

Лабораторне заняття № 1

ХАРАКТЕРНІ РЕАКЦІЇ ОРГАНІЧНИХ СПОЛУК З РІЗНИМИ ФУНКЦІОНАЛЬНИМИ ГРУПАМИ

Хімічні властивості органічних сполук визначаються особливостями їх будови та наявністю функціональних груп. Під терміном “*функціональні групи*” розуміють реакційноздатні угруповання атомів (рідше окремі атоми), що входять до складу органічних сполук і надають їм певних хімічних властивостей. До найважливіших функціональних груп належать: гідроксильна ($-\text{OH}$), карбонільна ($-\text{C}=\text{O}$), карбоксильна ($-\text{COOH}$), тіолова ($-\text{SH}$), аміногрупи (первинна $-\text{NH}_2$, вторинна $=\text{NH}$ і третинна $\equiv\text{N}$), а також сульфатна ($-\text{OSO}_3\text{H}$), фосфатна група ($-\text{OPO}_3\text{H}_2$) тощо.

Для сполук із спиртовими групами найважливішими є реакції утворення алкоголятів, простих та складних ефірів, дегідратації, окиснення; для сполук з карбонільною групою – окиснення, відновлення, поліконденсації; для сполук з карбоксильною групою – електролітична дисоціація, утворення іонів типу амонію.

У живих організмах широко розповсюджені речовини зі змішаними функціями, наприклад, альдегідоспирти $\text{HO}-\text{R}-\text{COH}$, спиртокислоти $\text{HO}-\text{R}-\text{COOH}$, кетокислоти $\text{OC}-\text{R}-\text{COOH}$, амінокислоти $\text{H}_2\text{N}-\text{R}-\text{COOH}$ тощо. Властивості цих сполук залежать як від властивостей кожної функціональної групи зокрема, так і від особливостей взаємодії цих груп.

Мета: ознайомитися з хімічними властивостями сполук за характерними для них функціональними групами та навчитися їх виявляти за допомогою хімічних реакцій.

Завдання для самостійної підготовки

1. Назвіть основні положення теорії хімічної будови органічних сполук О. М. Бутлерова.
2. Класифікуйте органічні сполуки за функціональними групами.
3. Опишіть будову та хімічні властивості спиртів.

4. Обґрунтуйте будову та хімічні властивості альдегідів і кетонів.
5. Охарактеризуйте будову та хімічні властивості карбонових кислот.
6. Розкрийте суть будови та хімічних властивостей амінокислот.
7. Що розуміємо під назвою “органічні сполуки”?
8. Що називається вуглеводневим радикалом?
9. Що таке ізомерія органічних сполук; її види?
10. У чому суть гомології органічних сполук? Гомологічні ряди.
11. Напишіть рівняння окиснення первинної спиртової групи на прикладі триатомного спирту гліцерину.
12. Чим відрізняються альдегіди від кетонів?
13. Якими якісними реакціями можна відкрити наявність альдегідної групи?
14. Що таке прості ефіри? Наведіть приклади.
15. Що таке складні ефіри? Наведіть приклади.
16. Підтвердіть за характерними хімічними реакціями положення про те, що глюкоза є альдегідоспиртом.
17. Підтвердіть за характерними хімічними реакціями положення про те, що фруктоза є кетоноспиртом.
18. Що таке аміни?
19. Назвіть функціональні групи амінокислот.

Наочні засоби

Таблиці:

1. Класифікація органічних сполук.
2. Функціональні групи органічних сполук.
3. Характерні реакції альдегідів і кетонів.
4. Характерні реакції карбонових кислот.
5. Характерні реакції амінокислот.
6. Характерні реакції одно- та багатоатомних спиртів.

Реактиви:

1. Хромова суміш.
2. Етиловий спирт.
3. Сірчаноокисла мідь 2%.

4. Їдкий натр 10%.
5. Гліцерин.
6. Мурашиний альдегід.
7. Амінокислота 0,1%.
8. Нінгідрин 0,1%.

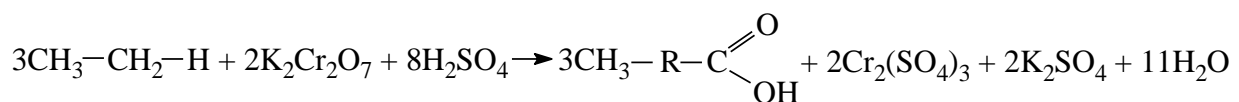
Обладнання:

1. Пробірки звичайні.
2. Піпетки.
3. Газові пальники.
4. Тримачі для пробірок.

ХІД РОБОТИ

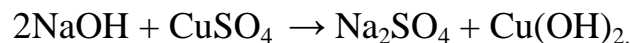
1. Окиснення етилового спирту.

У пробірку наливають 3–4 мл (!) хромової суміші. Додають 1 мл етилового спирту. Обережно (!) перемішують суміш струшуванням. Суміш розігрівається і набуває зеленого забарвлення. Відчувається запах яблук, характерний для оцтового альдегіду

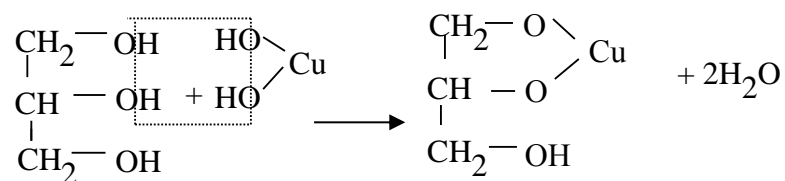


2. Виявлення “багатоатомності” (кількість груп -ОН) у спиртів.

