

**ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
**Навчально-науковий інститут агротехнологій, селекції та екології**

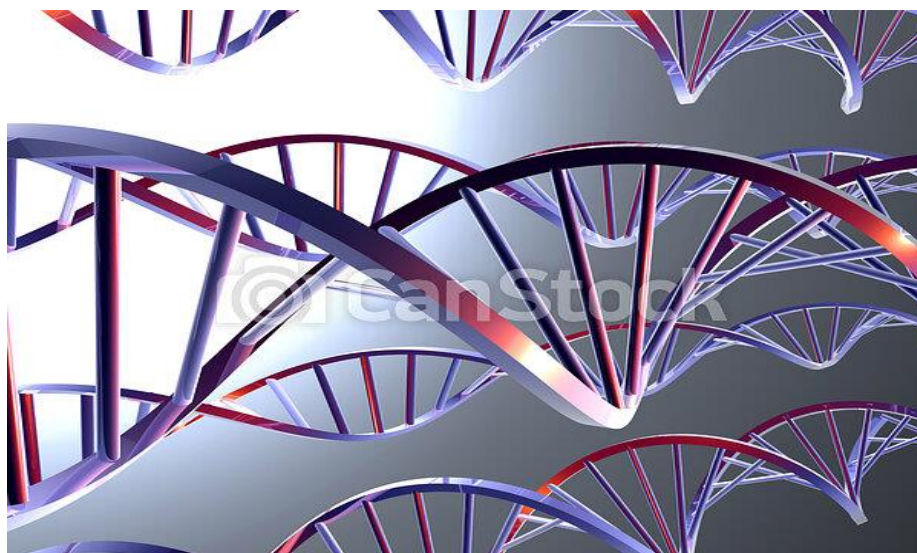
**Кафедра біотехнології та хімії**

**ЗАВДАННЯ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ**

**з навчальної дисципліни**

**«БІОХІМІЯ»**

**для здобувачів вищої освіти**  
**спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія**



**2023 - 2024р.**

Завдання для лабораторних робіт з навчальної дисципліни: «Біохімія» для здобувачів вищої освіти спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія вищих аграрних навчальних закладів III-IV рівнів акредитації //Полтава: Полтавський державний аграрний університет. 2023. - 32 с.

Укладач:

**Крикунова Валентина Юхимівна**, професор кафедри біотехнології та хімії, кандидат хімічних наук, доцент

Рецензенти:

**Сахно Тамара Вікторівна** – доктор хімічних наук, професор кафедри біотехнології та хімії Полтавського державного аграрного університету

Рекомендовано до видання кафедрою біотехнології та хімії (Пр. № 1 від 01. 09 2023р.)

## Правила роботи в біохімічній лабораторії і техніка безпеки на практичних заняттях

1. У лабораторії не дозволяється знаходитися без халата і у верхньому одязі.
2. На лабораторному столі повинні знаходитися тільки реактиви, хімічний посуд і робочий зошит.
3. До виконання передбачених темою заняття дослідів приступають після дозволу викладача за умови ретельного попереднього вивчення методикою дослідження.
4. Не можна ставити досліди, не передбачені методикою лабораторних робіт, змішувати реактиви, що є на лабораторному столі, в довільних поєднаннях, оскільки це може спричинити за собою утворення летючих отруйних речовин, бурхливу реакцію і судині з викидом вмісту і нещасні випадки.
5. Відбирають реактиви з судин тільки чистою піпеткою, занурюючи її кінчик до дна склянки. Після закінчення роботи весь посуд ретельно миють під краном і обполіскують дистильованою водою.
6. При постановці якісних реакцій всі склянки з реактивами забезпечені трубками для відбору проб. Забороняється переставляти трубки з однієї склянки в іншу або відбирати проби з різних склянок однією і тією ж трубкою.
7. Нагрівання рідин проводять обережно, направляючи отвір пробірки убік від тих, що працюють в лабораторії. Вміст безперервно перемішують шляхом струшування, не допускаючи перегрівання рідини в одному місці.
8. Забороняється дивитися в пробірку, що нагрівається, зверху.
9. Роботи з летючими, легкозаймистими, отруйними реактивами проводять тільки під витяжною шафою, вживаючи всім заходам обережності, щоб попередити попадання реактивів на одяг, руки, особу.
10. У разі попадання хімічних реактивів на обличчя, руки або інші частини тіла необхідно уражену ділянку ретельно промити проточною водою і негайно повідомити про того, що трапився викладача.
11. Легкозаймісті речовини зберігають і переливають тільки далеко від відкритого вогню.
12. При користуванні центрифугами різних типів дотримуються наступних правил:
13. а) пробірки, що поміщаються в центрифугу, з рідиною повинні мати однакову масу;
14. б) парні пробірки розміщують в центрифугу по діагонали;
15. в) забороняється включати центрифугу з відкритою кришкою і знімати її до повної зупинки ротора.
16. Забороняється в лабораторії приймати їжу, пити з лабораторного посуду, пробувати реактиви на смак. Нюхати реактиви можна обережно, прочухана пари з склянки помахами долоні.
17. Забороняється включати електроприлади без дозволу викладача.
18. Ознайомившись з основними правилами роботи в лабораторії, студент бере на себе письмові зобов'язання чітко їх дотримуватися, про що підтверджує, розписуючись.

# Тема 1. Вступ до предмету. Основні напрями та методи дослідження у біохімії. Значення буферних розчинів у біологічних системах

## Лабораторна робота № 1.

### Методи визначення рН-буферних розчинів.

**Мета та завдання лабораторної роботи:** Сформувані уявлення про основи експерименту, теоретичні положення і закони розчинів та буферних систем, значення їх в живих організмах; опанувати: методикою та принципами визначення рН-буферних розчинів - колориметричним та потенціометричним; ознайомитися з будовою та підготовкою до роботи потенціометру рН-150 М, методами обробки дослідних даних, вміти зіставляти і аналізувати результати дослідів та робити відповідні висновки.

**Методи навчання:** за джерелом знань: *словесні методи:* 1) інструктаж *наочні методи:* 1) демонстрування, 2) спостереження *практичні методи:* 1) лабораторна робота, 2) конспектування. За ступенем керівництва: робота під керівництвом викладача: 1) самостійна робота.

**Перелік спеціального обладнання та устаткування, необхідного для виконання лабораторної роботи:** потенціометр рН-150 М., штативи. бюретки, пробірки, колби, скляні палички, пальне, пробірко тримач, пробірки, колби, скляні палички, пальне, пробірко тримач, фільтрувальний папір. 0,01 н розчин НСІ, NaOH, 0,001 н розчин НСІ. Буферні розчини: сировотка крові, ацетатний буфер, невідомий розчин. Індикатор: фенолфталеїн. Фільтрувальний папір.

### Питання теоретичного контролю

1. Постійність внутрішнього середовища. Регуляція гомеостазу.
2. Іонний добуток води.
3. Водне число (рН) і його значення для нейтрального, кислого і лужного середовищ.
4. Чи проникні клітинні мембрани для  $H^+$  і  $OH^-$  - іонів?
5. Величини рН крові сільськогосподарських тварин.
6. Колориметричний метод визначення рН, принцип методу, його переваги і недоліки.
7. Індикатори: визначення, механізм дії.
8. Принцип методу, електрометрії визначення рН. рН-метри, їх призначення і застосування. Які розчини називають буферними та їх склад.
9. Приведіть формули гемоглобінової, гідрокарбонатної і фосфатної буферних систем. Покажіть на хімічних реакціях механізм їх дії.
10. Ацидоз: характер захворювання, різновиди, причини. Алкалоз: характер захворювання, його причини. У чому виявляється негативна дія ацидозу і алкалозу у клітині.

### Короткий теоретичний коментар до теми

Особливістю живих організмів являється їх складність та висока ступінь організації. Кожна складова частина організму має спеціальне призначення і виконує певні функції. Живий організм здатний використовувати енергію зовнішнього середовища, створює власні структури, що підтримують їх цілісність за рахунок регуляторних механізмів. Найбільш вражаючою особливістю живих організмів являється їх здатність відтворювати собі подібних. Організм живий доки підтримується сталість його складу – гомеостаз, одним з показників якого є активна реакція крові. Кров – це водний розчин. Співвідношення іонів  $[H^+]$  і  $[OH^-]$  в нормі майже однакове.  $pH = 7,4$ . Виступаючи як універсальний розчинник, вода є основою рідин живої природи. Організм тварини містить 65,9% води, жива клітина – 85%. За теорією Бренстеда, вода

є амфолітом:  $\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{OH}^-$  та  $\text{H}_2\text{O} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_3\text{O}^+$ . ака реакція називається автопротолізом води:  $\text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^-$ , або  $2\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_3\text{O}^+ + \text{OH}^-$ . Кількісно автопротоліз води характеризується **йонним добутком води**. Константа рівноваги при 298К:

$$K = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]^2}; \quad K = 3,24 \cdot 10^{-18}. \quad (1).$$

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

$$m_{\text{H}_2\text{O}} = \frac{998,07}{18,05} = 55,35 \text{ кмоль/м}^3. \text{ Виходячи з (1): } K_{\text{H}_2\text{O}} = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] = (55,35)^2 \times 3,24 \cdot 10^{-18} \text{ (кмоль/м}^3)^2$$

$= 1,00 \cdot 10^{-14} \text{ (кмоль/м}^3)^2$  де  $K_w$  – йонний добуток води. Згідно з (2),  $[\text{H}_3\text{O}^+] = [\text{OH}^-] = 10^{-7} \text{ кмоль/м}^3$ . Якщо водний розчин має нейтральну реакцію, то це означає, що у ньому концентрації  $\text{H}_3\text{O}^+$  і гідроксид-йонів є однакові і рівні  $[\text{H}_3\text{O}^+] = [\text{OH}^-] = 10^{-7}$  (при 298 К). У кислих розчинах  $[\text{H}_3\text{O}^+] > 10^{-7} \text{ кмоль/м}^3$ , у лужних  $[\text{H}_3\text{O}^+] < 10^{-7} \text{ кмоль/м}^3$ . Розрахунок концентрації гідроген-йонів  $\text{H}_3\text{O}^+$  і гідроксид-йонів за допомогою йонного добутку води проводять, виходячи з постійного значення:  $K_w = [\text{H}_3\text{O}^+][\text{OH}^-] = 1,00 \cdot 10^{-14} \text{ (кмоль/м}^3)^2$  (3). При будь-яких змінах молярних концентрацій гідроген-йонів  $[\text{H}_3\text{O}^+]$  і гідроксид-йонів добуток їх концентрацій при постійній температурі залишається незмінним. Наприклад, якщо до чистої води додати HCl, концентрація якої рівна 0,001 М, то відповідно:  $[\text{OH}^-] = \frac{K_w}{[\text{H}^+]} = \frac{10^{-14}}{10^{-3}} = 10^{-11} \text{ кмоль/м}^3$  (4). Якщо до чистої води

додати лугу, з концентрацією 0,02 М, то концентрація йонів  $\text{H}_3\text{O}^+$  становитиме:  $[\text{H}^+] = \frac{K_w}{[\text{OH}^-]} = \frac{10^{-14}}{2 \times 10^{-2}} = 5 \times 10^{-13} \text{ кмоль/м}^3$ .

Слід зазначити, що 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 **водневим показником йонів Гідрогену** і позначають через рН:  $\text{pH} = -\lg[\text{H}_3\text{O}^+]$ . Показник рН вперше був запропонований як міра середовища С.Зеренсенем у 1909 р. Визначається загальною формулою:  $\text{pH} = -\lg a_{\text{H}_3\text{O}^+}$  (5). Аналогічно рОН – це від'ємний десятковий логарифм

активності йонів  $\text{OH}^-$ :  $\text{pOH} = -\lg a_{\text{OH}^-}$  (6) Оскільки активності йонів у чистій воді приблизно дорівнюють їх концентраціям, то р-форма (3) має вигляд:  $-\lg K_w = -\lg[\text{H}_3\text{O}^+] + (-\lg[\text{OH}^-]) = -$

$$\lg(1 \cdot 10^{-14}); \text{p}K_w = \text{pH} + \text{pOH} = 14 \quad (7).$$

Рівняння  $K_{\text{свон}} = \frac{[\text{B}^+][\text{OH}^-]}{[\text{ВОН}]}$  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  $\text{pH} = -\lg[\text{H}_3\text{O}^+] = -\lg 10^{-6} = 6$ . Залежність між  $[\text{H}_3\text{O}^+]$ , величиною рН і характером середовища ілюструє схема: У біологічних, медичних, клінічних дослідженнях необхідно чітко розрізняти загальну, потенційну та активну кислотність:

- а) загальна, або аналітична, кислотність відповідає загальній концентрації кислоти;
- б) активна кислотність відповідає концентрації вільних гідратованих гідроген-йонів;
- в) потенційна кислотність відповідає концентрації нейонізованих молекул кислоти і може бути вирахована, як різниця між загальною і активною кислотністю.

Буферною системою називають протолітичну систему, що володіє властивістю стійко утримувати рН середовища при добавленні невеликих кількостей сильної кислоти або лугу, або при розведенні.

Протолітичні буферні системи складаються із слабкої кислоти і надлишку спряженої з нею основи або із слабкої основи і надлишку спряженої з ним кислоти.

