

ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Кафедра біотехнології та хімії

ЗАВДАННЯ

ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ

з навчальної дисципліни

«БІОХІМІЯ»

для здобувачів вищої освіти спеціальність 204 Технологія виробництва і
переробки продукції тваринництва



Полтава -2024р.

Завдання для проведення лабораторних робіт з навчальної дисципліни: «Біохімія» для здобувачіввищої освіти спеціальності 204 Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва вищих аграрних навчальних закладів III-IV рівнів акредитації //Полтава: Полтавський державний аграрний університет. 2024. 26 с.

Укладач:

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

Схвалено на засіданні кафедри біотехнології та хімії

Протокол. № 1 від 02. 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 методики 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 центрифугі по діагоналі;
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.

Лабораторна робота №1

Тема: Якісні реакції на білки, пептиди, амінокислоти

Мета і завдання лабораторного заняття: *Сформувати уявлення* про будову білків та амінокислот, познайомити з методами якісного визначення білків і амінокислот, перевірити знання студентів про фізико-хімічні властивості білків (реакції осадження білків), класифікацію і характеристику окремих груп простих і складних білків. *Засвоїти поняття* проведення якісного аналізу розчинів і біологічних рідин для виявлення в них білків і окремих вільних амінокислот, *набути практичних навичок* методу розділення білків сироватки на фракції з подальшим визначенням співвідношення між окремими білковими фракціями методом нефелометрії.

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: 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* HNO_3 , H_2SO_4 . 10%-розчин CuSO_4 , NaOH , $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. розчини білка. Молоко. 10%-розчин. Трихлороцтова кислота. 20%-розчин Сульфосаліцилової кислоти. 0,1%-розчин CuSO_4 , $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. 1%-розчин CH_3COOH . Насичений розчин $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ кристалічний. *Концентровані кислоти* HNO_3 , H_2SO_4 .

Питання теоретичного контролю:

1. Амінокислотний склад білків, методи його визначення. Утворення пептидного зв'язку.
2. Типи хімічних зв'язків в білковій молекулі: основні і додаткові.
3. Рівні структурної організації білків: первинна, вторинна, третинна і четвертинна структури.
4. Що таке замінні, незамінні та напівзамінні амінокислоти? Наведіть приклади.
5. Кольорові реакції на білки (нінгідрінова, біуретова, ксантопротеїнова, на сірку, аргінін, тирозин і ін.). їх практичне значення.
6. Колоїдні властивості розчинів білка: дифузія, онкотичний тиск, броунівський рух, опалесценція і феномен Фарадея - Тіндала.
7. Напишіть структурну формулу пептиду, що має наступний амінокислотний склад: ала-цис-вал-тир-ілей-гіс трп.
8. Дайте повну та скорочену назву цьому пептиду.

Короткий теоретичний коментар до теми

Амінокислотний склад. Разом з визначенням елементного складу білків було розпочато вивчення і їх будови. Спочатку вважали, що основними структурними компонентами молекул білка є пептони, які було виділено при гідролізі різних білків. Пізніше (серед продуктів розщеплення білків) дослідники звернули увагу на речовини, які довгий час розглядалися ними не як складові частини молекул білка, а як продукти дії на білкові речовини сильних хімічних реагентів. У 1820 р. А.Браконно вперше при кислотному гідролізі білка (желатини) виділив амінокислоту- гліцин. Оскільки амінокислота була солодка на смак, то її назвали глікоколом. Дещо пізніше (у 1871 р російським хіміком М.М. Любавіним) було доведено, що і при ферментативному гідролізі білки розкладаються на амінокислоти.

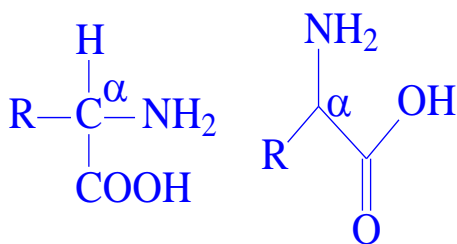
Отже, в другій половині XIX ст. було встановлено, що основними структурними компонентами білка є амінокислоти.

У живих клітинах синтезується багато макромолекул (білків, нуклеїнових кислот, полісахаридів), які відіграють роль структурних компонентів, біокатализаторів, гормонів, рецепторів або в них зосереджена генетична інформація. Ці макромолекули представляють собою біополімери, які побудовані з мономерних одиниць, або структурних блоків. В нуклеїнових кислотах мономерними одиницями є нуклеотиди, в складних полісахаридах - цукри і їх похідні, а в білках- L-ос-амінокислоти. У природі існує близько 300 амінокислот, однак в білках виявлено тільки 20 з них. У результаті повного гідролізу білків вивільняється 20 L-а-амінокислот . Одні і ті ж 20 амінокислот присутні в білкових молекулах всіх форм життя- рослин, тварин і мікроорганізмів. Чому це так - ми зрозуміємо пізніше, коли будемо обговорювати універсальну природу генетичного коду. Однак, у ряді білків зустрічаються похідні деяких амінокислот, які утворюються вже після включення звичайних амінокислот в молекулу білка.

