 1-2 краплі фенолфталеїну і титрують 0,1 н розчином натрій гідроксиду до появи рожевого кольору. За результатами титрування сироватки крові обчислюють її буферну ємність так, як в попередньому досліді.

Результати та висновки: _____

3. Визначення впливу розведення буферної системи на її рН і буферну ємність.

Хід роботи: 10 мл ацетатного буферу, що залишився від попередньої роботи, переносять в окрему склянку і додають 10 мл дистильованої води та перемішують. 10 мл беруть для визначення рН колориметричним методом, а 5 мл – для визначення буферної ємності. Роблять висновок про вплив розведення на величину рН і буферну ємність буферної системи.

Результати та висновки: _____

Контрольні питання.

1. Якими методами можна визначити рН буферних розчинів?
2. Які розчини називаються буферними, який їх склад?
3. Від яких факторів залежить рН буферних розчинів?
4. Що називається буферною ємністю буферної системи?
5. Від яких факторів залежить буферна ємність?
6. Навести приклади буферних систем, які містить тваринний організм.
7. Біологічне значення буферних систем.
8. Значення буферних систем крові.
9. Написати схему механізму дії білкового буферного розчину.
10. Написати схему механізму дії карбонатного буферного розчину.
11. Написати схему механізму дії фосфатного буферного розчину.
12. Написати схему механізму дії ацетатного буферного розчину.
13. Який рН розчину солі сильної кислоти та сильної основи?
14. Який рН розчину солі сильної кислоти та слабкої основи?
15. Який рН розчину солі слабкої кислоти та сильної основи?
16. Який рН розчину солі слабкої кислоти та слабкої основи?
17. Навести формулу для вирахування рН розчину солі сильної кислоти та слабкої основи.
18. Навести формулу для вирахування рН розчину солі слабкої кислоти та сильної основи.
19. Навести формулу для вирахування рН розчину солі слабкої кислоти та слабкої основи.
20. Константа та ступінь дисоціації розчинів електролітів.

ТЕМА 3. КОЛОЇДНІ РОЗЧИНИ ТА ЇХ ВЛАСТИВОСТІ. Пояснення до завдання.

Більшість біохімічних процесів, що протікають у клітинах, органах і тканинах живих організмів, відбуваються у гетерогенних дисперсних системах, які називаються колоїдними. Такі біологічні рідини тваринних організмів, як кров, плазма, лімфа, спинномозкова рідина, протоплазма клітини є колоїдними системами. Колоїдні розчини – це мікрогетерогенні дисперсні системи з певним ступенем дисперсності (роздрібленості) колоїдної речовини. Розміри колоїдних частинок складають від 1 до 100 нм (10^{-5} - 10^{-7} см). Подрібнена речовина називається дисперсною фазою, а середовище, в якому ця фаза розподілена – дисперсним середовищем. Колоїдні частини відділені від дисперсного середовища поверхнею (границею) розділу, внаслідок чого колоїдні системи мало стійкі.

Колоїдні розчини можна одержати двома способами:

1. Диспергуванням – подрібненням грубодисперсних систем до розмірів колоїдних частинок.
2. Конденсацією – створенням умов, коли атоми або молекули об'єднуються в агрегати, які досягають розмірів колоїдних частинок, і таким чином молекулярні розчини переводяться у колоїдні.

Для того, щоб колоїдні розчини були стійкими, необхідна присутність стабілізатора. У більшості випадків стабілізатором служить електроліт, йони якого, адсорбуючись на поверхні колоїдних частинок, надають їм однойменного заряду. Довкола колоїдної частинки утворюється гідратна оболонка. Наявність електричного заряду і гідратної оболонки перешкоджає випаданню колоїдних частинок в осад. Колоїди різних тканин тваринних і рослинних організмів обумовлюють різноманітність їх властивостей (набухання, драгління, коагуляція, старіння та ін.) Зміна властивостей колоїдних систем в організмі може привести до розвитку патологічних процесів, що пов'язані з відкладанням холестеролу, солей кальцію, сечової кислоти, утворенням каменів в нирках, печінці та інших органах. Під час лабораторної роботи студенти набувають практичних навиків одержання колоїдних розчинів дисперсійним і конденсаційним способами, а також проводять аналіз колоїдних систем.

Порядок виконання дослідів.

А) Методи одержання колоїдних розчинів.

1. Дисперсійні методи.

Основним принципом одержання колоїдів дисперсійним методом є подрібнення речовини за допомогою колоїдних млинків, ультразвуку, збовтування. Крім цього, використовуються методи розчинення, електричного розпилення та ін.

Хід роботи: У пробірку вносять 3-5 мл води і нагрівають до кипіння. До кип'ячої води обережно додають декілька шматочків желатини і плавно помішують до повного розчинення. Утворюється золь желатини голубого відтінку. Якщо концентрація желатини велика, то при охолодженні золь желатини втрачає рухливість і перетворюється в драгли. Зауважте зовнішню різницю між золем і драглем. Драгління відбувається внаслідок збільшення в'язкості та сповільнення броунівського руху частинок.

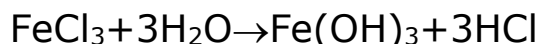
Результати та висновки: _____

2. Конденсаційні методи.

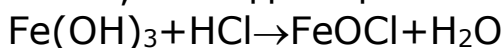
Конденсаційні методи мають у своїй основі утворення колоїдних частинок із менших розчинених частинок. Розрізняють конденсацію двох видів – фізичну і хімічну. При фізичній конденсації речовини конденсуються із пароподібного стану, або із розчину. В основі хімічної конденсації лежать різноманітні хімічні реакції: окиснення, відновлення, гідролізу та ін.

Одержання золю ферум (III) гідроксиду методом гідролізу.

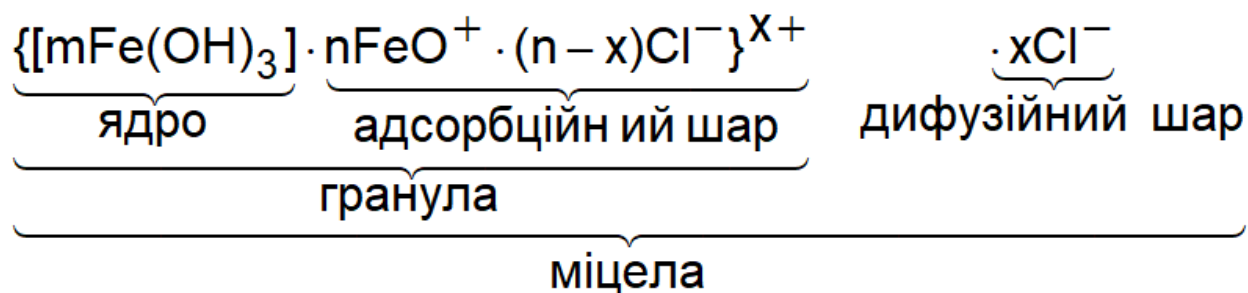
Метод оснований на гідролізі ферум хлориду (III), який є сіллю сильної кислоти і слабкої основи:



Ферум (III) гідроксид практично нерозчинний у воді, тому в момент утворення його молекули конденсуються між собою у колоїдні частинки. Під час гідролізу утворюється невелика кількість хлорокису заліза, який дисоціює на йони:



Колоїдні частинки ферум (III) гідроксиду, адсорбуючи на своїй поверхні йони із розчину, набувають агрегатної стійкості. Будова колоїдної частинки ферум (III) гідроксиду:



Хід роботи: У пробірці нагрівають до кипіння 5-6 мл води. В кип'ячу воду доливають краплями 1-2 мл 2% розчину ферум хлориду (III) і обережно кип'ятять ще 0,5 хв.

Одержується золь ферум (III) гідроксиду. Порівняйте забарвлення одержаного золю із забарвленням розчину ферум хлориду (III).

Результати та висновки: _____

Б) Дослідження властивостей колоїдних розчинів.

1. Визначення знаку заряду колоїдних частинок.

Електричний заряд на колоїдних частинках виникає внаслідок адсорбції йонів електроліту, які знаходяться у колоїдному розчині. Знак електричного заряду можна визначити простим дослідом. Відомо, що поверхня капілярів фільтрувального паперу у воді набуває негативного заряду. Якщо занурити в розчин колоїду смужку фільтрувального паперу, то колоїдні частинки, які мають негативний заряд будуть підніматись по капілярах паперу разом з водою. Якщо колоїдні частинки мають позитивний заряд, то вони, адсорбуючись стінками капілярів, не піднімаються разом з водою.

Хід роботи: Для роботи використовують золь ферум (III) гідроксиду із попереднього дослідів. Паралельно готують золь берлінської сині: до 4-5 мл розчину $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ додають 1-2 краплі розчину FeCl_3 . У пробірки із золями ферум (III) гідроксиду і берлінської сині опускають на 2-3 мм смужки фільтрувального паперу. Верхній кінець паперу закріплюють

нерухомо на штативі. Через 20 хв. порівнюють рухливість забарвлених колоїдних частинок і роблять висновок про знак заряду.

Результати та висновки: _____

2. Коагуляція колоїдних розчинів.

Процес об'єднання колоїдних частинок у більш крупні агрегати називається коагуляцією. Цей процес супроводжується помутнінням, зміною забарвлення колоїдних розчинів і утворенням осаду.

Хід роботи: В пробірку із золам ферум (III) гідроксиду із попереднього дослідження додають декілька кристалів натрій сульфату. Звертають увагу на зміну кольору і прозорість золю ферум (III) гідроксиду.

Результати та висновки: _____

3. Визначення колоїдного захисту.

Гідрофільні колоїди, до яких відносяться і більшість органічних колоїдів (білки, поліцукориди), мають гідратну оболонку і є більш стійкими до дії електролітів. Якщо додати органічний колоїд до мінерального, то стійкість останнього до дії електролітів підвищується. Це явище називається колоїдним захистом. Захисна дія гідрофільних колоїдів пояснюється їх адсорбцією на поверхні гідрофобних мінеральних колоїдних частинок. Мірою захисної дії гідрофільних колоїдів є кількість (мг) сухого захищаючого колоїду, яка достатня для того, щоб попередити коагуляцію електролітом 10 мл гідрофобного колоїду. В залежності від того, який колоїд досліджують, визначають "золоте число", "срібне число", "залізне число" і т.д.

Хід роботи: В дві пробірки відміряють по 3-4 мл розчину аргентум нітрату. До першої додають 3-4 мл розчину желатини, а в другу – таку ж кількість води. До обох пробірок додають по

1-2 мл 10% розчину NaCl. У пробірці без желатини утворюється осад аргентум хлориду, а у пробірці з желатиною, яка відіграє роль захисного колоїду – осад аргентум хлориду відсутній. Результати та висновки: _____

4. Визначення “залізного числа” желатини.

“Залізним числом” називається мінімальна кількість міліграмів сухого гідрофільного колоїду (желатини), яка проявляє захисну дію одного літра гідрофобного колоїду ферум (III) гідроксиду. Про явище захисту судять по більшій кількості електроліту, затраченого для коагуляції захищеного золя.

Хід роботи: Спочатку готують колоїдний розчин ферум (III) гідроксиду (10 мл дистильованої води нагрівають до кипіння і додають краплями 2% розчин ферум (III) хлориду). Через декілька хвилин утворюється колоїдний розчин ферум (III) гідроксиду і його титрують 0,01 н розчином K_2CrO_4 до появи помітної каламуті. Результати титрування записують. Повторюють цей же дослід після попереднього додавання до золя 0,15 мл 0,5% розчину желатини. Якщо в цьому випадку на титрування піде така ж (або менша) кількість K_2CrO_4 , ніж у першому, то захист не наступив. Тоді повторюють дослід з 0,25 і 0,35 мл, а якщо необхідно, то і більшою кількістю желатини – до виявлення явища захисту. За результатами досліду проводять підрахунок “залізного числа”.

Приклад розрахунку: наприклад, 0,15 мл желатини не проявили захисних властивостей, а 0,25 мл вже володіють захистом. Отже, для розрахунку потрібно виходити з середньої величини:

$$\frac{(0,15 + 0,25)}{2} = 0,2 \text{ мл}$$

0,2 мл 0,5% розчину желатини захищає 10 мл золя, а 1 л буде захищений $0,2 \cdot 100 = 20$ мл 0,5% розчину желатини. Оскільки “залізне число” повинно виражатися в мг сухої речовини, то визначають її вміст в 20 мл 0,5% розчину желатини. 100 мл 0,5% розчину желатини містить 500 мг речовини, а 1 мл має 5 мг. “Залізне число” желатини – $20 \cdot 5 = 100$ мг.

Результати та висновки: _____

Контрольні питання.

1. Яка різниця між йонно-молекулярними і колоїдними дисперсними системами? Які дисперсні системи називаються колоїдними?
2. Що таке дисперсна фаза і дисперсне середовище?
3. Класифікація дисперсних систем.
4. Які властивості колоїдних розчинів? Стабільність колоїдних систем.
5. Що таке колоїдний захист?
6. Яке значення мають колоїдні системи для біологічних процесів у організмах?
7. В чому суть дисперсійних методів одержання колоїдних систем?
8. На чому ґрунтуються конденсаційні методи одержання колоїдних систем?
9. Що таке пептизація?
10. Будова гранули та міцели. Навести конкретний приклад.
11. Що таке потенціаловизначаючі йони та протийони?
12. Що таке високомолекулярні речовини? Їх класифікація.
13. Драглі, способи їх одержання. Значення набрякання і старіння драглів?
14. Що таке грубодисперсні системи?
15. Які дисперсні системи називаються аерозолями? Їх значення.
16. Що таке емульсії? Їх значення.
17. Що таке суспензії? Поняття про зависі.
18. Що таке пасти? Їх значення.
19. Що таке порошки? Їх значення.
20. Поняття про піни. Їх значення.

Дата: "_____" _____ 20__ р.

ТЕМА 4. ВЛАСТИВОСТІ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТЕЇНІВ.

Пояснення до завдання.

Протеїни – високомолекулярні азотовмісні органічні сполуки, молекули яких побудовані з залишків амінокислот, які сполучені між собою пептидними (амідними) зв'язками. Протеїни в організмі знаходяться в колоїдному стані і мають всі властивості колоїдів (явище Тіндаля, броунівський рух, не проникають крізь напівпроникні мембрани, володіють низьким осмотичним тиском). Під впливом різних факторів білки коагулюють і випадають в осад.

Білки є не тільки колоїдами, але і амфотерними електролітами (в присутності кислот ведуть себе як основи, а в лужному середовищі – як кислоти). Білкові молекули в розчині можуть змінювати свій заряд в залежності від рН середовища: в кислому середовищі білок набуває позитивного, а в лужному – негативного заряду. Навколо заряджених частинок виникають гідратні оболонки. Утворення однойменного заряду і гідратної оболонки – основні фактори агрегатної стійкості білкових колоїдів. Всі реакції на білки і методи їх дослідження базуються на наявності певних хімічних груп, зв'язків та фізико-хімічних властивостей.

При проведенні лабораторної роботи студенти виконують реакції осадження білків, очистку їх від низькомолекулярних сполук діалізом і проводять розділення амінокислот методом паперової хроматографії.

Порядок виконання дослідів.

А) Реакції осадження білків.

Реакції осадження білків можна розділити на дві групи:

а) зворотні, при яких білок може бути переведений знову в розчин із збереженням його початкових властивостей (нейтральні солі лужних і лужноземельних металів, спирт, ацетон);

б) незворотні, при яких відбуваються глибокі зміни в структурі білка, або його денатурація (під впливом солей важких металів, мінеральних і органічних кислот, реактивів на алкалоїди, температури).

Зворотні реакції осадження білків.

1. Амоній сульфатом (висолювання).

Хід роботи: В пробірку наливають 2 мл розчину білка і 2 мл насиченого розчину амоній сульфату. Утворюється напівнасичений розчин. В осад випадають глобуліни, які відділяють від альбумінів фільтруванням. До другої частини фільтрату додають кристалічного амоній сульфату до повного насичення розчину. В осад випадають альбуміни. Фільтрують і перевіряють наявність білка у фільтраті біуретовою реакцією. Результати та висновки: _____

2. Спиртом і ацетоном.

Хід роботи: У дві пробірки наливають по 1 мл розчину білка, додають кілька кристаликів NaCl і збовтують. Поволі доливають в одну пробірку 1 мл етанолу, в другу – 1 мл ацетону та інтенсивно збовтують. Через кілька хвилин в обох пробірках випадає осад білка. Результати та висновки: _____

Незворотні реакції осадження білків.

1. Солями важких металів.

Хід роботи: В три пробірки наливають по 1 мл розчину білка і додають по 2-3 краплі: до першої 5% розчину купрум (II) сульфату, до другої 0,5% розчину плюмбум (II) ацетату, а до третьої 3% розчину аргентум нітрату. В усіх пробірках випадає осад білка. Результати та висновки: _____

2. Реактивами на алкалоїди (таніном, гексаціаноферратом калію, пікриновою кислотою).

Хід роботи: У три пробірки наливають по 1 мл розчину білка і додають по 1-2 краплі 1% розчину ацетатної кислоти (для підкислення), потім у першу пробірку додають 5-6 крапель насиченого розчину таніну, у другу – насиченого розчину

пiкринової кислоти, а у третю – гексацiаноферрату калiю $K_4[Fe(CN)_6]$. У всiх пробiрках утворюється осад бiлка.

Результати та висновки: _____

3. Концентрованими неорганiчними кислотами.

Концентрованi неорганiчнi кислоти (крiм фосфатної) викликають осадження бiлків з розчину. Поява осаду викликана дегiдратацiєю колоїдних частинок бiлка, зменшенням заряду, утворенням солей бiлка. Надлишок мiнеральних кислот (за винятком нiтратної) розчиняє осад бiлків внаслiдок гiдролiзу. Реакцiя з нiтратною кислотою використовується у дiагностичних дослiдженнях сечi.

Хiд роботи: У три пробiрки наливають по 1 мл розчину бiлка i додають по 5-6 крапель: до першої хлоридної, до другої сульфатної, до третьої нiтратної кислот. Випадає осад бiлка. При надлишку хлоридної i сульфатної кислот осад розчиняється.

Результати та висновки: _____

4. Органiчними кислотами.

Органiчнi кислоти осаджують бiлок з розчинiв по-рiзному. Дуже чутливими i специфiчними реакцiями на бiлок є осадження його трихлорацетатною, хлорною i сульфосалiциловою кислотами. Оскiльки, вказанi кислоти не осаджують продуктiв розпаду бiлків (пептиди, аiноокислоти, аiди кислот, сечовина, сечова кислота та iн.), то iх використовують для роздiльного визначення бiлкового i небiлкового азоту в тканинах.

Хiд роботи: У двi пробiрки наливають по 1 мл розчину бiлка i додають: до першої 4-5 крапель 10% розчину трихлорацетатної кислоти, а до другої таку ж кiлькiсть 20% розчину сульфосалiцилової кислоти. В обидвох пробiрках випадає осад бiлка.

Результати та висновки: _____

5. Кип'ятінням.

При кип'ятінні в нейтральному або слабнокислому середовищі, як правило, має місце денатурація білка і випадання його в осад. В сильно кислих і лужних розчинах настає перезарядка білкової молекули і денатурований білок залишається в розчині. Однак при додаванні електролітів, які знімають електричний заряд, цей білок осаджується.

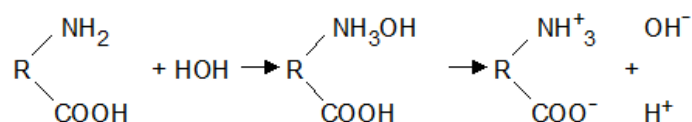
Хід роботи: До п'яти пробірок наливають по 1 мл розчину білка. Вміст першої пробірки кип'ятять – білок зсідается. До другої пробірки додають 3 краплі 2% розчину ацетатної кислоти і нагрівають до кипіння. Утворення осаду більш інтенсивне. До третьої пробірки додають 15 крапель 2% розчину ацетатної кислоти і кип'ятять. Осад білка не утворюється. До четвертої пробірки додають 15 крапель 2% розчину ацетатної кислоти і 2 краплі насиченого розчину натрій хлориду та нагрівають до кипіння. Випадає осад білка. До п'ятої пробірки додають 10-15 крапель 10% розчину натрій гідрооксиду і кип'ятять. Білок в осад не випадає.

Результати та висновки: _____

Б) Методи дослідження білків.

1. Визначення ізоелектричної точки білків (желатину).

Білки за хімічними властивостями є амфотерними електролітами. Наявність в білках кислотних ($-\text{COOH}$) і основних ($-\text{NH}_2$) груп зумовлює утворення у водних розчинах подвійних йонів:



В лужному середовищі білки реагують як аніони, а в кислому – як катіони. При певній реакції середовища дисоціація кислих і основних груп зрівноважується і сумарний електричний заряд дорівнює нулю (ізоелектричний стан білка). Ізоелектрична точка – це значення рН, при якому сумарний заряд білка

дорівнює нулю. В ізoeлектричній точці білки найменш стійкі і легко випадають в осад.

Таблиця № 2.

Розчини	№№ пробірок				
	1	2	3	4	5
0,1 Н CH_3COOH , (мл)	1,8	1,4	1,0	0,6	0,2
0,1 Н CH_3COONa (мл)	0,2	0,6	1,0	1,4	1,8
pH	3,8	4,4	4,7	5,1	5,7
0,5% р-н желатини (мл)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Етиловий спирт	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
Ступінь коагуляції					

Хід роботи: Дослід проводять за схемою поданою в таблиці №2. Вміст пробірок збовтують. Готують серію буферних розчинів із 0,1 Н розчину CH_3COOH і 0,1 Н розчину CH_3COONa . У кожен пробірник додають по 1,0 мл 0,5% розчину желатини і перемішують. Після цього додають у кожен пробірник по 4,0 мл етилового спирту і негайно перемішують. Через 5-10 хв оцінюють ступінь помутніння знаками "+": "+" – слабка коагуляція, "++" – середня коагуляція, "+++" – сильна коагуляція. Одержані дані заносять у таблицю і роблять висновки.

Результати та висновки: _____

2. Очищення розчину білка діалізом.

Діаліз – це очищення колоїдних розчинів від низькомолекулярних органічних і неорганічних домішок, що можуть проникати крізь рослинні, тваринні і штучні мембрани. Білки ж завдяки величині молекул не дифундують через напівпроникну мембрану.

Хід роботи: В діалізатор вносять 5-10 мл розчину білка і ставлять у склянку з дистильованою водою на 50-60 хв. Після цього діалізатор виймають з води, а з діалізатом виконують:

а) біуретову пробу на виявлення білка (1-2 мл діалізату змішують з 1-2 мл 10% розчину натрій гідроксиду і додають 1-2 краплі 1% розчину купрум (II) сульфату).