Буферні системи – двохкомпонентні системи, що складаються із слабого електроліту, який володіє резервною кислотністю або лужністю, і сильного електроліту, що має одноіменний іон зі слабким електролітом і який утримує слабкий електроліт від дисоціації. В залежності від складу розрізняють: рН в буферних системах розраховують по формулі Гендерсона-Гассельбаха:

$$pH = pK + \lg \frac{[\text{сіль}]}{[\text{кислота}]}$$

*Буферна ємність* – кількість молярних еквівалентних мас сильної кислоти або сильної основи, які треба додати до 1л буферного розчину, щоб зсунути рН на 1:

Кислотно-основний стан (КОС), або кислотно-лужна рівновага (КЛР) в організмі людини і тварини характеризується трьома показниками: 1) лужними резервами  $\pm BE = \pm 2,3$  ммоль/л; парціальний тиск вуглекислого газу ( $PCO_2$ ) = 36 – 44 мм рт. ст; 3) рН = 7,36 – 7,42.

BE – це кількість основи, яку потрібно додати або нейтралізувати, щоб рН крові зберігся в нормі. Позитивне значення BE вказує на надлишок основи або дефіцит кислот; від'ємне значення BE вказує на дефіцит основи або надлишок кислот.

Колориметричний метод заснований на зміні характеру або інтенсивності забарвлення досліджуваного розчину при додаванні до нього **індикатора**. *Індикаторами* називаються речовини, що змінюють своє забарвлення залежно від рН середовища. За хімічною будовою індикатори є органічними сполуками, що проявляють у водних розчинах властивості слабких кислот або слабких основ, у яких недисоційовані молекули мають одне забарвлення (або безбарвні), а іони, що утворилися з них, - інше. Індикатори, молекули яких безбарвні, а забарвлені тільки іони, називаються одноколірними (наприклад, фенолфталеїн):



Індикатори, молекули яких мають одне забарвлення, а іони, що утворилися з них, - інше,

називаються двобарвними (наприклад, лакмус):  $\frac{HL}{\text{Лакмус} \cdot \text{червоний}} \leftrightarrow \frac{H^+}{\text{синій}} + \frac{L^-}{\text{синій}}$

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

Ступінь забарвлення двобарвного індикатора залежить від співвідношення концентрації недисоційованих молекул і іонів, що в свою чергу визначається рН розчину.

Залежність ступеня дисоціації індикаторів від реакції середовища визначається формулою:

$$[H^+] = K \frac{[HInd]}{[Ind^-]}$$

Інтервал значень рН, в межах якого спостерігається зміна забарвлення індикатора, називається зоною переходу або **зоною вираження** індикатора. Суміш індикаторів, підібраних так, що зони їх вираження перекривають шкалу рН (1-14) називається **універсальним індикатором**. Межа життя – 6,8 – 8,0, так як при рН 6,8 настає ізоелектрична точка для  $\gamma$ -глобулінів, які при цьому втрачають заряд і настає і проходить коагуляція, що призводить до утворення тромбів в судинах (як наслідок – інфаркт, інсульт).

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

1. *Гідрокарбонатна* –  $\frac{H_2CO_3}{Na_2HCO_3}$ ; 2. *Фосфатна* –  $\frac{NaH_2PO_4}{Na_2HPO_4}$ ; 3. *Гемоглобінова* –  $\frac{HHb}{KHb}$ ;
4. *Оксигемоглобінова* –  $\frac{HHbO_2}{KHbO_2}$ ; 5. *Білкова* –  $\frac{H - Pr(\text{плазми})}{Na - Pr(\text{плазми})}$  та інші

У процесі обміну речовин утворюється велика кількість кислих продуктів. Так, в організмі людини щодобово утворюється 20-30 л 1 н кислоти, а у жуйних у передшлунках утворюється до 5 кг кислот за добу. Збереження сталості кислотності середовища організму забезпечується, перш за все, наявністю буферних систем. Водневий показник різних біологічних рідин коливається від 1,0 до 9,0, крові – 7,2-7,95. При деяких захворюваннях реакція крові зміщується в кислу (при виразці шлунка і дванадцятипалої кишки) або в лужну (при пневмонії) зону. Зміщення кислотності середовища крові у кислу зону називається **ацидозом**, в лужну –

**алкалозом.** При ацидозі збільшується вміст аніонів в організмі і рН знижується на 0,2-0,5. Це призводить до коматозного стану і загибелі тварин.

При алкалозі в крові зростає концентрація катіонів і збільшується числове значення рН. Внаслідок цих змін настає смерть тварини. У тваринному і людському організмах для підтримання сталості рН, перш за все крові, на гідрокарбонатний буфер припадає близько 7%, фосфатний – 1%, гемоглобіновий і оксигемоглобінів – 81%, білковий – 10% і на кислотний близько 1%. Гідрокарбонатна буферна система характеризується рівновагою молекул слабкої карбонатної кислоти і сіллю цієї ж кислоти. Гідрокарбонатна система – найсильний буфер плазми крові і позаклітинної рідини. Значення рН плазми залежить від співвідношення компонентів буферної системи, яке для рН = 7,4

## Порядок та методика виконання завдань

### Дослід 1. Колориметричний метод визначення рН

1. В конічну колбочку беруть 10 мл 0,01 н розчину HCl та 0,2 мл сироватки крові.
2. Розмішують.
3. Доливають 3 краплі фенолфталеїну.
4. Титрують 0,01н розчином NaOH до появи рожевого забарвлення.

**Спостереження і висновок даних досліджу.** Метод заснований на зміні характеру або інтенсивності забарвлення досліджуваного розчину при додаванні до нього індикатора. Ступінь забарвлення двобарвного індикатора залежить від співвідношення концентрації недисоційованих молекул і іонів, що в свою чергу визначається рН розчину. Залежність ступеня

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

Інтервал значень рН, в межах якого спостерігається зміна забарвлення індикатора, називається зоною переходу або зоною вираження індикатора. Суміш індикаторів, підібраних так, що зони їх вираження перекривають шкалу рН (1-14) називається універсальним індикатором.

**Приклад розрахунку.** Взято 10 мл 0,01н розчину HCl. На титрування пішло 7,8 мл 0,01н розчину NaOH. Отже, солі буферних систем зв'язали  $10 - 7,8 = 2,2$  мл 0,01н розчину HCl. Резервна лужність крові вираховується так:  $\frac{2,2 \cdot 4 \cdot 100}{2} = 440 \text{ у.о.}$

**Запис результатів власних досліджень:** На титрування сироватки крові вибрано X мл 0,01н NaOH. Солі буферних систем зв'язали  $(10 - X)$  мл 0,01н HCl. Резервна лужність крові дорівнює:  $\frac{(10 - X) \cdot 4 \cdot 100}{2}$

### Дослід 2. Потенціометричний метод визначення рН

I. Підготовка приладу "рН- метр 150М" до роботи.

Вимірювання рН проводиться після настройки рН метра згідно інструкції. Електрод повинен бути добре промитий від залишків контрольного розчину та висушений фільтрованим папером. Перед початком вимірювання необхідно натиснути кнопку "вкл- викл." на передній панелі приладу. Кнопку "рН" встановити на необхідний діапазон вимірів.

II. Визначення рН розчинів.

1. В хімічну склянку налити дистильовану воду, опустити в неї електрод і добре промити. Вийняти електрод і висушити фільтрувальним папером.

2. Натиснути кнопку "вкл- викл." Н. Опустити електроди в склянку з 20 мл досліджуваного розчину. Визначити рН п'яти невідомих розчинів.

3. Електроди промити дистильованою водою, висушити фільтрувальним папером і опустити в склянку з 20 мл невідомого розчину, одержаного від викладача. Визначити рН розчину. Це один з п'яти невідомих розчинів, рН яких визначили заздалегідь.

Результати записати в таблицю.

III. Визначення буферної дії розчинів, що вивчаються.

1. В дві склянки налити по 20 мл відомого розчину, рН якого вже визначали (наприклад, шлунковий сік). В одну склянку додати 2 мл 0,01н розчину НСІ, в другу 2 мл 0,01 н розчину NaOH. Розмішати та визначити рН. Записати в таблицю результати. Так визначити буферну дію усіх п'яти досліджуваних розчинів.

В дві склянки відміряти по 20 мл досліджуваного розчину, одержаного від викладача і в одну додати 2 мл 0,01н НСІ, в другу 2 мл 0,01н NaOH. Розмішати.

2. Виміряти рН розчинів у склянках.

3. Зробити висновок про буферну дію розчину.

**Спостереження і висновок даних досліду.** Вирахувати буферну ємність досліджуваного розчину за формулою:

$$V = \frac{N \cdot V_1}{V(pH_1 - pH_2)}$$

V – буферна ємність по кислоті чи лугу; N – концентрація кислоти чи лугу;

V<sub>1</sub> – прибавлений об'єм розчину кислоти або лугу; V – об'єм досліджуваного розчину

pH<sub>1</sub> – рН – досліджуваного розчину до додання кислоти чи лугу; pH<sub>2</sub> – рН – досліджуваного розчину після додання кислоти чи лугу. Одержані дані записати в таблицю

### **Оформлення та порядок подання звіту лабораторної роботи**

Після виконання лабораторної роботи необхідно:

1 - з'ясувати основну мету та завдання даної лабораторної роботи, надати пояснення порядку та методики виконання кожного дослідження та висновки до них;

2- в досліді 1 здобувачеві вищої освіти пояснити суть колориметричного методу визначення рН. Провести спостереження та зробити висновок про зміну характеру або інтенсивності забарвлення досліджуваного розчину при додаванні до нього індикатора;

3- в досліді 2 з'ясувати суть потенціометричного методу визначення рН, провести настройку «рН-150», визначити рН буферних розчинів та їх буферну, порівняти дані досліджень та записати висновок;

4- дати чітку і повну відповідь на теоретичні питання, поставлені викладачем за даною темою.

5 - виконана і оформлена лабораторна робота подається здобувачем вищої освіти викладачу на перевірку.

### **Рекомендовані джерела інформації**

#### **Основні**

1. Губський Ю. І., Ніженковська І. В., Корда М. М. Біологічна хімія: підручник. Вінниця: Нова книга, 2021. 648 с.

2. Скляр О. Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т. І. Біологічна хімія: підручник Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. 706 с.

3. Крикунова В. Ю., Кулинич С. М. Петренко М.О. Біологія клітин. Основи біохімії та особливості метаболізму речовин: навчальний посібник. Полтава : Полтавський державний аграрний університет, 2023. 325с.

4. Сибірні Н. О., Гачкова Г. Я., Бродяк І. В. Функціональна біохімія: підручник Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. 644 с.

5. Shyian N. I., Kryvoruchko A. V., Stryzhak S. V., Krykunova V. Y., Antonets O. A. Structural and functional . model of the methodology for preparing future chemistry teachers for the use of cloud technologies in professional activities. *Periódico Tchê Química*. 2020. Vol. 17 (34). P. 856–866.

#### **Допоміжні**

1. Скоробагатова З.М., Сташкевич М.А., Матвієнко А.Г. Біохімія: навчальний посібник. К.: Біокомполіт, 2019. 148 с.

2. Скоробагатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. К.:Академперіодика; 2017. 76 с.

3. Корзун В. Н. Гігієна харчування : підручник. Київ: Київський національний торговельно-економічний університет, 2013. 236 с.
4. Сибірна Н. О., Гончар М.В., Бродяк І.В. Хімія білка : підручник. Львів: ДНУ імені Івана Франка, 2010. 393 с.

#### Інформаційні ресурси

1. <http://uk.wikipedia.org/wiki>      <http://elibrary.nubip.edu.ua>      <http://thinbook.org/book>  
2. <http://www.youtube.com>      [http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/edu\\_physical.html](http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/edu_physical.html)      3. Popular Biochemistry Books. URL: <https://www.goodreads.com/shelf/show/biochemistry>

**Тема 2. Амінокислоти. Загальна характеристика. Фізико-хімічні властивості амінокислот, будова та їх класифікація. Пептиди.**

**Тема 3. Хімія білків. Загальна характеристика. Фізико-хімічні властивості білків, будова та їх класифікація.**

### Лабораторна робота № 2.

#### Якісні реакції на білки, пептиди, амінокислоти

**Мета та завдання лабораторної роботи:** опанувати: навиками та методикою при проведенні експерименту визначення якісного аналізу білків та амінокислот, розділення білків сироватки крові на фракції, з'ясувати їх фізико-хімічні властивості; методами обробки дослідних даних, вміти зіставляти і аналізувати результати дослідів та робити відповідні висновки.

**Методи навчання:** за джерелом знань; *наочні методи:* 1) демонстрування, 2) спостереження *практичні методи:* 1) лабораторна робота, 2) конспектування. За ступенем керівництва: робота під керівництвом викладача: 1) самостійна робота.

**Перелік спеціального обладнання та устаткування, необхідного для виконання лабораторної роботи:** бюретки, пробірки, колби, скляні палички, пальне, пробірковий тримач, пробірки, колби, скляні палички, пальне, пробірковий тримач, фільтрувальний папір. **Реактиви:** розчини амінокислот. Розчин білка. Розчин нінгідрину. Фенол. Розчин сахарози. *Концентровані кислоти*  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . 10%-розчин  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{NaOH}$ ,  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ . розчини білка. Молоко. 10%-розчин Трихлороцтова кислота. 20%-розчин Сульфосаліцилової кислоти. 0,1%-розчин  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ . 1%-розчин  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Насичений розчин  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  кристалічний. *Концентровані кислоти*  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

#### Питання теоретичного контролю

1. Концепція біохімічної коеволюції рослин і тварин.
2. Азотвмісні токсини рослин. Небілкові амінокислоти.
3. Пептиди и белки. Токсины растений, не содержащие азот.
4. Харчові детергенти і репеленти.
5. Білкові інгібітори протеаз.
6. Харчові аттрактанти, їх особливості.
7. Дати визначення білкам. Розповсюдження їх в природі. Причини різноманітності білків.
8. Елементарний склад білків. Молекулярна маса білків. Методи її визначення.
9. Амінокислотний склад білків, методи його визначення. Будова окремих (замінимих і незамінних) амінокислот. Утворення пептидного зв'язку.
10. Рівні структурної організації білків: первинна, вторинна, третинна і четвертинна структури.