Білки, крім того можуть містити й інші компоненти, однак трьохвимірна структура, а відповідно, й їх біологічне значення визначається в основному амінокислотним складом, порядком чергування амінокислот в поліпептидному ланцюзі і як наслідок їх взаємним просторовим розміщенням.

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 декарбоксілюванні 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 α-амінокислотах обидві вони зв'язані з одним і тим же (α) вуглецевим атомом:

За виключенням гліцину, у якого R- це атом гідрогену, у всіх амінокислот чотири групи, зв'язані з α-вуглецевим атомом, різні. Дякуючи тетраедричному розміщенню чотирьох різних груп відносно α-вуглецевого атома амінокислота володіє оптичною активністю (здатністю обертати площину поляризації плоскополяризованого світла). Одні амінокислоти, що входять до складу білків, є (при рН=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, -COOH і -NH₃⁺. У розчині ці групи знаходяться у двох формах, зарядженій і незарядженій, між якими підтримується протонна рівновага:

Групи R-COOH і R-NH₃⁺ є протонованими партнерами, тобто кислотами, R-COO⁻ і R-NH₂-спряженими основами, тобто акцепторами протонів відповідних кислот. При значеннях рН, характерних для плазми крові і міжклітинної рідини (7,4 і 7,1 відповідно), карбоксильні групи знаходяться виключно у формі карбонілатних іонів, R-COO⁻. При цих же значеннях рН більша частина аміногруп знаходиться переважно у асоційованій формі, R- NH₃⁺. 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 рН середовища, тобто від концентрації протонів гідрогену в розчині. Заряд амінокислоти або її похідного можна змінити, варіюючи значенням рН середовища; це полегшує фізичне розділення амінокислот, пептидів, білків.

Значення рН, при якому сумарний заряд молекули амінокислоти дорівнює нулю, називається *ізоелектричною точкою* (р_i), саме тому вона не переміщується в постійному електричному полі. Значення ізоелектричної точки знаходиться між найближчими значеннями рК дисоціюючих груп по різні сторони від р_i.

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 α-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 нінгидрином 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 (ІЭТ). ІЭТ яєчних білків рівна 4,6; ІЭТ казеїногена молока - 4,7; їх ізоелектричні крапки знаходяться в слабокислій 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 температурі 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, глюкостероїди, 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 XIX 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 виконання роботи, обробка результатів експерименту :

Дослід 1. Якісні реакції на білки і амінокислоти. Реакція з нінгдрином

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 нінгдрину.
6. Вміст пробірок перемішати і кип'ятити на пальнику 1-2 хвилини

Отримані результати оформити у вигляді таблиці:

Пробірки	Спостереження
Контроль	
Дослід 1	
Дослід 2	

Записати рівняння нінгдринової реакції.

Спостереження і висновок даного досліді. Доказати на даному досліді, що до складу білка входять амінокислоти

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 вигляді схеми та доказати даним дослідом наявність пептидних зв'язків між амінокислотними залишками

Спостереження і висновок даного досліді: навести приклад утворення пептидного зв'язку на прикладі поліпептиду амінокислот.

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 у вигляді схеми та доказати даним дослідом наявність ароматичних амінокислот в молекулі білка.

Спостереження і висновок даного дослід: 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'ятять (обережно) 1-2 хвилини.
 4. У обидві пробірки додають декілька крапель оцтовокислого свинцю
- Записати рівняння реакції Фоя на наявність сірковмісних амінокислот у яєчному білкуксантопротеїнової реакції у вигляді схеми та доказати даним дослідом наявність ароматичних амінокислот в молекулі білка.*

Спостереження і висновок даного дослід: навести приклад трьохступеневої реакції з сірковмісною амінокислотою – цистеїном.

Дослід 5. Розділення суміші білків методом висолювання

1. У пробірку наливають 2 мл розчину яєчного білка.

2. Додають 2 мл насиченого розчину сульфату амонію. У осад випадають глобуліни.
3. Вміст пробірок фільтрують.
4. До прозорого фільтрату додають кристалічний сульфат амонію до насичення їм розчину. У осад випадають альбуміни.

Записати методи розділення білків на кислоти у яєчному білкуксантопротеїнової реакції у вигляді схеми та доказати даним дослідом наявність ароматичних амінокислот в молекулі білка.