б) пробу на наявність хлоридів (до підкисленого нітратною кислотою 1-2 мл діалізату додають 1-2 краплі 1% розчину аргентум нітрату).

в) пробу на наявність фосфатів (до підкисленого нітратною кислотою 1-2 мл діалізату додають 8-10 крапель розчину амоній молібдату і підігрівують).

г) пробу Троммера на наявність глюкози (до 2-3 мл діалізату додають 0,5-1,0 мл 10% розчину натрій гідроксиду і 1-2 краплі 10% розчину купрум сульфату (II). Повільно нагрівають).

Результати досліджень записують.

Результати та висновки: _____

3. Розділення суміші амінокислот методом паперової хроматографії.

Паперова хроматографія є однією із модифікацій хроматографічного методу, запропонованого українським вченим Михайлом Цвітом у 1903 р. Краплю розчину суміші амінокислот наносять на фільтрувальний папір. Після висихання, папір вносять в середовище розчинників хроматографічної камери. Розчинники під дією капілярних сил поступово рухаються на папері, захоплюючи амінокислоти. Окремі з них в силу різної будови і властивостей не однаково утримуються папером і рухаються з різною швидкістю. Після того, як фронт розчинника просунеться на певну віддаль, папір висушують і виявляють плями амінокислот розчином нінгідрину.

Хід роботи: В центрі хроматографічного паперу графітним олівцем рисують коло радіусом 1,5 см і наносять крапельку розчину суміші амінокислот і амінокислот-свідків (кожний зразок окремо на відстані 1 см). Папір висушують. В центральний отвір паперу вставляють гніт і вносять в хроматографічну камеру з розчинниками (бутанол, ацетатна кислота, вода у співвідношеннях 4:1:5). Хроматографію ведуть протягом 30-45 хв (слідкують, щоб фронт розчинника не вийшов за межі хроматографічного паперу). Хроматограму висушують, обприскують розчином нінгідрину і нагрівають до 100°C. За розміщенням кольорових плям амінокислот-свідків ідентифікують амінокислотний склад досліджуваного розчину. Лінійкою вимірюють шлях, пройдений розчинником і окремими амінокислотами. Вираховують коефіцієнт розподілення R_f :

$$R_f = \frac{l_1}{l_2}, \text{ де}$$

l_1 – віддаль, яку пройде амінокислота (см);

l_2 – віддаль, яку пройде розчинник (см).

Результати та висновки: _____

Контрольні питання.

1. Які органічні сполуки називаються білками?
2. Що таке первинна, вторинна і третинна структури білка?
3. Чому білки володіють амфотерними властивостями?
4. Що таке цвіттерйон?
5. Які фактори обумовлюють стійкість білків у розчинах?
6. Що таке денатурація білків і від чого вона залежить?
7. В яких умовах настають зворотнє та незворотнє осадження білків?
8. Як змінюються фізико-хімічні та біологічні властивості білків при денатурації?
9. Що таке ізоелектричний стан та ізоелектрична точка білка?
10. З якою метою проводять діаліз розчинів білка?
11. В чому суть хроматографії? Її практичне значення.
12. В чому суть хроматографічного методу розділення суміші амінокислот?
13. Класифікація хроматографії за механізмом процесу розділення.
14. В чому суть адсорбційної хроматографії?
15. Де застосовується розподільвальна хроматографія?
16. Що лежить в основі методу йонообмінної хроматографії?
17. В чому суть методу гель-фільтрації (ексклюзивна фільтрація)?
18. Що таке колонкова, тонкошарова, паперова і капілярна хроматографії?
19. Що таке вискоефективна рідинна хроматографія (ВЕРХ)?
20. Що таке газова хроматографія?

Дата: "_____" _____ 20__ р.

ТЕМА 5. ВІТАМІНИ.

Пояснення до завдання.

Вітаміни – це низькомолекулярні органічні сполуки різної хімічної природи, які виконують в організмах функцію біологічних каталізаторів як у вільному стані, так і в складі ферментів. Вони необхідні організмові в мінімальних кількостях. Більшість вітамінів синтезується мікроорганізмами і рослинами. Відсутність вітамінів в кормі тварин зумовлює ряд специфічних захворювань (авітамінози). За фізико-хімічними властивостями вітаміни поділяються на жиророзчинні і водорозчинні. В організми моногастричних тварин вітаміни поступають з їжею, а у жуйних потреба у водорозчинних вітамінах в основному задовільняється мікрофлорою передшлунків.

Порядок виконання дослідів.

А) Дослідження жиророзчинних вітамінів.

1. Кількісне визначення каротину в сироватці крові.

Джерелом вітаміну А для тварин є рослинні пігменти – каротини. Найважливішим з них є β -каротин, молекула якого в стінці тонкого кишківника і печінці каротиназою розщеплюється з утворенням вітаміну А. Визначення рівня каротину в крові дає можливість зробити висновок про забезпечення організму тварин вітаміном А. Метод ґрунтується на осадженні білків спиртом, екстрагуванні петролейним ефіром (бензином) і вимірюванні оптичної густини забарвленого розчину на фотоелектроколориметрі.

Хід роботи: В центрифужну пробірку відмірюють 1 мл сироватки (плазми) крові і 3 мл 96% етанолу, перемішують скляною паличкою і центрифугують 10 хв. при 2000-3000 об/хв. Верхній шар (етиловий спирт) зливають, а до осаду додають 5 мл петролейного етеру, ретельно перемішують скляною паличкою 2 хв. Знову центрифугують 10 хв при 2000-3000 об/хв. Екстракт каротину зливають у градуйовану пробірку, доводять об'єм до 5 мл етером і зразу ж колориметрують при $\lambda = 400-500$ нм (синій світлофільтр) проти води, в кюветі з довжиною оптичного шляху 1 см. Паралельно колориметрують стандартний розчин, який відповідає 1 мг% концентрації каротину.

Розрахунок: $x = \frac{E_1}{E_2} \cdot 1$, де

- x – кількість каротину, мг%;
E₁ – екстинкція дослідної проби;
E₂ – екстинкція стандарту;
1 – коефіцієнт перерахунку в мг%.

Результати та висновки: _____

2. Якісна реакція на вітамін Д.

Хід роботи: На сухе предметне скло наносять одну краплю риб'ячого жиру, 1-2 краплі розчину броду в хлороформі і змішують. Через декілька хвилин утворюється зелене забарвлення. Реакція не специфічна.

Результати та висновки: _____

Б) Дослідження водорозчинних вітамінів.

1. Якісна реакція на вітамін В₁ (тіамін).

Хід роботи: До 1 мл екстракту дріжджів або висівок додають 2 мл 1% розчину K₃[Fe(CN)₆], 1 мл 30% розчину натрій гідроксиду, добре перемішують і екстрагують ізобутиловим спиртом. Ізобутиловий екстракт тіохрому (вітамін В₁ в лужному середовищі під впливом K₃[Fe(CN)₆] перетворюється в тіохром) в ультрафіолетових променях має інтенсивну синю флюоресценцію.

Результати та висновки: _____

2. Якісна реакція на вітамін В₂ (рибофлавін).

Хід роботи: У пробірку наливають 10 крапель вітаміну В₂, додають 5 крапель концентрованої хлоридної кислоти і опускають маленький шматочок металічного цинку.

Починається виділення бульбашок водню, рідина з жовтого забарвлення поступово рожевіє, а потім знебарвлюється.

Результати та висновки: _____

3. Якісна реакція на вітамін B₁₂.

Хід роботи: Приблизно 1 мл вітаміну B₁₂ заздалегідь спаленого з концентрованою сульфатною кислотою наносять на беззольний фільтр. Висушують над полум'ям пальника і наносять 2-3 краплі 10% розчину тіосечовини. Після цього фільтр нагрівають над полум'ям пальника. На фільтрі, найчастіше на краю плями, утворюється зелене забарвлення, що свідчить про наявність кобальту.

Результати та висновки: _____

4. Якісна реакція на вітамін С.

Хід роботи: До 5 крапель вітаміну С додають одну краплю 10% розчину NaOH і одну краплю 5% розчину K₃[Fe(CN)₆]. Змішують і доливають 3 краплі 10% розчину HCl і одну краплю 1% розчину FeCl₃. Випадає осад берлінської сині. Для контролю виконують цю саму реакцію, додаючи замість розчину вітаміну С дистильовану воду. В цьому випадку берлінської сині не утворюється.

Результати та висновки: _____

5. Кількісне визначення вітаміну С в рослинних продуктах.

Принцип методу полягає в тому, що вітамін С, окиснюючись відновлює 2,6-дихлорфеноліндофенол, який при цьому перетворюється в безбарвну сполуку.

Хід роботи: Зважують 20 г досліджуваної речовини (яблука, хрін, картопля), подрібнюють, розтирають у фарфоровій ступці

з 20 мл 2% розчину HCl. Вміст переносять у мірний циліндр, ополіскують тим же розчином доводячи об'єм до 40 мл. Суміш фільтрують. Відмірюють 10 мл фільтрату в склянку і титрують 0,001 н розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу до рожевого забарвлення, що не зникає протягом 30 секунд. Кількість вітаміну С обчислюють за формулою:

$$C = X \cdot 0,088 \cdot 20, \text{ де}$$

C – кількість вітаміну С в 100 г речовини, мг%;

X – кількість мл 0,001 н 2,6-дихлорфеноліндофенолу затрачена на титрування;

0,088 – кількість вітаміну С еквівалентна 1 мл індикатора;

20 – коефіцієнт переведення на 100 г досліджуваної речовини.

Результати та висновки: _____

6. Кількісне визначення вітаміну С в молоці.

Хід роботи: В конічну колбу (100-150 мл) вносять 50 мл молока, додають 4 мл насиченого розчину щавелевої кислоти і збовтують. Після цього доливають 10 мл насиченого розчину NaCl, знову збовтують і фільтрують. 25 мл фільтрату (сироватки) відмірюють в колбу (100 мл) і титрують з мікrobюретки 0,001 н розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу до появи стійкого протягом 30 секунд рожевого забарвлення. Кількість мл 0,001 н розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу, затраченого на титрування, перемножують на 2,4 (ступінь розведення молока) і отримують кількість розчину фарби на 50 мл молока. На 1 л молока піде в 20 разів більше фарби. Знаючи, що 1 мл розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу відповідає 0,088 мг аскорбінової кислоти, підраховують її кількість в 1 л молока:

$$C = a \cdot 2,4 \cdot 20 \cdot 0,088 = 4,224 \cdot a \text{ (мг\%)}, \text{ де}$$

a – кількість мл 0,001 н розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу.

Результати та висновки: _____

Контрольні питання.

1. Які органічні сполуки називаються вітамінами?
2. Як поділяють вітаміни в залежності від розчинності?
3. Які основні причини (виникнення) гіповітамінозу?
4. Який зв'язок між вітамінами і ферментами?
5. Яке значення мають антивітаміни у виникненні гіпо- і авітамінозів?
6. Які речовини є попередниками вітаміну А?
7. Яка біологічна роль вітаміну А?
8. Які клінічні ознаки у тварин вказують на гіповітаміноз А?
9. За яких умов 7-дегідрохолестерол перетворюється у вітамін Д₃?
10. Які клінічні ознаки у тварин вказують на гіповітаміноз Д?
11. В яких кормах поширений вітамін розмноження?
12. За якими ознаками можна встановити гіповітаміноз Е?
13. В яких процесах приймає участь вітамін К?
14. Які поліненасичені жирні кислоти відносять до вітаміну F?
15. Чому при гіповітамінозі В₁ порушений обмін вуглеводів?
16. В склад яких коферментів входить вітамін В₂?
17. В склад яких коферментів входить вітамін В₅?
18. Який вітамін з групи В приймає участь у трансамінуванні?
19. Який вітамін застосовують при скорбуті, анеміях та інтоксикаціях?
20. Який вітамін синтезують лише мікроорганізми?

Дата: "_____" _____ 20__ р.

ТЕМА 6. ФЕРМЕНТИ.

Пояснення до завдання.

Ферменти – це біологічні каталізатори білкової природи. За своєю будовою вони можуть належати до простих або складних білків. Небілкову частину називають простетичною групою, якщо при діалізі вона не відділяється від апофермента; якщо ж фермент легко відділяється то це – кофермент. Складні ферменти, до складу яких входять коферменти мають загальну назву холоферменти. Ферменти, так само як інші білки, є нестійкими і мають колоїдні властивості. Від неорганічних каталізаторів вони відрізняються певними властивостями, а саме: термолабільністю, специфічністю, залежністю дії від концентрації ферменту і субстрату, величини рН, впливу активаторів та інгібіторів. Ферменти каталізують реакції розпаду або синтезу різних речовин в організмах. При розщепленні субстратів під впливом ферментів утворюються кінцеві продукти розпаду, які виявляються певними реакціями. За змінами концентрації субстрату, або продуктів реакції можна робити висновок про дію чи наявність ферменту.

Порядок виконання дослідів.

А) Вивчення загальних властивостей ферментів.

1. Термолабільність.

Ферменти чутливі до змін температури і при нагріванні вище 70°C втрачають властивості біологічних каталізаторів. Температура, при якій швидкість ферментативної реакції максимальна, має назву оптимальної температури. Для більшості ферментів тваринного походження такою температурою є 37-40°C.

Хід роботи: У 3 пробірки наливають по 0,5 мл 1% розчину крохмалю. В першу пробірку додають 0,5 мл розчину (1:10) слини, в другу – 0,5 мл заздалегідь прокип'яченої слини і до третьої – 0,5 мл води (контроль). Всі пробірки переносять у водяну ванну при температурі 38°C на 10 хв. Вміст кожної пробірки ділять на дві частини і до однієї з них вносять одну краплю розчину йоду (проба на крохмаль), а з другою частиною виконують реакцію Троммера на глюкозу (5 крапель 10% NaOH, 5 крапель 1% розчину CuSO₄ і нагрівають). Результати записують.

Результати та висновки: _____

2. Специфічність дії ферментів.

Специфічність дії ферментів проявляється в тому, що кожний фермент діє тільки на певний субстрат, або каталізує певний тип хімічної реакції. Амілаза розщеплює крохмаль і не діє на дицукориди.

Хід роботи: У дві пробірки вносять по 0,5 мл розчину слини (1:10). До першої додають 0,5 мл 1% розчину крохмалю, а до другої – 0,5 мл 1% розчину цукрози. Обидві пробірки витримують 10 хв у водяній ванні при температурі 38°C. Після інкубації з вмістом обох пробірок виконують пробу Троммера на глюкозу. Результати записують.

Результати та висновки: _____

3. Визначення оптимуму рН для амілази.

Кожний фермент проявляє максимальну каталітичну активність в досить вузькій зоні рН, яка називається рН-оптимумом.

Хід роботи: У 7 пробірок наливають 0,2 М розчин K_2HPO_4 і 0,1 М розчин цитринової кислоти у співвідношеннях, поданих в таблиці № 3.

Таблиця № 3.

№ про- бірки	Кількість мл 0,2 М K_2HPO_4	Кількість мл 0,1 М цитринової кислоти	рН	Забарвлення з йодом
1	0,58	0,42	5,6	
2	0,63	0,37	6,0	
3	0,69	0,31	6,4	
4	0,77	0,23	6,8	
5	0,87	0,13	7,2	
6	0,94	0,06	7,6	
7	0,97	0,03	8,0	

У кожен пробірник доливають по 0,5 мл розчинів 1% натрій хлориду, 0,5% крохмалю і слини. Перемішують вміст кожної пробірки витримують у водяній ванні на 5-10 хв. при 38°C. Після інкубації до всіх пробірок додають по 1 краплі йоду, та перемішують. По забарвленню вмісту пробірок визначають значення рН, при якому амілаза найбільш активна.

Результати та висновки: _____

4. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази.

Активність ферментів залежить від наявності у розчині хімічних сполук, які можуть підвищувати (активатори), або пригнічувати (інгібітори) активність ферментів.

Хід роботи: В 3 пробірки наливають по 0,5 розчину слини (1:3) і по 0,5 мл 1% розчину крохмалю. До першої пробірки доливають 0,5 мл 1% розчину NaCl (активатор амілази), до другої – 0,5 мл 5% розчину CuSO₄ (інгібітор амілази), а до третьої – 0,5 мл дистильованої води. Перемішують вміст кожної пробірки і нагрівають у водяній ванні при температурі 38°C 10 хв. Після інкубації до всіх пробірок додають по 1 краплі йоду. Утворене забарвлення свідчить, що в першій пробірці відбувся повний розпад крохмалю, в третій – до декстринів, а в другій наявний нерозщеплений крохмаль.

Результати та висновки: _____

Б) Визначення активності ферментів.

1. Кількісне визначення амілази слини по Вольгемуду.

Хід роботи: У 10 пронумерованих пробірок наливають по 1 мл води. В першу пробірку доливають 1 мл слини (1:10) і перемішують. Роблять послідовне розведення слини таким чином: відбирають піпеткою 1 мл суміші з першої пробірки і переносять в другу пробірку, з другої пробірки таким же чином у третю і так аж до десятої. З десятої пробірки 1 мл суміші виливають. В кожній наступній пробірці міститься ферменту

вдвоє менше, ніж у попередній. До всіх пробірок доливають по 1 мл води і 2 мл 0,1% розчину крохмалю. Старанно перемішують і витримують у водяній ванні 30 хв при 38°C. Після інкубації вносять по 1 краплі 1% розчину йоду і перемішують. Вміст пробірок набуває від рожевого до фіолетового забарвлення (декстрин). Синій колір утворюється при наявності нерозщепленого крохмалю. Одержані дані записують у таблицю № 4.

Підрахунок амілокластичної сили слини. Обчислюють кількість слини в останній пробірці з жовтуватим забарвленням. Якщо слина в ній, наприклад, була розведена в 320 разів, складають таку пропорцію і знаходять амілокластичну силу слини.

1/320 мл слини розщепила 2 мл 0,1% розчину крохмалю
1 мл – x

$$x = \frac{2 \text{ мл} \cdot 1 \text{ мл}}{\frac{1}{320} \text{ мл}} = 640 \text{ мл } 0,1\%$$

розчину крохмалю.

Таблиця № 4

№ пробірки	Кількість розчину крохмалю, мл	Колір з йодом	Амілокластична сила слини

Результати та висновки: _____

2. Виявлення дегідрогенази в молоці за Шардінгером.

Хід роботи: У дві пробірки вносять по 10 мл свіжого молока. До першої додають 1 краплю 0,02% розчину метиленової синьки і одну краплю 0,4% розчину формальдегіду, а до другої тільки 1 краплю метиленової синьки. В обидві пробірки вносять по кілька крапель вазелінової олії і витримують їх у водяній ванні при 70°C. Через деякий час в першій пробірці колір зникає.

Результати та висновки: _____

3. Виявлення дії пероксидази в хроні.

Хід роботи: У пробірку вносять 5 крапель 1% розчину гваякової смоли і 5 крапель 2% розчину пероксиду гідрогену. Кидають шматочок кореня хрону і перемішують. Гваякова смола окиснюється і забарвлюється в синій колір.

Результати та висновки: _____

4. Виявлення дії каталази крові.

Хід роботи: У 2 пробірки вносять по 2 мл гемолізованої крові. Одну з них нагрівають до кипіння (фермент інактивується). Після цього в обидві пробірки вносять по 10-15 крапель 1% розчину H_2O_2 . У пробірці з кип'яченою кров'ю бульбашки кисню не виділяються. (Пероксид гідрогену не розкладається).

Результати та висновки: _____

5. Виявлення дії уреаз.

Хід роботи: У пробірку вносять 1-1,5 мл розчину сечовини, 1-2 краплі фенолфталеїну і біля 0,2 г соєвої муки (джерело уреаз). Через декілька хвилин суміш червоніє. Записують рівняння реакції гідролізу сечовини.

Результати та висновки: _____

6. Визначення зсідаючої здатності сичужного ферменту.

а) Тривалість зсідання в залежності від температури.

Хід роботи: В три пробірки вносять по 10 мл молока. Підігрівають вміст до 10, 35 і 50°C у водяній ванні. В пробірки швидко вносять по 0,5 мл 0,5% розчину сичужного ферменту. Через кожну хвилину спостерігають зміну молока, захоплюючи скляною паличкою і підіймаючи його по стінці пробірки. Початок зсідання встановлюють за часом появи пластівців.

Результати та висновки: _____

б) Тривалість зсідання в залежності від кислотності.

Хід роботи: Молоко в трьох пробірках (по 10 мл) підігрівають до 35°C. В першу пробірку вносять 0,3 мл 0,1 н розчину NaOH, в другу 0,3 мл молока і в третю 0,3 мл 0,1 н розчину HCl. Пробірки витримують у водяній ванні при 35°C. В кожну пробірку вносять по 0,5 мл 0,5% розчину сичужного ферменту, перемішують, фіксують час, спостерігають за станом молока і визначають тривалість зсідання.

Результати та висновки: _____

в) Тривалість зсідання в залежності від вмісту солей кальцію.

Хід роботи: Молоко в трьох пробірках нагрівають до 35°C. До другої пробірки вносять 0,1 мл і до третьої – 0,2 мл 10% розчину кальцій хлориду. Пробірки поміщають у водяну ванну при температурі 35°C. В кожну пробірку вносять по 0,5 мл 0,5% розчину сичужного ферменту, перемішують, фіксують час, кожну хвилину перевіряють стан молока, встановлюють тривалість зсідання. Кількість розчину кальцій хлориду який додають до молока, змінюють в незначних границях. Дані записують і роблять висновки.

Результати та висновки: _____

Контрольні питання.

1. Що таке ферменти?
2. Які подібності та відмінності між ферментами і неорганічними каталізаторами?
3. Хімічна природа ферментів.
4. Будова простих і складних ферментів.
5. Основні властивості ферментів.
6. Які речовини називають інгібіторами та активаторами ферментів, їх природа? Які ви знаєте типи інгібування?
7. Що таке кофермент та простетична група?
8. Що таке ізоферменти? Дати характеристику ізоферментів лактатдегідрогенази (ЛДГ).
9. Привести загальну схему механізму дії ферментів.
10. Характеристика будови НАД.
11. Характеристика будови НАДФ.
12. Характеристика будови ФАД.
13. Характеристика будови КоА-SH.
14. Характеристика будови ТПФ.
15. Характеристика будови ПАЛФ, ПАМФ.
16. Характеристика будови коферментної форми біотину.
17. Характеристика будови коферментної форми фолієвої кислоти.
18. Дати загальну характеристику коферментної форми вітаміну В₁₂.
19. Дайте основні поняття кінетики ферментативних реакцій.
20. Основні принципи класифікації і номенклатури ферментів.

Дата: "_____" 20__ р.

ТЕМА 7. ГОРМОНИ.

Пояснення до завдання.