У пробірку наливають 2 мл розчину гідроксиду натрію і додають 2–3 краплі розчину сірчаної кислоти міді. Утворюється осад синього кольору гідроксиду міді:



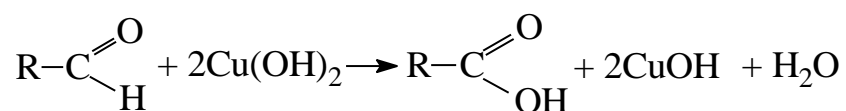
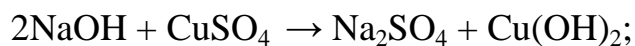
До осаду додають декілька крапель гліцерину. Осад розчиняється і розчин набуває блакитного забарвлення, характерного для гліцерату міді



3. Відновлення альдегідами сполук міді.

У пробірку наливають 1 мл мурашиного альдегіду і додають 2–3 краплі розчину гідроксиду натрію, та декілька крапель розчину сірчаної кислоти міді.

Випадає осад гідроксиду міді $\text{Cu}(\text{OH})_2$. Верхню частину розчину нагрівають. Спостерігають появу жовтого осаду гідрату закису міді Cu^+OH , який поступово переходить у закис міді червоного кольору Cu_2O . Надалі відбувається його відновлення до вільної міді Cu^0 , яка осідає на стінках пробірки, що ззовні набуває дзеркальної поверхні:



Лабораторне заняття № 2

ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОЇ РЕАКЦІЇ ТА БУФЕРНОЇ ЄМНОСТІ РОЗЧИНІВ

У процесі обміну речовин в організмі постійно утворюються продукти кислого або лужного характеру, які можуть впливати на активну реакцію середовища (рН) та інгібувати ферментативну активність. Однак цього не відбувається і зміни рН є незначними через наявність систем речовин, котрі володіють буферною дією і називаються буферними системами. Буферна дія полягає у зв'язуванні буферною системою надлишку іонів водню, які закислюють середовище, а також іонів гідроксилу, які залужнюють середовище, тобто у підтриманні постійного рН. Водневий показник змінюється від 0 до 14. Нейтральне середовище характеризує рН=7. За умови зменшення рН від 7 до 0 середовище поступово змінюється з нейтрального до середньо- і сильнокислого. І навпаки, за умови збільшення рН від 7 до 14 середовище набуває поступово середньо- і сильнолужного характеру. Типові буферні системи – це розчини слабких кислот з розчинами їх солей від сильних основ або суміші розчинів слабких основ з розчинами їх солей від сильних кислот.

Буферні системи поділяються на кислотні та основні. Кислотними є такі:

бікарбонатна	$\text{H}_2\text{CO}_3 + \text{NaHCO}_3$;
білкова	білок– кислота + білок–сіль;
фосфатна	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{Na}_2\text{HPO}_4$;
ацетатна	$\text{CH}_3\text{COOH} + \text{CH}_3\text{COONa}$.

Представником основної буферної системи є амонійна – $\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$.

Буферна дія системи не є безмежна. При додаванні великої кількості сильної кислоти чи лугу буферна система може вичерпати свою ємність і активна реакція середовища змінюється. *Буферна ємність* вимірюється кількістю грам-еквівалентів (г-екв) сильної кислоти чи лугу, яку необхідно додати до 1л розчину, щоб його рН змінився на 1. Коли запаси речовин з буферною дією вичерпуються, то змінюється активна реакція організму. Буферна дія зберігається при розведенні та концентруванні буферних розчинів.

Мета: ознайомитися з поняттям про будову дисперсних систем; про склад і біологічну роль буферних систем та механізм їх дії.

Завдання для самостійної підготовки

1. Що таке ступінь дисоціації і що він визначає?
2. Обґрунтуйте іонний добуток води та його значення при 22 °С.
3. Дайте визначення поняттю “активна реакція середовища”.
4. Що таке водневий показник і яке його значення у нейтральному, кислому та лужному середовищах?
5. Обґрунтуйте механізм буферної дії, буферну ємність; буферні системи організму.
6. Що називається електролітичною дисоціацією?
7. Які Ви знаєте особливості електролітичної дисоціації води?
8. Чим визначається величина буферної ємності?
9. Яка біологічна роль буферних систем організму?
10. Назвіть основні буферні системи крові.
11. Який склад гемоглобінового буфера?
12. Поясніть механізм дії фосфатної буферної системи.
13. Що називається ізоелектричною точкою?
14. Чому при регулюванні ваги тіла у спорті обмежують споживання солей?

Наочні засоби

Таблиці:

1. Класифікація дисперсних систем.
2. Шкала водневого показника активної реакції середовища.
3. Типи буферних систем організму.
4. Осмотичний тиск у живих клітинах.

Реактиви:

1. Соляна кислота 0,1 і 0,01 н.
2. Гідроксид натрію 0,1 і 0,01 н.
3. Фенолфталеїн 1% спиртовий розчин.
4. Метилловий червоний 1% спиртовий розчин.

5. Метилловий оранжевий 1% спиртовий розчин.
6. Оцтова кислота 0,1 н.
7. Оцтовокислий натрій 0,1 н.
8. Дистильована вода.

Обладнання:

1. Пробірки.
2. Піпетки.
3. Олівець для писання по склі.

ХІД РОБОТИ

1. Зміна кольору індикатора.

Для кожного індикатора готують 3 пробірки. У першу наливають дистильовану воду, у другу – 0,01 н. розчину соляної кислоти, у третю – 0,01 н. розчину гідроксиду натрію. У кожен пробірку додають по 1–2 краплі індикатора. Перемішують і записують у таблицю 1 одержаний колір:

Таблиця 1

Індикатор	Забарвлення розчину		
	Нейтральне середовище	Кисле середовище	Лужне середовище
Фенолфталеїн			
Метилловий червоний			
Метилловий оранжевий			
Універсальний індикаторний папір			

2. Вплив розведення на рН буферного розчину.