11. Напишіть структурні формули 20 амінокислот (глі, ала, вал, лей, іле, три, про, фен, мет, сер, тре, цис, тир, асп, асн, глу, глн, ліз, арг, гіс).
12. Напишіть структурну формулу пептиду, що має наступний амінокислотний склад: глі-три-цис-лей-ала-глі-.... Дайте назву цьому пептиду та приведіть рівняння реакції визначення С-кінцевої амінокислоти в цьому пептиді.

### Короткий теоретичний коментар до теми

При нагріванні розчинів амінокислот або речовин, що містять вільні аміногрупи (білки, пептиди), з нінгідрином утворюються комплексні з'єднання, що мають блакитне, фіолетове або червоне забарвлення. У лужному розчині при додаванні сульфату міді речовини, що містять не менше двох пептидних зв'язків, білок, поліпептиди, біурет, утворюють комплексні солі, забарвлені від рожевого до фіолетового і навіть синього кольору. При нагріванні з концентрованою азотною кислотою розчини фенолів, ароматичних амінокислот і білків, що містять ароматичні амінокислоти, забарвлюються в жовтий колір. При нейтралізації кислоти забарвлення переходить в інтенсивно оранжеву. При нагріванні розчинів сірковмісних амінокислот і білків, що містять їх, з гідроксидом натрію утворюється сульфід натрію, який виявляється за освітою чорного осаду з розчином оцтовокислого свинцю

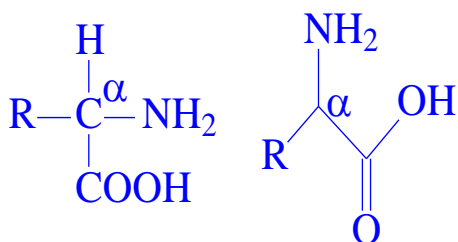
Білки, що мають різну молекулярну масу, не однаково міцно утримують при собі гідратаційну воду. Якщо до розчину, що містить суміш білків з різною молекулярною масою, додати сульфат амонію, створивши 50% його насичення, то з суміші осідають (за рахунок дегідратації) високомолекулярні білки (глобуліни), при повному насиченні сульфатом амонію осідають низькомолекулярні білки - альбуміни.

Денатурація - процес необоротного осадження білка, що супроводжується руйнуванням структури білкової молекули і втратою нативних властивостей. Денатурація може бути викликана різними фізичними і хімічними чинниками, до яких належать висока температура, сильні мінеральні кислоти і луги, солі важких металів, деякі органічні кислоти, дубильні речовини і ін. При підкисленні розчину білок переходить в ізоелектричний стан (ІЭС), який характеризується малою стійкістю в розчині і випадає в осад. Величина рН розчинів, при якій білок переходить в ІЭС, називається ізоелектричною крапкою (ІЕТ). ІЕТ яєчних білків рівна 4,6; ІЕТ казеїногена молока - 4,7; їх ізоелектричні крапки знаходяться в слабокислій зоні рН.

Амінокислоти в клітинах виконують багато важливих функцій; деякі з біологічно важливих сполук.

*Біологічне значення.* Амінокислоти являючись будівельними блоками пептидів і білків, виконують і ряд інших важливих функцій. Деякі з них, мабуть приймають участь у передачі нервових імпульсів; прикладами служать гліцин і глютамінова кислота. В їжі повинні міститися незамінні амінокислоти, оскільки організм людини не здатен синтезувати їх в кількостях, достатніх для росту. В результаті метаболізму амінокислот утворюється багато сполук, які мають важливе біологічне значення. Наприклад, при декарбоксилуванні деяких амінокислот утворюються відповідні аміни, і деякі з них (гістамін, у-аміномасляна кислота (ГАМК)) виконують важливі біологічні функції. Ряд аномальних процесів, які виникають в організмах, пов'язані з порушенням транспорту амінокислот до клітин. Амінокислоти містять в якості функціональних груп аміногрупу і карбоксильну групу. В  $\alpha$ -амінокислотах обидві вони зв'язані з одним і тим же ( $\alpha$ ) вуглецевим атомом:

За виключенням гліцину, у якого R- це атом гідрогену, у всіх амінокислот чотири групи, зв'язані з  $\alpha$ -вуглецевим атомом, різні. Дякуючи тетраедричному розміщенню чотирьох різних груп відносно  $\alpha$ -вуглецевого атома амінокислота володіє оптичною активністю (здатністю



обертати площину поляризації плоскополяризованого світла). Одні амінокислоти, що входять до складу білків, є (при  $\text{pH}=7,0$ ) правообертаючими, а інші - лівообертаючими, однак всі вони мають абсолютну конфігурацію L-гліцеральдегіду і тому є L-а- амінокислотами.

*Іонні форми амінокислот.* Амінокислоти несуть по крайній мірі дві слабоіонізуючі кислі групи,  $-\text{COOH}$  і  $-\text{NH}_3^+$ . У розчині ці групи знаходяться у двох формах, зарядженій і незарядженій, між якими підтримується протонна рівновага:

Групи  $\text{R-COOH}$  і  $\text{R-NH}_3^+$  є протонуваними партнерами, тобто кислотами,  $\text{R-COO}^-$  і  $\text{R-NH}_2$ -спряженими основами, тобто акцепторами протонів відповідних кислот. При значеннях  $\text{pH}$ , характерних для плазми крові і міжклітинної рідини (7,4 і 7,1 відповідно), карбоксильні групи знаходяться виключно у формі карбонілатних іонів,  $\text{R-COO}^-$ . При цих же значеннях  $\text{pH}$  більша частина аміногруп знаходиться переважно у асоційованій формі,  $\text{R-NH}_3^+$ . Однак в багатьох рівняннях краще використовувати не дисоційовані форми молекул амінокислот, наприклад при обговоренні питання про хімізм реакцій.

Повний сумарний заряд (алгебраїчна сума всіх позитивних і негативних зарядів) амінокислоти залежить від  $\text{pH}$  середовища, тобто від концентрації протонів гідрогену в розчині. Заряд амінокислоти або її похідного можна змінити, варіюючи значенням  $\text{pH}$  середовища; це полегшує фізичне розділення амінокислот, пептидів, білків.

Значення  $\text{pH}$ , при якому сумарний заряд молекули амінокислоти дорівнює нулю, називається *ізоелектричною точкою* ( $\text{pI}$ ), саме тому вона не переміщується в постійному електричному полі. Значення ізоелектричної точки знаходиться між найближчими значеннями  $\text{pK}$  дисоціюючих груп по різні сторони від  $\text{pI}$ .

*Структура амінокислот.* Амінокислоти, які входять до складу білків, є можливість розбити на дві великі групи на основі того, якими є R-групи, зв'язані з атомом  $\alpha$ -вуглецю, - полярними і неполярними.

Усі амінокислоти, які виявлено в складі білків, синтезуються в рослинних організмах. В організмі людини і тварин синтезується лише частина протеїногенних амінокислот, а деякі з них утворюються в недостатній кількості для нормального синтезу. В зв'язку з цим усі їх поділяють на три групи: **замінні**, **напівзамінні** і **незамінні**. Останні дві групи в організмі синтезуються в недостатній кількості або не синтезуються взагалі, і тому вони повинні надходити до організму ззовні, в основному з їжею.

При нагріванні розчинів амінокислот або речовин, що містять вільні аміногрупи (білки, пептиди), з нінгідрином утворюються комплексні з'єднання, що мають блакитне, фіолетове або червоне забарвлення. У лужному розчині при додаванні сульфату міді речовини, що містять не менше двох пептидних зв'язків, білок, поліпептиди, біурет, утворюють комплексні солі, забарвлені від рожевого до фіолетового і навіть синього кольору. При нагріванні з концентрованою азотною кислотою розчини фенолів, ароматичних амінокислот і білків, що містять ароматичні амінокислоти, забарвлюються в жовтий колір. При нейтралізації кислоти забарвлення переходить в інтенсивно оранжеву. При нагріванні розчинів сірковмісних амінокислот і білків, що містять їх, з гідроксидом натрію утворюється сульфід натрію, який виявляється за освітою чорного осаду з розчином оцтовокислого свинцю

Білки, що мають різну молекулярну масу, не однаково міцно утримують при собі гідратаційну воду. Якщо до розчину, що містить суміш білків з різною молекулярною масою, додати сульфат амонію, створивши 50% його насичення, то з суміші осідають (за рахунок дегідратації) високомолекулярні білки (глобуліни), при повному насиченні сульфатом амонію осідають низькомолекулярні білки - альбуміни. Денатурація - процес необоротного осадження білка, що супроводжується руйнуванням структури білкової молекули і втратою нативних властивостей. Денатурація може бути викликана різними фізичними і хімічними чинниками, до яких належать висока температура, сильні мінеральні кислоти і луги, солі важких металів, деякі органічні кислоти, дубильні речовини і ін. При підкисленні розчину білок переходить в ізоелектричний стан (ІЭС), який характеризується малою стійкістю в розчині і випадає в осад. Величина  $\text{pH}$  розчинів, при якій білок переходить в ІЭС, називається ізоелектричною крапкою (ІЭТ). ІЭТ яєчних білків рівна 4,6; ІЭТ казеїногена молока - 4,7; їх ізоелектричні крапки

знаходяться в слабоекислій зоні рН.

Білки- високомолекулярні органічні сполуки, азотовмісні нерегулярні біополімери, побудовані з великої кількості залишків амінокислот, сполучених пептидним та іншими видами зв'язків. Свою назву білки дістали від яєчного білка, що з давніх-давен використовувався як харчовий продукт. Уперше термін "білки" було застосовано за аналогією з яєчним білком французьким фізіологом Ф. Кейе в 1747р. Пізніше, в 1838 р., дослідником Н. Мульдером білки були названі протеїнами. Нині у літературі використовуються обидва терміни. Білки є найважливішими в біологічному відношенні і найскладнішими за своєю хімічною структурою сполуками. Вони становлять структурну і функціональну основу всіх живих організмів.

*Каталітична функція.* Усі ферменти - біологічні каталізатори, що зумовлюють перебіг хімічних реакцій в організмі- мають білкову природу. Вони є необхідними для життєдіяльності кожного живого організму.

За участю ферментів у клітинах одночасно проходить багато різних хімічних реакцій, які забезпечують синтез і розщеплення різноманітних сполук з досить великою швидкістю за звичайних температур і тиску. Зараз відомо близько 2 тисяч білків, які ферментативно активні і більше 200 з яких виділено в кристалічному стані.

*Структурна функція.* Білки в середньому становлять 18-21 % загальної сирової маси організму людини і тварин і до 45-50 % їх сухої маси. Найбільша кількість білків міститься в паренхіматозних органах - селезінці, легенях, нирках та м'язах. Найменша кількість їх міститься у кістковій тканині. Білки входять до складу усіх органів і тканин. Вони беруть участь в утворенні структурної основи клітин і їх органел- мембранних структур, мітохондрій, рибосом, цитоплазми. Людині і вищим тваринам білки необхідні для утворення стінок судин, формування покривних, м'язових і сполучних тканин організму, вони становлять основу органічної частини кісткової тканини, хрящів, зв'язок і сухожилля.

*Транспортна функція.* Білки виконують також важливу транспортну функцію. Для нормальної життєдіяльності кожного організму необхідне постійне забезпечення його органів і тканин поживними речовинами. Ці речовини переносяться з током крові сполуками білкової природи. Так, перенесення кисню до тканин, а на зворотному шляху вуглекислого газу до легень здійснюється за допомогою складного білка хромопротеїдного типу - гемоглобіну. Транспорт різних груп ліпідів і жиророзчинних вітамінів до різних органів і тканин здійснюється за участю складних білків- ліпопротеїдів.

*Гормональна функція.* Значна кількість гормонів також є білками або продуктами білкового обміну. Це, зокрема, такі гормони, як інсулін, тетелін, тиреотропін, глюкокортикотропіни, окситони, вазопресин та ін. Гормони беруть активну участь у регуляції обміну, впливають на проникність клітинних мембран, регулюють активність ферментів, діють на процеси трансляції і транскрипції та ін.

*Рецепторна функція* мембранних білків пов'язана з передачею сигналу від гормонів та антитіл у клітину. Подібну функцію виконують білки мембранних каналів, по яких транспортуються іони та моносахариди.

*Скорочувальна функція білків м'язів та мікрофіламентів цитоскелету.* Білки беруть участь у забезпеченні різних форм механічного руху - скороченні і розслабленні м'язів, роботи внутрішніх органів - серця, легень, шлунку і т. д. Ці процесії здійснюються за участю таких білків, як актин, міозин, тропоміозин і ряду інших.

*Захисна функція* здійснюється в основному за участю білків у-глобулінів, з якими пов'язані імунні реакції організму. Антитіла, які утворюються в організмі при несприятливій дії на нього різних факторів (хвороботворних бактерій, вірусів, токсинів), мають білкову природу. Зв'язуючись з мікроорганізмами чи токсинами, вони інактивують їх, гальмують патогенну дію і знешкоджують токсичні продукти. Відомо ряд інших процесів, в яких білки також виконують захисну функцію, наприклад у процесах зсідання крові, оберігаючи організм від надмірної втрати її при різних травмах, тощо.

*Токсична та детоксикуюча функція*, наприклад, дуже токсичні речовини зв'язують альбуміни крові.

*Енергетична функція*. Найбільш виражена при голодуванні організму. Білки, як і вуглеводи, і ліпіди, є також і найважливішим джерелом енергії для організму. Так, при розщепленні 1 г білка виділяється 17,7 кДж енергії. За рахунок білків організм людини одержує 10 - 15% енергії.