Гормони – біологічно активні речовини, які виділяються залозами внутрішньої секреції або скупченням спеціалізованих клітин організму та здійснюють регулюючу дію на обмін речовин і фізіологічні функції. За хімічною природою гормони поділяються на три групи: 1) гормони білкової природи; 2) гормони – похідні амінокислот; 3) гормони стероїдної природи. При виконанні лабораторної роботи, студенти вивчають будову гормонів, з'ясовують їх біологічну роль для тваринного організму та набувають навиків якісного виявлення і кількісного визначення гормонів хімічними методами.

Порядок виконання дослідів.

А) Дослідження хімічної будови гормонів.

1. Виявлення білкової природи інсуліну біуретовою реакцією.

Хід роботи: В пробірку додають 0,5-1 мл розчину інсуліну, 1 мл 10% розчину NaOH і 1-2 краплі 5% розчину CuSO₄. При змішуванні появляється рожево-фіолетове забарвлення.

Результати та висновки: _____

2. Викривання йоду в тироксині.

Гормони щитоподібної залози містять йод. При їх руйнуванні утворюється йодидна кислота, яка в кислому середовищі окиснюється KJO₃ до молекулярного йоду. Останній виявляють пробою з крохмалем. Суть реакції:

Тироксин + HNO₃ → HI + ...

5HI + KJO₃ + HNO₃ = 3I₂ + KNO₃ + H₂O

I₂ + крохмаль = синє забарвлення

Хід роботи: В пробірку додають 0,5 таблетки тиреоїдину (або 100-200 мг висушеної щитоподібної залози) і 10 крапель концентрованої HNO₃. Обережно (щоб попередити утворення піни) нагрівають протягом 1-2 хв. Вносять 20 крапель 1% розчину калій йодату, змішують, охолоджують і додають 1 мл хлороформу та 5 крапель 1% розчину крохмалю. Після відстоювання шар хлороформу забарвлюється в синій колір.

Результати та висновки: _____

3. Виявлення фенольних гідроксилів у адреналіні і фолікуліні:

а) реакцією з ферум хлоридом (III).

Хід роботи: У пробірку додають 1 мл розчину адреналіну, додають 1 краплю FeCl_3 . Після змішування появляється смарагдово-зелене забарвлення.

Результати та висновки: _____

б) за допомогою реактиву Фоліна.

Хід роботи: До 2 мл розчину фолікуліну додають 1 мл 30% розчину натрій гідроксиду і 2 мл реактиву Фоліна. Появляється характерне синє забарвлення.

Результати та висновки: _____

б) кількісне визначення адреналіну реактивом Фоліна.

Метод ґрунтується на здатності солей фосфатно-вольфрамової і фосфатно-молібденової кислот (реактив Фоліна) в присутності адреналіну відновлюватись з утворенням комплексів, забарвлених в синій колір. Про кількість адреналіну судять за інтенсивністю забарвлення.

Хід роботи: Готують дві пробірки. До першої додають 1 мл досліджуваної рідини, до другої – 1 мл стандартного розчину адреналіну. В обидві пробірки додають по 4 мл 10% розчину Na_2CO_3 і по 0,5 мл реактиву Фоліна. Появляється синє забарвлення, що досягає максимуму через 5 хв. До вмістимого кожної пробірки додають по 4,5 мл розчину Na_2CO_3 і визначають оптичне поглинання рідин фотокolorиметрично ($\lambda=750$ нм). Кількість адреналіну в досліджуваному розчині (C_1) розраховують за формулою:

$$C_1 = \frac{0,04 \cdot E_1 \cdot a \cdot 100}{E_2} = \text{мг\%, де}$$

а – розведення досліджуваної рідини;

Е₁ – екстинкція досліджуваної рідини;

Е₂ – екстинкція стандартного розчину (0,04 мг адреналіну).

Результати та висновки: _____

Контрольні питання.

1. Які органічні речовини називаються гормонами?
2. Як класифікуються гормони за хімічною природою?
3. Як класифікуються гормони за місцем їх утворення?
4. Механізм дії гормонів на поверхневі рецептори.
5. Механізм дії гормонів на цитоплазматичні рецептори.
6. Які гормональні речовини виробляє гіпоталамус і яка їх біологічна роль?
7. Хімічна природа і біологічна дія гормонів передньої долі гіпофізу?
8. Хімічна природа і біологічна дія гормонів середньої і задньої долей гіпофізу?
9. Де синтезуються тироксин, кальцитонін і на які процеси обміну речовин вони впливають?
10. Де синтезуються інсулін та глюкагон і на які процеси обміну речовин вони впливають?
11. Які сполуки відносять до стероїдних гормонів?
12. Чоловічі статеві гормони. Їх вплив на організм.
13. Жіночі статеві гормони. Їх вплив на організм.
14. Будова і біологічна роль гормонів коркового шару наднирників?
15. Будова і біологічна роль гормонів мозкового шару наднирників?
16. Які гормони впливають на збільшення концентрації глюкози в крові?
17. Які гормони впливають на зниження концентрації глюкози в крові?
18. Які речовини називаються гормоноїдами (тканинними гормонами)? Назвіть найголовніші та вкажіть їх біологічну дію.
19. Простагландини. Їх біологічна роль.
20. Роль плаценти в гормональній регуляції організму вагітних.

Дата: "_____" _____ 20__ р.

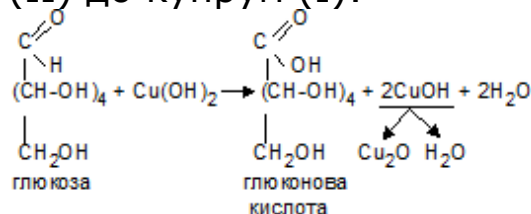
ТЕМА 8. ОБМІН ВУГЛЕВОДІВ. Пояснення до завдання.

Вуглеводи відіграють важливу роль в тваринному організмі. Вони приймають участь в побудові тканинних структур, входять в склад нуклеїнових кислот, глікопротеїнів, гліколіпідів, деяких вітамінів і коферментів. Вуглеводам належить значне місце в біоенергетиці клітини. Глюкоза, фруктоза і продукти їх перетворення, зокрема піровиноградна і молочна кислоти, є постійними складовими частинами крові. Тому при дослідженні рівня цих метаболітів встановлюють стан вуглеводного обміну в організмі тварин. Під час лабораторного заняття студенти проводять якісні реакції на вуглеводи і визначають концентрацію глюкози, фруктози, піровиноградної і молочної кислот в безбілковому фільтраті крові.

Порядок виконання дослідів.

1. Реакція Троммера на глюкозу.

Розчин гексоз (глюкози, фруктози) в лужному середовищі відновлює купрум (II) до купрум (I):



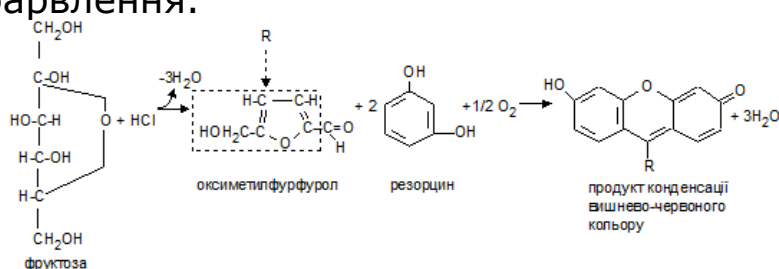
Хід роботи: У пробірку наливають 3 мл 5% розчину глюкози, 3 мл 10% розчину NaOH і 2-3 краплі 10% розчину CuSO₄. Повільно нагрівають верхню частину, спостерігають спочатку утворення жовтого осаду купрум гідроксиду (I) CuOH, який поступово змінює забарвлення на червоне, внаслідок перетворення CuOH у Cu₂O. Надлишок Cu(OH)₂ призводить до утворення чорного осаду CuO, що маскує позитивну реакцію Троммера.

Результати та висновки: _____

2. Реакція Селіванова на фруктозу.

Під дією концентрованої HCl при нагріванні фруктоза, втрачаючи три молекули води, легко утворює оксиметилфурфурол, який конденсується з резорцином утворює продукт вишнево-червоного забарвлення.

Хід роботи: У дві пробірки наливають по 1-2 мл концентрованої HCl і додають по декілька кристаликів резорцину. У першу пробірку вносять 2-3 мл розчину фруктози, а до другої – стільки ж розчину глюкози. Нагрівають у киплячій водяній ванні. В пробірці з фруктозою появляється вишнево-червоне забарвлення.



Результати та висновки: _____

3. Реакція на пентози з орцином (реакція Біалє).

Пентози під дією концентрованої HCl при нагріванні, втрачаючи три молекули води, перетворюються у фурфурол, який з орцином утворює конденсований продукт зеленого забарвлення.

Хід роботи: До 1 мл досліджуваного розчину пентози додають 1 мл орцинового реактиву. Суміш нагрівають на киплячій ванні протягом 20 хв. При наявності пентоз появляється зелене забарвлення.

Результати та висновки: _____

4. Реакція дезоксипентоз з дифеніламіном.

При нагріванні дезоксипентози у кислому середовищі утворюють хромогени, що здатні конденсуватись з дифеніламіном у продукт синього кольору.

Хід роботи: У пробірку вносять 1 мл розчину дезоксирибози або розчин ДНК, додають 2 мл 1% розчину дифеніламіну і кип'ятять 10 хв. Рідина забарвлюється в синій колір.

Результати та висновки: _____

5. Кислотний гідроліз цукрози.

Хід роботи: В пробірку наливають 2 мл розчину цукрози і додають 6 крапель 25% сульфатної кислоти. Кип'ятять 1 хв у водяній ванні. Після кип'ятіння вміст пробірки ділять на дві частини. В одній виявляють глюкозу реакцією Троммера, а в другій досліджують наявність фруктози реакцією Селіванова.

Результати записують і роблять висновок.

Результати та висновки: _____

6. Кольорова реакція з йодом на крохмаль

Хід роботи: До 1 мл розчину крохмалю додають 1 краплю розчину йоду. Спостерігають за зміною забарвлення при нагріванні і після охолодження. Результати записують.

Результати та висновки: _____

7. Кислотний гідроліз крохмалю.

Хід роботи: В пробірку з 5 мл крохмалю додають 0,5 мл концентрованої HCl і витримують у киплячій водяній ванні 10 хв. Після цього вміст пробірки ділять на 2 рівні частини. З однією виконують пробу на наявність крохмалю з розчином

йоду, а з другою виконують пробу Троммера на глюкозу. Результати записують і роблять висновок.

Результати та висновки: _____

8. Виділення глікогену.

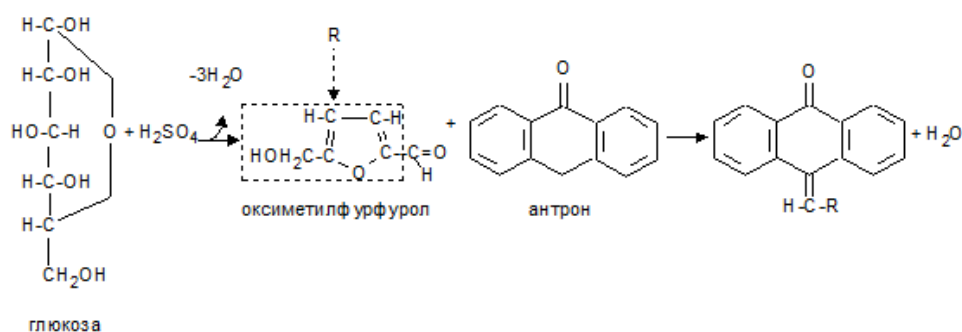
Принцип методу полягає в тому, що досліджувану тканину (печінку, скелетний м'яз) обробляють на киплячій водяній ванні 30% розчином КОН. При такій жорсткій обробці тканини розпадаються, більшість речовин гідролізує, проте глікоген не змінюється і при доливанні спирту: випадає в осад.

Хід роботи: В центрифужну пробірку вносять 2 мл 60% розчину КОН і 1-2 г досліджуваної тканини. Пробірку витримують 1 годину в кип'ячій водяній ванні, регулярно перемішуючи вміст. Після охолодження додають 8-10 мл 96° етанолу. Витримують в склянці з льодом 20-30 хв. Випадає осад глікогену, який відділяють центрифугуванням протягом 5-10 хв при 3000 об/хв. Надосадову рідину зливають а осад розчиняють у 2 мл 15% розчину КОН, додають 8-10 мл 96° етилового спирту і охолоджують. Осад ділять на 2 частини. Одну частину розчиняють в декількох краплях води і додають кілька крапель розчину йоду (реактив Люголя). Появляється червоне забарвлення, яке зникає при нагріванні і знову появляється при охолодженні. Другу частину осаду глікогену гідролізують і доводять наявність в його складі глюкози. З цією метою доливають до осаду глікогену 3-4 мл 2,5% розчину HCl і кип'ятять 15-20 хв у водяній ванні. Охолоджують і нейтралізують 10% розчином натрію гідроксиду. З вмістимим пробірки виконують реакцію Троммера.

Результати та висновки: _____

9. Визначення суми цукрів антроновим реактивом.

Метод базується на здатності гексоз дегідруватися в присутності концентрованої сульфатної кислоти і утворювати з антроном кольоровий конденсований продукт.



Хід роботи:

а) Осадження білків крові. В склянку відміряють 3 мл води, 2 мл крові і після гемолізу еритроцитів (через 3-5 хв) додають 3 мл 10% трихлорацетатної кислоти. Збовтують і через 5-10 хв фільтрують. Одержаний фільтрат використовують для визначення глюкози, фруктози і молочної кислоти.

б) Три пробірки охолоджують у воді з льодом. До першої (робоча) додають 0,2 мл фільтрату (відповідає 0,05 мл крові) і 0,8 мл води, до другої (стандартна) – 1 мл стандартного розчину глюкози і до третьої – 1 мл води. До всіх трьох пробірок додають (краплями) по 5 мл антронового реактиву. Обережно (щоб в пробірки не потрапляли краплі води) перемішують і нагрівають у киплячій водяній ванні 10 хв. Після охолодження забарвлені у зелений колір проби фотометрують при $\lambda = 630$ нм (червоний світлофільтр) проти контрольної проби. Результати фотометрії записують. Концентрацію цукрів обчислюють за формулою:

$$C = \frac{E_1 \cdot a}{E_2} \cdot 20 \cdot 100 = \text{мг\%, де}$$

E_1 – екстинкція робочої проби;

E_2 – екстинкція стандартної проби;

a – кількість мг глюкози в стандарті (0,04).

Результати та висновки: _____

10. Визначення концентрації глюкози крові реакцією з орто-толуїдином.

Принцип методу ґрунтується на тому, що глюкоза при нагріванні з орто-толуїдином в розчині ацетатної кислоти дає кольорову сполуку, інтенсивність забарвлення якої є прямо пропорційне концентрації глюкози.

Хід роботи: До першої пробірки (робоча) відміряють 0,4 мл фільтрату і 0,1 мл дистильованої води, до другої (стандартна) 0,1 мл стандартного розчину глюкози і 0,4 мл 10% розчину трихлорацетатної кислоти, до третьої (контрольна) – 0,5 мл 10% розчину трихлорацетатної кислоти. До всіх пробірок відміряють по 4,5 мл орто-толуїдинового реактиву. Пробірки переносять у кип'ячу водяну ванну на 8 хв (точно) і після цього охолоджують до кімнатної температури. Фотометрують при довжині хвилі 580-650 нм. Розрахунок ведуть за формулою:

$$C = \frac{E_1}{E_2} \cdot 50 = \text{мг\%}, \text{ де}$$

E_1 – екстинкція дослідної проби;

E_2 – екстинкція стандарту (стандарт = 50 мг%);

50 – коефіцієнт перерахунку в мг%.

Результати та висновки: _____

11. Визначення концентрації фруктози за методом Кульки.

В основі методу є реакція утворення із фруктози при нагріванні у кислому середовищі 5-оксиметилфурфуролу, який з резорцином дає продукт конденсації червоного кольору.

Хід роботи: Беруть три пробірки. До першої (робоча) відміряють 2 мл фільтрату (відповідає 0,5 мл крові), до другої (стандартної) – 1 мл стандартного розчину фруктози і 1 мл води, до третьої (контрольна) – 2 мл води. До всіх трьох пробірок додають по 2,5 мл спиртового розчину резорцину, 2,5 мл розчину залізоамонійного галуна, змішують, закривають повітряними холодильниками і переносять у водяну ванну при температурі 80°C на 40 хв. Після охолодження забарвлені проби фотометрують при $\lambda = 450$ нм (синій світлофільтр) проти контрольної проби. Дані фотометрії записують. Концентрацію фруктози обчислюють за формулою:

$$C = \frac{E_1 \cdot a}{E_2} \cdot 2 \cdot 100 = \text{мг\%}, \text{ де}$$

E_1 – екстинкція робочої проби;

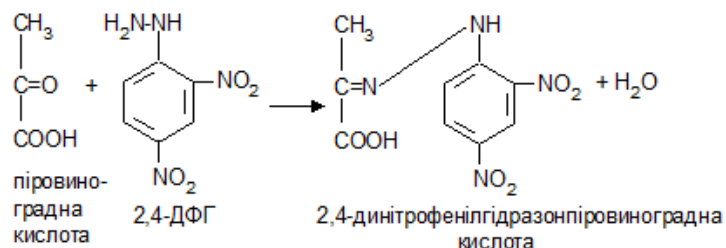
E_2 – екстинкція стандартної проби;

a – кількість мг фруктози в стандарті (0,05).

Результати та висновки: _____

12. Кількісне визначення піровиноградної кислоти за видозміненою методикою Умбрайта.

Метод колориметричного визначення піровиноградної кислоти ґрунтується на утворенні забарвленої сполуки 2,4-динітрофенілгідразону піровиноградної кислоти, яка утворюється в реакції з 2,4-динітрофенілгідразином (2,4-ДФГ) і піровиноградною кислотою в кислому середовищі. 2,4-динітрофенілгідразон піровиноградної кислоти на відміну від гідразонів інших кетокислот добре розчиняється в толуені за допомогою якого його екстрагують з реакційної суміші. Після додавання до толуенового екстракту спиртового розчину лугу утворюється червоно-оранжеве забарвлення, властиве 2,4-динітрофенілгідразону піровиноградної кислоти. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації піровиноградної кислоти.



Хід роботи:

а) Осадження білків крові.

В пробірку вносять 3 мл крові, повільно краплями додають 3 мл 10% трихлорацетатної кислоти. Вміст ретельно змішують скляною паличкою і витримують 10 хв у льодовій ванні для кращого осадження білка та фільтрують. Фільтрат використовують для визначення концентрації піровиноградної кислоти.

б) Утворення 2,4-динітрофенілгідразону піровиноградної кислоти.

Беруть три пробірки. В пробірку №1 вносять 1 мл фільтрату (дослідна проба), в пробірку №2 – 1 мл стандартного розчину піровиноградної кислоти (стандартна проба) і в пробірку №3 – 1 мл дистильованої води (контроль). Вміст всіх пробірок

витримують у водяній ванні 10 хв. при 25°C. В кожную пробірку вносять 0,25 мл 0,1% розчину 2,4-динітрофенілгідразину і проби залишають на 20 хв при кімнатній температурі (для утворення гідразону піровиноградної кислоти).

в) Екстракція 2,4-динітрофенілгідразону піровиноградної кислоти.

До реакційної суміші всіх пробірок додають по 2 мл толуену, ретельно струшують протягом 3 хв. Проби залишають на 10 хв для розшарування рідин. Після цього обережно відсмоктують нижній водний шар. До толуенового екстракту додають 1,5 мл 10% розчину натрію карбонату, добре струшують і знову відстоюють до розділення рідин. На цьому етапі гідразон піровиноградної кислоти переходить в содовий розчин.

З нижнього содового розчину всіх пробірок відмірюють по 1,25 мл і вносять в чисті пробірки. Додають в кожную з них по 1,25 мл 1,5 н розчину натрію гідроксиду. Утворюється червоно-буре забарвлення, характерне для 2,4-динітрофенілгідразону піровиноградної кислоти. Через 20 хв проби фотометрують при $\lambda = 465$ нм (синій світлофільтр) проти контролю.

Концентрацію піровиноградної кислоти вираховують за формулою:

$$C = \frac{E_1}{E_2} \cdot a, \text{ де}$$

C – кількість піровиноградної кислоти в мг на 100 мл крові;

E_1 – екстинкція дослідної проби;

E_2 – екстинкція стандартної проби;

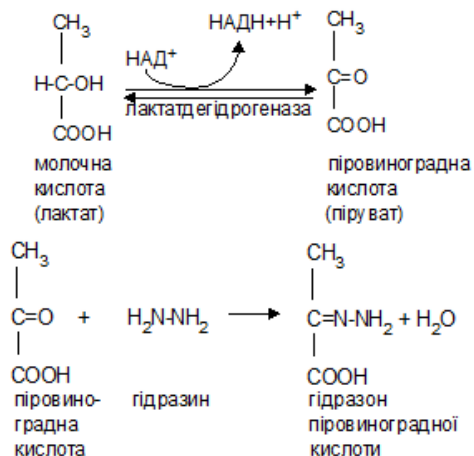
a – вміст піровиноградної кислоти в стандартній пробі 88 мкг.

Результати та висновки: _____

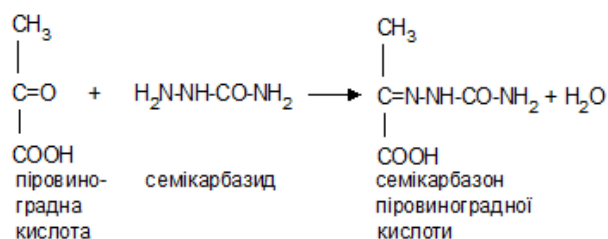
13. Визначення молочної кислоти ензиматичним методом (I.Cutmann and A.W.Wahlefeld).

Метод ґрунтується на окисненні лактату лактатдегідрогеназою (ЛДГ) у піруват. При цьому окиснена форма НАД⁺ відновлюється до НАДН+Н⁺, що виражається у зміні екстинкції досліджуваної проби при 340 нм. Рівновага цієї реакції зміщена в бік утворення лактату, тому піруват який буде утворюватись необхідно зв'язувати. Для цього в склад гліцин-гідразинового буферу для ензиматичної реакції входить гідразин (гідразин хлорид). Можна використати гліцин-

семікарбазидний буфер, тобто замість гідразину – семікарбазид. Піруват з гідразином чи семікарбазидом буде утворювати, відповідно, гідразони або семікарбазони.



або



Хід роботи:

а) Осадження білків.

Змішують рівні об'єми крові і 1 М розчину HClO_4 . Витримують 30 хв на холоді і центрифугують. Супернатант нейтралізують 5 Н КОН і відстоюють на холоді для повного осадження KClO_4 . Проби центрифугують і надосадову рідину використовують для досліджень.