У пробірці готують буферну суміш, вливаючи 2 мл 0,1 н. розчину оцтової кислоти та 2 мл 0,1 н. розчину оцтовокислого натрію. 1 мл цієї суміші переносять в іншу пробірку і доливають 2 мл дистильованої води. У кожному пробірці додають по 2 краплі індикатора метилового червоного і обережно струшують.

Результати спостереження записують.

3. Вплив кислоти та лугу на рН буферного розчину.

У двох пробірках готують по 4 мл буферного розчину (як у досліді № 2). У першу пробірку додають 5 крапель 0,1 н. розчину соляної кислоти, у другу – 5 крапель 0,1 н. розчину гідроксиду натрію, а потім у кожному пробірці – по 2 краплі індикатора метилового червоного.

Результати спостереження та їх пояснення записують.

Лабораторне заняття № 3 (1)

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВИЯВЛЕННЯ МОНОСАХАРИДІВ

Вуглеводи є основним джерелом енергії для організму, а у спортсменів вуглеводна частка енергопродукції підвищена. Вуглеводи є основними енергетичними субстратами для ресинтезу АТФ під час швидкісних, силових, а також під час довготривалих фізичних навантажень. Від їх вмісту в печінці та скелетних м'язах залежить стан фізичної працездатності спортсменів і рівень втоми після виконаних вправ.

Назва вуглеводів походить від назв хімічних елементів та сполук, які входять до їх складу (вуглець і вода). Співвідношення між атомами вуглецю, водню і кисню становить 1:2:1. Так, емпірична формула D-глюкози – $C_6H_{12}O_6$, інакше її можна записати $(CH_2O)_6$ або $C_6(H_2O)_6$. Більшість вуглеводів мають загальну формулу $(CH_2O)_n$, але деякі з них містять ще атоми фосфору, сірки, азоту. Вуглеводи є полігидроксиальдегідами чи полігидроксикетонами, або утворюють ці речовини в результаті гідролізу. Інакше кажучи, це альдегідоспирти або кетоноспирти, залежно від розміщення карбонільної групи на початку, посередині чи вкінці вуглецевого скелета.

Розрізняють три класи вуглеводів: моносахариди, олігосахариди та полісахариди. Моносахариди містять лише одну структурну одиницю полігидроксиальдегіду або полігидроксикетону. Вони не піддаються гідролізу.

Назви цих сполук мають закінчення *-оза*. Це безколірні, тверді кристалічні речовини, які розчиняються у воді та не розчиняються у неполярних розчинниках, солодкі на смак.

Простіші цукри містять 2 чи 3 атоми вуглецю. Ті, які містять 2 атоми вуглецю, називаються біозами (гліколевий альдегід). Ті, які містять 3 атоми вуглецю, – це тріози: гліцеральдегід (альдоза), диоксиацетон (кетоза). Відповідно, моносахариди, які містять 4 атоми вуглецю – тетрози, 5 – пентози, 6 – гексози, 7 – гептози. Кожен з них може існувати у двох формах – кетози і альдози. Найпоширенішими є глюкоза, фруктоза, рибоза, 2-дезоксирибоза. Рибоза і 2-дезоксирибоза входять до складу нуклеїнових кислот. Глюкоза та

інші цукри, які мають здатність відновлювати, називаються відновлювальними цукрами. Моносахариди відновлюють такі речовини, як перекис водню, іони двовалентної міді. Ці властивості використовують при аналізі цукрів. При вимірюванні кількості окиснювача, відновленого розчином цукру, можна визначити концентрацію цукру в біологічних рідинах.

Мета: вивчити класифікацію та фізико-хімічні властивості моносахаридів, а також навчитися проводити якісні реакції на моносахариди.

Завдання для самостійної підготовки

1. Класифікуйте вуглеводів за функціональними групами та кількістю вуглецевих атомів (форми Коллі – Толленса і Хеурсі).
2. Опишіть будову моносахаридів.
3. Обґрунтуйте асиметричні атоми вуглецю та стереізомерію в ряді моносахаридів (оптична ізомерія – D- і L-ряди та α - і β -стереоізомерія).
4. Назвіть найважливіших представників моносахаридів, їх ациклічні та циклічні форми.
5. Визначте хімічні властивості моносахаридів.
6. Яка біологічна роль моносахаридів?
7. За якими ознаками речовини зараховують до класу вуглеводів? Їх поширення у природі.
8. Що називають альдозою, кетозою?
9. Напишіть рівняння реакції утворення складних ефірів глюкози і фруктози з фосфорною кислотою.
10. Напишіть рівняння реакції окиснення глюкози за альдегідною групою і за первинною спиртовою групою.
11. Як можна виявити глюкозу і фруктозу?
12. Назвіть всі ізомери глюкози.
13. Напишіть рівняння реакції взаємодії α -глюкози і β -фруктози з утворенням сахарози.

Наочні засоби

Таблиці:

1. Класифікація вуглеводів.
2. Хімічна будова рибози.
3. Хімічна будова дезоксирибози.
4. Види структурних форм глюкози.
5. Види структурних форм фруктози.
6. Хімічні властивості моносахаридів.

Реактиви:

1. Розчин глюкози 1%.
2. Розчин фруктози 1%.
3. Реактив Тромера.
4. Реактив Селіванова.

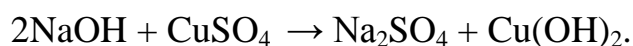
Обладнання:

1. Пробірки.
2. Газовий пальник.
3. Піпетки.
4. Тримачі пробірок.