Спостереження і висновок даного досліду: 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 досліду. 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 досліду: 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 денатурація білків викликана дією солей важких металів та дією мінеральних кислот, білок втрачає заряд і всі фізико-хімічні властивості.*
- Спостереження і висновок даного досліді – білок випадає в осад і набуває білого кольору.*

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 досліді та висновки до них;
2. - в досліді 1 написати рівняння Нінгідринової реакції. Отримані результати оформити у вигляді таблиці. Спостереження і висновок даного досліді: 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 досліді 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 досліді 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 досліді: навести приклад трьохступеневої реакції з сірковмісною амінокислотою – цистеїном;
6. – в досліді 5. Спостереження і висновок даного досліді: 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 досліді: 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

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. Сибірня Н. О., Гачкова Г. Я., Бродяк І. В. Функціональна біохімія: підручник Львів, ЛНУ ім.І.Франка, 2018. 644 с.
5. Павлоцька Л., Дуденко Н., Дімітриєвич Л., Божко Н. Біологічна хімія : підручник. Суми : Університетська книга, 2019. 379 с.
6. Лисиця А.В. Біохімія. Практикум : навчальний посібник. Суми : Університетська книга, 2019. 240 с.

Лабораторна робота №2

Тема: Визначення біохімічного складу нуклеопротейдів дріжджів

Мета і завдання лабораторного заняття: Сформувати уявлення про будову нуклеїнових кислот (НК), засвоїти поняття з методами якісного визначення НК, перевірити знання студентів про фізико-хімічні властивості ДНК та РНК, їх синтез. на підставі, закріпити знання про обмін нуклеїнових кислот і простетичних груп різних складних білків (на занятті основна увага приділяється вивченню обміну нуклеїнових кислот і гемахромопротейдів), *набути практичних навичок* проводити якісний аналіз розчинів і біологічних рідин для виявлення в них НК.

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. Нуклеїнові кислоти: визначення, склад, якісні реакції на складові частини.
2. Нуклеозиди: склад, будова, номенклатура, тип зв'язку.
3. Нуклеотиди як складні мономерні одиниці нуклеїнових кислот: склад, будова, типи зв'язків.
4. Фосфорильовані похідні нуклеотидів, значення АДФ та АТФ. Участь нуклеотидів в будові коферментів.
5. Нуклеїнові кислоти: РНК та ДНК, склад, типи зв'язків між структурними компонентами.
6. Типи РНК та їх біологічна роль.
7. Подвійна спіраль ДНК, її особливості. Комплементарні основи.

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, одноланцюгових 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 не спіралізованих.

Порядок виконання роботи, обробка результатів експерименту :

Дослід 1. Вилучення нуклеопротейідів дріжджів

У фарфорову ступку поміщають 1 г дріжджів.

1. Додати 1 каплю ефіру, 2 каплі дистильованої води, близько 0,1 г скляного піску.
2. Дріжджову масу розітерти пестиком 1-2 хвилини для руйнування клітин.
3. В ступку додати 4 мл 0,4% розчину їдкого натрію і розтирання продовжувати протягом 5 хвилин.
4. Вміст ступки піпеткою перенести в центрифужну пробірку, врівноважити на вагах з другою пробіркою і центрифугувати напрутягом 10 хвилин.
5. Надоосадову рідину перенести піпеткою у стакан з 80-90мл води, підкисленою до рН = 4,5 оцтової кислоти.

Осад, що випав (РНК-протейіна) відділяють центрифугуванням

Записати будову пуринових і піримідинових основ та будову ДНК і РНК.

Спостереження і висновки даного дослідження. 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

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. Павлоцька Л., Дуденко Н., Дімітрієвич Л., Божко Н. Біологічна хімія : підручник. Суми : Університетська книга, 2019. 379 с.
6. Лисиця А.В. Біохімія. Практикум : навчальний посібник. Суми : Університетська книга, 2019. 240 с.

Лабораторна робота № 3

Тема: 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.

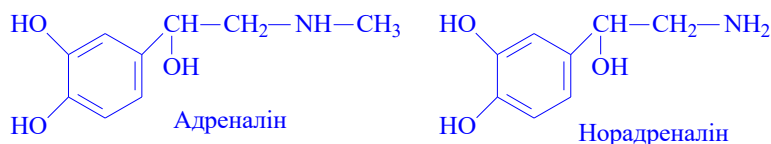
Реактиви: 0,1%-розчини йоду. 1%-розчини CuSO_4 , FeCl_3 . 5%-розчини $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. 10%-розчини NaOH . 30%-розчини NaOH . Розчини адреналіну.

Питання теоретичного контролю

1. Роль гормонів у підтримці гомеостазу в організмі;
2. Роль гормонів у регулююванні 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.