б) В кювету (об'єм 3 мл) вносять 2,5 мл 0,5 М гліцин-0,4 М семікарбазидного буферу ($\text{pH}=9,0$), 0,2 мл 40 мМ НАД^+ , 0,2 мл досліджуваної проби. Визначають екстинкцію проби (E_1) при $\lambda=340$ нм. Вносять у кювету 0,02 мл розчину ЛДГ (активність 19 МО в 1 мл) і через 60 хв знову визначають екстинкцію (E_2) при тій же довжині хвилі. ($\Delta E = E_2 - E_1$). Концентрацію лактату вираховують за формулою:

$$C = \frac{\Delta E \times V}{6,22 \times a} \times 2,$$

C – концентрація лактату (мкмоль/мл крові);

ΔE – різниця екстинкцій;

V – об'єм проби в кюветі (2,92 мл);

6,22 – коефіцієнт молярного поглинання НАД (при окисненні-відновленні 1 мкмоль НАД чи НАДФ при 340 нм в кюветі з довжиною оптичного шляху 10 мм в 1 мл

реакційної суміші)

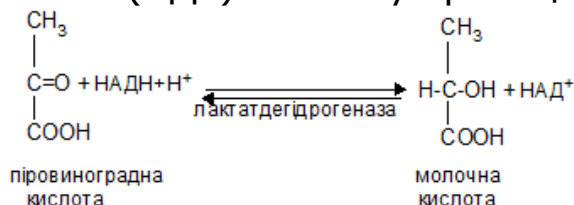
a – внесений об'єм дослідної проби (0,2 мл);

2 – розведення при осадженні білків хлорною кислотою.

Результати та висновки: _____

14. Визначення активності лактатдегідрогенази.

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) каталізує реакцію:



Визначення активності ЛДГ у сироватці крові має клінічне і діагностичне значення у медицині і ветеринарній медицині. Підвищення активності ферменту спостерігається при інфаркті міокарду, гепатиті, злоякісних пухлинах та ін.

Принцип спектрофотометричного методу визначення ЛДГ полягає у вимірюванні оптичної густини при 340 нм, яка є пропорційною концентрації відновленого НАД. У випадку прямої реакції проходить зменшення концентрації НАДН+H⁺ у середовищі і спостерігається зниження екстинкції. При проходженні зворотної реакції концентрація НАДН+H⁺ буде збільшуватись і екстинкція зростає.

Хід роботи: У спектрофотометричну кювету вносять 2,85 мл фосфатпіруватного розчину (700 мг K₂HPO₄, 90 мг KH₂PO₄ і 3 мг натрій пірувату розчиняють у 80 мл бідистильованої води) і 0,05 мл розчину НАДН+H⁺ (10 мг НАДН+H⁺ розчиняють у 1,5 мл фосфатпіруватного розчину). Розчини попередньо прогрівають у водяній ванні при +25°C. Вимірюють оптичну густину при 340 нм на спектрофотометрі. Після цього додають 0,1 мл свіжої сироватки крові, або екстракту тканини печінки чи м'язів, швидко змішують і вимірюють оптичну густину з інтервалом 1 хв протягом 5 хв. Визначають середню величину зміни екстинкції за 1 хв і вираховують активність ЛДГ у мікромолях субстрату за 1 хв на 1 мл сироватки, чи екстракту:

$$\left(\frac{\Delta E}{\text{хв}} \right) 4,82 = \frac{\text{МКМОЛЬ}}{\text{хв} \times \text{мл}}, \text{ де}$$

$\frac{\Delta E}{\text{хв}}$ – середня величина зміни екстинкції за хвилину;

4,82 – коефіцієнт для вирахування.

Будують графік залежності швидкості реакції від часу інкубації.

Результати та висновки: _____

Контрольні питання.

1. Роль вуглеводів у тваринному організмі.
2. Які вуглеводи наявні в кормах?
3. Охарактеризуйте травлення вуглеводів у моногастричних тварин.
4. Які особливості травлення вуглеводів у жуйних тварин?
5. Яка концентрація глюкози в крові сільськогосподарських тварин?
6. Які гормони регулюють рівень глюкози в крові сільськогосподарських тварин?
7. Поняття гіперглікемія, гіпоглікемія, глюкозурія.
8. Назвіть коферменти до складу яких входять вуглеводи?
9. Суть анаеробних біохімічних реакцій, що зумовлюють перетворення глюкози до молочної кислоти.
10. Подібність і відмінність між гліколізом і спиртовим бродінням.
11. За рахунок яких реакцій в організмі утворюються пентозофосфати?
12. Які компоненти піруватдегідрогеназного комплексу?
13. За рахунок яких реакцій відбувається повне окиснення ацетил-КоА?
14. Яка різниця між субстратним і окисним фосфорилуванням?
15. Скільки молекул АТФ утворюється при окисненні однієї молекули глюкози?
16. В чому суть біологічного окиснення?
17. Як відбувається біосинтез глікогену?
18. За рахунок яких реакцій синтезується глюкоза з неуглеводів?
19. Які клінічні ознаки при захворюванні тварин цукровим діабетом?
20. Які захворювання виникають при порушенні обміну вуглеводів?

Дата: "_____" _____ 20__ р.

ТЕМА 9. ОБМІН ЛІПІДІВ.

Пояснення до завдання.

Ліпіди відіграють важливу роль в процесах життєдіяльності організму. Вони є одним із основних компонентів біологічних мембран, впливають на їх проникність, беруть участь в передачі нервового імпульсу, забезпеченні міжклітинних контактів. Ліпіди в організмі створюють енергетичний резерв, відіграють захисну і терморегулюючу функцію. Вони є розчинниками вітамінів А, Д, Е, К, в зв'язку з чим забезпечення організму цими вітамінами залежить від поступлення жирів з кормом. Проміжними продуктами окиснення жирів (жирних кислот) є кетонові тіла: ацетон, ацетоацетатна і β -оксибутиратна кислоти. Збільшена кількість кетонових тіл в крові (кетонемія) і посилене виділення їх з сечею (кетонурія) спостерігаються при деяких захворюваннях (цукровому діабеті у людини, кетонемії худоби). Дослідження метаболітів і жирового обміну в організмі свідчать про стан обміну ліпідів.

В біохімічних дослідженнях обміну ліпідів широко використовують визначення загальних ліпідів, фосфору фосфоліпідів, рівня кетонових тіл, а також активність ліпази. Метод визначення загальних ліпідів ґрунтується на встановленні кількості титрованого розчину калію дихромату, який використовується на окиснення певної кількості екстракту жиру. Кількість фосфору фосфоліпідів визначають в екстракті ліпідів після їх мінералізації. Принцип методу визначення кетонових тіл ґрунтується на відгонці їх з безбілкового фільтрату крові в апараті Кьельдаля з наступним встановленням концентрації йодометричним методом. Активність ліпази встановлюють по розкладі трибутирину, що приводить до збільшення поверхневого натягу розчину. Зміну поверхневого натягу визначають сталагмометричним методом.

В процесі виконання лабораторної роботи студенти проводять екстракцію ліпідів, одержують безбілковий фільтрат тканин, проводять мінералізацію ліпідів, визначають хімічні параметри жирів, концентрації загального жиру, фосфору фосфоліпідів, кетонових тіл і активність ліпази.

Порядок виконання дослідів.

А) Визначення хімічних параметрів жирів.

Властивості жирів визначаються якісним складом жирних кислот, їх кількісним співвідношенням, процентним вмістом

вільних жирних кислот. Для характеристики властивостей жиру служать константи, або жирові числа – кислотне число, йодне число, естерне число, число омилення.

1. Визначення кислотного числа жиру.

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

Хід роботи: Наважку жиру (олії) 0,5 г в конічній колбі 50-100 мл розчиняють 10 мл спирт-етеру (1:1), добре перемішують для максимального розчинення вільних жирних кислот. Додають 1-2 краплі фенолфталеїну і титрують з бюретки 0,1 Н спиртовим розчином КОН до блідо-рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 0,5-1 хв.

Кислотне число вираховують за формулою:



V – кількість мл 0,1 Н розчину КОН, що витрачено на титрування проби;

T – титр 0,1 Н розчину КОН (1 мл 0,1 Н розчину КОН відповідає 5,6 мг КОН);

a – маса жиру в г.

Результати та висновки: _____

2. Визначення числа омилення.

Число омилення – це кількість КОН в міліграмах, яка необхідна для нейтралізації як вільних, так і зв'язаних (в формі гліцеринів) жирних кислот, що містяться в 1 г жиру.

Хід роботи: В одну 50 мл колбу вносять 0,5 г жиру, а в другу 0,5 мл води. В обидві колби додають по 15 мл 0,5 Н спиртового розчину КОН. Колби закривають зворотними холодильниками і кип'ятять в водяній ванні 30-40 хв при періодичному струшуванні. Необхідно слідкувати, щоб рідина в колбі повільно кипіла і верхня частина холодильника не нагрівалась. По закінченні омилення в кожену колбу додають 15-20 мл води, 3-4 краплі фенолфталеїну і титрують 0,5 Н розчином НСІ до зникнення рожевого забарвлення (визначають кількість не зв'язаного луку). Число омилення вираховують за формулою:

$$C = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 28}{a}, \text{ де}$$

V₁ – об'єм (в мл) 0,5 Н НСІ, витраченого на титрування контрольної проби (води);

V_2 – об'єм (в мл) 0,5 Н, НСІ витраченого на титрування дослідної проби (жиру);

28 – 1 мл 0,5 Н розчину КОН відповідає 28 мг КОН;

a – маса жиру в г.

Результати та висновки: _____

3. Визначення йодного числа.

Йодним числом називають кількість грамів йоду, яка може прореагувати з 100 г жиру. Йодне число є одним з важливих хімічних показників для олій (жирів). Воно дозволяє судити про ступінь ненасиченості олій (жирів), про схильність їх до прогіркання.

Механізм реакції взаємодії ненасичених жирних кислот з йодом полягає у приєднанні молекули I_2 за місцем розриву подвійних зв'язків.

Хід роботи: В 250 мл колбі з пришліфованим скляним корком зважують 0,5-1 г олії. Розчиняють олію в 25 мл спирту. Якщо вона погано розчиняється, її нагрівають на водяній ванні. У контрольну пробу замість олії відміряють таку ж саму кількість води і теж додають 25 мл спирту. Після цього в дослідну і контрольну пробу додають 12,5 мл 0,2 Н спиртового розчину йоду, змішують, додають по 100 мл дистильованої води, добре перемішують і закривають корком. Через 5 хв. вмістиме колб відтитровують 0,1 Н розчином тіосульфату до появи слабо-жовтого забарвлення, додають 1 мл розчину крохмалю і дотитровують до зникнення синього забарвлення.

Різниця між кількістю 0,1 Н розчину тіосульфату, витраченого на титрування дослідної і контрольної проб є показником кількості йоду, що зв'язалась олією.

Йодне число (в г) вираховують за формулою:

$$C = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0,0127}{a}, \text{ де}$$

V_1 – кількість в мл 0,1 Н розчину тіосульфату, витраченого на титрування контрольної проби;

V_2 – кількість в мл 0,1 Н розчину тіосульфату, витраченого на титрування дослідної проби;

0,0127 – титр тіосульфату за йодом;

a – наважка олії.

Результати та висновки: _____

4. Визначення естерного числа.

Естерним числом називають кількість мг КОН, яка потрібна для нейтралізації жирних кислот, що утворюються при омиленні 1 г жиру. Це число визначають за різницею між числом омилення жиру і його кислотним числом.

Результати та висновки: _____

Б) Дослідження обміну ліпідів.

1. Визначення загального жиру.

Хід роботи: *Екстракція ліпідів.* У 50 мл пробірку з міткою на 10 мл відміряють 9 мл спирт-етеру і 1 мл оксалатної крові. Збовтують і нагрівають на водяній ванні (70°C) до кипіння. Охолоджують і доводять об'єм у пробірці спирт-етером до 10 мл. Фільтрують і одержаний фільтрат використовують для визначення загального жиру і фосфору фосфоліпідів.

У 50 мл пробірку відміряють 1 мл спирт-етерного екстракту (що відповідає 0,1 мл крові) і 1 мл 1% NaOH. Пробірку витримують у водяній киплячій ванні до повного випаровування рідини. Після цього у пробірку відміряють 4 мл 0,1 н $K_2Cr_2O_7$ і 5 мл концентрованої H_2SO_4 , переносять її у сушильну шафу на 1 годину з температурою 105°C. Після цього вміст пробірки виливають в 100 мл склянку, ополіскують пробірку кілька разів водою і доводять об'єм у склянці до 70-80 мл. До склянки додають 0,5 г KI, кілька крапель 1% розчину крохмалю і титрують 0,1 Н $Na_2S_2O_3$ до зникнення синього забарвлення. Визначають концентрацію загального жиру за формулою:

$$C = \frac{A - B}{2,45 \times 1000} = \text{мг\%}, \text{ де}$$

C – концентрація жиру;

A – кількість мл 0,1 Н $K_2Cr_2O_7$ (0,4 мл);

B – кількість мл 0,1 Н $Na_2S_2O_3$, витраченого на титрування;

2,45 – коефіцієнт.

Результати та висновки: _____

2. Визначення фосфору фосфоліпідів.

Хід роботи: У колбу Кейдаля для спалювання вносять 5 мл спирт-етерного фільтрату крові (що відповідає 0,5 мл крові), 2 мл 2 Н Н₂SO₄ і 5 крапель концентрованої НNO₃. Спалюють до повного просвітлення розчину. Додають 5 мл гарячої води, збовтують і 2,5 мл цієї рідини переносять у градуйовану пробірку. Додають 1 краплю 0,1% спиртового розчину фенолфталеїну і краплями 2 н NaOH до появи рожевого забарвлення. До пробірки відміряють 1,25 мл амонію молібдату, 1 мл 0,5% розчину аскорбінової кислоти і доводять водою до 6 мл. Одночасно готують стандартну пробу. До пробірки відміряють 2 мл стандартного розчину фосфору (1 мл вміщає 0,01 мг фосфору) 1,25 мл амонію молібдату, 1 мл 0,5% розчину аскорбінової кислоти і води до 6 мл. Обидві пробірки витримують у водяній ванні 7 хв при 38°C. Охолоджують і визначають екстинкції фотоелектроколориметром при λ=670 нм (червоний світлофільтр). Визначають концентрацію фосфору

$$C = \frac{E_1 \cdot a}{E_2} \cdot 4 \cdot 100 = \text{мг\%, де}$$

фосфоліпідів за формулою:

C – концентрація фосфору фосфоліпідів;

E₁ – екстинкція робочої проби;

E₂ – екстинкція стандартної проби;

a – кількість мг Р у стандарті (0,02).

Результати та висновки: _____

3. Виявлення ферменту ліпази в крові.

Хід роботи: У дві 50 мл пробірки наливають по 20 мл насиченого розчину трибутирину. До однієї з них додають 1 мл води, а до другої – 1 мл оксалатної крові і збовтують. Обидві пробірки переносять у водяну ванну з температурою 38°C на 30 хв. Після інкубації пробірки охолоджують. За допомогою сталагмометра або піпетки Мора ведуть підрахунок крапель в об'ємі 5 мл вмісту обох пробірок. В пробірці, де додано кров, із 5 мл суміші утворюється значно менше крапель, ніж в пробірці з водою. Це вказує, що під впливом ліпази крові пройшов розклад трибутирину і внаслідок цього збільшився поверхневий натяг рідини.

Результати та висновки: _____

4. Визначення концентрації кетонових тіл.

Осадження білків крові. До хімічної склянки (100 мл) вносять 6 мл дистильованої води, 4 мл оксалатної крові і змішують, і після гемолізу еритроцитів додають 10 мл 10% трихлорацетатної кислоти. Через 5-10 хв фільтрують. Одержаний фільтрат використовують для аналізу.

Перегонка кетонових тіл. Проводять в апараті Кейдаля. У склянку-приймач наливають 4 мл 0,01 Н розчину J_2 і 5 мл 10% розчину NaOH. Склянку-приймач під'єднують до трубки холодильника апарату Кейдаля. В перегінну колбу апарату наливають 10 мл трихлорацетатного фільтрату, що відповідає 2 мл крові і 5 мл 10% розчину H_2SO_4 . Апарат герметизують і проводять перегонку протягом 15-20 хв. При цьому відганяється ацетон і ацетоацетатна кислота, яка в кислому середовищі декарбоксилюється до ацетону.

Після закінчення перегонки до склянки-приймача додають 5 мл 10% розчину H_2SO_4 , 4-5 крапель 1% розчину крохмалю і титрують 0,01 Н $Na_2S_2O_3$ до зникнення синього забарвлення. Дані титрування використовують для визначення концентрації суми ацетону і ацетоацетатної кислоти за формулою:

$$C = (A - B) \cdot 0,1024 \cdot 50 \text{ (мг\%)}, \text{ де}$$

- C – сумарна концентрація ацетону і ацетоацетатної кислоти в мг%;
- A – кількість мл 0,01 Н розчину J_2 взятих до приймача;
- B – кількість мл 0,01 Н $Na_2S_2O_3$, затрачених на титрування;
- 0,1024 – коефіцієнт (1 мл 0,01 Н J_2 відповідає 0,1024 мг ацетону).

Після відгонки і визначення ацетону і ацетоацетатної кислоти проводять перегонку β -оксимасляної кислоти.

До трубки холодильника апарату під'єднують нову склянку-приймач з 4 мл 0,01 Н розчину J_2 і 5 мл 10% розчину NaOH.

До перегінної колби апарату наливають 5 мл хромової суміші і переганяють протягом 15-20 хв. До склянки-приймача наливають 5 мл 10% розчину H_2SO_4 , 4-5 крапель 1% розчину крохмалю і титрують 0,01 Н розчином $Na_2S_2O_3$ до зникнення синього забарвлення. Дані титрування використовують для визначення концентрації β -оксимасляної кислоти за формулою:

$$C = (A - B) \cdot 0,25 \cdot 50 \text{ (мг\%)}, \text{ де}$$

- C – концентрація β -оксимасляної кислоти в мг%;
- A – кількість мл 0,01 Н розчину J_2 взятих до приймача;
- B – кількість мл 0,01 Н $Na_2S_2O_3$, затрачених на

титрування;
0,25 – коефіцієнт (1 мл 0,01 Н I_2 відповідає 0,25 мг β -оксимасляної кислоти).

Результати та висновки: _____

Контрольні питання.

1. Напишіть формули насичених і ненасичених жирних кислот.
2. Напишіть формули моно-, ди- і триацилгліцеролів.
3. Напишіть формули лецитину, холестеролу, серинфосфатиду, коламінфосфатиду.
4. Біологічна роль ліпідів.
5. Будова і функції жовчних кислот. Напишіть формули жовчних кислот: холанової, холевої, дезоксихолевої, хенодезоксихолевої, глікохолевої і таурохолевої.
6. Як розщеплюються триацилгліцероли в шлунково-кишковому тракті?
7. Як розщеплюються фосфоліпіди в шлунково-кишковому тракті?
8. Як розщеплюються холестериди в шлунково-кишковому тракті?
9. Всмоктування ліпідів в кишківнику.
10. Ресинтез ліпідів в стінці кишківника.
11. Утворення хіломікронів і транспорт ліпідів.
12. Скільки молекул АТФ утворюється при розщепленні однієї молекули пальмітинової кислоти? Відповідь обґрунтуйте.
13. Скільки молекул АТФ утворюється при розщепленні однієї молекули гліцеролу? Відповідь обґрунтуйте.
14. Скільки молекул АТФ утворюється при розщепленні однієї молекули трипальмітину? Відповідь обґрунтуйте.
15. Особливості окиснення ненасичених жирних кислот.
16. Особливості окиснення жирних кислот з непарним числом атомів вуглецю в ланцюзі.
17. Біосинтез кетонових тіл.
18. Напишіть рівняння реакції утворення гліцерол-3-фосфату (з гліцеролу і диоксиацетонфосфату).
19. Напишіть рівняння реакції біосинтезу триацилгліцеролу.
20. Напишіть рівняння реакції біосинтезу лецитину.

Дата: "_____" "_____" 20__ р.

ТЕМА 10. ОБМІН ПРОТЕЇНІВ. Пояснення до завдання.

Білки є найбільш важливою складовою частиною клітин всіх організмів. Вони виконують різні функції, служать основним структурним матеріалом клітини, каталізують реакції тканинного обміну (ферменти), відіграють захисну роль (антитіла), разом з нуклеїновими кислотами приймають участь у передачі спадковості. При окисненні амінокислот виділяється енергія. Процес обміну білків включає такі основні ланки як перетравлювання, всмоктування і внутрішньоклітинний обмін. Кожна з них у свою чергу складається із цілого ряду біохімічних реакцій.

В процесі виконання лабораторної роботи студенти вчаться визначати концентрацію білка і залишкового азоту, виділяти і досліджувати складні білки (дезоксирибонуклеопротейн, глікопротейн), глобулінові і альбумінові фракції білка.

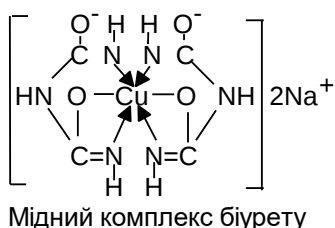
Порядок виконання дослідів.

1. Кількісне визначення концентрації білка біуретовою реакцією.

Принцип методу ґрунтується на визначенні інтенсивності забарвлення кольорових продуктів, які утворюються при взаємодії білка з біуретовим реактивом.

Суть біуретової реакції – це процес виникнення, забарвленого в оранжево-фіолетовий колір мідного комплексу, який утворюється при взаємодії пептидів і білків з купрум гідроксидом у лужному середовищі. Ця реакція не є специфічною, бо подібний комплекс утворюють не тільки пептиди і білки, а й біурет

$\text{H}_2\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{NH}_2$, який теж має зв'язок $\text{H}-\text{C}(=\text{O})-\text{N}-\text{C}(=\text{O})-\text{H}$. Саме тому реакція отримала назву біуретової. Правильно було б сказати, що реакція утворення пептидами і білками мідного комплексу – такого ж, як і з біуретом.