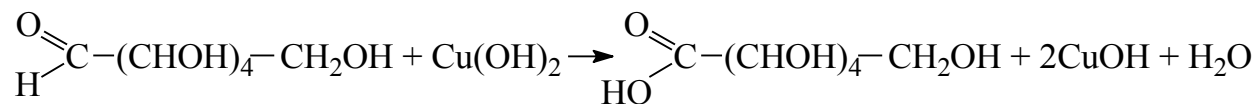
ХІД РОБОТИ

1. Реакція Тромера.

Розчин глюкози у лужному середовищі відновлює окисну мідь до закисної. Перший етап реакції полягає в утворенні гідроксиду міді при взаємодії CuSO_4 і NaOH



При нагріванні гідроксид міді відновлюється в гідрат закису міді жовтого кольору CuOH , а карбонільна група глюкози окиснюється до карбоксильної і утворюється глюконова кислота



Жовтий гідрат закису міді при подальшому нагріванні втрачає молекулу води і переходить у закис міді червоного кольору Cu_2O



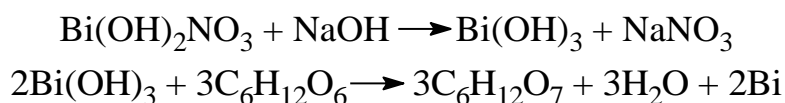
У пробірку наливають 2 мл 1% розчину глюкози, додають 2 мл 5% розчину NaOH і краплями 5% розчину сірчанокислої міді (CuSO_4) до утворення осаду блакитного кольору, який не зникає (осад $\text{Cu}(\text{OH})_2$). Верхню частину вмісту пробірки нагрівають. Випадає осад закису міді червоного кольору. При тривалішому нагріванні відбувається повна реакція відновлення до вільної міді, яка осідає на внутрішню стінку пробірки, що ззовні утворює мідне дзеркало.

2. Реакція Ніландера.

Реакція полягає у відновленні цукрами окисного вісмуту в металічний.

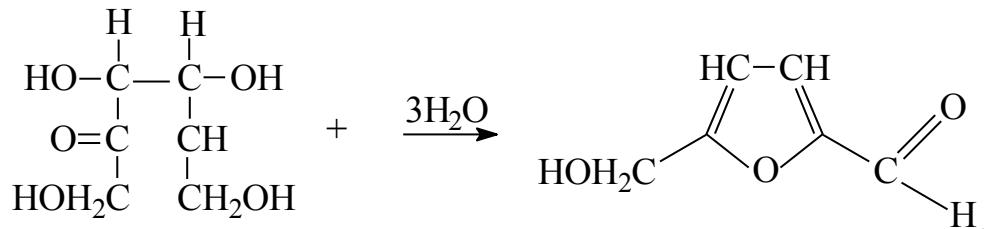
Реактив Ніландера містить основний азотнокислий вісмут, сегнетову сіль та NaOH . Сегнетова сіль ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) додається для того, щоб гідрат окису вісмуту не випадав в осад.

У пробірку наливають 2 мл 3% розчину глюкози і додають 15 крапель реактиву Ніландера. Нагрівають на полум'ї газового пальника впродовж 2 хв. Спочатку з'являється коричневе, а потім чорне забарвлення металічного вісмуту



3. Реакція Селіванова на кетогексози.

При нагріванні із соляною кислотою кетогексоза (фруктоза) перетворюється в оксиметилфурфурол, який з резорцином утворює сполуку червоного кольору. Альдоза також можуть утворювати оксиметилфурфурол при нагріванні з кислотами, проте реакція з альдозами відбувається повільно, чим і зумовлюється специфічність реакції Селіванова:



У пробірку наливають 2 мл розчину фруктози, додають 15 крапель реактиву Селіванова і нагрівають до кипіння. Спостерігають появу червоного забарвлення. Ця реакція є якісною реакцією на фруктозу.

Лабораторне заняття № 3 (2)

ВЛАСТИВОСТІ ДИСАХАРИДІВ І ПОЛІСАХАРИДІВ

Вуглеводи, які утворені двома моносахаридними компонентами називаються дисахаридами. У молекулі дисахаридів, як і у всіх складних вуглеводів, залишки моносахаридів поєднані глікозидним зв'язком. Він утворюється у результаті взаємодії аномерного атома вуглецю одного з цукрів з гідроксильною групою другого цукру. Глікозидні зв'язки легко гідролізуються кислотами, але стійкі до дії основ. Тому дисахариди можна гідролізувати і отримати у вільному вигляді їх моносахаридні компоненти методом кип'ятіння у розведеній кислоті.

До дисахаридів належать сахароза, мальтоза, лактоза. Дисахариди широко розповсюджені в природі, мають важливе практичне значення. Вони солодкі на смак, розчинні у воді.

Молекули полісахаридів складаються з великої кількості залишків моносахаридів, з'єднаних між собою кисневими ефірними мостиками. Полісахариди мають дуже велику молекулярну масу, тому утворюють колоїдні розчини у воді (висолювання, желатинування). Біологічне значення полісахаридів полягає в тому, що вони є накопичувачами моносахаридів, або слугують структурними елементами клітинних стінок і сполучної тканини. Полісахариди ще називаються гліканами. Вони відрізняються між собою природою моносахаридів, що їх утворюють, довжиною ланцюга та ступенем розгалуження ланцюга. Глікани поділяють на гомополісахариди і гетерополісахариди. Представником гомополісахаридів рослинного походження є крохмаль, а тваринного походження – глікоген. Прикладом гетерополісахариду є гіалуронова, хондроїтинсірчана кислоти та гепарин.

Мета: вивчити будову і властивості дисахаридів і полісахаридів та їх біологічну роль, а також навчитись проводити характерні для них якісні реакції.

Завдання для самостійної підготовки

3. Які вуглеводи називають дисахаридами? Їх біологічна роль.