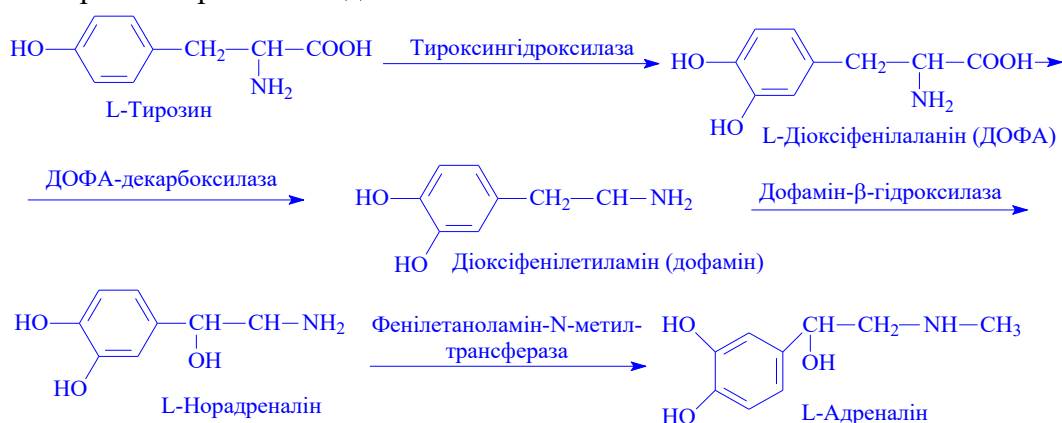
Короткий теоретичний коментар до теми

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 глюкуроною 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 кишків, 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 виконання роботи, обробка результатів експерименту :

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)

1. У пробірку внести 1 мл розчину адреналіну.
2. Додати краплю розчину FeCl_3 .
3. Перемішати.
4. Відмітити забарвлення, що з'являється.
5. Потім до суміші додати краплю розчину лугу.
6. Спостерігати за зміною забарвлення.
7. Привести рівняння реакції:

Спостереження і висновок даних дослідю. 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 дослідю 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

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. Павлоцька Л., Дуденко Н., Дімитриєвич Л., Божко Н. Біологічна хімія : підручник. Суми : Університетська книга, 2019. 379 с.
6. Лисиця А.В. Біохімія. Практикум : навчальний посібник. Суми : Університетська книга, 2019. 240 с.

Лабораторна робота №4

Тема: Якісні реакції на водо- та жиророзчинні вітаміни

Мета і завдання лабораторного заняття: *сформувати уявлення* про хімічну будову вітамінів, *засвоїти поняття* про класифікацію вітамінів та з методами їх якісного визначення та основні фізико-хімічні властивості вітамінів механізми їх синтезу, вміст в кормах та продуктах

харчування та значення їх для росту та розвитку організму тварин. **Набути практичних навичок** експрес-методу визначення кількісного та якісного вмісту каротину і вітаміну А, В₂ 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 FeCl₃. СН₃СООН насичений Н₂SO₄. Концентровані кислоти ННО₃, Н₂SO₄. Риб'ячий жир в хлороформі, масляний озчин vit. А. Спиртовий розчин vit. Е, α-токоферол. 0,1%-розчин аскорбінова кислота, 2,6-дихлорфеноліндофеол. 0,01%-розчин метиленовий синій, 1%-розчини FeCl₃, K₃[Fe(CN)₆]. 10%-розчини НСl, Zn металічний.

Питання теоретичного контролю

1. Історія відкриття вітамінів.
2. Загальні властивості вітамінів.
3. Біологічна цінність вітамінів
4. Гіповітаміноз, авітаміноз, гіпервітаміноз.
5. Класифікація вітамінів.
6. Жиророзчинні вітаміни будова, властивості, функції, біологічна роль, харчові джерел
7. Водорозчинні вітаміни будова, властивості, функції, біологічна роль, харчові джерел
8. Коферментні властивості вітамінів на прикладі водорозчинних: В1, В2, В3, В5, В6.
9. Вітаміноподібні речовини

Короткий теоретичний коментар до теми

Вітаміни були відкриті в 1880 р. російським лікарем М.І.Луніним (1853– 1937) в експериментах на двох групах білих мишей. Тваринам першої групи він давав штучний раціон (вода + казеїн + лактоза + жир + солі), другої – молоко. Через 20 – 30 діб тварини першої групи гинули. Дослідник прийшов до висновку, що для організму людини і тварин, окрім основних продуктів харчування, необхідні ще якісь речовини. Досліди М. І. Луніна незабаром підтвердив К.А. Соски. Голландський лікар Х. Ейкман, який працював в тюремному госпіталі на острові Ява, в 1896 р. встановив, що захворювання людей „бері-бері” можна усунути додаванням в їжу хворих неочищеного рису. Ф. Гопкінс в 1906 р. назвав речовини, що оберігають людину і тварин від аналогічних захворювань, „додатковими чинниками живлення”. Польський вчений К. Функ (1884–1967) отримав з рисових висівок кристалічну речовину, що містить азот, і назвав її вітаміном – аміном, необхідним для життя. Він запропонував розглядати ряд хвороб („бері-бері”, пелагру, рахіт, цингу та ін.) як наслідок відсутності або недостатньої кількості в їжі відповідних вітамінів і назвав такі патологічні порушення – авітамінозами.