Хід роботи: Беруть 3 пробірки. До першої (робоча) наливають 0,1 мл сироватки крові, до другої (стандартна) – 0,1 мл стандартного розчину білка і до третьої (контроль) – 0,1 мл 0,9% розчину натрію хлориду. До всіх пробірок додають по 5 мл робочого розчину біуретового реактиву, змішують (не допускаючи утворення піни) і через 30 хв визначають оптичну густину фотоелектроколориметром при $\lambda = 540-560$ нм. Кількість білка підраховують за формулою:

$$C = \frac{E_1}{E_2} \cdot 70 (\text{г/л}), \text{ де}$$

C – концентрація білка;

E_1 – екстинкція робочої проби;

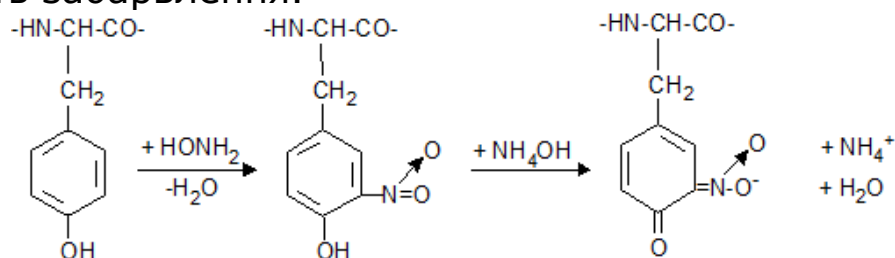
E_2 – екстинкція стандарту;

A – коефіцієнт для перерахунку в г/л (стандартний розчин містить 70 г/л білка).

Результати та висновки: _____

2. Якісна реакція на ароматичні амінокислоти у складі пептидів і білків (ксантопротеїнова).

Це реакція нітрування ароматичних амінокислот, у результаті якої утворюються нітропохідні жовтого кольору. Реакція неспецифічна, бо нітропохідні вільних ароматичних вуглеводнів теж мають забарвлення.



Хід роботи. До 1-2 мл розчину білка додають 5-6 крапель концентрованої нітратної кислоти до появи білого осаду або помутніння, нагрівають на киплячій водяній ванні. При цьому осад і розчин забарвлюються у жовтий колір, осад потім майже повністю розчиняється.

Охолоджують і перемішуючи додають краплями до кислого розчину надлишок концентрованого розчину амоніаку чи лугу до лужної реакції середовища. Вміст забарвлюється у яскраво-оранжевий колір, що обумовлено виникненням у лужному середовищі хромофорної групи.

Результати та висновки: _____

3. Визначення вуглеводного компоненту у яєчному білку реакцією із:

а) α -нафтолом і тимолом.

Деякі білки у своєму складі мають вуглеводні компоненти. Такі білки у присутності концентрованої HCl дають характерне для вуглеводів фіолетове забарвлення з α -нафтолом або червоне – з тимолом. Це забарвлення появляється в результаті взаємодії фурфуролу і оксиметилфурфуролу, які утворюються під впливом концентрованої H_2SO_4 з α -нафтолом або тимолом.

Хід роботи: У дві пробірки наливають по 2 мл розчину глюкози. У першу додають 4-6 крапель розчину нафтолу, а до другої – 4-6 крапель розчину тимолу. До обох пробірок підшаровують 1-2 мл концентрованої H_2SO_4 . На межі обох рідин спостерігають появу фіолетового і червоного забарвлення. Ці ж реакції проводять з розчином білка.

Результати та висновки: _____

б) концентрованою хлоридною кислотою.

Наявність вуглеводів, що входять до складу яєчного білка – овомукоїда виявляють, нагріваючи шматочок вареного білка з концентрованою HCl .

Хід роботи: У пробірку з шматочком вареного яєчного білка додають 3 мл концентрованої HCl та обережно нагрівають не доводячи до кипіння. Білок, а потім і рідина при обережному нагріванні набувають фіолетового забарвлення.

Результати та висновки: _____

4. Виділення дезоксирибонуклеопротейіну з селезінки тварин.

Характерною особливістю нуклеопротейінів є збільшення їх в'язкості в концентрованих розчинах натрію хлориду . При осадженні із сольових розчинів нуклеопротейіни випадають в осад у вигляді ниток. Дезоксирибонуклеопротейіни від рибонуклеопротейінів можна відрізнити кольоровою реакцією.

Так ДНК з дифеніламіном дає синє, а РНК – зелене забарвлення.

Хід роботи: У ступці розтирають 2-3 г селезінки з невеликою кількістю піску. Додають 70-80 мл 1 М розчину NaCl і добре розтирають 10-15 хв. Одержаний в'язкий розчин розливають у центрифужні пробірки, і центрифугують 10-15 хв. У склянку наливають шестикратний об'єм (по відношенню до центрифугату) води, яку підкислюють 1 Н розчином HCl, доливають центрифугат. Утворені нитки нуклеопротеїну намотують на дерев'яну паличку і невелику їх кількість переносять в іншу пробірку, в якій виконують кольорову реакцію на дезоксирибозу. Для розчинення дезоксирибонуклеопротеїну додають у пробірку 1 мл 0,4% розчину NaOH, збовтують і доливають 1 мл дифеніламінового реактиву (до повного розчинення осаду) і витримують у киплячій водяній ванні 15-20 хв. Спостерігають появу синього забарвлення.

Результати та висновки: _____

5. Визначення концентрації залишкового азоту крові методом Кейдаля.

До залишкового азоту відносять азот сечовини, амінокислот, сечової кислоти, амоніаку, нуклеотидів, індикану, креатину, креатиніну та ін. Принцип методу полягає у перетворенні азоту органічних речовин в неорганічний шляхом спалювання безбілкового фільтрату з наступною відгонкою і вловлюванням його у вигляді амоніаку 0,01 Н розчином H_2SO_4 та відтитруванням 0,01 Н розчином NaOH. Знаючи кількість мл 0,01 Н розчину H_2SO_4 яка зв'язалася з амоніаком, визначають кількість азоту досліджуваної речовини.

Хід роботи: В 50 мл колбу наливають 20 мл 20% розчину трихлорацетатної кислоти і 5 мл цитратної крові, змішують, відстоюють 5 хв і фільтрують. Фільтрат, в якому залишились небілкові азотовмісні речовини, мінералізують. Для цього 5 мл цього фільтрату (відповідає 1 мл крові) наливають в колбу для спалювання і додають 0,5 мл концентрованої H_2SO_4 та 1 мл 10% розчину CuSO_4 і 0,25 г K_2SO_4 (для підвищення температури кипіння). Спалюють у витяжній шафі до утворення безбарвного мінералізату. Після охолодження мінералізацію кількісно переносять у перегінну колбу апарату Кейдаля,

споліскуючи 2-3 рази дистильованою водою колбу в якій знаходився мінераліза́т. Додають 5 мл 30% розчину NaOH і 3-5 мл дистильованої води. Під вивідну трубку холодильника апарату Кейдаля встановлюють склянку-приймач з 10 мл 0,01 н розчину H_2SO_4 і 10 краплями індикатора метилового червоного. Кінець трубки холодильника повинен бути занурений у кислоту. Систему герметизують і ведуть перегонку протягом 10-15 хв.

Після відгонки вмістиме склянки-приймача титрують 0,01 Н розчином NaOH до появи жовтого кольору. Концентрацію залишкового азоту визначають за формулою:

$$C = (A - B) 0,14 \cdot 100 \text{ (мг\%)}, \text{ де}$$

X – кількість азоту в мг%;

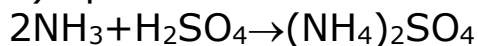
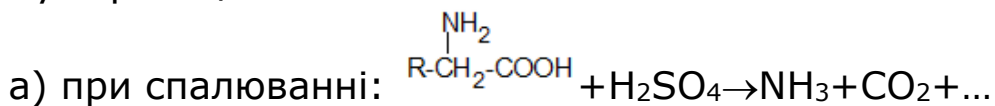
A – кількість мл 0,01 Н H_2SO_4 в склянці-приймачі;

B – кількість мл 0,01 Н NaOH затраченого на титрування;

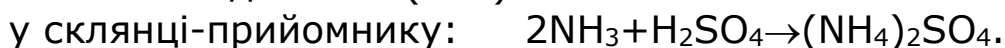
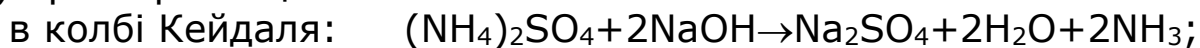
0,14 – кількість мг азоту, який відповідає 1 мл 0,01 Н H_2SO_4 ;

100 – коефіцієнт для переведення в мг%.

Суть реакцій:



б) при перегонці



Результати та висновки: _____

Контрольні питання.

1. Класифікація амінокислот за кількістю аміно- і карбоксильних груп. Які функціональні групи входять до складу амінокислот? Що таке незамінні амінокислоти? Назвіть представників.
2. Які сполуки називаються білками? Що таке пептидний зв'язок?
3. Як класифікуються білки? Як поділяються білки за біологічною цінністю?
4. Що таке баланс азоту і його різновиди? Що таке залишковий азот?
5. Назвіть протеолітичні ферменти, які розщеплюють білки?

6. В чому полягають особливості перетравлювання білків у жуйних тварин? Роль рубцевої мікрофлори в обміні небілкових азотистих речовин.
7. Які отруйні сполуки утворюються у процесі гниття білків у товстому відділі кишечника? Що таке парні сполуки?
8. Назвіть основні загальні шляхи внутрішньоклітинного перетворення амінокислот? Які є типи дезамінування амінокислот? Що таке трансамінування амінокислот?
9. Яка біологічна роль вітаміну В₆ у процесах трансамінування?
10. Яке клінічне значення визначення активності трансаміназ?
11. Назвіть три основні шляхи знешкодження амоніаку? Що таке орнітиновий цикл? Його роль у знешкодженні амоніаку в організмі?
12. Які особливості синтезу сечовини у жуйних тварин? Роль досліджень професорів Степана Гжицького та Степана Кусеня у вивченні цього процесу.
13. Яке клінічне значення має визначення концентрації сечовини у крові тварин?
14. Що таке уремія?
15. Назвіть основні групи складних білків? Що таке нуклео-, гліко-, ліпо-, хромо-, фосфопротеїни?
16. Назвіть пуринові і піримідинові основи? З яких компонентів синтезуються пуринові та піримідинові основи? Які кінцеві продукти обміну пуринових і піримідинових основ?
17. Чим відрізняється ДНК від РНК? Яка їх біологічна роль?
18. Що таке трансляція? Назвіть основні стадії синтезу білка?
19. Що таке транскрипція? Як відбувається синтез ДНК та РНК?
20. Які ви знаєте методи визначення білка?

Дата: "_____" 20__ р.

ТЕМА 11. ОБМІН НЕОРГАНІЧНИХ РЕЧОВИН.

Пояснення до завдання.

Роль солей і окремих хімічних елементів у живих організмах різноманітна. Як пластичний матеріал вони входять в склад різних частин тіла (наприклад кісток), є компонентами багатьох білків і нуклеїнових кислот, а також знаходиться у вільному стані. Вони необхідні для процесів обміну речовин, особливо як активатори і кофактори багатьох ферментів. Підтримання рН і осмотичного тиску на постійному рівні обумовлюється в значній мірі концентрацією мінеральних речовин. Одними із основних макроелементів є кальцій і фосфор. Вони містяться у кістках в основному у вигляді малорозчинних солей фосфатної кислоти. Біля 3% кальцію знаходиться в йонізованому, а решта у зв'язаному з білками стані. Значна кількість фосфору в організмі міститься у вигляді органічних сполук. Він входить до складу нуклеопротеїнів, фосфопротеїнів, фосфоліпідів, АТФ, коферментів, фосфорних естерів цукрів та ін. Регуляція обміну неорганічних речовин здійснюється нервовою системою, а також залозами внутрішньої секреції. Порушення обміну кальцію і фосфору спостерігаються при недостатці вітамінів групи Д. Вміст кальцію в сироватці крові служить об'єктивним показником стану його обміну і ступеня забезпеченості тварин. У різних видів тварин у сироватці крові міститься різна кількість кальцію і фосфору (мг%):

Таблиця № 5.

Вид тварин	Кальцій	Фосфор неорганічний
Коні	10-14	4,2-5,5
Корови	10-12,5	4,5-6,0
Свині	10-14	4,0-6,0
Вівці	10-12,5	4,5-5,0
Кролі	12	4,0-5,0
Кури	8-12	5,5-7,5

При деяких захворюваннях змінюється рівень кальцію і фосфору в сироватці крові, що має важливе допоміжне діагностичне значення.

Порядок виконання дослідів.

1. Визначення концентрації загального кальцію в сироватці крові комплексометричним методом.

В сильно лужному середовищі кальцій утворює з мурексидом комплекс світло-рожевого кольору. Цей комплекс є менш стійкий, ніж комплекс кальцію з етилендіамінтетраацетатом (ЕДТА). Тому при додаванні ЕДТА до комплексу кальцій-мурексид проходить перехід йонів кальцію до ЕДТА до тих пір, поки весь кальцій не зв'яжеться комплексоном. В момент повного руйнування комплексу кальцію з мурексидом появляється фіолетове забарвлення.

Встановлення титру ЕДТА. В склянку вносять 0,1 мл стандартного розчину Са, 9,3 мл бідистильованої води, 0,4 мл 1,8 Н розчину NaOH, 2 краплі індикатора (або на кінець шпателя індикаторної суміші). Титрують 0,005 Н ЕДТА до переходу рожевого кольору суміші у фіолетовий. Проводять 6 визначень і виводять середню величину.

$$\text{Титр ЕДТА} = \frac{1}{\text{кількість мл ЕДТА, затраченого на титрування}}$$

Хід роботи: В контрольну склянку відмірюють 0,4 мл бідистильованої води, 0,4 мл 1,8 Н NaOH і 2 краплі індикатора. Появляється фіолетове забарвлення. В дослідну пробу вносять 9 мл H₂O, 0,4 мл 1,8 Н NaOH, 0,4 мл сироватки крові і 2 краплі індикатора. Появляється рожеве забарвлення. Контроль і дослід ставлять поруч і титрують дослідну пробу до переходу рожевого забарвлення у фіолетове. (Примітка: індикатор вносять перед визначенням, через 5-6 визначень ставлять новий контроль). Розрахунок:

$$Ca = \frac{П \cdot Т \cdot 0,1 \text{ мг} \cdot 100 \text{ мл}}{0,4} \text{ мг\%}, \quad \text{або } Ca = П \cdot Т \cdot 25 \text{ (мг\%)}, \text{ де}$$

П – кількість мл ЕДТА, затраченого на титрування;

Т – титр ЕДТА;

25 – коефіцієнт.

Результати та висновки: _____

2. Визначення неорганічного фосфору в крові тварин.

Хід роботи: В пробірку наливають 5 мл 10% трихлорацетатної кислоти, 1 мл крові. Через кілька хвилин фільтрують. Для визначення готують дві проби: робочу і стандартну. В робочу пробу – відміряють 3 мл фільтрату (відповідає 0,5 мл крові), додають 1,5 мл розчину молібденовокислого амонію, 1 мл розчину аскорбінової кислоти та 0,5 мл дистильованої води. В стандартну пробу – 2 мл

стандартного розчину фосфорнокислого калію, 1,5 мл молібденовокислого амонію, 1 мл аскорбінової кислоти і 1,5 мл 10% розчину трихлорацетатної кислоти. Обидві пробірки витримують у водяній ванні 7 хв при 38°C. Після фотометрують при $\lambda = 670$ нм (червоний світлофільтр). За результатами фотометрування вираховують концентрацію фосфору:

$$P = \frac{E_1 \cdot a}{E_2} \cdot 2 \cdot 100 (\text{мг\%}), \text{ де}$$

E_1 – екстинкція робочої проби;

E_2 – екстинкція стандартної проби;

a – кількість мг фосфору в стандартній пробі (0,02).

Результати та висновки: _____

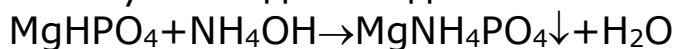
3. Якісне виявлення кальцію, магнію і фосфору в кістковій тканині.

Хід роботи: В колбу наливають 5 г кісткової тканини, 25 мл 0,5% розчину сульфатної кислоти і залишають на добу. Неорганічні речовини переходять у розчин.

а) викривання йонів кальцію: Відфільтровують 3-4 мл витяжки і додають 3-4 краплі насиченого розчину амонійоксалату. Випадає осад кальцій оксалату.



б) викривання йонів магнію: Осад кальцій оксалату, одержаний в попередньому досліді відфільтровують. До фільтрату додають 3-4 краплі концентрованого розчину амоніаку. Випадає осад магній амонійфосфат:



в) викривання фосфорної кислоти: У пробірку наливають кілька мілілітрів відфільтрованого екстракту кістки, додають 5-6 крапель молібденового реактиву, нагрівають до кипіння. Повільно утворюється жовтий кристалічний осад амоній фосфат молібдату:



Результати та висновки: _____

Контрольні питання.

- 1.Що таке мікро- та макроелементи? Яка їх роль в організмі тварин?
- 2.Як відбувається всмоктування мінеральних речовин?
- 3.Органна специфічність депонування мінеральних речовин.
- 4.Яка роль осмотичного тиску у розподілі мінеральних речовин?
- 5.Яка роль кальцію в організмі тварин?
- 6.Яка роль фосфору в організмі тварин?
- 7.Яка роль магнію в організмі тварин?
- 8.Яка роль заліза в організмі тварин?
- 9.Яка роль хлору в організмі тварин?
10. Яка роль сірки в організмі тварин?
11. Яка роль марганцю в організмі тварин?
12. Яка роль міді в організмі тварин?
13. Яка роль цинку в організмі тварин?
14. Яка роль йоду в організмі тварин?
15. Яка роль кобальту в організмі тварин?
16. Яка роль селену в організмі тварин?
17. Яка роль молібдену в організмі тварин?
18. Яка роль хрому в організмі тварин?
19. Яка роль фтору в організмі тварин?
20. У чому суть методів визначення кальцію та фосфору?

Дата: " _____ " _____ 20__ г.

ТЕМА 12. ДОСЛІДЖЕННЯ МОЛОКА.

Пояснення до завдання.

Молоко відіграє важливу роль в житті ссавців. Це складний продукт, який утворюється в результаті численних біохімічних процесів в молочній залозі.

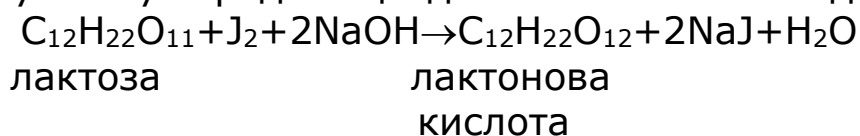
Органолептично свіже молоко – це біла непрозора рідина, солодкувата на смак, зі своєрідним запахом.

В молоці корів міститься в середньому 3,8% жиру, 3,2% білків, 4,8% вуглеводів, 0,7% мінеральних речовин і 87,5 % води.

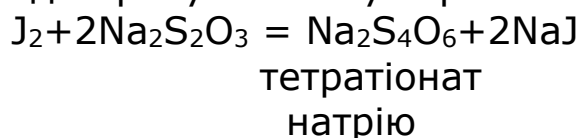
Порядок виконання дослідів.

1. Визначення кількості лактози в молоці методом йодометрії.

Принцип методу ґрунтується на тому, що альдегідна група лактози в лужному середовищі здатна окиснитися йодом:



Надлишок йоду відтитровують тіосульфатом натрію:



Хід роботи: У дві колби об'ємом 50 мл наливають по 10 мл 1% розчину купрум сульфату, 10 мл 2% розчину натрій гідроксиду і 5 мл 5% розчину натрій фториду. В першу колбу (дослідна) вливають 10 мл молока, а в другу (контроль) – 10 мл дистильованої води. Вмістиме колб перемішують і через 30 хв фільтрують. По 20 мл фільтрату переносять у колбу об'ємом 100 мл, додають 20 мл 0,1 Н розчину йоду і при безперервному перемішуванні – 10 мл 2% розчину натрію гідроксиду. Обидві колби закривають корками.

Через 20 хв доливають по 10 мл 5% розчину хлоридної кислоти, 5 крапель 5% розчину крохмалю і титрують з бюретки 0,1 Н розчином натрію тіосульфату до зникнення кольору: 1 мл 0,1 Н розчину натрію тіосульфату відповідає 18,01 мг лактози. Розрахунок:

$$X = \frac{(A - B) \cdot K \cdot 18.01 \cdot 50 \cdot 100}{20 \cdot 5} \text{ (мг\%)}, \text{ де}$$

X – кількість лактози в 100 мл молока, мг%;

А – об'єм розчину натрію тіосульфату (мл), який витрачений на титрування контрольної проби;

В – об'єм розчину натрію тіосульфату (мл), який витрачений на титрування дослідної проби;

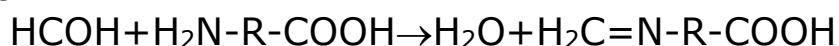
К – коефіцієнт поправки на титр 0,1 Н розчину.

В середньому в цільному молоці корів міститься 4,8% лактози.

Результати та висновки: _____

2. Визначення концентрації білків в молоці методом формольного титрування.

Суть методу полягає в реакції формальдегіду з аміногрупою білка, яка володіє основними властивостями, внаслідок чого виділяються карбоксильні групи і кислотність білка підвищується:



формальдегід білок метиленова похідна білка

Хід роботи: В колбу (100 мл) наливають 10 мл молока, 5 крапель 1% розчину фенолфталеїну і титрують 0,1 Н розчином NaOH до блідо-рожевого забарвлення. Результати записують. В цю ж колбу додають 2 мл формаліну (заздалегідь нейтралізованого за фенолфталеїном). Рожеве забарвлення зникає. Далі титрують повторно до блідо-рожевого забарвлення. Кількість мілілітрів 0,1 Н розчину лугу, затраченого на повторне титрування, перемножують на коефіцієнт 1,94 і отримують вміст білка в процентах. Коефіцієнт 1,94 встановлено на великій кількості зразків молока з визначення білка іншими методами.

Результати та висновки: _____

3. Визначення казеїну і альбуміну в молоці.

Суть методу: казеїн-кальцій-фосфатний комплекс молока руйнується ацетатною кислотою. Вивільнений казеїн випадає у вигляді пластівців, а альбуміни розчинні в ацетатній кислоті. Однак вони легко осаджуються нагріванням (кип'ятіння).

Хід роботи: В пробірку наливають 5 мл молока, нагрівають до 40-50°C і додають декілька крапель 10% розчину ацетатної кислоти. Перемішують до припинення випадання пластівців казеїну, фільтрують і одержаний фільтрат нагрівають до

кипіння. В рідині появляються дрібні пластівці – випадає в осад молочний альбумін.

Результати та висновки: _____

4. Виявлення активності дегідрогенази в молоці за Шардінгером.