4. Сформулюйте поняття глюкозид-глюкозидний і глюкозид-гідроксильний зв'язки.
5. Назвіть відновлювальні та невідновлювальні дисахариди.
6. Які вуглеводи називають полісахаридами; їх біологічна роль?
7. Вкажіть на різницю в будові крохмалю і глікогену.
8. Подайте схему гідролізу крохмалю.
9. Назвіть найважливіші похідні вуглеводів та вкажіть на їх біологічну роль.
10. Напишіть структурні формули сахарози, мальтози і лактози.
11. Напишіть рівняння гідролізу сахарози і мальтози.
12. Що таке 1-2- і 1-4- глюкозидні зв'язки і яке їх значення для властивостей ди- і полісахаридів?
13. Які типи зв'язків є у молекулі глікогену?
14. Яка форма глюкози бере участь у побудові клітковини?
15. Назвіть продукти гідролізу дисахаридів і полісахаридів.
16. Подайте схему гідролізу крохмалю.
17. Що таке декстрини?
18. Якими будуть результати реакції Фелінга з глікогеном?
19. Назвіть гетерополісахариди і вкажіть на їх біологічну роль.

Наочні засоби

Таблиці:

- 1.Класифікація вуглеводів.
- 2.Будова сахарози.
- 3.Будова мальтози.
- 4.Будова лактози.
- 5.Будова глікогену.
- 6.Будова амілози та амілопектину.
- 7.Схема гідролізу крохмалю.
- 8.Будова гетерополісахаридів.

Реактиви:

1. Сахароза 1%.
2. Мальтоза 1%.
3. Лактоза 1%.
4. Крохмаль 1%.
5. Реактиви Фелінга I і Фелінга II.
6. Реактив Селіванова.
7. Сірчана кислота 1н.
8. Їдкий натр 2н.
9. Реактив Люголя.

Обладнання:

1. Пробірки.
2. Піпетки на 1, 2, 5, 10 мл.
3. Газові пальники.
4. Тримачі для пробірок.
5. Олівці для писання по склі.

ХІД РОБОТИ

1. Відновлювальні властивості дисахаридів.

Дисахариди, залежно від способу зв'язку моносахаридів у їх молекулі, проявляють різну відновлювальну здатність.

У три пробірки наливають по 2 мл 1% розчинів: у першу пробірку – сахарози, у другу – мальтози, у третю – лактози. У кожен пробірку додають 1 мл реактиву Фелінга I і 1 мл реактиву Фелінга II. Усі пробірки нагрівають до початку кипіння. У пробірці із сахарозою не спостерігається відновлення міді, у двох інших з'являються осаді закису міді (мідь з двовалентної відновлюється до одновалентної).

Напишіть структурні формули цих дисахаридів і поясніть різну взаємодію з гідратом окису міді.

2. Кислотний гідроліз сахарози.

Як відомо, сахароза не дає реакції відновлення. Проте якщо сахарозу гідролізувати, нагріваючи її з кислотою, і звільнити таким чином глюкозидні

гідроксили, то утвориться глюкоза і фруктоза, суміш яких здатна давати реакції відновлення.

У пробірку наливають 4 мл розчину сахарози, додають 1 мл сірчаної кислоти і кип'ячать 2 хв. Розчин нейтралізують їдким натром, потім додають 1 мл реактиву Фелінга I і 1 мл реактиву Фелінга II і нагрівають до початку кипіння.

3. Виявлення фруктози у складі дисахаридів.

У три пробірки наливають по 2 мл розчинів сахарози, мальтози, лактози. У кожен пробірку додають 15 крапель реактиву Селіванова і нагрівають до кипіння.

Сахароза побудована із залишків глюкози та фруктози, тому легко дає реакцію на кетози з утворенням оксиметилфурфуру червоного кольору.

4. Якісна реакція на полісахариди.

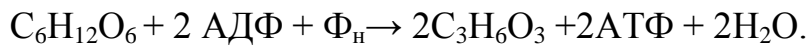
А) У пробірку наливають 1 мл крохмалю і додають 1–2 краплі реактиву Люголя (розчин I в KI). Крохмаль з йодом утворюють комплексну сполуку, яка має синє забарвлення. Реакція вважається якісною реакцією на крохмаль.

Б) У пробірку наливають 2 мл крохмалю і додають 1 мл реактиву Фелінга I і 1 мл реактиву Фелінга II і нагрівають до початку кипіння. Цегляно-червоне забарвлення не з'являється. Здатністю відновлювати оксиди металів полісахариди не володіють, тому що півацетальні гідроксили зв'язані. Вона з'являється лише після гідролізу крохмалю до мальтози і глюкози.

Лабораторне заняття № 4

ВИЗНАЧЕННЯ ПРОДУКТІВ ГЛІКОЛІЗУ В БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТАХ

Окиснення глюкози в тканинах до кінцевих продуктів обміну можна схематично зобразити так: $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$. При цьому накопичується 38 АТФ. Проте під час фізичної діяльності в умовах недостатнього надходження до м'язів кисню у них накопичується молочна кислота



Інакше кажучи, перетворення вуглеводів у тканинах людини і тварин може відбуватися двома шляхами: аеробним і анаеробним. Анаеробне перетворення вуглеводів, що починається з глікогену або з глюкози, а закінчується утворенням молочної кислоти, називається відповідно глікогенолізом або гліколізом. Гліколіз – центральний шлях катаболізму глюкози. Він містить хімічні перетворення трьох типів.

1. Розпад вуглецевого скелета глюкози з утворенням пірувату (шлях атомів вуглецю).
2. Фосфорилування АДФ високоенергетичними сполуками і утворення АТФ (шлях фосфатних груп).
3. Перенесення водневих протонів та електронів (шлях перенесення електронів).

Гліколіз відбувається впродовж десяти послідовних реакцій, кожна з яких каталізує певний фермент. Ферменти гліколізу містяться у напіврідкому середовищі клітини – цитозолі. Гліколіз поділяють на 2 етапи: підготовчий та основний, або на три стадії: активації, біологічного окиснення та гліколітичного фосфорилування.