Роботи, виконані в нашій країні і за рубежом по вивченню вітамінів, послужили основою для створення вчення про вітаміни – *вітамінології*. Великий внесок в її розвиток внесли радянські біохіміки А. В. Палладін, В. П. Букін, Р. В. Чаговець та ін.

Отже, **вітаміни** це – група низькомолекулярних органічних речовин, необхідних для існування живого організму в нікчемно 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 кровеносного 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.

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.

За сучасними даними доросла людина за звичайних умов протягом доби потребує такі кількості вітамінів (табл. 1):

Особлива увага звертається на необхідність систематичного введення вітамінів. Це обумовлено тим, що вітаміни, як правило, не можуть відкладатися організмом в запас. Прийом надмірної кількості вітамінів викликає посилене їх виділення з організму, найчастіше з сечею. Вважається, що спеціального депо вітамінів в організмі немає. Різний же вміст вітамінів в окремих органах пояснюють функціональними особливостями самих органів. Слід все ж таки відзначити, що вітамін В₁₂ і вітамін А можуть нагромаджуватися в печінці в значних кількостях. Але в цьому випадку високий вміст вітаміну А в печінці може зберігатися лише при постійному надходженні вітаміну з їжею.

Оскільки більшість вітамінів в організмі людини не синтезується або синтезується лише в невеликих кількостях, то потреба його у вітамінах повинна задовольнятися головним чином за рахунок їжі, що поступає, або якщо їх в їжі міститься недостатньо, то за рахунок вітамінних препаратів.

Взаємодія окремих вітамінів. При визначенні необхідної кількості вітамінів слід враховувати наявність в організмі впливу одного вітаміну на потребу в іншому. Це питання вивчено ще недостатньо, але деякі відомості про взаємодію окремих вітамінів вже є.

Так, наприклад, встановлена залежність між обміном вітаміну В₂ і аскорбінової кислоти. При цьому відзначено, що кількісний вміст вітаміну С в добовому раціоні чинить виражений вплив на потребу організму в рибофлавіні. Встановлено, що чим вище вміст вітаміну С в раціоні, тим більше виводиться рибофлавіну, тобто тим менша в ньому потреба організму. У свою чергу, при недостатній кількості в їжі рибофлавіну різко порушується обмін аскорбінової

кислоти. В той же час у присутності рибофлавіну аскорбінова кислота швидко руйнується при освітленні її сонячним промінням. Вітамін В₂ при цьому діє як каталізатор при окисленні аскорбінової кислоти. Доведено, що при вираженому арибофлавінозі знижується в організмі також і рівень вітамінів С і В₁. При введенні в подібних випадках рибофлавіну одночасно наростає затримка в організмі не тільки вітамінів С і В₁, але також піридоксину і пантотенової кислоти.

Особливо виразні взаємозв'язки встановлені між вітаміном Р і С. Встановлено, що при лікуванні цинги вітаміном С додавання вітаміну Р дозволяє навіть зменшити дозу аскорбінової кислоти, при значному загальному збільшенні клінічного ефекту.

Була відзначена наявність виразного синергізму дії фолієвої кислоти відносно вітаміну В₁₂. Виявилося, що застосування фолієвої кислоти при лікуванні анемії Аддісон-Бірмера вітаміном В₁₂ дозволяє значно зменшити дози обох цих вітамінів, без зниження клінічного ефекту. За наявності ж вираженого дефіциту фолієвої кислоти організм взагалі втрачає здатність утримувати вітамін В₁₂. Також встановлено, що ніотинова кислота краще діє в поєднанні з рибофлавіном.

Є дані, що вітамін С гальмує накопичення вітаміну А в печінці. В той же час використання вітаміну А для синтезу зорового пурпуру є більш ефективним (швидше настає темнова адаптація) якщо одночасно вводяться рибофлавін і аскорбінова кислота.

Був відзначений також взаємозв'язок тіаміну і рибофлавіну. При недостатньому надходженні в організм вітаміну В₁, порушується відкладення рибофлавіну в печінці. І, навпаки, дефіцит вітаміну В₂ в харчовому раціоні викликає невелике зниження вмісту в тканинах і тіаміну. Введення в організм великих доз вітаміну В₁ або В₂ викликає підвищене виділення з сечею не тільки введеного вітаміну, але і комплексу (відповідно вітаміну В₂ або В₁). Після введення в організм піридоксина спостерігається виведення з сечею не тільки піридоксина, але також тіаміну і рибофлавіну.