Свіже молоко має невелику кількість дегідрогеназ. Зате мікроорганізми містять високоактивні оксидоредуктази. Розмноження мікроорганізмів у молоці веде до швидкого зростання концентрації дегідрогеназ, що появляється у метиленовій сині у безбарвній лейкосполуці. За часом відновлення метиленової сині судять про бактеріальну забрудненість молока,

Хід роботи: У хімічно чисту пробірку відмірюють 1 мл метиленової сині і 20 мл молока попередньо нагрітого до 20°C. Закрите корком вмістиме швидко перемішують і відзначають час початку досліду. Пробірку переносять у водяну ванну з температурою 37-40°C, або в термостат. Дослідні проби слід оберігати від світла. За забарвленням молока спостерігають 20хв, 2 год, 5,5 год. Закінченням досліду слід вважати момент, коли молоко у середній частині пробірки стає білим. Наявність забарвленого кільцеподібного шару у верхній частині пробірки, або чи забарвлення невеликої частини знизу пробірки не враховують.

Свіже доброякісне молоко знебарвлюється через 5,5 год і більше, що свідчить про низьку забрудненість мікроорганізмами, отже і низьку активність дегідрогеназ. Зменшення часу відновлення метиленової сині і знебарвлення молока свідчить про збільшення кількості мікроорганізмів у молоці (дегідрогеназ). На цьому ґрунтується редуктазна проба, за якою встановлюють якість молока і приблизну кількість бактерій в 1 мл молока.

Результати та висновки: _____

5. Ферментативний гідроліз жиру молока.

Молочний жир емульгований і легко гідролізується ліпазою на гліцерол і жирні кислоти. Як препарат ліпази використовують суху підшлункову залозу.

Хід роботи: У колбочку відміряють 15 мл молока, і 10 крапель фенолфталеїну. Обережно перемішують і додають краплями 10% розчин NaOH до слабо-рожевого забарвлення. Для визначення активності ліпази використовують нейтралізоване молоко.

У три колби наливають по 5 мл молока. До двох додають по 100 мг сухої підшлункової залози. В одну із цих двох колб та в колбу без залози доливають по 1 мл жовчі, а в другу колбу (з залозою) – 1 мл води. Старанно перемішують, залишають при кімнатній температурі, фіксують час, вважаючи його початком інкубації. Через 15 хв титрують 0,1 Н розчином NaOH до блідо-рожевого забарвлення. Повторюють титрування через 30, 45 і 60 хв від початку інкубації і фіксують об'єм лугу, затраченого на титрування через вказані проміжки часу. На основі одержаних цифрових даних будують графік залежності ферментативної активності ліпази. Порівнюють залежність дії ліпази від умов досліду: при наявності ліпази, без ліпази, при наявності ліпази і жовчі, яка є активатором ліпази.

Результати та висновки: _____

6. Визначення кислотності молока.

Тестом оцінки свіжості молока є титрована кислотність. Свіже молоко зв'язує невелику кількість лугу. При зберіганні у молоці відбувається молочнокисле бродіння і нагромаджується молочна кислота.

Кислотність молока виражають в градусах Тернера. 1 градус Тернера – це така кількість мілілітрів 0,1 Н розчину лугу, яка витрачається на нейтралізацію 100 мл досліджуваного молока. Свіже молоко в середньому має кислотність 16-18° Тернера, тобто під час титрування з фенолфталеїном дає слабо-кислу реакцію (рН 6,45-6,65). Молоко, яке зберігалось деякий час має кислотність 20-22° Тернера.

У молоці окремих корів інколи спостерігається досить висока кислотність (22-27° Тернера). Це залежить в основному від складу корму. Молоко не містить вільних кислот, кисла реакція його зумовлена наявністю казеїну, гідрофосфатів, цитратів, деякої кількості карбон (IV) оксиду.

Хід роботи: У колбу наливають 10 мл досліджуваного молока, доливають 20 мл дистильованої води та 3 краплі 1% розчину фенолфталеїну. Все старанно перемішують. На білому

фоні титрують з бюретки 0,1 Н розчином натрій гідроксиду до рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 7 хв.

Кількість мл лугу, використаного для нейтралізації 10 мл молока, помножена на 10, виражає кислотність у градусах Тернера.

Результати та висновки: _____

Контрольні питання.

1. Які механізми регуляції лактації?
2. Які складові молока?
3. Що таке молозиво?
4. Яка концентрація білку в молоці корів?
5. Де синтезуються білки молока?
6. Які білки виділяються з молоком?
7. Що таке казеїни?
8. Що таке β -лактоглобулін?
9. Що таке α -лактоальбулін?
10. Який вуглевод виділяється з молоком?
11. З яких моноцукоридів складається лактоза?
12. Який механізм синтезу лактози?
13. Який вміст жиру в молоці корів?
14. Які основні жирні кислоти входять до складу триацилгліцеролів молока?
15. Що є попередником синтезу вищих жирних кислот, які входять до складу триацилгліцеролів молока?
16. Які вітаміни містяться у молоці?
17. Які неорганічні речовини містяться у молоці?
18. В яких одиницях вимірюється кислотність молока?
19. Яке значення кислотності свіжого молока корів?
20. Від чого залежить кислотність молока?

Дата: "_____" 20__ р.

ТЕМА 13. ДОСЛІДЖЕННЯ СЕЧІ. Пояснення до завдання.

Сеча – це водний розчин кінцевих продуктів обміну речовин, які виділяються з організму. Дослідження сечі має важливе значення при постановці діагнозу хвороби, по ньому можна судити про перебіг захворювання та ефективність лікування. Порушення обміну речовин в організмі при патології та при неправильній годівлі приводить до змін кількості сечі і її складу, до появи, в деяких випадках, патологічних речовин, які в нормальній сечі знаходяться в мінімальній кількості і звичайними методами досліджень не визначаються. Кількість сечі у домашніх тварин коливається в широких межах, що залежить від фізіологічного стану, годівлі, зовнішньої температури, вологості та ін.

Таблиця № 6.

Виділення сечі у домашніх тварин (літрів на добу)

Коні	3-11	Свині	2-6
Корови	6-23	Кролі	0,04-0,1
Вівці	0,5-2,0	Собаки	0,2-0,5
Верблюди	8-15	Коти	0,1-0,2

Порядок виконання дослідів.

1. Визначення реакції сечі.

Хід роботи: На індикаторний папірець піпеткою наносять 1-2 краплі досліджуваної сечі. Порівнюють забарвлення папірця із забарвленням кольорової шкали і встановлюють рН сечі.

Результати та висновки: _____

2. Виявлення нормальних складників сечі:

а) Хлоридів: В пробірку відміряють 5 мл сечі, підкислюють нітратною кислотою, додають 4-5 крапель розчину аргентум нітрату. При наявності хлоридів випадає білий осад аргентум хлориду.

Результати та висновки: _____

б) Сульфатів: В пробірку відміряють 5 мл сечі, підкислюють хлоридною кислотою, додають 1 мл розчину барію хлориду. При наявності сульфатів випадає білий осад барію сульфату. Результати та висновки: _____

в) Фосфатів: В пробірку наливають 5 мл сечі, 0,5 мл розчину амонію молібдату, 1 мл концентрованої нітратної кислоти і підігрівують. При наявності фосфатів утворюється жовте забарвлення, або випадає жовтий осад. Результати та висновки: _____

г) Сечовини: В пробірці готують суміш із 3 мл натрію гідроксиду і 2 мл бромної води. До суміші доливають 2 мл досліджуваної сечі і перемішують. Спостерігається виділення дрібненьких бульбашок газу – молекулярного нітрогену, що вказує на присутність сечовини. Результати та висновки: _____

д) Креатиніну: В пробірку наливають 5 мл сечі і 3 мл насиченого водного розчину пікринової кислоти. При незначному підігріванні появляється оранжево-червоне забарвлення, що вказує на присутність креатиніну. Результати та висновки: _____

3. Визначення складових частин сечі у хворих тварин.

а) Викривання білка в сечі пробою на кип'ятіння. До пробірки відміряють 5 мл сечі, підкислюють 10% розчином ацетатної кислоти. Суміш підігрівають до кипіння. При наявності білка випадає осад у вигляді каламуті або пластівців.

б) Викривання білка в сечі пробою з концентрованою нітратною кислотою. В пробірку наливають 5 мл сечі і підшаровують піпеткою 1-2 мл нітратної концентрованої кислоти. При наявності білка на границі стику сечі і нітратної кислоти випадає осад у вигляді білого кільця.

в) Кількісне визначення білка за методом Стольникова. Випадання осаду білка з нітратною кислотою в досліджуваній сечі спостерігається між 2-3 хв в тому випадку, коли кількість білка не менше 0,0033%. Якщо кільце проявляється скоріше, то для визначення концентрації білка досліджувану сечу розводять в 2, 4, 8, 16 і 32 разів. У всіх розведеннях проводять підшаровування нітратною кислотою. В тій пробірці де осад у вигляді кільця проявляється між 2-3 хв після підшаровування, концентрація білка становить 0,0033%. Помноживши цифру 0,0033 на величину розведення, одержують фактично процентну концентрацію білка в досліджуваній сечі.

Результати та висновки: _____

г) Викривання цукру в сечі. Якщо у досліджуваній сечі є білок, то його осаджують кип'ятінням з ацетатною кислотою і фільтрують. З фільтратом виконують пробу на цукор: додають 5-6 крапель 5% розчину купрум сульфату і 1 мл 10% розчину натрій гідроксиду. Верхню частину рідини в пробірці нагрівають до кипіння. Поява червоного осаду не пізніше ніж через 1 хв після нагрівання свідчить про наявність глюкози.

Результати та висновки: _____

д) Викривання кетонових тіл в сечі.

1. Пробою на утворення йодоформу. В пробірку відміряють 5 мл сечі, 1 мл 10% розчину натрій гідроксиду і 2-3 мл 1%

розчину йоду. При наявності ацетону відчувається запах йодоформу або він випадає у вигляді жовтуватого осаду.

2. *Пробою з нітропрусидом натрію.* В пробірку наливають 5 мл сечі, 0,5 мл 1% розчину натрій нітропрусиду і декілька крапель 10% розчину натрій гідрооксиду. При наявності ацетону утворюється червоне забарвлення. Якщо до пробірки додати 5-6 крапель 10% розчину ацетатної кислоти, то забарвлення переходить у вишнево-фіолетове, що підтверджує наявність ацетону.

Результати та висновки: _____

е) Викривання індикану в сечі пробою на утворення синього індиго. В пробірку відміряють 5 мл сечі, додають 1 мл концентрованої хлоридної кислоти, підігрівають до кипіння і охолоджують. Додають 0,5 мл 1% розчину ферум хлориду (III) і 3-4 мл хлороформу. Пробірку закривають поліетиленовим корком і збовтують 1-2 хв. Індіготин, який утворюється з синього індиго, екстрагується хлороформом. Після відстоювання хлороформу він набуває синього забарвлення, по якому судять про вміст індикану.

Результати та висновки: _____

є) Викривання крові в сечі гваяковою пробою. В пробірку відміряють 5 мл сечі, підкислюють 10% розчином ацетатної кислоти і кип'ятять. Після охолодження до кімнатної температури, додають 1 мл спиртового розчину гваякової смоли і 0,5 мл 3% розчину пероксид-гідрогену. Синє забарвлення вказує на присутність крові у досліджуваній сечі.

Результати та висновки: _____

Контрольні питання.

1. Які фізичні та хімічні властивості сечі? Які основні речовини входять до складу сечі? Яка реакція сечі у тварин?

2. Від яких факторів залежить добова кількість сечі у тварин?
 3. Чим регулюється процес сечоутворення? Видові відмінності сечі.
 4. Які похідні пуринових та піримідинових основ виділяються з сечею?
 5. Які азотисті речовини виділяються з сечею?
 6. Що таке гіпурова кислота?
 7. Які пігменти виділяються із сечею?
 8. Які мінеральні речовини виділяються із сечею?
 9. Які речовини вважаються патологічними складниками сечі?
 10. Що таке альбумінурія?
 11. Що таке гематурія?
 12. Що таке гемоглобінурія?
 13. Що таке міоглобінурія?
 14. Що таке глюкозурія?
 15. Що таке кетонурія?
 16. Як провести кількісне визначення білка у сечі?
 17. Як провести викриття у сечі цукру?
 18. Як провести викриття у сечі кетонових тіл?
 19. Як провести викриття у сечі крові?
 20. Як провести викриття у сечі індикану?
-

СИСТЕМА ОЦІНЮВАННЯ ЗНАНЬ

На екзамен виносяться такі основні типи питань:
теоретичні – спрямовані на виявлення теоретичних знань студентів;
практичні – спрямовані на виявлення знань студентів в практичних ситуаціях;
тестові – орієнтовані на виявлення основних понять.

До написання екзаменаційної роботи не допускаються студенти, які не виконали в повному обсязі запланований об'єм навчальних робіт, мають невідпрацьовані пропущенні заняття та САЗ менше 2,5.

В кінці семестру за результатами ПК (максимально 50 балів) та екзаменаційного контролю (максимально 50 балів) виставляються оцінка за екзамен (максимально 100 балів). САЗ – середнє арифметичне значення оцінок з поточного контролю, отриманих протягом семестру (Приклад: $4+3+4+5=16:4=4$).

ПК – поточний контроль $ПК = \frac{САЗ \times \max ПК}{5}$ (Приклад $ПК = \frac{4 \times 50}{5} = 40$).

Якщо вивчення дисципліни триває два семестри, то в першому розглядаються розділи «Фізична хімія», «Колоїдна хімія», «Вітаміни», «Ферменти», «Гормони», а в другому «Обмін вуглеводів», «Обмін ліпідів», «Обмін білків та нуклеїнових кислот». В кінці першого семестру за результатами ПК (максимально 50 балів) та залікової роботи, яка пишеться на останньому занятті в семестрі (максимально 50 балів) виставляється оцінка за залік (максимально 100 балів). В кінці другого семестру за результатами ПК (максимально 50 балів) та екзаменаційного контролю (максимально 50 балів) виставляється оцінка за екзамен (максимально 100 балів).

Студенти спеціальності «Водні біоресурси та аквакультура» вивчають дисципліну «Фізична і колоїдна хімія», при вивченні якої в кінці семестру виставляється оцінка за залік (максимально 100 балів) та «Біохімія гідробіонтів» (включає розділи «Вітаміни», «Ферменти», «Гормони», «Обмін вуглеводів», «Обмін ліпідів», «Обмін білків та нуклеїнових кислот») при вивченні якої в кінці семестру виставляється оцінка за екзамен (максимально 100 балів).

Екзаменаційні питання

“Основи фізичної і колоїдної хімії”

1. Дифузія та її біологічне значення.
2. Осмос та його біологічне значення.
3. Водневий показник рН.
4. Методи визначення рН.
5. При яких величинах рН реакція середовища буде кислою нейтральною і лужною?
6. Виходячи із складу які типи буферних систем розрізняють? Привести приклади.
7. Будова фосфатної буферної системи. Показати на прикладі механізм її дії.
8. Будова амонійної буферної системи. Показати на прикладі механізм її дії.
9. Будова карбонатної буферної системи. Показати на прикладі механізм її дії.
10. Будова білкової буферної системи. Показати на прикладі механізм її дії.
11. Будова гемоглобінової буферної системи. Показати на прикладі механізм її дії.
12. Як класифікуються розчини за величиною частин розчиненої речовини?
13. Гіпер-, гіпо- та ізотонічні розчини.
14. Колоїдний захист і його біологічне значення. Золоте число.
15. Що таке діаліз? Принцип роботи штучної нирки.
16. Яку дисперсну систему називають суспензією? Привести приклад.
17. Яку дисперсну систему називають емульсією? Привести приклад.
18. Яку дисперсну систему називають пастою? Привести приклад.
19. Яку дисперсну систему називають піною? Привести приклад.
20. Яку дисперсну систему називають порошком? Привести приклад.
21. Яку дисперсну систему називають аерозолем? Привести приклад.
22. Як приготувати 400 мл 5% розчину NaCl?
23. Як приготувати 350 мл 0,1 М розчину NaCl (молекулярна маса 58,5)?
24. Як приготувати 650 мл 0,3 М розчину NaCl (молекулярна маса 58,5)?
25. Вирахуйте осмотичний тиск 1% розчину NaCl (молекулярна маса 58,5) та аргументуйте доцільність введення цього розчину внутрішньовенно.
26. Вирахуйте осмотичний тиск 2% розчину NaCl (молекулярна маса 58,5) та аргументуйте доцільність введення цього розчину внутрішньовенно.
27. Вирахуйте осмотичний тиск 10% розчину CaCl_2 (молекулярна маса 111) та аргументуйте доцільність введення цього розчину внутрішньовенно.
28. Вирахуйте осмотичний тиск 20% розчину CaCl_2 (молекулярна маса 111) та аргументуйте доцільність введення цього розчину внутрішньовенно.
29. Вирахуйте осмотичний тиск 25% розчину глюкози (молекулярна маса 180) та аргументуйте доцільність введення цього розчину внутрішньовенно.
30. Вирахуйте осмотичний тиск 30% розчину глюкози (молекулярна маса 180) та аргументуйте доцільність введення цього розчину внутрішньовенно.
31. Вирахуйте осмотичний тиск 40% розчину глюкози (молекулярна маса 180) та аргументуйте доцільність введення цього розчину внутрішньовенно.
32. Вирахуйте рН фосфатного буферного розчину, який складається з 1 мл KH_2PO_4 та 9 мл K_2HPO_4 (константа дисоціації фосфатної кислоти 2×10^{-7} , $\lg 2 = 0,3$, $\lg 1 = 0$, $\lg 9 = 0,95$, $\lg 10^{-7} = -7$).
33. Вирахуйте рН фосфатного буферного розчину, який складається з 3 мл KH_2PO_4 та 7 мл K_2HPO_4 (константа дисоціації фосфатної кислоти 2×10^{-7} , $\lg 2 = 0,3$, $\lg 3 = 0,47$, $\lg 7 = 0,84$, $\lg 10^{-7} = -7$).
34. Вирахуйте рН фосфатного буферного розчину, який складається з 4 мл KH_2PO_4 та 6 мл K_2HPO_4 (константа дисоціації фосфатної кислоти 2×10^{-7} , $\lg 2 = 0,3$, $\lg 4 = 0,6$, $\lg 6 = 0,77$, $\lg 10^{-7} = -7$).

35. Вирахуйте рН фосфатного буферного розчину, який складається з 5 мл KH_2PO_4 та 5 мл K_2HPO_4 (константа дисоціації фосфатної кислоти 2×10^{-7} , $\lg 2 = 0,3$, $\lg 5 = 0,69$, $\lg 10^{-7} = -7$).
36. Вирахуйте рН фосфатного буферного розчину, який складається з 6 мл KH_2PO_4 та 4 мл K_2HPO_4 (константа дисоціації фосфатної кислоти 2×10^{-7} , $\lg 2 = 0,3$, $\lg 4 = 0,67$, $\lg 6 = 0,77$, $\lg 10^{-7} = -7$).
37. Вирахуйте рН фосфатного буферного розчину, який складається з 7 мл KH_2PO_4 та 3 мл K_2HPO_4 (константа дисоціації фосфатної кислоти 2×10^{-7} , $\lg 2 = 0,3$, $\lg 3 = 0,47$, $\lg 7 = 0,84$, $\lg 10^{-7} = -7$).
38. Вирахуйте рН фосфатного буферного розчину, який складається з 9 мл KH_2PO_4 та 1 мл K_2HPO_4 (константа дисоціації фосфатної кислоти 2×10^{-7} , $\lg 2 = 0,3$, $\lg 1 = 0$, $\lg 9 = 0,95$, $\lg 10^{-7} = -7$).
39. Вирахуйте рН ацетатного буферного розчину, який складається з 1 мл CH_3COOH та 9 мл CH_3COONa (константа дисоціації ацетатної кислоти $1,8 \times 10^{-5}$, $\lg 1,8 = 0,25$, $\lg 1 = 0$, $\lg 9 = 0,95$, $\lg 10^{-5} = -5$).
40. Вирахуйте рН ацетатного буферного розчину, який складається з 3 мл CH_3COOH та 7 мл CH_3COONa (константа дисоціації ацетатної кислоти $1,8 \times 10^{-5}$, $\lg 1,8 = 0,25$, $\lg 3 = 0,47$, $\lg 7 = 0,84$, $\lg 10^{-5} = -5$).
41. Вирахуйте рН ацетатного буферного розчину, який складається з 4 мл CH_3COOH та 6 мл CH_3COONa (константа дисоціації ацетатної кислоти $1,8 \times 10^{-5}$, $\lg 1,8 = 0,25$, $\lg 4 = 0,67$, $\lg 6 = 0,77$, $\lg 10^{-5} = -5$).
42. Вирахуйте рН ацетатного буферного розчину, який складається з 5 мл CH_3COOH та 5 мл CH_3COONa (константа дисоціації ацетатної кислоти $1,8 \times 10^{-5}$, $\lg 1,8 = 0,25$, $\lg 5 = 0,69$, $\lg 10^{-5} = -5$).
43. Вирахуйте рН ацетатного буферного розчину, який складається з 6 мл CH_3COOH та 4 мл CH_3COONa (константа дисоціації ацетатної кислоти $1,8 \times 10^{-5}$, $\lg 1,8 = 0,25$, $\lg 4 = 0,67$, $\lg 6 = 0,77$, $\lg 10^{-5} = -5$).
44. Вирахуйте рН ацетатного буферного розчину, який складається з 7 мл CH_3COOH та 3 мл CH_3COONa (константа дисоціації ацетатної кислоти $1,8 \times 10^{-5}$, $\lg 1,8 = 0,25$, $\lg 3 = 0,47$, $\lg 7 = 0,84$, $\lg 10^{-5} = -5$).
45. Вирахуйте рН ацетатного буферного розчину, який складається з 9 мл CH_3COOH та 1 мл CH_3COONa (константа дисоціації ацетатної кислоти $1,8 \times 10^{-5}$, $\lg 1,8 = 0,25$, $\lg 1 = 0$, $\lg 9 = 0,95$, $\lg 10^{-5} = -5$).
46. Вирахуйте рН 0,01 н розчину HCl .
47. Вирахуйте рН 0,001 н розчину HCl .
48. Вирахуйте рН 0,01 н розчину NaOH .
49. Вирахуйте рН 0,001 н розчину NaOH .
50. У нейтральному розчині значення $[\text{H}_3\text{O}^+]$ і рН відповідно дорівнюють:
 - а – 10^{-1} моль/л, 1;
 - б – 10^{-7} моль/л, 7;
 - в – 10^{-14} моль/л, 14.
51. У кислому розчині значення $[\text{H}_3\text{O}^+]$ і рН відповідно дорівнюють:
 - а – 10^{-1} моль/л, 1;
 - б – 10^{-7} моль/л, 7;
 - в – 10^{-14} моль/л, 14.
52. У лужному розчині значення $[\text{H}_3\text{O}^+]$ і рН дорівнюють:
 - а – 10^{-1} моль/л, 1;
 - б – 10^{-7} моль/л, 7;
 - в – 10^{-14} моль/л, 14.
53. Як впливає розведення буферного розчину на його буферну ємність:
 - а – підвищує;
 - б – не змінює;
 - в – понижує.