Підготовчий етап включає процес фосфорилування глюкози та розщеплення її ланцюга на дві фосфотріози. Для цього використовується

енергія у вигляді двох молекул АТФ. У випадку якщо гліколіз починається з глікогену, то на активацію використовується 1 АТФ, оскільки енергії гідролізу глікогену є досить аби перше фосфорилування гексози відбувалося за участю фосфорної кислоти. Така економія на стадії активації пізніше позначається на енергетичному ефекті глікогенолізу.

Другий етап складається з окисно-відновних реакцій біологічного окиснення, спряжених з субстратним фосфорилуванням, у процесі якого утворюється АТФ. На цьому етапі енергія запасється у вигляді чотирьох молекул АТФ. Враховуючи витрати АТФ на активацію субстратів у підготовчому періоді (2 АТФ в умовах гліколізу та 1 АТФ в умовах глікогенолізу), енергетичний ефект гліколізу становить 2 АТФ, а глікогенолізу 3 АТФ.

Завдання для самостійної підготовки

1. Розкрийте суть ферментативного гідролізу вуглеводів у травному тракті.
2. Опишіть гліколітичний (анаеробний) розпад вуглеводів.
3. Обґрунтуйте глікогеноліз, біологічне значення глікогенолізу.
4. Визначте енергетичний ефект гліколізу та глікогенолізу.
5. Охарактеризуйте аеробне окиснення вуглеводів та енергетичний ефект біологічного окиснення.
6. Розкрийте суть біологічного значення анаеробних та аеробних процесів в організмі при виконанні фізичних навантажень.
7. Опишіть спільність, відмінність між гліколізом і глікогенолізом та біологічну роль.
8. Охарактеризуйте реакції субстратного фосфорилування.
9. Які вітаміни беруть участь в окисному декарбоксілюванні пірвіноградної кислоти (ПВК)?
10. В яких умовах відбувається перетворення ПВК у молочну кислоту?
11. Дайте характеристику циклу трикарбонових кислот (ЦТК).
12. Гліконеогенез, його біологічна роль.

Наочні засоби

Таблиці:

1. Анаеробний розпад вуглеводів.
2. Схема послідовності реакцій гліколізу.
3. Механізм декарбоксилування ПВК.
4. Окислювальний ЦТК.
5. Розщеплення глікогену (глікогеноліз).
6. Розщеплення вуглеводів в шлунково-кишковому тракті.

Реактиви:

1. Подрібнені м'язи.
2. Молочна кислота.
3. Фосфатний буфер рН 8,0.
4. ТХОК 10%.
5. Крохмаль 1%.
6. Вазелін.
7. Оксид кальцію.
8. Сірчаноокисла мідь 20%.
9. Дистильована вода.
10. Реактив Уфельмана.

Обладнання:

1. Термостат.
2. Пробірки.
3. Піпетки на 1 і 10 мл.
4. Лійки діаметром 3–5 см.
5. Скляні лопатки.

ХІД РОБОТИ

1. Якісна реакція на молочну кислоту.

У пробірку наливають 1 мл реактиву Уфельмана (темно-фіалковий колір) і додають краплями водний розчин молочної кислоти до зміни забарвлення у оливковий (жовто-зелений) колір.

Молочна кислота, взаємодіючи з хлорним залізом, яке міститься в реактиві Уфельмана, дає зелено-жовте забарвлення внаслідок утворення молочнокислого заліза.

2. Якісне визначення молочної кислоти як метаболіту гліколізу.

У дві пробірки поміщають по 1 г свіжоприготованих гомогенізованих м'язових волокон і додають 5 мл фосфатного буфера (рН 8,0). У першу пробірку (контрольну) доливають 1 мл 10% розчину ТХОК для денатурації ферментів. Після цього в обидві пробірки доливають по 1 мл 1% розчину крохмалю і добре збовтують. У кожную пробірку додають по 10 крапель вазелінової олії для створення безкисневих (анаеробних) умов. Пробірки поміщають в термостат з температурою 37 °С на 1 год. Після години інкубації виймають обидві пробірки. У дослідну доливають 1 мл 10% розчину ТХОК для денатурації ферментів і припинення ферментативної реакції.

Вміст обох пробірок відфільтровують у чисті пробірки (контроль і дослід). В обидві пробірки додають по 0,5 г оксиду кальцію і по 0,5 мл 20% розчину сірчаноокислої міді для осадження вільних вуглеводів. Пробірки збовтують 1–2 хв і знову піддають фільтрації. З фільтратами виконують якісну реакцію на молочну кислоту, як описано у досліді 1.

У м'язовій тканині містяться всі ферменти, які супроводжують гліколітичні реакції. Тому, створивши анаеробні умови, рН 8,0, температуру 37 °С, отримаємо такий результат: у дослідній пробірці буде відбуватися гліколіз із утворенням молочної кислоти, на що вказуватиме інтенсивніша реакція з реактивом Уфельмана (більш оливковий колір розчину).

Лабораторне заняття № 5

ВЛАСТИВОСТІ ЛІПІДІВ

Назва ліпіди походить від грецького слова “*lipos*”, що означає жир. Це нерозчинні у воді маслянисті або жирні речовини, які можна екстрагувати з клітини неполярними розчинниками, такими як ефір, хлороформ або бензол.

Молекула жиру, як і молекула вуглеводів, складається з вуглецю, водню та кисню. Вміст кисню порівняно з іншими атомами є значно меншим, ніж у вуглеводах. Наприклад, формула тристеарину $C_{57}H_{110}O_6$. Тому для окиснення жирів потрібно значно більше кисню, ніж для окиснення вуглеводів. Висока калорійність жирів порівняно з білками і вуглеводами надає їм високої енергетичної цінності при використанні організмом великої кількості енергії. Ліпіди є головними компонентами клітинних мембран.