Особливо демонстративне в цьому питанні значення вітамінів В₁, В₂ і РР для процесу окислення молочної кислоти в піровиноградну, а останньої – у вуглекислоту і воду. Відсутність хоча б одного із згаданих трьох вітамінів порушує цей важливий життєвий процес.

Встановлено, що при посиленому споживанні вітамінів А і D також зростає витрата і тіаміну. Розвиток D-гіпервітамінозу гальмується при введенні вітамінів групи В. Отже, збільшуючи вміст вітамінів групи В у раціоні, можна менше побоюватися великих доз вітаміну D.

Наведені приклади свідчать про необхідність, при визначенні потреби у вітамінах, по можливості враховувати взаємодію окремих вітамінів між собою. Облік такої взаємодії особливо необхідний при призначенні синтетичних вітамінних препаратів, оскільки в харчових продуктах вітаміни найчастіше знаходяться в гармонійному поєднанні.

При підрахунку потреби у вітамінах варто також мати на увазі і взаємодію між вітамінами і харчовими продуктами.

Вітамінна недостатність і її форми. При розгляді питання про потребу організму людини і тварин у вітамінах зазвичай відзначають три варіанти добових дозувань (норм):

- 1) оптимальні,
- 2) середні ;
- 3) мінімальні норми.

При цьому під **оптимальними** дозами вітамінів розуміється така їх кількість, яка в змозі забезпечити всі фізіологічні процеси на самому їх високому рівні. Іншими словами, при введенні в організм таких кількостей вітамінів навіть підвищені навантаження, скоювані в незвичайних умовах, вітамінної недостатності не викликають.

Середні дози (норми) – це кількість вітамінів, які в змозі забезпечити фізіологічні процеси при помірних фізичних і нервових навантаженнях, при помірно вираженому впливі температури і інших умов зовнішнього середовища

І, нарешті, **мінімальні** норми – це такі, які забезпечують фізіологічні процеси організму в стані його фізичного спокою (або легких навантажень). При вживанні вітамінів нижче за ці

норми розвивається той або інший специфічний патологічний процес (гіпо- або авітаміноз). Отже, за наявності невідповідності між витратою вітамінів і їх надходженням, коли перше перевищує друге, розвивається вітамінна недостатність, що обумовлює початкові патологічні зміни в організмі (порушення обміну речовин, функціональні розлади). При зниженні дозувань нижче за мінімальні ці зміни збільшуються і на їх фоні розвиваються нові якісні реакції у вигляді специфічних патологічних процесів в більш менш вираженій формі.

Гіповітамінозні стани характеризуються значною строкатістю проявів, за відсутності чіткої окресленої клінічної картини. Ці стани обумовлені в основному порушеннями обміну речовин, функціональною неповноцінністю окремих систем організму людини і тварин. Авітамінози мають окреслену клінічну картину і є наслідком вираженої вітамінної недостатності. І хоча останні були вивчені раніше і краще, проте гіповітамінозні стани мають більше практичне значення, оскільки вони зустрічаються незрівнянно частіше, ніж авітамінози.

Причини порушення вітамінного обміну досить багатоманітні. Прийнято виділяти дві основні групи чинників, які обумовлюють розвиток вітамінної недостатності:

1. Екзогенні, зовнішні причини, які обумовлюють розвиток первинних гіпо- і авітамінозів.
2. Ендогенні, внутрішні причини, що призводять до розвитку вторинних гіпо- і авітамінозів.

Звичайно, існує і третя група – це змішані гіпо- і авітамінози, в розвитку яких беруть участь чинники як зовнішнього, так і „внутрішнього порядку”.

З урахуванням механізмів розвитку вітамінної недостатності виділяють декілька форм гіпо- і авітамінозів.

Аліментарна форма. За своїм походженням це екзогенні, первинні гіпо- і авітамінози, обумовлені недостатнім вмістом (рідко повною відсутністю) вітамінів в їжі. Отже, дана форма гіповітамінозу в основному обумовлена порушеннями в побудові харчового режиму. При цьому недостатній вміст вітамінів в їжі може бути викликаний як нераціональним підбором продуктів (відсутність овочів або неправильне їх зберігання, виключення чорного хліба і т. д.), так і неправильною їх кулінарною обробкою.

Проте в забезпеченні вітамінної повноцінності добового раціону живлення важливе значення має не тільки кількість вітамінів, що вводяться, але і склад їжі. Встановлено, що навіть при достатньому (за нормами) споживанні вітамінів можуть виявлятися ознаки вітамінної недостатності, якщо в раціоні буде порушено співвідношення окремих складових компонентів їжі. При переважанні вуглеводів (вище встановлених норм) організму потрібна додаткова кількість тіаміну (B_1). Отже, при тривалому збереженні подібної спрямованості добового раціону можуть розвиватися явища B_1 -недостатності. При цьому збільшується також витрата вітаміну B_2 і C .