54. Як впливає розведення буферного розчину на його рН:
а – підвищує;
б – не змінює;
в – понижує.
55. В основі класифікації дисперсних систем за ступенем дисперсності лежить:
а – розмір частинок дисперсної фази;
б – кількість дисперсної речовини;
в – кількість дисперсної фази.
56. Що таке ізoeлектрична точка білків:
а – температура, при якій настає денатурація білків;
б – значення рН при якому заряд молекули дорівнює нулю;
в – ділянка білкової молекули.

“Вітаміни, ферменти, гормони”

1. Номенклатура і класифікація вітамінів.
2. Характеристика жиророзчинних вітамінів (А, Д, Е, К, F).
3. Характеристика водорозчинних вітамінів (В₁, В₂, В₃, В₅, В₆, В₁₂, В_с, В₁₅, С, Н, U)
4. Будова і біологічна роль вітаміну А.
5. Будова і біологічна роль вітаміну Д₃.
6. Будова і біологічна роль вітаміну Е.
7. Будова і біологічна роль вітаміну К.
8. Будова і біологічна роль вітаміну F.
9. Будова і біологічна роль вітаміну В₁.
10. Будова і біологічна роль вітаміну В₂.
11. Будова і біологічна роль вітаміну В₃.
12. Будова і біологічна роль вітаміну В₅.
13. Будова і біологічна роль вітаміну В₆.
14. Будова і біологічна роль вітаміну В_с.
15. Характеристика будови і біологічна роль вітаміну В₁₂.
16. Будова і біологічна роль вітаміну С.
17. Будова і біологічна роль вітаміну Н.
18. Класифікація і номенклатура ферментів.
19. Характеристика ферментів класу оксидоредуктаз.
20. Характеристика ферментів класу трансфераз.
21. Характеристика ферментів класу гідролаз.
22. Характеристика ферментів класу ліаз.
23. Характеристика ферментів класу ізомераз.
24. Характеристика ферментів класу лігаз.
25. Механізм дії ферментів.
26. Активний та алостеричний центри ферментів
27. Вплив температури і реакції середовища на активність ферментів.
28. Вплив концентрації ферменту і субстрату на активність ферментів.
29. Поняття про ізоферменти.
30. Будова і біологічна роль ТПФ.
31. Будова і біологічна роль ФМН.
32. Будова і біологічна роль ФАД.
33. Будова і біологічна роль КоА-SH.
34. Будова і біологічна роль НАД⁺.
35. Будова і біологічна роль НАДФ⁺.
36. Будова і біологічна роль піридоксальфосфату і піридоксамінфосфату.
37. Класифікація гормонів.
38. Механізм дії гормонів білкової та стероїдної природи.
39. Гормони гіпофізу, їх біологічна роль.
40. Біологічна роль соматотропіну (СТГ).

41. Біологічна роль тиреотропіну (ТТГ).
42. Біологічна роль адренокортикотропного гормону (АКТГ).
43. Біологічна роль лютеїнізуючого гормону (ЛГ), фолікулостимулюючого гормону (ФСГ) та пролактину.
44. Біологічна роль вазопресину.
45. Біологічна роль окситоцину.
46. Будова і біологічна роль трийодтироніну.
47. Будова і біологічна роль тетраіодтироніну.
48. Хімічна природа і біологічна роль інсуліну та глюкагону.
49. Будова і біологічна роль кортизолу та кортизону.
50. Будова і біологічна роль альдостерону.
51. Будова і біологічна роль адреналіну.
52. Будова і біологічна роль норадреналіну.
53. Будова і біологічна роль тестостерону.
54. Будова і біологічна роль естріолу, естрадіолу.
55. Будова і біологічна роль прогестерону.
56. Біологічна роль фітогормонів.
57. Що таке куряча сліпота? Які причини її виникнення?
58. Що таке ксерофтальмія, кератомалія? Які причини їх виникнення?
59. Що таке рахіт? Які причини його виникнення?
60. Що таке остеомалія? Які причини її виникнення?
61. Що таке остеопороз? Які причини його виникнення?
62. При нестачі якого вітаміну уражується статеві система?
63. При нестачі якого вітаміну виникає білом'язева хвороба?
64. При нестачі яких вітамінів виникає анемія?
65. При нестачі якого вітаміну порушуються процеси зворотного крові?
66. При нестачі яких вітамінів виникають дерматити?
67. При нестачі якого вітаміну спостерігаються явища поліневрити ("бері-бері")?
68. Що таке пелагра? Які причини її виникнення?
69. Що таке скорбут (цинга)? Які причини його виникнення?
70. Що таке себорея? Які причини її виникнення?
71. При нестачі якого вітаміну виникає виразкова хвороба?
72. Що таке карликовість (нанізм)? Які причини її виникнення?
73. Що таке гігантизм та акромегалія? Які причини їх виникнення?
74. Що таке акромегалія? Які причини її виникнення?
75. Який гормон називають антидіуретичним? Чому?
76. Який гормон посилює скорочення матки під час пологів?
77. Що таке ендемічний зоб? Які причини його виникнення?
78. Що таке мікседема? Які причини її виникнення?
79. Що таке Базедова хвороба? Які причини її виникнення?
80. При нестачі якого гормону виникає цукровий діабет?
81. Який вітамін відноситься до жиророзчинних?
 - а – В₁;
 - б – С;
 - в – Е;
 - г – В₁₂.
82. Попередниками якого вітаміну є каротини?
 - а – D₂;
 - б – В₃;
 - в – А;
 - г – К.
83. Який вітамін необхідний для здійснення фотохімічних реакцій в паличках сітківки ока?
 - а – К;

- б – Н;
в – В₃;
г – А.
84. Який вітамін утворюється в підшкірній клітковині під дією УФ-променів?
а – В₁;
б – А₂;
в – Д₃;
г – В₁₂.
85. З якого вітаміну в печінці та нирках утворюються гідроксипохідні, що володіють гормональною активністю?
а – Д;
б – В₅;
в – С;
г – F.
86. Який вітамін називають антистерильний?
а – Е;
б – Н;
в – В₆;
г – А.
87. Який вітамін називають антигеморагічний?
а – В₅;
б – С;
в – К;
г – Е.
88. Який вітамін є комплексом поліненасичених жирних кислот?
а – Е;
б – В₁₀;
в – F;
г – Н.
89. Який вітамін відноситься до водорозчинних?
а – В₁₀;
б – А;
в – К;
г – F.
90. При нестачі якого вітаміну виникають явища поліневриту?
а – В₁;
б – Е;
в – С;
г – К.
91. Який вітамін називають антипелагричним?
а – Д₃;
б – В₃;
в – В₁;
г – F.
92. Який вітамін може утворюватись в організмі тварин з триптофану?
а – С;
б – В₁₀;
в – А;
г – В₃.
93. Який вітамін називають адермін?
а – В₆;
б – В₁₂;
в – С;
г – А.

94. Який вітамін синтезують лише мікроорганізми?
а – В₂;
б – А;
в – В₁₂;
г – С.
95. Який вітамін для засвоєння організмом тварини утворює комплекс із специфічним білком слизової оболонки шлунка?
а – Д₃;
б – В₆;
в – Е;
г – В₁₂.
96. Який вітамін називають антискорбутним?
а – К;
б – С;
в – В₂;
г – Н.
97. При нестачі якого вітаміну виникає себорея?
а – В₁₂;
б – В₁;
в – К;
г – Н.
98. Які сполуки за хімічною природою є ферменти?
а – поліцукориди;
б – протеїни;
в – ліпіди;
г – нуклеїнові кислоти.
99. Чим відрізняються прості ферменти від складних?
а – прості ферменти внаслідок гідролізу розпадаються лише на амінокислоти, а складні, крім амінокислот, містять небілковий компонент;
б – прості ферменти містять простетичну групу, а складні ні;
в – прості ферменти є термостабільними, а складні — термолабільними;
г – прості ферменти містять амінокислоти і нуклеїнові кислоти, а складні — також простетичні групи.
100. Що таке кофермент?
а – білковий компонент складних ферментів;
б – небілкова частина ферменту;
в – активний центр ферменту;
г – певним чином орієнтовані активні групи ферменту.
101. Які реакції каталізують оксидоредуктази?
а – переносу угруповань, радикалів, тощо;
б – синтезу;
в – окисно-відновні;
г – ізомеризації.
102. Які реакції каталізують трансферази?
а – переносу угруповань з однієї сполуки на іншу;
б – гідролізу;
в – ізомеризації;
г – синтезу.
103. Які реакції каталізуються ізомеразами?
а – ізомеризації сполук;
б – розщеплення полімерів;
в – синтезу стереоізомерів;
г – взаємоперетворень ізомерів за участю АТФ.
104. Які реакції каталізують гідролази?

- а – гідратації субстратів;
 - б – негідролітичного розщеплення субстрату;
 - в – розпаду сполук з використанням води;
 - г – розпаду сполук за рахунок енергії АТФ.
105. Які реакції каталізують ліази?
- а – гідролітичного розщеплення з утворенням подвійних зв'язків;
 - б – ізомеризації;
 - в – окиснення;
 - г – негідролітичного розриву зв'язків С-С, С-N, N-P з утворенням подвійних зв'язків або приєднання за подвійними зв'язками.
106. Які реакції каталізують лігази (синтази)?
- а – ізомеризації;
 - б – окиснення;
 - в – синтезу з використанням енергії макроергів (АТФ, ГТФ, тощо);
 - г – гідролітичного розщеплення з утворенням подвійних зв'язків.
107. В яких реакціях бере участь ТПФ?
- а – декарбоксилювання α -кетокислот;
 - б – дезамінування амінокислот;
 - в – декарбоксилювання амінокислот;
 - г – активне перенесення аміногруп на кетокислоти.
108. Які ферменти містять нікотинамідні (НАД⁺, НАДФ⁺) коферменти?
- а – трансамінази;
 - б – ізомерази;
 - в – гідролази;
 - г – оксидоредуктази.
109. Які ферменти містять флавінові (ФМН, ФАД) коферменти?
- а – трансамінази;
 - б – ізомерази;
 - в – гідролази;
 - г – оксидоредуктази.
110. Який кофермент належить до нуклеотидного типу?
- а – піридоксальфосфат;
 - б – тіамінпірофосфат;
 - в – НАД⁺;
 - г – ліпоєва кислота.
111. В яких коферментах міститься ліпоєва кислота?
- а – у дезаміназах амінокислот;
 - б – у трансаміназах амінокислот і кетокислот;
 - в – у окисно-декарбоксилювальних ферментах;
 - г – у гідролазах пептидів.
112. Який кофермент належить до вітаміновмісних?
- а – тіамінпірофосфат;
 - б – АТФ;
 - в – АМФ;
 - г – глутатіон.
113. Який вітамін входить в склад коферментів?
- а – Д;
 - б – С;
 - в – В₂;
 - г – Е.
114. Складовою частиною якого коферменту є вітамін В₃?
- а – КоА-SH;
 - б – ФАД;
 - в – НАД;

- г – ТПФ.
115. В яких реакціях бере участь КоА-SH?
- а – в окисно-відновних;
 - б – в активації ацильних груп;
 - в – у негідролітичному розщепленні з утворенням подвійних зв'язків;
 - г – в ізомеризації речовин.
116. Складовою частиною якого коферменту є вітамін В₅?
- а – КоА;
 - б – ФАД;
 - в – НАД;
 - г – ТПФ.
117. За участю якого коферменту відбувається трансамінування амінокислот?
- а – ФАД;
 - б – КоА-SH;
 - в – піридоксальфосфату;
 - г – НАД.
118. Який рилізінг-гормон синтезується у гіпоталамусі?
- а – пролактостатин;
 - б – меланостатин;
 - в – вазопресин;
 - г – соматоліберин.
119. Який інгібуючий фактор синтезується у гіпоталамусі?
- а – соматостатин;
 - б – окситоцин;
 - в – люліберин;
 - г – лактотропін.
120. Які процеси регулюють гормони гіпоталамусу?
- а – виділення гормонів підшлункової залози;
 - б – виділення гормонів гіпофізу;
 - в – синтез естрогенів;
 - г – рівень цукру в крові.
121. Як виявляється біологічна дія окситоцину?
- а – пониженням рівня цукру в крові;
 - б – стимуляцією скорочення гладких м'язів, регуляцією лактації;
 - в – регуляцією осмотичного тиску плазми крові;
 - г – виявляє антидіуретичний ефект.
122. У чому виявляється основний біологічний ефект вазопресину?
- а – у підвищенні кров'яного тиску, в антидіуретичній дії;
 - б – у стимуляції скорочення м'язів;
 - в – у регуляції мінерального обміну;
 - г – у стимуляції розпаду глікогену.
123. Яка основна функція тиреотропіну?
- а – регулює транспорт тиреоїдних гормонів кров'ю;
 - б – контролює розвиток і функцію щитовидної залози, регулює біосинтез і секрецію гормонів;
 - в – стимулює проникнення тиреоїдних гормонів у периферичні тканини;
 - г – контролює розвиток і функцію підшлункової залози.
124. Який гормон синтезується у щитоподібній залозі?
- а – адреналін;
 - б – соматотропні;
 - в – тироксин;
 - г – інсулін.
125. На які процеси впливають тиреоїдні йодвмісні гормони?
- а – на синтез глікогену в печінці;

- б – на енергетичний обмін і генетичний апарат клітин;
 - в – на обмін білків і ліпідів;
 - г – на вуглеводний і мінеральний обмін.
126. Де синтезується інсулін?
- а – в α -клітинах острівців Лангерганса підшлункової залози;
 - б – у мозковій речовині наднирників;
 - в – у корі наднирників;
 - г – у β -клітинах острівців Лангерганса підшлункової залози.
127. Яка основна біологічна дія глюкагону?
- а – зниження концентрації цукру в крові;
 - б – підвищення рівня цукру в крові за рахунок розпаду глікогену в печінці;
 - в – стимуляція синтезу глікогену в печінці;
 - г – стимуляція синтезу глюкози з амінокислот.
128. Де синтезується адреналін?
- а – у корковому шарі наднирників;
 - б – у мозковому шарі наднирників;
 - в – у щитоподібній залозі;
 - г – в острівцях Лангерганса підшлункової залози.
129. Яка сполука є попередником стероїдних гормонів?
- а – 2-метил-1,4-нафтохінон;
 - б – β -іононова сполука;
 - в – ізоалоксазин;
 - г – циклопентанпергідрофенантрен.
130. Який гормон належить до глюкокортикоїдів?
- а – тестостерон;
 - б – кортикостерон;
 - в – інсулін;
 - г – ергостерол.
131. Яка сполука належить до мінералокортикоїдів?
- а – кортизол;
 - б – естрон;
 - в – альдостерон;
 - г – кальциферол.
132. Які процеси регулюють мінералокортикоїди?
- а – посилюють мобілізацію ліпідів із запасних відкладень;
 - б – регулюють водно-сольовий обмін;
 - в – регулюють вміст цукру в крові;
 - г – підвищують вміст глікогену в печінці.
133. Який гормон належить до чоловічих статевих?
- а – естрадіол;
 - б – кортизол;
 - в – андростерон;
 - г – прогестерон.
134. Який гормон належить до чоловічих статевих?
- а – інсулін;
 - б – тестостерон;
 - в – тироксин;
 - г – адреналін.
135. Який гормон належить до жіночих статевих?
- а – естріол;
 - б – тестостерон;
 - в – холестерол;
 - г – альдостерон.

136. Який гормон виробляється жовтим тілом?

- а – андростерон;
- б – естрадіол;
- в – прогестерон;
- г – естрон.

“Обмін вуглеводів”

1. Травлення вуглеводів у тварин:
 - Травлення вуглеводів у моногастричних тварин.
 - Особливості травлення вуглеводів у жуйних тварин.
2. Рівень цукру в крові тварин та його регуляція.
3. Гліколіз:
 - Біологічне значення гліколізу.
 - Напишіть схеми реакцій перетворення глюкози в гліколізі до утворення тріозофосфатів.
 - Напишіть схеми реакцій перетворення глюкози в гліколізі починаючи з перетворення 3-ФГА (3-фосфогліцеринового альдегіду) до молочної кислоти.
 - Напишіть схеми реакцій які є відмінними у гліколізі та глікогенолізі.
 - Назвіть незворотні реакції гліколізу.
 - Наведіть схеми реакцій гліколізу у яких використовується енергія АТФ.
 - Що таке гліколіз, глікогеноліз, глікогенез, глюконеогенез, глюконеогенез?
4. Перетворення піровиноградної кислоти:
 - Напишіть схеми реакцій перетворення піровиноградної кислоти при спиртовому бродінні.
 - Напишіть схему реакції перетворення піровиноградної кислоти у ацетил-КоА.
5. Цикл трикарбонових кислот:
 - Напишіть схеми реакцій циклу трикарбонових кислот до утворення α -кетоглутарату.
 - Напишіть схеми реакцій циклу трикарбонових кислот починаючи з перетворення α -кетоглутарату.
 - Біологічне значення циклу трикарбонових кислот.
 - Енергетика циклу трикарбонових кислот.
6. Пентозофосфатний шлях перетворення вуглеводів:
 - Напишіть схеми реакцій окиснювального етапу пентозофосфатного шляху.
 - Напишіть схеми реакцій неокиснювального етапу пентозофосфатного шляху.
 - Біологічне значення пентозофосфатного шляху.
7. Енергетика окиснення 1 молекули глюкози до CO_2 і H_2O .
8. Біологічне окиснення (тканинне дихання):
 - Дайте схему тканинного дихання. Роль нікотинамідних коферментів у дихальному ланцюзі.
 - Дайте схему тканинного дихання. Роль флавінових коферментів у дихальному ланцюзі.
 - Дайте схему тканинного дихання. Роль цитохромів у дихальному ланцюзі.
 - Утворення води.
9. Синтез глюкози.
10. Синтез глікогену.
11. Фермент гексокіназа каталізує перетворення:
 - а – крохмалю;
 - б – рибози;
 - в – глюкози;
 - г – глюкозо-6-фосфату.
12. Яка роль уридин-дифосфату в синтезі глікогену?
 - а – переносчик глікозильних груп;

- б – джерело енергії синтезу глікогену;
 - в – переносчик тріозофосфатів;
 - г – продукт розпаду глікогену.
13. Більшість стадій глюконеогенезу – це зворотні реакції:
- а – циклу трикарбонових кислот;
 - б – пентозофосфатного шляху;
 - в – гліколізу;
 - г – окисного декарбоксилювання піровиноградної кислоти.
14. Під час яких процесів окиснюється ацетил-КоА?
- а – у ЦТК до CO_2 і H_2O ;
 - б – під час β -окиснення;
 - в – у процесі спиртового бродіння;
 - г – у пентозофосфатному шляху.
15. У яких органелах відбувається ЦТК?
- а – ядрі;
 - б – мітохондріях;
 - в – рибосомах;
 - г – лізосомах.
16. Яка сполука утворюється при взаємодії ацетил-КоА і оксалоацетатної кислоти?
- а – цис-аконітова кислота;
 - б – бурштинова кислота;
 - в – яблучна кислота;
 - г – цитрил-КоА
17. Яка система ферментів каталізує окисне декарбоксилювання пірувату?
- а – піруваткарбоксилаза;
 - б – піруваткіназа;
 - в – піруватдегідрогеназа;
 - г – піруватдегідрогений комплекс.
18. Який фермент каталізує перетворення глюкозо-6-фосфату до фруктозо-6-фосфату?
- а – гексокіназа;
 - б – фосфоглюкокіназа;
 - в – гексофосфатізомераза;
 - г – піруваткіназа.
19. Який фермент каталізує утворення фумарової кислоти із бурштинової?
- а – цитратсинтаза;
 - б – малатдегідрогеназа;
 - в – ізоцитратдегідрогеназа;
 - г – сукцинатдегідрогеназа.
20. Якими реакціями починається аеробне окиснення вуглеводів?
- а – окиснення молочної кислоти;
 - б – перетворення піровиноградної кислоти;
 - в – перетворення глікогену і глюкози до піровиноградної кислоти;
 - г – окиснення етилового спирту.
21. Який фермент розщеплює лактозу?
- а – α -амілаза;
 - б – гексокіназа;
 - в – лактаза;
 - г – альдолаза.
22. В яких органелах відбувається тканинне дихання?
- а – гіалоплазмі;
 - б – лізосомах;
 - в – мітохондріях;

- г – ядрах.
23. Які речовини є кінцевими продуктами перетворення вуглеводів у процесі спиртового бродіння?
- а – CO_2 і H_2O ;
 - б – молочна кислота;
 - в – етанол;
 - г – піруват.
24. Що є коферментом сукцинатдегідрогенази?
- а – НАД;
 - б – ФМН;
 - в – ФАД;
 - г – КоА-SH.
25. З яких мономерів побудований глікоген?
- а – глюкози;
 - б – галактози;
 - в – рибози;
 - г – фруктози.
26. В якому вигляді вуглеводи всмоктуються із кишечника?
- а – полі-, ди-, і моноцукоридів;
 - б – дицукоридів;
 - в – моноцукоридів;
 - г – поліцукоридів.
27. Який фермент каталізує розщеплення фруктозо-1,6-дифосфату?
- а – фосфоглюкокіназа;
 - б – альдолаза;
 - в – гексокіназа;
 - г – тріозофосфатізомераза.
28. Що таке цитохроми?
- а – вуглеводи;
 - б – прості білки;
 - в – складні білки;
 - г – нуклеїнові кислоти.
29. Яка роль синтезу глікогену?
- а – створення запасу вуглеводів;
 - б – створення попередника гетерополіцукоридів;
 - в – створення запасу білків;
 - г – створення запасу ліпідів.
30. До яких речовин за будовою подібний глікоген?
- а – амілози;
 - б – амілопектину;
 - в – целюлози;
 - г – трегалози.
31. Що є коферментом гліцероальдегідфосфатдегідрогенази?
- а – НАД;
 - б – ФАД;
 - в – ТПФ;
 - г – КоА-SH.
32. Яка макроергічна сполука нагромаджується під час перетворення фосфоенолпірувату?
- а – АТФ;
 - б – креатинфосфат;
 - в – піровиноградна кислота;
 - г – гліцерат-2-фосфат.