Отже, з далеко неповного переліку функцій білків в організм; видно, що їм належить ведуча роль у забезпеченні процесів життєдіяльності. Багатоплановість і важливість проблеми білка зумовлена насамперед тим, що з нею пов'язано вирішення досить важливого питання про закономірності розвитку живої матерії, пізнання вищої форми її існування, розкриття суті явищ, що лежать в основі життя, і свідомого керування ним.

*Елементний склад*. Дослідження елементного складу білків розпочалось ще на початку ХІХ ст. Перші дані про елементарний склад білків з'явилися у 1809 р. на основі досліджень Ф. Грена. У результаті хімічного аналізу білків було визначено їх важливі складові елементи та кількісне співвідношення. Так, було встановлено, що до складу білків входять, %: вуглець- 50-55, водень- 6,5- 7,3, азот - 15 - 17, кисень - 21 - 23, сірка - 0,3 - 2,5. У складі білків було виявлено також фосфор, йод, залізо та інші елементи.

## **Порядок та методика виконання завдань**

### **Дослід 1. Якісні реакції на білки і амінокислоти. Реакція з нінгидрином**

1. Беруть 3 пробірки.
2. У 1-у вливають 1 мл дистильованої води (контроль).
3. У 2-у - 1 мл розчину амінокислоти (досвід 1).
4. У 3-у - 1 мл розчину білка (досвід 2).
5. У всі пробірки підливають по 2-3 краплі розчину нінгидрину.
6. Вміст пробірок перемішати і кип'ятити на пальнику 1-2 хвилини

### **Дослід 2. Біуретова реакція**

1. Для отримання біурету в суху пробірку насипають 0,5-1,0 г сечовини і нагрівають до виділення (по запаху) аміаку.
  2. Пробірку охолоджують і одержаний біурет розчиняють в 2-3 мл води (1-а пробірка).
  3. В цей же час в 2-у пробірку наливають 2-3 мл розчину білка.
  4. У 3-у - така ж кількість розчину амінокислоти.
  5. Потім у всі три пробірки додають по 1-2 мл розчину гідроксиду натрію і по 1-2 краплі розчину сульфату міді.
  6. Вміст пробірок добре перемішують і порівнюють забарвлення.
- Записати рівняння біуретової реакції у виглядісхеми та доказати даним дослідом наявність пептидних зв'язків між амінокислотними залишками

### **Дослід 3 Ксантопротеїнова реакція**

1. Беруть 3 пробірки.
  2. У 1-у з них вливають 1-2 мл білка, в 2-у - стільки ж фенолу, в 3-у - води.
  3. Всі пробірки після додавання по 8-10 крапель азотної кислоти підігрівають (обережно) до появи забарвлення.
  4. Після їх охолодження по краплях підливають надлишок гідроксиду натрію для нейтралізації нітратної кислоти.
- Записати рівняння ксантопротеїнової реакції. Навести приклад реакції з ароматичною амінокислотою – тирозином.

### **Дослід 4 Реакція на сірковмісні амінокислоти**

1. У 1 пробірку наливають 1 мл яєчного білка і такий же об'єм гідроксиду натрію.
2. У 2 пробірку наливають 1 мл води і гідроксиду натрію (1:1).

3. Пробірки нагрівають до кипіння і кип'ять (обережно) 1-2 хвилини.  
4. У обидві пробірки додають декілька крапель оцтовокислого свинцю  
Записати рівняння реакції Фолья на наявність сірковмісних амінокислот у яєчному білуксантопротеїнової реакції у вигляді схеми та доказати даним дослідом наявність ароматичних амінокислот в молекулі білка.

**Дослід 5 .Розділення суміші білків методом висолювання**

У пробірку наливають 2 мл розчину яєчного білка.

Додають 2 мл насиченого розчину сульфату амонію. У осад випадають глобуліни.

Вміст пробірок фільтрують.

До прозорого фільтрату додають кристалічний сульфат амонію до насичення їм розчину. У осад випадають альбуміни.

*Спостереження і висновок даного дослідю:* доказати висолювання білків – альбуміну і глобуліну 50% та 70-100% насиченням сульфатом амонію.

#### **Дослід 6. Теплова денатурація**

1. У 1 пробірку наливають 2 мл яєчного білка, в іншу - 2 мл молока.

2. Обидві пробірки нагрівають до кипіння.

*Записати, що теплова денатурація* білків звичайно супроводжується утворенням осаду, проте бувають виключення. Денатуровані білки молока в осад не випадають.

*Спостереження і висновок даного дослідю.* при тепловій денатурації білків утворюється осад і білок втрачає всі фізико-хімічні властивості, а білок молока не випадає в осад і при тепловій денатурації зберігає всі властивості.

#### **Дослід 7. Денатурація білків яйця і молока в ізоелектричному стані**

1. У 1 пробірку наливають 2 мл яєчного білка, в 2-у - 2 мл молока.

2. У обидві пробірки додають по 1 краплі 1%-го розчину оцтової кислоти і нагрівають.

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

*Записати, що* при підкисленні розчину білок переходить в ізоелектричний стан (ІЕС), який характеризується малою стійкістю в розчині і випадає в осад. Величина рН розчинів, при якій білок переходить в ІЕС, називається ізоелектричною крапкою (ІЕТ). ІЕТ яєчних білків рівна 4,6; ІЕТ казеїногена молока - 4,7; їх ізоелектричні крапки знаходяться в слабокислій зоні рН.

*Спостереження і висновок даного дослідю:* при ІЕС білок втрачає заряд і випадає в осад.

#### **Дослід 8 . Денатурація білків, викликана дією солей важких металів Денатурація білків, викликана дією мінеральних кислот**

1. У 2 пробірки наливають по 1 мл розчину яєчного білка.

2. У 1 пробірку додають 1-2 краплі розчину ацетату свинцю.

3. У 2-у - 1-2 краплі, розчину сульфату міді.

4. У 2 пробірки наливають по 2 мл розчину яєчного білка.

5. У 1 пробірку додають 1 краплю сірчаної кислоти, в 2-у - одну краплю нітратної кислоти

*Записати, що.* денатурації білків викликана дією солей важких металів дією та дією мінеральних кислот білок втрачає заряд і всі фізико-хімічні властивості.

### **Оформлення та порядок подання звіту лабораторної роботи**

Після виконання лабораторної роботи необхідно:

1 -З'ясувати основну мету та завдання даної лабораторної роботи, надати пояснення порядку та методики виконання кожного дослідю та висновки до них;

2. - в досліді 1 написати рівняння Нінгідринової реакції. Отримані результати оформити у вигляді таблиці. Спостереження і висновок даного дослідю: доказати на даному досліді, що до складу білка входять амінокислоти;

3. - в досліді 2 записати рівняння Біуретової реакції у вигляді схеми та доказати даним дослідом наявність пептидних зв'язків між амінокислотними залишками. Спостереження і висновок

даного дослідю навести приклад утворення пептидного зв'язку на прикладі поліпептиду амінокислот;

4. – в досліді 3 записати рівняння Ксантопротеїнової реакції та доказати даним дослідом наявність ароматичних амінокислот в молекулі білка. Спостереження і висновок даного дослідю навести приклад реакції з ароматичною амінокислотою – тирозином;

5.- в досліді 4 написати рівняння реакції Фоля на наявність сірковмісних амінокислот у яєчному білку. Спостереження і висновок даного дослідю:навести приклад трьохступеневої реакції з сірковмісною амінокислотою – цистеїном;

6. – в досліді 5. Спостереження і висновок даного дослідю: доказати висолування білків – альбуміну і глобуліну 50% та 70-100% насиченням сульфатом амонію

7. – в досліді 6. записати, що теплова денатурація білків звичайно супроводжується утворенням осаду, проте бувають виключення. Денатуровані білки молока в осад не випадають.

8. – в досліді 7. Спостереження і висновок даного дослідю: при ІЕС білок втрачає заряд і випадає в осад.

9. – в досліді 8. Записати, що. денатурації білків викликана дією солей важких металів дією та дією мінеральних кислот білок втрачає заряд і всі фізико-хімічні властивості.

### Рекомендовані джерела інформації

#### Основні

1. Губський Ю. І., Ніженковська І. В., Корда М. М. Біологічна хімія: підручник. Вінниця: Нова книга, 2021. 648 с.

2. Скляр О. Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т. І. Біологічна хімія: підручник Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. 706 с.

3. Крикунова В. Ю., Кулинич С. М. Петренко М.О. Біологія клітин. Основи біохімії та особливості метаболізму речовин: навчальний посібник. Полтава : Полтавський державний аграрний університет, 2023. 325с.

4. Сибірна Н. О., Гачкова Г. Я., Бродяк І. В. Функціональна біохімія: підручник Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. 644 с.

5. Shyian N. I., Kryvoruchko A. V., Stryzhak S. V., Krykunova V. Y., Antonets O. A. Structural and functional . model of the methodology for preparing future chemistry teachers for the use of cloud technologies in professional activities. *Periódico Tchê Química*. 2020. Vol. 17 (34). P. 856–866.

#### Допоміжні

1. Скоробагатова З.М., Сташкевич М.А., Матвієнко А.Г. Біохімія: навчальний посібник. К.: Біокомполіт, 2019. 148 с.

2. Скоробагатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. К.:Академперіодика; 2017. 76 с.

3. Корзун В. Н. Гігієна харчування : підручник. Київ: Київський національний торговельно-економічний університет, 2013. 236 с.

4. Сибірна Н. О., Гончар М.В., Бродяк І.В. Хімія білка : підручник. Львів: ДНУ імені Івана Франка, 2010. 393 с.

#### Інформаційні ресурси

1.<http://uk.wikipedia.org/wiki> <http://elibrary.nubip.edu.ua> <http://thinbook.org/book>

2.<http://www.youtube.com> [http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/edu\\_physical.html](http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/edu_physical.html) 3.Popular Biochemistry Books. URL: <https://www.goodreads.com/shelf/show/biochemistry>

## Тема 4. Нуклеїнові кислоти ДНК і РНК. Будова нуклеотидів, їх структурна організація. Фізико-хімічні властивості НК.

### Лабораторна робота № 3.

## Визначення біохімічного складу нуклеопротейдів дріжджів.

**Мета та завдання лабораторної роботи:** опанувати методикою кількісного і якісного аналізу визначенні вмісту НК у дріжджах, з'ясувати фізико-хімічні властивості ДНК та РНК, їх синтез та бмін; опанувати методами обробки дослідних даних, вміти зіставляти і аналізувати результати дослідів та робити відповідні висновки.

**Методи навчання:** за джерелом знань; *словесні методи:* 1) *наочні методи:* 1) демонстрування, 2) спостереження *практичні методи:* 1) лабораторна робота, 2) конспектування. За ступенем керівництва: робота під керівництвом викладача: 1) самостійна робота.

**Перелік спеціального обладнання та устаткування, необхідного для виконання лабораторної роботи :** пробірки, скляні палички, фарфорова ступка, скляний пісок, центрифужні пробірки. Реактиви: 0,1%-розчини NaOH. Оцтова кислота. Дріжджі.

### Питання теоретичного контролю

1. Біологічна роль білків, їх вміст в різних природних джерелах тваринного і рослинного походження.
2. Будова ДНК і РНК,
3. Склад нуклеотидів, азотисті основи.
4. Біосинтез білків - місце біосинтезу і основні етапи.
5. Транскрипція - де відбувається, які чинники беруть участь?
6. Реконгінація - де відбувається, які потрібні умови?
7. Трансляція - де відбувається, за участю яких чинників?
8. Поняття про кодони, гени, цистронах, антикодонах.
9. Теорії регуляції біосинтезу білків.
10. Роль іРНК в біосинтезі білків.

### Короткий теоретичний коментар до теми

Для вивчення хімічного складу нуклеопротейнів зручно користуватися клітинами дріжджів. При недовготривалому гідролізі маси дріжджів або видалення з неї нуклеопротейнів останні розпадаються на поліпептиди, пуринові і піримідинові основи, рибозу і дезоксирибозу і фосфорну кислоту. Продукти гідролізу можуть бути знайдені в гідролізаті специфічними для кожної речовини реакціями. Нуклеїнові кислоти – це речовини білого кольору, волокнистої будови, погано розчинні у воді. їх солі (лужних металів) добре розчинні у воді. Нуклеїнові кислоти розчиняються також у розчинах солей: РНК – у розбавлених, а ДНК – у більш концентрованих. Оскільки молекули нуклеїнових кислот асиметричні, то їх розчини мають високу *в'язкість*. В'язкість розчинів нуклеїнових кислот використовується для характеристики дволанцюгових ДНК, зокрема їх молекулярної маси. Так, відносна в'язкість 0,01%-го розчину ДНК з молекулярною масою  $(5-10) \cdot 10^6$  близька до 1,5. Таку ж приблизно в'язкість мають розчини ДНК, в яких концентрація нуклеїнової кислоти в п'ять разів більша, а молекулярна маса значно менша –  $0,3 \cdot 10^6$ . Руйнування водневих зв'язків у ДНК і розкладання її на два полінуклеотидні ланцюги приводить до зниження в'язкості розчинів. Для нуклеїнових кислот характерна також висока *оптична активність*. Їх розчини здатні обертати площину поляризації світла вправо на певний кут (позначається знаком плюс). Він помітно зменшується по мірі зменшення ступеня впорядкованості полінуклеотидних ланцюгів. Так, питома активність розчинів біспіральної ДНК дорівнює 150. Для розчинів мономерних нуклеотидів, одностанцюгових РНК і ДНК при тій же довжині хвилі питома активність у 4 – 6 разів менша. Отже, даний показник є важливим критерієм наявності в нуклеїнових кислотах спіральних і дволанцюгових ділянок.