Проте, не дивлячись на велику роль якісних порушень режиму живлення, основного практичного значення набувають порушення кількісні, пов'язані з пониженим вмістом окремих вітамінів у готовій їжі. Саме цей шлях порушення вітамінного балансу найчастіше веде до розвитку як неспецифічних, так і специфічних патологічних процесів, обумовлених вітамінною недостатністю. Найголовнішими причинами зниження кількості окремих вітамінів в готовій їжі є:

а) неправильне зберігання продуктів (особливо овочів), що призводить до руйнування деяких вітамінів (особливо вітаміну C);

б) одностороннє живлення, особливо з виключенням овочів, які є основними носіями вітамінів C , P та ін.;

в) порушення правил кулінарної обробки продуктів, яке разом з незадовільним їх зберіганням може призвести до значного зменшення кількості вітамінів в готовій їжі.

В практиці згадані причини рідко існують ізольовано одна від одної. Найчастіше вони поєднуються між собою і завдають серйозного збитку вмісту вітамінів у добовому раціоні. Це і є основною причиною розвитку аліментарної форми вітамінної недостатності.

Резорбційна форма. Ця форма гіповітамінозів відноситься за своїм походженням до ендогенної вітамінної недостатності, обумовленої причинами внутрішнього порядку. Серед них найбільшої уваги заслуговують:

- а) часткове руйнування вітамінів в травному тракті і
- б) порушення їх всмоктування.

Встановлено, що при захворюваннях шлунку, які супроводяться пониженням кислотоутворюючої його функції, значному руйнуванню піддаються тіамін, нікотинова кислота і вітамін С. Відомо, що після резекції пілоричного відділу розвивається пелагра, а при виразці дна шлунку – порушення синтезу гастромукопротеїну призводить до розвитку гіперхромної анемії Аддісон-Бірмера.

Було відзначено також порушення всмоктування вітамінів з кишечника за наявності секреторно-моторних його розладів та хронічних інфекційно-запальних процесів. При недостатньому надходженні у верхній відділ кишечника жовчі порушується всмоктування каротину (провітаміну А) і інших жиророзчинних вітамінів.

Таким чином, в розвитку резорбційної форми гіповітамінозу велике значення мають деякі шлунково-кишкові захворювання.

Дисиміляційна форма. Основу даної форми гіповітамінозу складають різного роду порушення обміну речовин, що призводять до змін обміну вітамінів і до подальшого розвитку того або іншого гіповітамінозу. Виділяють декілька варіантів їх розвитку:

1. Порушення співвідношення окремих компонентів їжі (переважно вуглеводне живлення, білкова недостатність добового раціону та ін.), що змінює обмін вітамінів. У ряді випадків це веде до розвитку вітамінної недостатності за рахунок порушення обмінних процесів.

2. Збільшення потреби організму у вітамінах у зв'язку з впливом на нього різних чинників зовнішнього середовища.

Крім клімато-географічних чинників, певне значення має також збільшений попит організму на вітаміни, обумовлений різними видами виробничої діяльності окремих груп населення (робота в гарячих цехах і т. д.).

3. Порушення вітамінного обміну при інфекційних процесах також примикають до дисиміляційної форми гіповітамінозу. Встановлено, що чим важче інфекційно-токсичний процес, тим більше вітамінів витрачається організмом.

4. Порушення внутрішніх перетворень окремих вітамінів, які наступають у результаті окремих захворювань печінки (гострий і хронічний гепатити, цирози печінки та ін.). Показано, що при цих захворюваннях:

1) порушуються процеси фосфорилювання тіаміну і перехід його в кокарбоксілазу, що веде до різкого порушення вуглеводного обміну з утворенням недоокислених продуктів і особливо піровиноградної кислоти.

2) страждає депонування і окислення рибофлавіну;

3) порушується перехід каротину у вітамін А і депонування останнього;

4) знижується вміст нікотинової кислоти.

Таким чином, дисиміляційна форма гіповітамінозу може бути обумовлена різноманітними причинами або їх поєднанням.

Окрім розглянутих вище форм вітамінної недостатності, негативний вплив на вітамінний баланс в організмі можуть проявляти і деякі ліки (сульфаніламідів і антибіотики та ін.).