Залежно від молекулярної будови, жири поділяють на прості та складні. Прості є ефірами різних спиртів та жирних кислот. Їх поділяють на власне жири або нейтральні жири, воски. Складні ліпіди є ефірами спиртів та жирних кислот, але у своїй структурі вони містять й інші складові: азотові основи, вуглеводи, залишки фосфорної та сірчаної кислот. Складні ліпіди поділяють на фосфоліпіди (гліцерофосфоліпіди, сфінгофосфоліпіди), гліколіпіди (цереброзиди, гангліозиди) та стероїди (стерини та стериди). За місцем розташування ліпіди поділяють на протоплазматичні і мембранні.

Мета: знати будову і властивості ліпідів та їх біологічну роль, а також навчитися проводити характерні для них якісні реакції.

Завдання для самостійної підготовки

1. Подайте загальну характеристику і класифікацію ліпідів.
2. Опишіть біологічну роль та енергетичну цінність жирів.
3. Охарактеризуйте будову нейтральних жирів та їх фізико-хімічні властивості.
4. Які жирні кислоти належать до складу природних жирів? Значення ненасичених жирних кислот.

5. Обґрунтуйте емульгування жирів та біологічне значення цього процесу.
6. Подайте будову, класифікацію та біологічну функцію ліпоїдів.
7. Які жири називаються структурними, а які резервними?
8. Де депонується (відкладається) жир в організмі людини?
9. Яка фізіологічна роль підшкірного жиру?
10. Чим відрізняються тригліцериди, що належать до складу жирів тіла людини від тригліцеридів, що входять до складу жирів рослинного походження?
11. Яка роль фосфоліпідів в організмі?
12. Які тригліцериди називаються простими, а які змішаними?
13. Напишіть структурні формули моно-, ди- і тригліцериду.
14. Напишіть формулу нейтрального жиру.
15. Напишіть рівняння реакції гідрогенізації, гідролізу та окиснення триолеїну.
16. Що таке мило?
17. Чому водний розчин мила має лужну реакцію? Підтвердіть рівнянням реакції.
18. Які жирні кислоти називаються насиченими, ненасиченими?
19. Вкажіть на відмінність у структурі насичених та ненасичених жирних кислот.
20. Чим відрізняються за своїми фізико-хімічними властивостями насичені та ненасичені вищі жирні кислоти?
21. Яка роль вільних жирних кислот в організмі?
22. Чим відрізняються тверді жири від рідких?
23. Яке значення холестерину?

Наочні засоби

Таблиці:

1. Будова нейтрального жиру.
2. Будова фосфоліпідів.
3. Класифікація ліпідів та ліпоїдів.

4. Класифікація жирних кислот.
5. Будова холестерину.
6. Гідроліз лецитину.

Реактиви:

1. Рослинний жир.
2. Бензин.
3. Хлороформ.
4. Ефір.
5. Ацетон.
6. КОН 1% спиртовий розчин.
7. NaHCO_3 1%.
8. Яєчний білок 1%.
9. Медична жовч.
10. Дистильована вода.

Обладнання:

1. Пробірки.
2. Пробірки широкі.
3. Зворотній холодильник.
4. Водяна баня.
5. Піпетки на 5 і 10 мл.
6. Олівці для писання по склі.

ХІД РОБОТИ

1. Розчинність жирів.

У 5 пробірок наливають по 3 краплі рослинного жиру. У першу пробірку додають 2 мл води; у другу – 2 мл бензину; у третю – 2 мл хлороформу; у четверту – 2 мл ефіру і в п'яту – 2 мл ацетону. Струшують. Порівнюють розчинність жиру в органічних розчинниках і у воді.

Жири добре розчиняються в органічних розчинниках, але нерозчинні у воді.

2. Емульгування жирів.

У 6 пробірок наливають по 3 краплі рослинного жиру і по 3 мл води. Потім у другу пробірку додають 3 краплі 1% розчину їдкого калію, у третю – 3 краплі

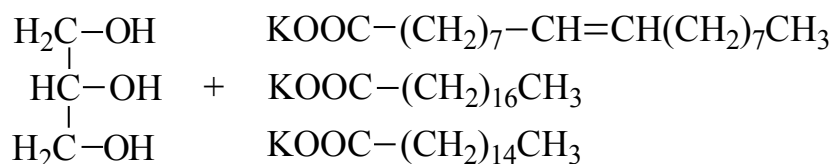
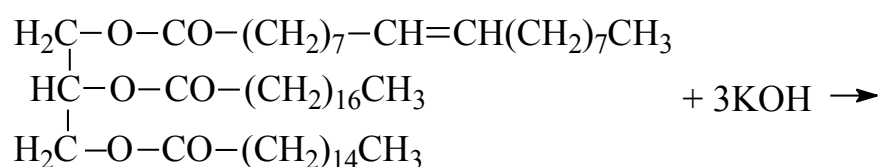
1% розчину соди, в четверту – 3 краплі 1% розчину мила, у п'яту – 3 краплі розчину білка, у шосту – стільки ж жовчі. Перша пробірка, у яку нічого не додають, є контрольною.

Вміст усіх пробірок старанно струшують, ставлять за порядком у штатив і через 5 хв спостерігають стійкість емульсії. Жири не розчиняються у воді, але утворюють нестійкі емульсії. При додаванні емульгаторів утворюється стійка емульсія. Встановлюють, який емульгатор найсильніший.

3. Гідроліз (омилення жиру).

При лужному гідролізі жирів утворюються продукти їх нейтралізації лугом – солі жирних кислот, які називають милами, наприклад: $C_{17}H_{35}COOK$ – стеариновокислий калій (рідке мило), чи тверде мило – $C_{17}H_{35}COONa$.