Усі нуклеїнові кислоти мають здатність *поглинати світло* в ультрафіолетовій області з максимумом 260 нм. Порушення нативності нуклеїнових кислот супроводжується підвищенням поглинання світла, тобто має місце так званий гіпохромний ефект. Він залежить від, вмісту в складі нуклеїнових кислот азотистих пар– А–Т. Гіпохромний ефект найбільш характерний для дволанцюгових нуклеїнових кислот, зокрема ДНК. Наявність гіпохромності є однією з важливих ознак утворення дволанцюгових, спіралізованих ділянок у нуклеїнових кислотах. Одноланцюгові нуклеїнові кислоти, в яких спіралізація нуклеотидних ланцюгів незначна, мають гіпохромний ефект дуже малої величини. В зв'язку з цим гіпохромний ефект використовується при вивченні процесів денатурації і ренатурації нуклеїнових кислот, утворенні гібридних спіралей ДНК– РНК тощо.

*Денатурація і ренатурація нуклеїнових кислот.* Нуклеїнові кислоти мають здатність до денатурації. Даний процес полягає в розриві водневих і вандерваальсових зв'язків, в деспіралізації та розходженні полінуклеотидних ланцюгів ДНК і двоспіральних ділянок молекул РНК. Денатурацію нуклеїнових кислот можуть викликати кислоти, луги, спирти тощо. Внаслідок денатурації кожний із полінуклеотидних ланцюгів молекули нуклеїнової кислоти набуває форми клубка, скрученого безладно. Тому даний процес ще називають переходом спіраль– клубок.

Денатурація нуклеїнових кислот супроводжується зміною цілого ряду їх фізичних властивостей. Так, підвищується поглинання світла в області 260 нм, зменшуються в'язкість розчинів і кут обертання площини поляризації. Під час денатурації нуклеїнових кислот настає такий момент, коли кількість спіралізованих ділянок дорівнює кількості неспіралізованих

## **Порядок та методика виконання завдань**

### **Дослід 1. Вилучення нуклеопротеїнів дріжджів**

У фарфорову ступку поміщають 1 г дріжджів. Додати 1 каплю ефіру, 2 каплі дистильованої води, близько 0,1 г стекляного піску. Дріжджову масу розітерти пестиком 1-2 хвилини для руйнування клітин. В ступку додати 4 мл 0,4% розчину їдкого натрію і розтирання продовжувати протягом 5 хвилин. Вміст ступки піпеткою перенести в центрифужну пробірку, врівноважити на вагах з другою пробіркою і центрифугувати на протязі 10 хвилин. Надоосадову рідину перенести піпеткою у стакан з 80-90мл води, підкисленою до рН = 4,5 оцтової кислоти. Осад, що випав (РНК-протеїна) відділяють центрифугуванням. Записати будову пуринових і піримідинових основ та будову ДНК і РНК.

*Спостереження і висновок даного дослідю.* Доказати на даному досліді, що до складу дріжджів входять нуклеїнові кислоти, обґрунтувати творення осадів.

### **Оформлення та порядок подання звіту лабораторної роботи**

Після виконання лабораторної роботи необхідно:

- 1-здобувачем вищої освіти пояснити основну мету та завдання даної лабораторної роботи,
- 2- Доказати на даному досліді, що до складу дріжджів входять нуклеїнові кислоти,
- 3- дати чітку і повну відповідь на теоретичні питання, поставлені викладачем за даною темою.

## **Рекомендовані джерела інформації**

### **Основні**

1. Губський Ю. І., Ніженковська І. В., Корда М. М. Біологічна хімія: підручник. Вінниця: Нова книга, 2021. 648 с.
2. Скляр О. Я., Фаргушок Н.В., Бондарчук Т. І. Біологічна хімія: підручник Тернопіль: Укрмедкнига, 2020.706 с.
3. Крикунова В. Ю., Кулинич С. М. Петренко М.О. Біологія клітин. Основи біохімії та особливості метаболізму речовин: навчальний посібник. Полтава : Полтавський державний аграрний університет, 2023. 325с.

4. Сибірна Н. О., Гачкова Г. Я., Бродяк І. В. Функціональна біохімія: підручник Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. 644 с.
5. Shyian N. I., Kryvoruchko A. V., Stryzhak S. V., Krykunova V. Y., Antonets O. A. Structural and functional . model of the methodology for preparing future chemistry teachers for the use of cloud technologies in professional activities. Periódico Tchê Química. 2020. Vol. 17 (34). P. 856–866.

## Тема 5. Гормональна регуляція метаболізму в організмі тварин.

### Класифікація гормонів. Значення гормонів в організмі тварин.

#### Лабораторна робота № 4 . Якісні реакції на гормон адреналін.

**Мета та завдання лабораторної роботи:** здобувачі вищої освіти повинні набути навички у підтвердженні експериментом теоретичних положень і законів; закріпити теоретичні знання з розділу "Гормони", опанувати методику якісного визначення гормонів на прикладі адреналіну; механізми його дії на клітину-мішень, синтез та будову. На прикладі адреналіну з'ясувати його фізико-хімічні властивості; опанувати методи обробки дослідних даних, вміти зіставляти і аналізувати результати дослідів та робити відповідні висновки.

**Методи навчання:** за джерелом знань;*словесні методи:* 1) *наочні методи:* 1) демонстрування, 2) спостереження *практичні методи:* 1) лабораторна робота, 2) конспектування. За ступенем керівництва: робота під керівництвом викладача: 1) самостійна робота.

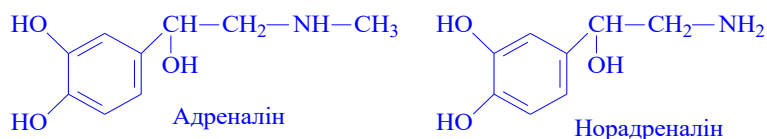
**Перелік спеціального обладнання та устаткування, необхідного для виконання лабораторної роботи :** пробірки, скляні палички, пальне, пробіркотримач, водяна баня. Реактиви: 0,1%-розчини йоду. 1%-розчини  $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{FeCl}_3$ . 5%-розчини  $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ . 10%-розчини  $\text{NaOH}$ . 30%-розчини  $\text{NaOH}$ . Розчини адреналіну.

#### Питання теоретичного контролю

1. Роль гормонів у підтримці гомеостазу в організмі;
2. Роль гормонів у регулюванні біохімічних процесів.
3. Будова і біохімічна роль гормонів-білків, гормонів -пептидів.
4. Будова і біохімічна роль гормонів - похідних амінокислот.
5. Основні види гормонів за біохімічними діями та функціями.
6. Синтез адреналіну та роль його в обміні білків, вуглеводів, ліпідів.
7. Гормони, що регулюють водно-сольовий обмін в організмі.
8. Гормони, що регулюють обмін іонів кальцію і фосфатів в організмі.
9. Гормони, що регулюють репродуктивну функцію в організмі.
10. Гормони, що регулюють функції ендокринних залоз.

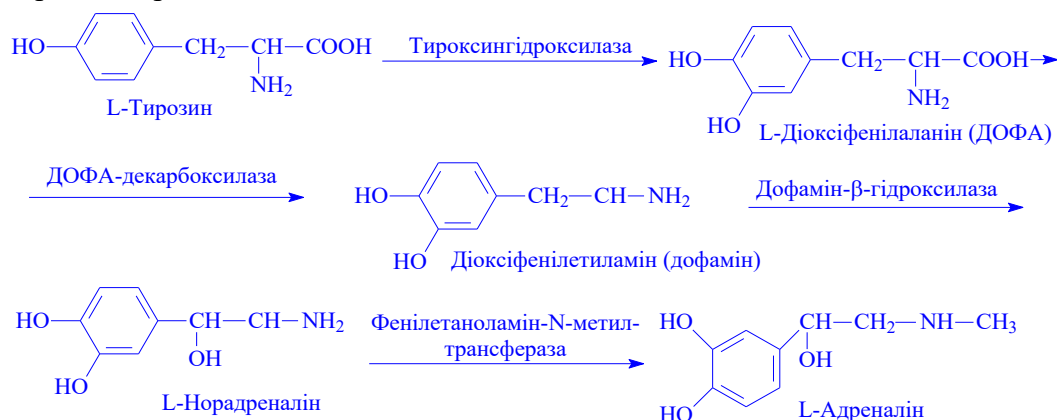
#### Короткий теоретичний коментар до теми

Хімічна природа. Гормони є похідними діоксibenзола (катехола або пірокатехіна). Їх називають катехоламінами:



В органах і тканинах, особливо в наднирниках і симпатичній нервовій системі, міститься L-адреналін, який у 15 – 40 разів активніший за D-адреналін. Адреналін – кристалічна речовина білого кольору, гірка на смак, погано розчиняється у воді, оптично активна, нестійка, легко вступає в реакції окислення і заміщення.

**Біосинтез.** Основна маса обох гормонів синтезується в округлих або багатокутних клітинах мозкової речовини наднирників, частина – в симпатичних відділах нервової системи, оскільки ці гормони виконують функції медіаторів нервового збудження. Джерелом біосинтезу гормонів є амінокислота L-тирозин. В цих процесах бере участь ряд ферментів, АТФ, холін. Утворення гормонів протікає стадійно:



Остання реакція регулюється АКТГ і гормонами кори наднирників. У організмі адреналін і норадреналін знаходяться у вільному і зв'язаному стані.

**Метаболізм.** Синтезовані гормони поступають у кровоносну систему. Деякі гормони зв'язуються з білками крові, інші депонуються у вигляді солей з АТФ в симпатичних нервових закінченнях. Після виконання своїх функцій основна маса гормонів інактивується і виділяється з організму. Частина гормонів взаємодіє в печінці з сірчаною і оцтовою кислотами, утворюючи ефіри, які виділяються з сечею. Основна маса їх піддається складним перетворенням, у результаті яких утворюється меланін, або меланоїдний пігмент, який і видаляється з організму. Значна кількість гормонів інактивується метилюванням і дезамінуванням з утворенням продуктів, які у вигляді парних сполук з сірчаною і глюкуроновою кислотами виводяться з сечею з організму.

**Біологічна дія.** Молекула гормону з кровоносного русла поступає в міжклітинну рідину, а з неї – на поверхню клітини-мішені. Тут молекула адреналіну, як і інших гормонів, взаємодіє з рецепторами клітини, розміщеними на її поверхні. Рецептори взаємодіють з ферментом аденілатциклазою, яка знаходиться в неактивній формі. Під впливом ферменту з АТФ утворюється цАМФ. Він і є посередником між гормоном і відповідним ферментом. Якщо субстратом виявляється глікоген, через цАМФ гормон діє на молекулу неактивної фосфорилази, перетворюючи її на активну форму. Активна фосфорилаза і здійснює фосфороліз глікогену, перетворюючи його в глюкозо-1-фосфат.

. Дія адреналіну виявляється в дозах 0,0001– 0,00001 мг на 1 кг живої маси. При цьому підвищується кров'яний тиск, частішає і посилюється серцебиття, швидшає ритм дихання, сповільнюється перистальтика кишківника, збільшується температура тіла та ін. Адреналін підвищує тиск систоли, норадреналін – систоли і діастоли. Норадреналін не впливає на прискорення пульсу і не посилює споживання тканинами кисню.

Фізіологічна дія гормонів пов'язана з їх взаємодією з адренорецепторами. α-Адренорецептори пов'язані із збудженням, а β-адренорецептори – з гальмуванням скорочень м'язових волокон гладеньких м'язів, частішанням і посиленням серцевих скорочень.

**Патологія.** Мозкова речовина наднирників вражається при багатьох інфекційних, незаразних і інвазивних хворобах, новоутвореннях, травмах і інших патологічних процесах. Атрофується хромафінна тканина, зменшується виділення гормонів, що призводить до гальмування всіх хімічних реакцій, в яких беруть участь катехоламіни. Іноді настає гіперфункція мозкової речовини, коли вона вражається симпатикобластою. Виникає надлишок гормонів і їх попередників, посилюються реакції обміну, в яких беруть участь адреналін і норадреналін. Виникає гіпертонія (з тахікардією), гіперглікемія, глюкозурія, розвивається атеросклероз,

нефрит, порушується мозковий кровообіг, гальмується діяльність кори наднирників, може наступити смерть.

*Застосування.* Препарати гормонів застосовують при серцево-судинній недостатності, шоках, електротравмі, гіпоглікемічній комі, лікуванні бронхіальної астми. Застосування препаратів гормонів протипоказано при органічних ураженнях серця і високому кров'яному тиску.

## **Порядок та методика виконання завдань**

### **Дослід 1. Реакція адреналіну з йодом**

1. У 1 пробірку налити 1-2 мл води.
2. У іншу - 1-2 мл адреналіну.
3. У обидві пробірки додати по 2 краплі розчину йоду.
4. Пробірки злегка підігріти.
5. Спостерігаємо за зміною забарвлення.

Привести рівняння реакції: Записати будову та синтез адреналіну.

*Спостереження і висновок даних дослідів.* Доказати на даному досліді, адреналін здатний легко окислюватися з утворенням ряду біологічно активних з'єднань. При нагріванні розчину адреналіну з йодом утворюються продукти окислення адреналіну, забарвлені в червоний колір що доскладу дріжджів входять нуклеїнові кислоти, обґрунтувати творення осадів.

### **Дослід 2. Якісна реакція на адреналін з хлоридом заліза (III)**

У пробірку внести 1 мл розчину адреналіну.

Додати краплю розчину  $FeCl_3$ . Перемішати. Відмітити забарвлення, що з'являється. Потім до суміші додати краплю розчину луґу.