33. Яка сполука утворюється при окисненні бурштинової кислоти сукцинатдегідрогеназою?
- а – фумарова кислота;
 - б – яблучна кислота;
 - в – лимонна кислота;
 - г – оксалоацетатна кислота.
34. Де в клітині відбувається гліколіз?
- а – мітохондріях;
 - б – ядрі;
 - в – ядерцях;
 - г – гіалоплазмі.
35. Скільки молекул АТФ утворюється з однієї молекули глюкози у гліколізі?
- а – одна;
 - б – чотири;
 - в – три;
 - г – дві.
36. З яких моноцукоридів побудований глікоген?
- а – фруктози;
 - б – глюкози;
 - в – рибози;
 - г – галактози.
37. Який фермент каталізує перетворення піровиноградної кислоти у молочну?
- а – піруваткіназа;
 - б – гексокіназа;
 - в – лактатдегідрогеназа;
 - г – альдолаза.
38. У яку сполуку перетворюється глікоген на першому етапі глікогенолізу?
- а – в глюкозо-6-фосфат;
 - б – в глюкозо-1-фосфат;
 - в – у вільну глюкозу;
 - г – у вільну фруктозу.
39. Що є коферментом алкогольдегідрогенази?
- а – ТПФ;
 - б – НАДН+Н⁺;
 - в – КоА-SH;
 - г – ФАД.
40. У яку сполуку перетворюється глікоген на першому етапі глікогенолізу?
- а – в глюкозо-6-фосфат;
 - б – в глюкозо-1-фосфат;
 - в – у вільну глюкозу;
 - г – у вільну фруктозу.
41. Що є коферментом алкогольдегідрогенази?
- а – ТПФ;
 - б – НАДН+Н⁺;
 - в – КоА-SH;
 - г – ФАД.
42. Який фермент каталізує перетворення 6-фосфоглюконолактону у 6-фосфоглюконову кислоту?
- а – глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа;
 - б – лактоназа;
 - в – дегідрогеназа 6-фосфоглюконової кислоти;
 - г – транскетолаза.

“Обмін ліпідів, білків та нуклеїнових кислот”

1. Травлення ліпідів у тварин:
 - Напишіть формули жовчних кислот. Їх роль у травленні ліпідів.
 - Напишіть схему розпаду триацилгліцеролу.
 - Напишіть схему розпаду фосфоліпідів.
2. Окиснення жирних кислот і гліцеролу:
 - Напишіть схеми реакцій β -окиснення жирних кислот до перенесення ацил-КоА в мітохондрії.
 - Напишіть схеми реакцій β -окиснення жирних кислот починаючи з перетворення ацил-КоА в мітохондріях.
 - Окиснення гліцеролу.
3. Біосинтез триацилгліцеролів:
 - Напишіть схеми реакцій біосинтезу жирних кислот до утворення ацетоацетил-АПБ.
 - Напишіть схеми реакцій біосинтезу жирних кислот починаючи з перетворення ацетоацетил-АПБ.
 - Напишіть схеми реакцій біосинтезу гліцеролу.
 - Напишіть схеми реакцій біосинтезу триацилгліцеролів.
4. Кетонові тіла: утворення та біологічна роль.
5. Травлення білків:
 - Травлення білків у моногастричних тварин.
 - Особливості травлення білків у жуйних тварин, перетворення небілкових азотистих речовин (сечовини).
 - Баланс Нітрогену та його різновиди.
 - Біологічна цінність білків: замінні та незамінні амінокислоти.
 - Напишіть рівняння перетворення лізину та орнітину під впливом ферментів гнильних бактерій в товстому відділі кишечника.
 - Напишіть рівняння утворення гіпурової і орнітурової кислот.
 - Напишіть рівняння утворення парних сполук з 3-фосфоаденозином-5-фосфосульфатом (ФАФС) і уридинфосфоглюкуроною кислотою (УДФ-ГК).
6. Загальні шляхи перетворення амінокислот:
 - дезамінування.
 - декарбоксилювання.
 - трансамінування (переамінування).
7. Шляхи знешкодження амоніаку в організмі:
 - утворення амонійних солей та синтезу амідів.
 - синтез сечовини (орнітиновий цикл).
 - Напишіть схему реакцій орнітинового циклу в яких використовується АТФ.
8. Травлення нуклеопротейнів і нуклеїнових кислот:
 - Напишіть структури мононуклеотидів: АМФ, ГМФ, ТМФ, УМФ, ЦМФ та назвіть їх складові.
 - Розпад пуринових нуклеотидів.
 - Розпад піримідинових нуклеотидів.
9. Біосинтез нуклеїнових кислот і білків:
 - Біосинтез пуринових нуклеотидів.
 - Біосинтез піримідинових нуклеотидів.
 - Синтез ДНК і РНК.
 - Характеристика стадій біосинтезу білка.
10. Які речовини є попередниками простагландинів?
 - а – вуглеводи;
 - б – насичені жирні кислоти;
 - в – мононенасичені жирні кислоти;
 - г – поліненасичені жирні кислоти.
11. Які функції виконують жовчні кислоти?

- а – активування ліпази;
 - б – утворення ацетил-КоА;
 - в – перенесення жирних кислот через мембрану клітин епітелію;
 - г – перетворення жирної кислоти у активну форму.
12. Яка речовина бере участь у синтезі гліцеролу?
- а – гліцераль-3-фосфат;
 - б – молочна кислота;
 - в – піровиноградна кислота;
 - г – фосфатидна кислота.
13. Які ферменти розщеплюють триацилгліцероли?
- а – ліпази;
 - б – лізофосфоліпази;
 - в – фосфоліпаза A₁, A₂, C і D;
 - г – холестеролестерази.
14. Чим емульгуються ліпіди у дванадцятипалій кишці?
- а – жовчними кислотами;
 - б – соляною кислотою;
 - в – бікарбонатами натрію;
 - г – кишковим соком.
15. Яка вихідна сполука синтезу жирних кислот?
- а – глюкоза;
 - б – амінокислоти;
 - в – молочна кислота;
 - г – ацетил-КоА.
16. Яка сполука є джерелом водню у синтезі ліпідів?
- а – НАДН Н⁺;
 - б – НАДФН Н⁺;
 - в – ФАДН₂;
 - г – КоА-SH.
17. В яких структурах клітин відбувається β-окиснення жирних кислот?
- а – у цитозолі;
 - б – у матриксі мітохондрій;
 - в – у рибосомах;
 - г – на плазматичній мембрані.
18. Під час яких процесів у організмі вищих тварин і людини утворюється ацетил-КоА?
- а – β-окиснення жирних кислот;
 - б – дезамінування амінокислот;
 - в – розпад піримідинів;
 - г – синтез глюкози.
19. Які сполуки синтезуються із холестеролу?
- а – пуринові основи;
 - б – поліцукориди;
 - в – жовчні кислоти;
 - г – білки.
20. Як починається β-окиснення?
- а – гідроксилюванням жирної кислоти в C2-положенні.
 - б – гідроксилюванням жирної кислоти в C3-положенні.
 - в – дегідруванням у положенні C18-C17.
 - г – дегідруванням у положенні C4.
21. Чим завершується β-окиснення?
- а – утворенням ацетил-КоА;
 - б – утворенням молочної кислоти;
 - в – утворенням оксипохідних карбонових кислот;

- г – утворенням пептидного зв'язку.
22. Як окиснюється гліцерол?
- а – через гліцеринову кислоту;
 - б – через гліцераль-3-фосфат;
 - в – через діоксиацетон-3-фосфат;
 - г – не окиснюється.
23. Які ферменти каталізують подовження ланцюгів жирних кислот?
- а – ферменти β-окиснення;
 - б – комплекси синтетаз жирних кислот;
 - в – фосфоліпази;
 - г – ліпази.
24. Які ферменти каталізують дегідрування ацил-КоА?
- а – дегідрогенази;
 - б – дегідратази;
 - в – В₁-вмісні карбоксилази;
 - г – В₃-вмісні ферменти.
25. З чого синтезується гліцерол?
- а – із піровиноградної кислоти;
 - б – із молочної кислоти;
 - в – із гліцеральдегід-3-фосфату;
 - г – із діоксиацетонфосфату.
26. Що утворюється під час перетравлення триацилгліцеролів?
- а – вільні жирні кислоти і гліцерол;
 - б – диацилгліцероли;
 - в – холестерол;
 - г – фосфоліпіди.
27. Які функції виконують жовчні кислоти?
- а – активування ліпази;
 - б – емульгування жиру;
 - в – перенесення жирних кислот через мембрану клітин епітелію;
 - г – перетворення жирної кислоти у активну форму.
28. Які сполуки синтезуються із холестеролу?
- а – пуринові основи;
 - б – поліцукориди;
 - в – жовчні кислоти;
 - г – білки.
29. В яких структурах клітин відбувається β-окиснення жирних кислот?
- а – у цитозолі;
 - б – у матриксі мітохондрій;
 - в – у рибосомах;
 - г – на плазматичній мембрані.
30. Що таке трансляція?
- а – синтез білків на рибосомах;
 - б – розщеплення білків до амінокислот під дією протеолітичних ферментів шлунково-кишкового тракту;
 - в – синтез РНК на матриці ДНК;
 - г – подвоєння молекули ДНК.
31. Що утворюється в процесі реплікації?
- а – ДНК;
 - б – матрична РНК;
 - в – транспортна РНК;
 - г – рибосомальна РНК.
32. Що таке матриця біосинтезу білка?
- а – комплекс і-РНК-мітохондрія;

- б – комплекс і-РНК-плазматична мембрана;
 - в – комплекс і-РНК-рибосоми;
 - г – комплекс і-РНК-ретикулум.
33. Яким чином відбувається активація амінокислот при біосинтезі білка?
- а – утворенням комплексу із т-РНК;
 - б – утворенням комплексу із р-РНК;
 - в – утворенням комплексу із м-РНК;
 - г – утворенням комплексу із ДНК.
34. Під час якого процесу утворюється і-РНК?
- а – транскрипція;
 - б – реплікація;
 - в – редуплікація;
 - г – трансляція.
35. Що таке кодон?
- а – послідовність трьох нуклеотидів на м-РНК;
 - б – послідовність трьох нуклеотидів на ДНК;
 - в – послідовність трьох нуклеотидів на т-РНК;
 - г – послідовність трьох нуклеотидів на р-РНК.
36. Яку інформацію несуть термінуючі кодони?
- а – початок синтезу білків;
 - б – кінець синтезу білків;
 - в – початок і кінець синтезу білків;
 - г – не несуть інформації синтезу білків.
37. Які функції виконують т-РНК?
- а – перенесення амінокислот на матрицю;
 - б – перенесення і-РНК на рибосоми;
 - в – передачу інформації на і-РНК;
 - г – реплікацію ДНК.
38. Де синтезуються і-РНК та р-РНК?
- а – в цитоплазмі;
 - б – на рибосомі;
 - в – в ядрі;
 - г – в мітохондріях.
39. Який перший етап біосинтезу білка?
- а – термінація;
 - б – елонгація;
 - в – транскрипція;
 - г – ініціація.
40. Який другий етап біосинтезу білка?
- а – термінація;
 - б – елонгація;
 - в – транскрипція;
 - г – ініціація.
41. Який третій етап біосинтезу білка?
- а – термінація;
 - б – елонгація;
 - в – транскрипція;
 - г – ініціація.
42. Який перший етап біосинтезу нуклеїнових кислот?
- а – термінація;
 - б – елонгація;
 - в – трансляція;
 - г – ініціація.
43. Який другий етап біосинтезу нуклеїнових кислот?

- а – термінація;
 - б – елонгація;
 - в – трансляція;
 - г – ініціація.
44. Який третій етап біосинтезу нуклеїнових кислот?
- а – термінація;
 - б – елонгація;
 - в – трансляція;
 - г – ініціація.
45. При взаємодії бензойної кислоти з гліцином утворюється парна сполука:
- а – орнітурова кислота;
 - б – уроканінова кислота;
 - в – гіпурова кислота;
 - г – глюкуронова кислота.
46. При взаємодії бензойної кислоти з орнітином утворюється парна сполука:
- а – глюкуронова кислота;
 - б – уроканінова кислота;
 - в – гіпурова кислота;
 - г – орнітурова кислота.
47. Як знешкоджується індол, фенол, крезол і скатол?
- а – шляхом окиснення в печінці до CO_2 , H_2O і NH_3 ;
 - б – шляхом окиснення в усіх тканинах;
 - в – шляхом утворення парних сполук з активними формами глюкуронової та сульфатної кислот у печінці;
 - г – шляхом утворення парних сполук в усіх тканинах.
48. При взаємодії фенолу з фосфоаденозинсульфатом утворюється парна сполука:
- а – глюкуронова кислота;
 - б – фенолсульфатна кислота;
 - в – гіпурова кислота;
 - г – орнітурова кислота.
49. Яка амінокислота дезамінується з утворенням путресцину?
- а – лізин;
 - б – аланін;
 - в – орнітин;
 - г – аргінін.
50. Яка амінокислота дезамінується з утворенням кадаверину?
- а – лізин;
 - б – аланін;
 - в – лізин;
 - г – аргінін.
51. Яка сполука утворюється у товстих кишках при гнитті?
- а – гліцерол;
 - б – кадаверин;
 - в – гістидин;
 - г – етанол.
52. Яка сполука утворюється у товстих кишках при гнитті?
- а – індол;
 - б – гліцерол;
 - в – холестерол;
 - г – етанол.
53. Яка сполука утворюється у товстих кишках при гнитті?
- а – холестерол;
 - б – гліцерол;

- в – путресцин;
 - г – етанол.
54. Яка сполука утворюється у товстих кишках при гнитті?
- а – скатол;
 - б – гліцерол;
 - в – холестерол;
 - г – етанол.
55. Як знешкоджується аміак в організмі?
- а – виводиться у незмінному вигляді через легені;
 - б – шляхом синтезу сечовини;
 - в – виводиться у незмінному вигляді із сечею;
 - г – зв'язується з утворенням аміноглікозидів.
56. Синтез сечовини відбувається в:
- а – серці;
 - б – головному мозку;
 - в – нирках;
 - г – печінці.
57. Яка основа не входить у склад нуклеотидів РНК?
- а – аденін;
 - б – тимін;
 - в – урацил;
 - г – цитозин.
58. Оптимум рН дії пепсину знаходиться у межах:
- а – 4 – 5;
 - б – 1,25 – 1,5;
 - в – 6,5 – 7,5;
 - г – 5,5 – 6,5.
59. Трипсин синтезується в:
- а – шлунку;
 - б – тонкому кишечнику;
 - в – печінці;
 - г – підшлунковій залозі.
60. Під дією якого фактора трипсиноген перетворюється на активний трипсин?
- а – соляної кислоти;
 - б – хімотрипсину;
 - в – ентеропептидази;
 - г – карбоксипептидази.
61. Пепсин належить до ферментів:
- а – амілолітичних;
 - б – ліполітичних;
 - в – протеолітичних;
 - г – нуклеаз.
62. Які протеолітичні ферменти діють у шлунку?
- а – трипсин;
 - б – пепсин;
 - в – амінопептидази;
 - г – хімотрипсин.
63. Яким зв'язком з'єднані амінокислоти що визначають первинну структуру білкової молекули?
- а – естерним;
 - б – пептидним;
 - в – водневим;
 - г – етерним.
64. Що таке незамінні амінокислоти?

- а – не виводяться з організму;
 - б – не синтезуються в організмі;
 - в – не засвоюються організмом;
 - г – не потрапляють в організм.
65. Чи розщеплюються білки у ротовій порожнині?
- а – не розщеплюються.
 - б – розщеплюються.
 - в – розщеплюються лише прості білки.
 - г – розщеплюються лише складні білки.
66. Чи можуть білки їжі в нативному стані всмоктуватися у кишечнику?
- а – так;
 - б – в комплексі з травними ферментами;
 - в – в комплексі з жовчними кислотами;
 - г – ні.
67. Де всмоктуються вільні амінокислоти перетравлених білків?
- а – у шлунку;
 - б – у тонкому кишечнику;
 - в – у товстому кишечнику;
 - г – у всьому шлунково-кишковому тракті.
68. Що таке дезамінування амінокислот?
- а – відщеплення H_2N -групи ферментативним шляхом;
 - б – відщеплення H_2N -групи неферментативним шляхом;
 - в – перенесення H_2N -групи з амінокислоти на кетокислоту;
 - г – відщеплення $HOOC$ -групи з утворенням амінів.
69. Яка речовина утворюється під час окисного дезамінування амінокислот?
- а – насичена кислота і NH_3 ;
 - б – ненасичена кислота і NH_3 ;
 - в – гідроксикислота і NH_3 ;
 - г – кетокислота і NH_3 .
70. Який процес характеризує декарбоксилювання амінокислот?
- а – утворення амінів;
 - б – утворення кетокислот;
 - в – утворення оксикислот;
 - г – утворення насичених кислот.
71. Які ферменти каталізують процес трансамінування?
- а – аміносинтетази;
 - б – фосфокінази;
 - в – аміноацил-т-РНК-синтази;
 - г – трансамінази.
72. Що гідролізують екзонуклеази?
- а – естерні зв'язки усередині молекули нуклеїнової кислоти;
 - б – естерні зв'язки з 5'-кінця;
 - в – естерні зв'язки з 3'-кінця;
 - г – естерні зв'язки в довільному місці.
73. Що гідролізують ендонуклеази?
- а – естерні зв'язки усередині молекули нуклеїнової кислоти;
 - б – естерні зв'язки з 5'-кінця;
 - в – естерні зв'язки з 3'-кінця;
 - г – естерні зв'язки в довільному місці.
74. Яка азотиста основа не входить до складу РНК?
- а – аденін;
 - б – цитозин;
 - в – тимін;
 - г – гуанін.

75. Яка азотиста основа не входить до складу ДНК?
а – аденін;
б – цитозин;
в – урацил;
г – гуанін.
76. Яка пентоза входить у склад нуклеотидів ДНК?
а – рибоза;
б – рибулоза;
в – дезоксирибоза;
г – ксилулоза.
77. Яка пентоза входить у склад нуклеотидів РНК?
а – рибулоза;
б – рибоза;
в – дезоксирибоза;
г – ксилулоза.
78. Яка з азотистих основ відноситься до піримідинових?
а – аденін;
б – урацил;
в – гуанін;
г – цитозин.
79. Яка з азотистих основ відноситься до пуринових?
а – тимін;
б – урацил;
в – аденін;
г – цитозин.
80. Які кінцеві речовини обміну пуринів у більшості ссавців та у птахів?
а – сечовина;
б – сечова кислота;
в – алантоїн;
г – індикан.
81. Які кінцеві речовини обміну пуринів у приматів та людини?
а – сечовина;
б – сечова кислота;
в – алантоїн;
г – індикан.

Приклад екзаменаційного білету

№ з/п	Питання	К-ть балів
1.	Дифузія, осмос та їх біологічне значення. Що таке діаліз?	4
2.	Будова і біологічна роль вітаміну А.	4
3.	Будова і біологічна роль ТПФ.	4
4.	Біологічна роль соматотропіну та адренокортикотропного гормону.	4
5.	Напишіть схеми реакцій гліколізу.	14
6.	Напишіть структуру глікохолевої кислоти. Біологічна роль.	8
7.	Травлення білків. Біологічна повноцінність білків. Особливості травлення білків у жуйних тварин.	8
8.	В якому вигляді вуглеводи всмоктуються із кишечника? а – полі-, ди-, і моноцукоридів; б – дицукоридів; в – моноцукоридів; г – поліцукоридів.	1
9.	Яка вихідна сполука синтезу жирних кислот? а – глюкоза; б – амінокислоти; в – молочна кислота; г – ацетил-КоА.	1
10.	Якими ферментами забезпечується утворення активних форм амінокислот? а – аміносинтетазами; б – фосфокіназами; в – аміноацил-т-РНК-синтазами; г – трансаміназами.	1
11.	Які кінцеві речовини обміну пуринів? а – сечовина; б – сечова кислота; в – алантоїн; г – індикан.	1

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Біологічна і біоорганічна хімія: у 2 кн.: підручник. Кн.2. Біологічна хімія / Ю.І. Губський, І.В. Ніженковська, М.М. Корда та ін.; за ред. Ю.І. Губського, І.В. Ніженковської К.: ВСВ «Медицина», 2016. 544 с. (http://biochem.vsmu.edu.ua/library/gubsky_biologicheskaya_khimia.pdf)
2. Волошинець В.А. Фізична та колоїдна хімія. Львів, 2017, 200 с.
3. Гомонай В.І. Фізична та колоїдна хімія. 3-тє вид. Гомонай В.І. Київ, 2014 496 с.
4. Основи біохімії за Ленінджером / Дейвід Л. Нельсон, Майкл М. Кокс: (пер. з англ. О. Матишевська та ін.; наук. ред. пер. С. Комісаренко та ін: ред. М. Мартиняк. Львів, БаК, 2015.
5. Біохімія: практикум / Д.О. Мельничук, С.Д. Мельничук, Л.Г. Калачнюк, Г.І. Калачнюк. За загальною редакцією академіка НАН України і НААН Д.О. Мельничука. К: ВЦ НУБіП України, 2013, 524 с.
6. Нельсон Д.Л., Кокс М.М. Основи біохімії за Ленінджером /: (пер. з англ. О. Матишевська та ін.; наук. ред. пер. С. Комісаренко та ін.: ред. М. Мартиняк. Львів : БаКЮ 2015, 1256 с.
7. Галяс В.Л., Колотницький А.Г. Фізична і колоїдна хімія. Львів, 2004. (Електронна версія <http://www.geocities.com/vhaljas>).
8. Лисиця А.В. Біохімія. Практикум. навчальний посібник. Видавництво: Університетська книга. 2023, 240 с.
9. Мельничук Д.О., Усатюк П.В., Цвіліховський М.І. Біохімія : практикум. Навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів. Київ : ВЦ НУБіП України, 2013. 524 с.
10. Сухаренко О.В., Недзвецький В.С. Біохімія. Лабораторний практикум і завдання модульного контролю. Практикум. 2020, 196 с.
11. Галяс В.Л., Колотницький А.Г. Біохімічний і біотехнологічний словник. Львів, 2005. 498 с.

Зміст

1. Правила роботи і техніка безпеки при проведенні лабораторних занять.....	3
2. Тема I. Визначення рН.....	4
3. Тема II. Буферні розчини.....	8
4. Тема III. Колоїдні розчини та їх властивості.....	14
5. Тема IV. Властивості і методи дослідження протеїнів.....	20
6. Тема VIII. Вітаміни.....	27
7. Тема VIII. Ферменти.....	32
8. Тема VIII. Гормони.....	39
9. Тема VIII. Обмін вуглеводів.....	42
10. Тема IX. Обмін ліпідів.....	52
11. Тема X. Обмін протеїнів.....	60
12. Тема XI. Обмін неорганічних речовин.....	66
13. Тема XII. Дослідження молока.....	70
14. Тема XIII. Дослідження сечі.....	75
15. Система оцінювання знань.....	80
16. Екзаменаційні питання.....	81
17. Приклад екзаменаційного білету.....	102
18. Рекомендована література.....	103