Назви і класифікація вітамінів. На даний час відомо понад двадцять вітамінів (табл. 1). З них найбільше значення мають близько дванадцять. У міру відкриття вітаміни позначалися буквами латинського алфавіту і називалися за їх біологічною роллю: вітамін А – аксерофтол, вітамін Е – токоферол і т.д. В ході розвитку вчення про вітаміни буквені позначення довелося розширити, оскільки виявлялися нові індивідуальні речовини близького, аналогічного або нового біологічного значення. До буквених позначень почали приєднувати цифрові. Так, замість однієї назви „вітамін В” виникла ціла група – від вітаміну В₁ до вітаміну В₁₅. У міру розшифровки структури молекул вітамінів їм почали давати хімічні назви: нікотинамід, піридоксаль, тіамін, рибофлавін і т.д. Таким чином, у даний час використовуються буквені, тривіальні (названі по специфічній дії на організм) і хімічні назви окремих вітамінів. У 1956 р. Комісія по біохімічній номенклатурі Міжнародного союзу чистої і прикладної хімії прийняла нову номенклатуру вітамінів – ЮПАК, основу на хімічній будові молекули кожного вітаміну.

Існує декілька класифікацій вітамінів. Основні з них – фізична і хімічна.

Згідно *фізичної класифікації* всі вітаміни за ознакою розчинності в жирах або воді поділяються на дві групи: жиророзчинні і водорозчинні. Ця класифікація є загально визнаною. Деякі вчені (В.В. Єфремов) виділяють ще одну групу – вітаміноподібні сполуки, в яку входять холін, ліпоева кислота, оротова кислота, вітамін В₁₅, інозит, γ-амінобензойна кислота, карнітин, вітамін U. *Хімічна класифікація* вітамінів оснований на характері будови молекул: вітаміни аліфатичного ряду, вітаміни аліциклічного ряду, вітаміни ароматичного ряду, вітаміни гетероциклічного ряду.

Ми розглядаємо вітаміни за фізичною класифікацією.

Жиророзчинні вітаміни не розчиняються у воді, але розчиняються в органічних розчинниках, термостабільні, стійкі до зміни рН середовища, можуть частково депонуватися в тканинах людського і тваринного організмів. Найчастіше виконують пластичні функції – беруть участь у формуванні структури і функціях клітинних мембран, рості і розвитку ембріонів (вітамін Е), утворенні і регенерації кісткової (вітамін D) і епітеліальної (вітамін А) тканин, у процесах зсідання крові (вітамін К). Жиророзчинні вітаміни зазвичай не синтезуються в організмах людини і тварини. До цієї групи вітамінів належать вітаміни А, D, Е, К, F і УХ.

Водорозчинні вітаміни не розчиняються в жирах і багатьох органічних розчинниках, але добре розчиняються у воді, термолабільні, не стійкі до змін рН, не можуть депонуватися в тканинах. Є складовими частинами ферментів і безпосередніми учасниками більшості реакцій обміну речовин у всіх живих, організмах.

До водорозчинних відносяться вітаміни В₁, В₂, В₃, В₅, В₆, В_с, В₁₂, Н, С і Р.

Порядок виконання роботи, обробка результатів експерименту:

Дослід 1. Якісні реакції на вітамін А

1. У пробірку налити дві-три краплі розчину риб'ячого жиру в хлороформі або масляного розчину вітаміну А в хлороформі.
 2. Додати п'ять-десять крапель льодяної оцтової кислоти насиченої сульфатом заліза (II) і одну-дві краплі концентрованої сірчаної кислоти
- Записати будову вітаміну А₁, А₂.*
- Спостереження і висновки даних досліді. Утворюється зелено-смагдковий 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 HNO₃.
3. Інтенсивно перемішати.
4. Спостерігати зміну забарвлення.

б). Реакція з хлорним залізом

1. У суху пробірку вносять 0,5 мл спиртового розчину α -токоферолу.
2. Додати 0,5 мл розчину FeCl_3 .
3. Інтенсивно перемішують.

Записати будову вітаміну E.

Спостереження і висновок даних дослідів. Творюється зелено-смагдовий колір розчину

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

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

Дослід 3. Реакції відновлення рибофлавіну (вітамін B₂)

1. В пробірку вливають 1 мл розчину вітаміну B₂, 0,5 мл концентрованої соляної кислоти й кидають грудочку металічного цинку.
2. Водень, що виділяється, реагує з рибофлавіном відновлюючи його. Рідина в пробірці поступово забарвлюється в рожевий колір, а потім знебарвлюється.
3. Під час збовтування знебарвлений розчин лейкофлавіну знову окислюється киснем повітря на рибофлавін

Записати будову вітамінів B₂

Спостереження і висновок даних дослідів.

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

1 - здобувачем вищої освіти пояснити основну мету та завдання даної лабораторної роботи, 2 - надати пояснення порядку та методики виконання кожного дослідів та висновки до них, 3 - дати чітку і повну відповідь на теоретичні питання, поставлені викладачем за даною темою.

Рекомендовані джерела інформації

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. Павлоцька Л., Дуденко Н., Дімітриєвич Л., Божко Н. Біологічна хімія : підручник. Суми : Університетська книга, 2019. 379 с.