Спостерігати за зміною забарвлення. Привести рівняння реакції:

*Спостереження і висновок даних дослідів.* Внаслідок додавання до розчину адреналіну хлориду заліза (III) рідина забарвлюється в смарагдово-зелений колір за рахунок утворення комплексної сполуки типу феноляту заліза. Адреналін має слабколужну реакцію й легко окислюється на повітрі з утворенням адренохрому, що супроводжується забарвленням розчину в червоний колір.

## **Оформлення та порядок подання звіту лабораторної роботи**

Після виконання лабораторної роботи необхідно:

- 1-здобувачем вищої освіти пояснити основну мету та завдання даної лабораторної роботи,
  - 2- в досліді 1 привести рівняння реакції: записати будову та синтез адреналіну надати пояснення порядку та методики виконання кожного дослідів та висновки до них,
  - 3- в досліді 2 записати утворення комплексної сполуки типу феноляту заліза. Адреналін має слабколужну реакцію й легко окислюється на повітрі з утворенням адренохрому, що супроводжується забарвленням розчину в червоний колір.
- дати чітку і повну відповідь на теоретичні питання, поставлені викладачем за даною темою.

## **Рекомендовані джерела інформації**

### **Основні**

1. Губський Ю. І., Ніженковська І. В., Корда М. М. Біологічна хімія: підручник. Вінниця: Нова книга, 2021. 648 с.
2. Складар О. Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т. І. Біологічна хімія: підручник Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. 706 с.
3. Крикунова В. Ю., Кулинич С. М. Петренко М.О. Біологія клітин. Основи біохімії та особливості метаболізму речовин: навчальний посібник. Полтава : Полтавський державний аграрний університет, 2023. 325с.
4. Сибірна Н. О., Гачкова Г. Я., Бродяк І. В. Функціональна біохімія: підручник Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. 644 с.

5. Shyian N. I., Kryvoruchko A. V., Stryzhak S. V., Krykunova V. Y., Antonets O. A. Structural and functional . model of the methodology for preparing future chemistry teachers for the use of cloud technologies in professional activities. *Periódico Tchê Química*. 2020. Vol. 17 (34). P. 856–866.

Інформаційні ресурси

1. <http://uk.wikipedia.org/wiki>      <http://elibrary.nubip.edu.ua>      <http://thinbook.org/book>  
2. <http://www.youtube.com>      [http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/edu\\_physical.html](http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/edu_physical.html)      3. Popular Biochemistry Books. URL: <https://www.goodreads.com/shelf/show/biochemistry>

## **Тема 6. Вітаміни як біологічно активні речовини, значення їх для росту та розвитку тваринного організму. Класифікація та особливості будови.**

### **Лабораторна робота №5. Якісні реакції на водо-та жиророзчинні вітаміни.**

**Мета та завдання лабораторної роботи:** закріпити теоретичні знання здобувачами вищої освіти з розділу "Вітаміни", познайомити з методикою якісного визначення вітамінів; з'ясувати основні фізико-хімічні властивості вітамінів як коферментів для синтезу ферментів, вміст їх у кормах та продуктах харчування, значення їх для росту і розвитку організму тварин. З'ясувати основні експрес-методи визначення кількісного та якісного вмісту каротину і вітаміну А, В<sub>2</sub> в окремих тканинах та овочах.

**Методи навчання:** за джерелом знань; *словесні методи:* 1) *наочні методи:* 1) демонстрування, 2) спостереження *практичні методи:* 1) лабораторна робота, 2) конспектування. За ступенем керівництва: робота під керівництвом викладача: 1) самостійна робота.

**Перелік спеціального обладнання та устаткування, необхідного для виконання лабораторної роботи :** пробірки, скляні палички, пальне, пробіркотримач, термостат. Реактиви: 1%-розчин FeCl<sub>3</sub>. CH<sub>3</sub>COOH насичений H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Концентровані кислоти HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Риб'ячий жир в хлороформі, масляний розчин vit. А. Спиртовий розчин vit. Е, α-токоферол. 0,1%-розчин аскорбінова кислота, 2,6-дихлорфеноліндофеол. 0,01%-розчин метиленовий синій, 1%-розчини FeCl<sub>3</sub>, K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]. 10%-розчини HCl, Zn металічний.

#### **Питання теоретичного контролю**

1. Загальні властивості вітамінів.
2. Біологічна цінність вітамінів. Фізико-хімічні властивості вітамінів.
3. Гіповітаміноз, авітаміноз, гіпервітаміноз.
4. Класифікація вітамінів, номенклатура.
5. Жиророзчинні вітаміни та їх фізико-хімічні властивості.
6. Водорозчинні вітаміни та їх фізико-хімічні властивості.
7. Коферментні властивості вітамінів на прикладі водорозчинних: В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>.
8. Навести приклад реакцій з участю кофакторів НАД та ФМН.
9. Вітаміноподібні речовини

#### **Короткий теоретичний коментар до теми**

**Вітаміни** - це група низькомолекулярних органічних речовин, необхідних для існування живого організму в незначально малих кількостях у порівнянні з основними продуктами харчування. Вітамінами в даний час називається група речовин різноманітної хімічної природи, що характеризуються нижченаведеними загальними властивостями:

1. Біосинтез вітамінів здійснюється в основному поза організмом людини і тварин. Тому вони одержують вітаміни головним чином з їжею.

2. Вони не є джерелами енергії або пластичного матеріалу.
3. Вітаміни біологічно активні в дуже малих кількостях і у край необхідні для всіх життєвих процесів.
4. При попаданні до кровоносного русла вітаміни впливають на біохімічні процеси, що протікають в різних тканинах і органах.
5. Недостатнє надходження в організм окремих вітамінів або порушення їх засвоєння веде до розвитку патологічних процесів у вигляді специфічних *гіпо-* і *авітамінозів*.

Першоджерелом вітамінів є головним чином рослини. Людина і тварини одержують вітаміни з рослинною їжею або побічно – через продукти тваринного походження: молоко, м'ясо, яйця. Частково потреба тварин у вітамінах, особливо у дорослих жуйних, задовольняється в результаті синтезу мікроорганізмами в харчовому каналі деяких вітамінів з більш простих сполук.

Тварини-копрофаги (наприклад, кролики) можуть одержувати деякі вітаміни, поїдаючи власний кал, в якому містяться вітаміни, що синтезуються мікробами товстої кишки. Відсутність вітамінів у раціоні або порушення процесів їх засвоєння призводить до авітамінозів, недостатнє надходження в організм вітамінів – до гіповітамінозу, надлишок вітамінів у раціоні – до гіпервітамінозів. Це негативно позначається на багатьох реакціях обміну речовин, призводить до уповільнення процесів росту і розвитку людини і тварин. Зниженню рівня продуктивності і зменшенню опірності організму до різних інфекційних та неінфекційних захворювань.

Вітаміни є регуляторами обміну речовин. З багатьох вітамінів в організмі утворюються ферменти – активні речовини, за допомогою яких здійснюються хімічні реакції обміну речовин. Явища гіпо- і авітамінозів можуть бути викликані присутністю в раціоні антивітамінів – структурних аналогів вітамінів: вони витісняють вітаміни з відповідних реакцій обміну речовин, але не здатні виконувати їх функції. Крім того, роль антивітамінів можуть виконувати сполуки, які інактивують вітаміни, розщеплюючи їх на прості речовини, або утворюють з вітамінами хімічно неактивні комплекси.

Основна їх кількість надходить в організм з їжею, і лише деякі синтезуються мікроорганізмами в кишечнику. Вітаміни є обов'язковими компонентами ферментних систем і гормонів, в тому числі тканинних гормонів, вони забезпечують нормальне функціонування нервової системи, м'язів та інших органів.

Від рівня вітамінної забезпеченості харчування залежить рівень розумової і фізичної дієздатності, витривалості й опірності організму. Порушення нормального перебігу життєво важливих процесів в організмі через тривалу відсутність у раціоні того чи іншого вітаміну призводить до виникнення важких захворювань, відомих під загальною назвою гіповітамінози або авітамінози. Іноді авітамінози або гіповітамінози можливі внаслідок захворювань, коли порушується всмоктування вітаміну або його посилене руйнування в шлунково-кишковому тракті.

*Гіповітаміноз* може розвинутися при посиленій фізичній чи розумовій роботі, при дії на організм несприятливих факторів (переохолодження, стрес тощо), при фізіологічних станах, (вагітність, годування дитини). Приймання вітамінів слід проводити в суворій відповідності з рекомендаціями або під контролем медичних працівників.

*Надлишкове споживання* харчових продуктів, надзвичайно багатих вітамінами, або самостійний надмірний прийом вітамінних препаратів можуть призвести до гіпервітамінозів. На сьогодні відомо і вивчено до 30 вітамінів, а для забезпечення здоров'я людини необхідно близько 20 із них. На основі властивостей вітамінів і їх розповсюдження в природних продуктах ці сполуки прийнято ділити на *водорозчинні вітаміни* (С, В1, В2, В6, РР, В12, Вс, Р, В3, Н), *жиророзчинні вітаміни* (А, D, Е, К) і вітаміноподібні речовини (В4, В8, U, F, N, В13, В15).

**Фізіологічні норми добової потреби окремих вітамінів.** Кількість окремих вітамінів, яка необхідна для забезпечення фізіологічних функцій організму, коливається в значних межах. Потреба людини в тій або іншій кількості вітамінів залежить як від стану організму, так і від умов зовнішнього середовища. Фізична напруга і розумова робота супроводжуються

підвищеною витратою ряду вітамінів. Змінюють потребу людини у вітамінах також характер живлення і кліматичні умови.

## Порядок та методика виконання завдань

### Дослід 1. Якісні реакції на вітамін А

У пробірку налити дві-три краплі розчину риба'ячого жиру в хлороформі або масляного розчину вітаміну А в хлороформі.

Додати п'ять-десять крапель льодяної оцтової кислоти насиченої сульфатом заліза (II) і одну-дві краплі концентрованої сірчаної кислоти.

*Записати будову вітамінів А*

*Спостереження і висновок даних досліду.* Утворюється зелено-смагадковий колір розчину

### Дослід 2. Якісні реакції на вітамін Е

а). Реакція з азотною кислотою

1. В суху пробірку вносять п'ять крапель спиртового розчину вітаміну Е.

2. Додати 1 мл концентрованої  $\text{HNO}_3$ .

3. Інтенсивно перемішати.

3. Спостерігати зміну забарвлення.

б). Реакція з хлорним залізом

У суху пробірку вносять 0,5 мл спиртового розчину  $\alpha$ -токоферолу.

Додати 0,5 мл розчину  $\text{FeCl}_3$ .

Інтенсивно перемішують.

*Записати хімічну будову вітамінів. Спостереження і висновок даних досліду.* утворюється зелено-смагадковий колір розчину. Взаємодія  $\alpha$ -токоферолу з концентрованою азотною кислотою зумовлює забарвлення реакційної суміші в червоний колір. Це спричинено тим, що продукт окислення  $\alpha$ -токоферолу має хіноїдну структуру. Під час взаємодії з хлорним залізом (III)  $\alpha$ -токоферол окислюється до  $\alpha$ -токоферолхінону – сполука червоного кольору.

Взаємодія  $\alpha$ -токоферолу з концентрованою азотною кислотою зумовлює забарвлення реакційної суміші в червоний колір. Це спричинено тим, що продукт окислення  $\alpha$ -токоферолу має хіноїдну структуру. Під час взаємодії з хлорним залізом (III)  $\alpha$ -токоферол окислюється до  $\alpha$ -токоферолхінону – сполука червоного кольору.

### Дослід 3. Реакції відновлення рибофлавіну (вітамін В<sub>2</sub>)

В пробірку вливають 1 мл розчину вітаміну В<sub>2</sub>, 0,5 мл концентрованої соляної кислоти й кидають грудочку металічного цинку.

Водень, що виділяється, реагує з рибофлавіном відновлюючи його. Рідина в пробірці поступово забарвлюється в рожевий колір, а потім знебарвлюється.

1. Під час збовтування знебарвлений розчин лейкофлавіну знову окислюється киснем повітря на рибофлавін.

*Записати будову вітамінів В<sub>2</sub>. Спостереження і висновок даних досліду.* Під час змішування металічного цинку з концентрованою соляною кислотою утворюється водень, який відновлює жовтий рибофлавін спочатку на родофлавін (проміжне сполучення) червоного кольору, а потім на безбарвний лейкофлавін.

## Оформлення та порядок подання звіту лабораторної роботи

Після виконання лабораторної роботи необхідно:

1. – в досліді *Записати будову вітамінів А. Спостереження і висновок даних досліду.* Утворюється зелено-смагадковий колір розчину;

2. – в досліді 2 записати: взаємодія  $\alpha$ -токоферолу з концентрованою азотною кислотою зумовлює забарвлення реакційної суміші в червоний колір. Це спричинено тим, що продукт окислення  $\alpha$ -токоферолу має хіноїдну структуру. Під час взаємодії з хлорним залізом (III)  $\alpha$ -токоферол окислюється до  $\alpha$ -токоферолхінону – сполука червоного кольору.

Записати будову вітамінів6, B<sub>2</sub>

3. – в досліді 3: під час змішування металічного цинку з концентрованою соляною кислотою утворюється водень, який відновлює жовтий рибофлавін спочатку на родофлавін (проміжне сполучення) червоного кольору, а потім на безбарвний лейкофлавін.

4. Написати структурні формули НАД, ФМН, HS-CoAm дії, привести приклад реакцій.

## Рекомендовані джерела інформації

### Основні

1. Губський Ю. І., Ніженковська І. В., Корда М. М. Біологічна хімія: підручник. Вінниця: Нова книга, 2021. 648 с.

2. Складар О. Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т. І. Біологічна хімія: підручник Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. 706 с.

3. Крикунова В. Ю., Кулинич С. М. Петренко М.О. Біологія клітин. Основи біохімії та особливості метаболізму речовин: навчальний посібник. Полтава : Полтавський державний аграрний університет, 2023. 325с.

4. Сибірна Н. О., Гачкова Г. Я., Бродяк І. В. Функціональна біохімія: підручник Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. 644 с.

5. Shyian N. I., Kryvoruchko A. V., Stryzhak S. V., Krykunova V. Y., Antonets O. A. Structural and functional . model of the methodology for preparing future chemistry teachers for the use of cloud technologies in professional activities. Periódico Tchê Química. 2020. Vol. 17 (34). P. 856–866.

### Допоміжні

1. Скоробагатова З.М., Сташкевич М.А., Матвієнко А.Г. Біохімія: навчальний посібник. К.: Біокомполіт, 2019. 148 с.

2. Скоробагатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. К.:Академперіодика; 2017. 76 с.

3. Корзун В. Н. Гігієна харчування : підручник. Київ: Київський національний торговельно-економічний університет, 2013. 236 с.

4. Сибірна Н. О., Гончар М.В., Бродяк І.В. Хімія білка : підручник. Львів: ДНУ імені Івана Франка, 2010. 393 с.

### Інформаційні ресурси

1. <http://uk.wikipedia.org/wiki> <http://elibrary.nubip.edu.ua> <http://thinbook.org/book>

2. <http://www.youtube.com> [http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/edu\\_physical.html](http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/edu_physical.html) 3. Popular Biochemistry Books. URL: <https://www.goodreads.com/shelf/show/biochemistry>

## Тема 7. Ферменти. Загальна характеристика. Хімічна природа ферментів. Класифікація і номенклатура ферментів.

### Лабораторна робота № 6 Специфічність дії амілази слини та сукцинатдегідрогенази (СДГ).

**Мета та завдання лабораторної роботи:** закріпити теоретичні знання здобувачами вищої освіти з розділу "Ферменти", ознайомитись з основними методиками якісного аналізу при визначенні вмісту ферментів на прикладі сукценатдегідрогенази у м'язях тварин, особливістю будови каталітичного центру, рН- та температурними оптимумами, енергією активації, класифікацією; визначати активність ферментів і вплив на них умов зовнішнього середовища.

**Методи навчання:** за джерелом знань; *словесні методи:* 1) *наочні методи:* 1) демонстрування, 2) спостереження *практичні методи:* 1) лабораторна робота, 2) конспектування. За ступенем керівництва: робота під керівництвом викладача: 1) самостійна робота.

**Перелік спеціального обладнання та устаткування, необхідного для виконання лабораторної роботи:** пробірки, скляні палички, пальне, водяна баня, термостат. Реактиви: 0,001н-розчини 2,6-дихлорфеноліндофенол. 0,1%-розчини NaOH, розчин йоду. 0,2%-розчини розчин крохмалю. 0,5%-розчини сахароза, р-н слини 1%-розчини NaCl, CuSO<sub>4</sub>. 5%-розчини янтарна кислота. Фосфатний буфер із рН=7,4. Реактив Фелінга I і II. Тканина (поперечносмугасті м'язи).

### Питання теоретичного контролю

1. Ферменти: визначення, розповсюдження, хімічна природа, відмінність від мінеральних каталізаторів.
2. У чому суть впливу ферментів на субстрати?
3. Теорії каталітичної дії ферментів (адсорбційна і утворення фермент-субстратних комплексів).
5. Будова ферментів - холоферменти, апоферменти, коферменти.
6. Які вам відомі коферменти, їх хімічна будова?
7. Навести формули ТПФ, ФАД, HS-КоА, НАД, піридоксальфосфата.
8. Загальні властивості ферментів - термолабільність, чутливість до рН, специфічності і її видів.
9. Інгібітори (паралізатори) і активатори ферментів.
10. Каталітичні центри ферментів, як вони утворюються? На якому рівні структурної організації ферменти проявляють активність? Чому?
11. Чому із зміною температури і рН середовища ферменти втрачають активність?
12. Принцип класифікації ферментів. Основні класи ферментів.
13. Роль дегідрогеназ у метаболічних процесах. Дихальний ланцюг у мітохондріях савців.

### Короткий теоретичний коментар до теми

*Білкова природа ферментів.* Всі ферменти є простими або складними білками. Наприклад, до простих білків відносяться ферменти трипсин, уреаза й ін., до складних – каталаза, ферменти, що каталізують окисно-відновні процеси й ін.

*Термолабільність і температурний оптимум дії ферментів.* Фермент – термолабільні сполуки. При дії високих температур вони денатуруються, що призводить спочатку до зменшення, а потім і до припинення каталітичних функцій. Температурний оптимум дії більшості ферментів тварин знаходиться в межах температури тіла – 37– 40°C. Виключенням є папаїн, найбільша активність каталітичної дії якого виявляється при 80°C, і каталаза, температурний оптимум дії якої лежить між 0 і 10°C. При підвищенні температури середовища на 10°C швидкість реакції зростає в 1,5 – 3 рази (правило ле Шательє) приблизно в межах від 0 до 25°C; потім поволі підвищується і після 40°C починає зменшуватися (рис. 2). При температурі 80 – 100°C ферменти втрачають свою каталітичну здатність, оскільки настає денатурація білкової молекули. Ферменти в розчиненому стані більш чутливі до нагрівання, ніж в сухому. Відомі ферменти, які можуть короткочасно переносити температуру +100°C (аденілаткіназа). З пониженням температури швидкість ферментативних реакцій поступово зменшується, досягаючи мінімуму при 0°C. Деякі ферменти в сухому стані витримують охолодження до –120–190°C. При поступовому підвищенні температури до +37°C їх активність відновлюється. Ця властивість використовується при зберіганні сперми для штучного запліднення тварин.

*Вплив реакції середовища на активність ферментів.* Кожний фермент проявляє максимальну для нього каталітичну дію при певному значенні рН, яке називається *pH-оптимумом*. Так, для пепсину рН-оптимум рівний 1,5– 2,5, катепсина– 4,5 – 5,0, карбоксилази– 4,8, уреазі– 7,2– 8,0, трипсину– 7,5– 9,5 і т.д. Більшість ферментів проявляє максимальну каталітичну активність при рН = 7. Зміни рН уповільнюють або припиняють дію ферментів. Вплив рН на активність ферментів пояснюється структурою їх молекул. Молекула ферменту має один або декілька активних центрів, в яких сконцентровані функціональні групи білків. Ступінь їх іонізації залежить від рН середовища.

*Специфічність дії ферментів.* Кожний фермент діє на певний субстрат або групу речовин, схожих за своєю будовою. Специфічність дії ферментів пояснюється подібністю просторових конфігурацій активного центру ферменту і субстрату, їх хімічною спорідненістю, що призводить до утворення фермент-субстратного комплексу і здійснення каталітичного процесу. Без специфічності ферментів був би неможливий впорядкований ланцюг реакцій обміну речовин.

Розрізняють *індивідуальну* (абсолютну і стереохімічну) і *групову* (абсолютну і відносну) специфічність ферментів. Ферменти, які каталізують лише одну реакцію і діють на один точно визначений субстрат, мають *абсолютну індивідуальну специфічність*. Абсолютною специфічністю володіє уреаз, яка розщеплює сечовину на аміак і вуглекислий газ:

Ферменти володіють високою специфічністю дії, забезпечуючи цим протікання з великою швидкістю лише певних реакцій з величезної різноманітності можливих перетворень в мікро просторі клітин і цілісному організмі, регулюючи тим самим інтенсивність обміну речовин. Розрізняють ферменти з відносною (груповою) і абсолютною специфічністю. Доведено наявність стерео специфічності, зумовленої існуванням оптично ізомерних L- і D-форм або геометричних (цис- і транс-) ізомерів хімічних речовин.

*Активатори і інгібітори ферментів.* На активність ферментів впливає багато речовин. Деякі з них підвищують активність ферментів, інші– гальмують. Перші речовини називають *активаторами*, другі– *інгібіторами*, або парализаторами. Нерідко одні і ті ж речовини для одних ферментів можуть бути активаторами, для інших– інгібіторами. Так, соляна кислота є активатором для пепсину і інгібітором для амілази слини. Активність ферменту зменшується у міру збільшення концентрації продуктів, що утворюються в результаті хімічних реакцій та каталізуються даним ферментом.

## Порядок та методика виконання завдань

### Дослід 1. Вплив температури на активність ферментів

У дві пробірки помістити 5 мл крохмального клейстеру.

У 1-шу додати 0,5 мл розчину слини, яка містить амілазу, 2-гу залишити без змін.

Перемішати і залишити стояти за кімнатної температури.

Через 15 хв. у обидві пробірки додати по п'ять краплин розчину йоду.

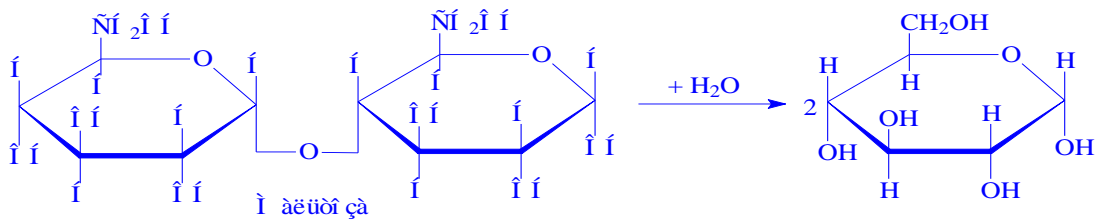
Спостерігати за зміною забарвлення.

*Записати схему температурного оптимуму для ферментів, навести приклад* Записати схему гідролізу крохмалу під впливом ферменту слини –альфа амілази

Спостереження і висновок даного досліду. Т-оптимум для амілази слини 36-38<sup>0</sup> С.



Подальше розщеплення дисахаридів здійснюється різними ферментами. Наприклад, мальтоза розщеплюється під впливом ферменту мальтази:

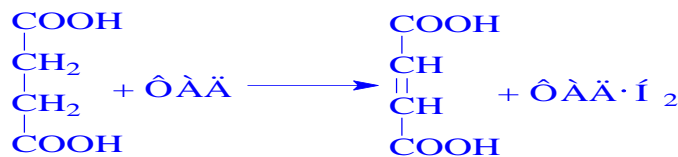


### Дослід 2. Дія сукцинатдегідрогенази

1. У дві пробірки наливають по 3 мл фосфатного буферу.
2. В одну з них (досліджувана проба) додають 0,5 мл розчину янтарної кислоти та 0,5 мл розчину гідроксиду натрію для нейтралізації, в другу (контрольна проба) вливають 1 мл води.
3. В пробірки внести по 1 мл розчину **2,6-дихлорфеноліндофенолу**, по 50 мг старанно подрібнених м'язів щойно забитої тварини й ставлять на 20 хв. у термостат за температури 38 °С.
4. Порівняти інтенсивність забарвлення в обох пробірках.

*Спостереження і висновок даних досліду* Записати і обґрунтувати механізм дії ферменту СДГ на субстрат янтарну кислоту за принципом окисно-відновної реакції. **Сукцинатдегідрогеназа** (дегідрогеназа янтарної кислоти) каталізує окиснення янтарної кислоти в фумарову. Коферментом цього ферменту є ФАД (флавінаденіндинуклеотид)

Янтарна кислота під впливом ферменту сукцинатдегідрогенази (СДГ) окислюється до фумарової. Коферментом СДГ є ФАД:



### Дослід 3. Дія активаторів та інгібіторів на активність амілази

1. Приготуйте три пробірки. 2. В першу налити 2,5 мл води, в другу – 2 мл води та 0,5 мл розчину NaCl, у третю – 2 мл води та 0,5 мл розчину CuSO<sub>4</sub>.
3. У всі пробірки додати по 2,5 мл розчину слини.
4. Перемішати.
5. Внести по 2,5 мл розчину крохмалю.
6. Знову перемішати і поставити у термостат за температури 8°С, і через 5 хв. додати по п'ять краплин розчину йоду.
7. Спостерігати за зміною забарвлення.

*Спостереження і висновок даних досліду* Активатором амілази є NaCl, а інгібітором- CuSO<sub>4</sub>. Вплив цих речовин на активність амілази визначають за ступенем гідролізу крохмалю під впливом ферменту за наявності NaCl і CuSO<sub>4</sub>. У разі дії ферменту на субстрат крохмаль і сахарозу) в середовищі виявляються кінцеві продукти гідролізу. Сам же субстрат не виявляється.

### Дослід 4. Дія амілази і сахарози на крохмаль

1. У дві пробірки помістити по 3 мл розчину крохмалю.
2. У 1-у пробірку додати 1 мл розчини слини (амілази), в 2-у - 1 мл препарати сахарози, потім перемішують і ставлять у термостат (38°С).
3. У дві інші пробірки наливають по 3 мл розчину сахарози.

4. У першу додати 1 мл препарат сахарози, а в другу – 1 мл розчину слини і залишити за таких умов.
5. Через 5 хв. у перші дві пробірки з крохмалем додати по п'ять краплин розчину йоду й спостерігають за забарвленням.
6. У дві пробірки додати по 1 мл реактиву Фелінга та нагрівання до кипіння.

*Спостереження і висновок даних дослідів.*

У оптимальних умовах амілаза слини гідролізує крохмаль до мальтози і він не виявляється в розчині реакцією з йодом. При зміні температури амілаза або знижує свою активність, що приводить лише до часткового гідролізу крохмалю до декстрину, що дає з йодом фіолетове або буро-червоне фарбування, або втрачає свою активність зовсім, і тоді в розчині можна по синьому забарвленню з йодом виявити негідролізований крохмаль.

### **Оформлення та порядок подання звіту лабораторної роботи**

Після виконання лабораторної роботи необхідно:

- 1– в досліді 1 записати схему температурного оптимуму для ферментів, навести приклад. Записати схему гідролізу крохмалу під впливом ферменту слини альфа амілази. Спостереження і висновок даного досліу. Т-оптимум для амілази слини 36-38<sup>0</sup> С;
- в досліді 2 записати механізм дії ферменту СДГ на субстрат янтарну кислоту за принципом окисно-відновної реакції;
- 3.- в досліді 3.Спостереження і висновок даних досліу Активатором амілази є NaCl, а інгібітором- CuSO<sub>4</sub>. Вплив цих речовин на активність амілази визначають за ступенем гідролізу крохмалю під впливом ферменту за наявності NaCl і CuSO<sub>4</sub>. У разі дії ферменту на субстрат крохмаль і сахарозу) в середовищі виявляються кінцеві продукти гідролізу. Сам же субстрат не виявляється;
4. - в досліді 4. У оптимальних умовах амілаза слини гідролізує крохмаль до мальтози і він не виявляється в розчині реакцією з йодом. При зміні температури амілаза або знижує свою активність, що приводить лише до часткового гідролізу крохмалю до декстрину, що дає з йодом фіолетове або буро-червоне фарбування, або втрачає свою активність зовсім, і тоді в розчині можна по синьому забарвленню з йодом виявити негідролізований крохмаль.

### **Рекомендовані джерела інформації**

#### **Основні**

1. Губський Ю. І., Ніженковська І. В., Корда М. М. Біологічна хімія: підручник. Вінниця: Нова книга, 2021. 648 с.
2. Складар О. Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т. І. Біологічна хімія: підручник Тернопіль: Укрмедкнига, 2020.706 с.
3. Крикунова В. Ю., Кулинич С. М. Петренко М.О. Біологія клітин. Основи біохімії та особливості метаболізму речовин: навчальний посібник. Полтава : Полтавський державний аграрний університет, 2023. 325с.
4. Сибірня Н. О., Гачкова Г. Я., Бродяк І. В. Функціональна біохімія: підручник Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. 644 с.
5. Shyian N. I., Kryvoruchko A. V., Stryzhak S. V., Krykunova V. Y., Antonets O. A. Structural and functional . model of the methodology for preparing future chemistry teachers for the use of cloud technologies in professional activities. Periódico Tchê Química. 2020. Vol. 17 (34). P. 856–866.

#### **Допоміжні**

1. Скоробагатова З.М., Сташкевич М.А., Матвієнко А.Г. Біохімія: навчальний посібник. К.: Біокомполіт, 2019. 148 с.
2. Скоробагатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. К.:Академперіодика; 2017. 76 с.
3. Корзун В. Н. Гігієна харчування : підручник. Київ: Київський національний торговельно-економічний університет, 2013. 236 с.

4. Сибірна Н. О., Гончар М.В., Бродяк І.В. Хімія білка : підручник. Львів: ДНУ імені Івана Франка, 2010. 393 с.

Інформаційні ресурси

1.<http://uk.wikipedia.org/wiki>      <http://elibrary.nubip.edu.ua>      <http://thinbook.org/book>  
2.<http://www.youtube.com>      [http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/edu\\_physical.html](http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/edu_physical.html)      3.Popular Biochemistry Books. URL: <https://www.goodreads.com/shelf/show/biochemistry>

## **Тема 16. Біоенергетика. Окисне фосфорилування. Біологічні види енергії. Тканинне дихання і біологічне окиснення.**

### **Лабораторна робота № 7**

#### **Визначення активності цитохромоксидази – компонента дихального ланцюга мітохондрій.**

**Мета та завдання лабораторної роботи:** з'ясувати основи біоенергетики тканин та механізми розвитку енергодефіциту і незворотних змін в організмі при гіпоенергетичних станах. Вивчити хеміосмотичну теорію окисного фосфорилування та умови його ефективного перебігу.

**Методи навчання:** за джерелом знань;*словесні методи:* 1) *наочні методи:* 1) демонстрування, 2) спостереження *практичні методи:* 1) лабораторна робота, 2) конспектування. За ступенем керівництва: робота під керівництвом викладача: 1) самостійна робота.

**Перелік спеціального обладнання та устаткування, необхідного для виконання лабораторної роботи:** пробірки, скляні палички, пальне, водяна баня, термостат. Реактиви: Фосфатний буфер, рН = 7,4 Розчин цитохрому *c* Суспензія мітохондрій Етиловий спирт Фізіологічний розчин, диметилпарафенілендіамінхлориду (ДПФД).

#### **Питання теоретичного контролю**

1. Практичне вивчення визначення активності цитохромоксидази мітохондрій . До якого класу та підкласу ферментів належать ці фермент?
2. Привести молекулярну організацію мітохондріального ланцюга біологічного окислення.
3. Компоненти дихального ланцюга як окисно-відновні пари кофакторів.
4. Молекулярні комплекси внутрішніх мембран мітохондрій
5. Окисне фосфорилування. Вивільнення енергії в дихальному ланцюзі та ділянки утворення АТФ.
6. Хеміосмотична теорія окисного фосфорилування – молекулярний механізм генерації АТФ в процесі біологічного окислення.
7. Електрохімічний градієнт протонів ( $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ ). Фізико-хімічні складові електрохімічного градієнту протонів.
8. Хеміосмотична теорія окисного фосфорилування – молекулярний механізм генерації АТФ в процесі біологічного окислення.радієнту протонів пункти спряження.
9. Інгібітори та роз'єднувачі тканинного дихання.
10. Порушення синтезу АТФ в умовах дії на організм людини патогенних факторів хімічного, фізичного та біологічного походження.

#### **Короткий теоретичний коментар до теми**

**Біологічне окислення** є кінцевим етапом розпаду вуглеводів, ліпідів та білків в живих організмах. Воно реалізується мультиензимними комплексами внутрішніх мембран мітохондрій, супроводжується поглинанням кисню та виділенням  $\text{CO}_2$ , води і енергії, яка частково акумулюється в зв'язках АТФ, що синтезується. Гіпоксії, та деякі природні та синтетичні сполуки порушують біологічне окислення або окисне фосфорилування, призводять до енергетичної кризи і незворотних змін в організмі. Мітохондріальну систему спряження окисних процесів з генерацією високоенергетичного інтермедіату АТФ, називають окисним фосфорилуванням. Окисне фосфорилування дозволяє організму поглинати значну частку потенційно вільної енергії окислення субстратів. Обґрунтування механізму окисного фосфорилування дозволяє зробити хеміосмотична теорія. Окисне фосфорилування є дуже важливим процесом, порушення перебігання його несумісне з життям.

**Окиснювальне фосфорилування** — процес біосинтезу аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) з аденозиндифосфорної кислоти (АДФ) та фосфату неорганічного (Фн) за рахунок енергії окиснення молекул різних органічних речовин у живих клітинах за допомогою спеціальних ферментів або ферментних систем. Є один з найважливіших компонентів клітинного дихання, що приводить до отримання енергії у вигляді АТФ.

Субстратами окислювального фосфорилування виступають продукти розщеплення органічних сполук — білки, жири та вуглеводи. У процесі реакцій спряженого окислювального фосфорилування перенос пари електронів та протонів водню через систему дихального ланцюга, за аеробних умов, приводить до утворення трьох молекул АТФ, а перенос пари електронів та протонів за анаеробних умов призводить до утворення однієї молекули АТФ. Завдяки процесам окислювального фосфорилування енергія окисних процесів трансформується у енергію зв'язків макроенергетичних сполук.

Окисне фосфорилування може бути пов'язане безпосередньо з окиснювальним перетворенням тієї чи іншої органічної молекули, яке називають *субстратним фосфорилуванням* (відбувається при гліколізі або в циклі трикарбонових кислот).

На рівні дихального ланцюга мітохондрій, синтез АТФ здійснюється ферментним комплексом — АТФ-синтетазою, яка може каталізувати і зворотну реакцію — розщеплення АТФ з виділенням енергії. Робота дихального ланцюга мітохондрій клітини пов'язана з переносом електронів уздовж, а протонів — через внутрішню мембрану, яка містить низку ферментів оксидоредуктаз, а також допоміжні фактори, до кисню — кінцевого акцептору відновних еквівалентів ( $e^-$  та  $\text{H}^+$ ) — з утворенням води. Відновні еквіваленти надходять від відновлених форм коферментів (часто від НАД $\cdot$ H) та поступово пересуваються уздовж дихального ланцюга від більш електронегативної ланки до більш електропозитивної; при цьому на деяких ділянках ланцюга енергія окиснення використовується АТФ-синтетазою для утворення АТФ. Останнє відбувається при перенесенні протонів із міжмембранного простору мітохондрій через АТФ-синтетазу назад до матриксу.

Роз'єднувачі окисного фосфорилування сприяють витрачання протонного потенціалу в обхід АТФ-синтетази; вони є переносниками протонів, катіонів або інших іонів через мембрану і поділяються на протонофори та інші іонофори. До перших належать 2,4-динітрофенол, похідні бензimidазолу та фенілгідразону, а також саліцилати, дикумарин, фенілін тощо. Іонофори здатні зв'язувати певні іони ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  та ін.) і переносити їх через мембрани, порушуючи їх ізолюючий бар'єр. Антибіотик валіноміцин утворює з іонами  $\text{K}^+$  комплекс, який легко проходить через внутрішню мембрану мітохондрій.

### **Порядок та методика виконання завдань**

Принцип методу. Цитохроми – складні білки гемпротеїни, відносяться до класу ферментів – оксидо-редуктаз, присутні у всіх тваринних та рослинних клітинах. Завдяки тому, що атоми заліза в цитохромах легко змінюють свою валентність, цитохроми є компонентами дихального ланцюга мітохондрій та переносниками електронів від відновленого убіхінону на кисень. В

цитохромній системі передавати електрони на кисень може лише цитохром *a-a<sub>3</sub>* – цитохромоксидаза, в склад якої входить мідь.

Метод визначення активності цитохромоксидази ґрунтується на здатності диметилпарафенілендіамінхлориду (ДПФД) бути донором електронів для цитохрому *c*. ДПФД неферментативно відновлює цитохром *c*, а сам окислюючись, перетворюється на червоний пігмент, кількісне утворення якого є пропорційним активності цитохромоксидази мітохондрій.

### Хід роботи.

Дві пробірки: контрольну та дослідну заповнюють реактивами за таблицею:

Вміст пробірок	Пробірка	
	Контрольна	Дослідна
Фосфатний буфер, рН = 7,4	1,0 мл	1,0 мл
Розчин цитохрому <i>c</i>	2 краплі	2 краплі
Суспензія мітохондрій	0,5 мл	0,5 мл
Розчин ДПФД	0,5 мл	0,5 мл
Етиловий спирт	1,0 мл	---
Фізіологічний розчин	---	1,0 мл
Інкубація в термостаті 5 хв. при 37°C		
Результати: поява червоного забарвлення		

*Спостереження і висновок даних дослідів.*

Додавання етилового спирту інактивує цитохромоксидазу та ферментативне перетворення цитохрому *c*. Пробірки поміщають в термостат на 5 хвилин при 37°C і спостерігають за появою червоного забарвлення. За результатами проведеного експерименту зробити висновки.

### Оформлення та порядок подання звіту лабораторної роботи

1. Тракувати роль біологічного окислення, тканинного дихання та окисного фосфорилування в генерації АТФ за аеробних умов.
2. Аналізувати порушення синтезу АТФ за умов дії на організм людини патогенетичних факторів хімічного, фізичного та біологічного походження.
3. Знати особливості окисно-відновних реакцій, вміти пояснити біологічну роль вітамінів РР і В<sub>2</sub> та ферментів 1<sup>го</sup> класу в цих реакціях.

### Рекомендовані джерела інформації

#### Основні

1. Губський Ю. І., Ніженковська І. В., Корда М. М. Біологічна хімія: підручник. Вінниця: Нова книга, 2021. 648 с.
2. Склярів О. Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т. І. Біологічна хімія: підручник Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. 706 с.

3. Крикунова В. Ю., Кулинич С. М. Петренко М.О. Біологія клітин. Основи біохімії та особливості метаболізму речовин: навчальний посібник. Полтава : Полтавський державний аграрний університет, 2023. 325с.
4. Сибірна Н. О., Гачкова Г. Я., Бродяк І. В. Функціональна біохімія: підручник Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. 644 с.
5. Shyian N. I., Kryvoruchko A. V., Stryzhak S. V., Krykunova V. Y., Antonets O. A. Structural and functional . model of the methodology for preparing future chemistry teachers for the use of cloud technologies in professional activities. *Periódico Tchê Química*. 2020. Vol. 17 (34). P. 856–866.

#### Допоміжні

1. Скоробагатова З.М., Сташкевич М.А., Матвієнко А.Г. Біохімія: навчальний посібник. К.: Біокомполіт, 2019. 148 с.
2. Скоробагатова З.М. Атлас метаболічних шляхів. К.:Академперіодика; 2017. 76 с.
3. Корзун В. Н. Гігієна харчування : підручник. Київ: Київський національний торговельно-економічний університет, 2013. 236 с.
4. Сибірна Н. О., Гончар М.В., Бродяк І.В. Хімія білка : підручник. Львів: ДНУ імені Івана Франка, 2010. 393 с.

#### Інформаційні ресурси

- 1.<http://uk.wikipedia.org/wiki> <http://elibrary.nubip.edu.ua> <http://thinbook.org/book>
- 2.<http://www.youtube.com> [http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/edu\\_physical.html](http://www.chem.msu.su/rus/elibrary/edu_physical.html) 3.Popular Biochemistry Books. URL: <https://www.goodreads.com/shelf/show/biochemistry>