Реакція омилення жиру



Двадцять крапель рослинного жиру змішують у широкій пробірці з 5 мл спиртового розчину їдкого калію. Пробірку нагрівають на киплячій водяній бані, закривши корком з довгою скляною трубкою (зворотнім холодильником) до повного омилення. Показником омилення може бути відсутність утворення жирних плям на поверхні води, в яку додана крапля гідролізату та піна при струшуванні.

Лабораторне заняття № 6

ФЕРМЕНТАТИВНИЙ ГІДРОЛІЗ ЖИРІВ.

ВИЗНАЧЕННЯ КЕТОНОВИХ ТІЛ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ

Споживаючи жири рослинного і тваринного походження, організм людини синтезує свої, властиві організму жири. Передує цьому процесу ліполіз – гідролітичне розщеплення екзогенних ліпідів у шлунково-кишковому тракті на гліцерин і жирні кислоти під впливом ферментів ліпаз.

У порожнині рота жири не піддаються ніяким хімічним змінам. У шлунку продовжується розм'якшення і механічне подрібнення жирів. Невелика кількість шлункових ліпаз може розщеплювати лише емульгований жир (наприклад молоко у дитячому віці).

Основний розпад жирів відбувається у дванадцятипалій кишці за рахунок соку підшлункової залози – панкреатину, що містить ліпази, а також за участю жовчі печінки. До складу жовчі входять жовчні кислоти та їх солі, які володіють емульгувальними властивостями. Панкреатична ліпаза активується жовчю, і все це пришвидшує гідроліз жирів.

Гліцерин, як добре розчинний у воді, всмоктується мікроборсинками кишечника. Жирні кислоти у воді нерозчинні, тому їх активно транспортують жовчні кислоти у вигляді хіломікронів. По другий бік стінки кишечника з гліцерину і жирних кислот синтезується жир, властивий організму. Для цього використовується енергія АТФ.

Вільний гліцерин вступає у такі перетворення: насамперед фосфорилується за участю АТФ, а далі фосфогліцерин окиснюється у фосфогліцериновий альдегід за участю НАД. Наступні перетворення пов'язані з отриманням енергії та утворенням кінцевих продуктів – CO_2 і H_2O . Окиснення фосфогліцеринового альдегіду відбувається аналогічно перетворенню фосфотріоз за схемою другої і третьої стадій гліколізу аеробного типу (через піровиноградну, а не молочну кислоти). Завдяки зворотності процесів, можливим є синтез глікогену з гліцерину.

Жирні кислоти, всмоктуючись у кров і потрапляючи в печінку, піддаються β -окисненню. Кінцевим продуктом β -окиснення є ацетил-коензим А. У процесі окислення ацетил-коензиму А в циклі трикарбонових кислот утворюється енергія.

При інтенсивному окисненні жирів можуть, за умови гіпоксії, утворюватися такі кетонові тіла: ацетооцтова кислота, β -гідроксималяна кислота, ацетон. Вільні жирні кислоти і кетонові тіла є одним з основних джерел енергії при довготривалій м'язовій роботі і під час відпочинку після фізичного навантаження.

Надмірне утворення кетонів в тканинах організму (кетоз) призведе до збільшення їх у крові – кетонемії, що супроводжується появою їх у сечі. Таке явище має назву кетонурія.

Мета: ознайомитися з процесами перетворення жирів у шлунково-кишковому тракті. Навчитися визначати активність ферментів ліпаз і проводити якісні реакції на кетонові тіла.

Завдання для самостійної підготовки

1. Яка біологічна роль жирів?
2. Опишіть обмін жирів.
3. Охарактеризуйте β -окиснення жирних кислот.
4. Яка роль печінки в обміні жирів?
5. Розкрийте суть окиснення гліцерину і його зв'язку з гліколізом.
6. Ліполіз. Біологічна роль тканинного розпаду жирів, вплив гормонів і фізичних навантажень на процеси тканинного розпаду жирів.
7. Охарактеризуйте біосинтез жиру.
8. Як відбувається гідроліз і всмоктування жиру в шлунково-кишковому тракті? Роль ферментів у цих процесах.
9. Який кінцевий продукт β -окиснення жирних кислот? Взаємозв'язок обміну вуглеводів, жирів і білків.
10. Назвіть явища кетозу, кетонемії та кетонурії. Причини їх виникнення.
11. Фосфоліпіди, їх біологічна роль.

12. При яких фізичних навантаженнях жири є основним джерелом енергії для організму?
13. Яка роль нервової системи та гормонів у регуляції жирового обміну?

Наочні засоби

Таблиці:

1. Розпад жирів у шлунково-кишковому тракті.
2. Окиснення гліцерину.
3. Синтез нейтральних жирів.
4. β -окиснення жирних кислот.

Реактиви:

1. Підшлунковий сік.
2. Медична жовч.
3. Дистильована вода.
4. Спиртовий розчин фенолфталеїну.
5. Їдкий натр 10% і 0,1 н.
6. Біологічна рідина з кетоновими тілами.
7. Реактив Люголя.
8. Ліпаза.

Обладнання:

1. Термостат.
2. Піпетки 1, 2, 5, 10 мл.
3. Пробірки.
4. Колби на 100 мл.
5. Мірні циліндри 50 мл (2).
6. Олівець для писання по склі.

ХІД РОБОТИ

1. Ферментативний гідроліз жирів.

У чотири пронумеровані колби відміряють по 25 крапель (0,5 мл) рослинної олії. В першу та третю додають по 1 мл препарату ліпази, у другу – 1 мл перекип'яченого препарату ліпази. У третю та четверту колбу додають по 2 мл жовчі. Для вирівнювання об'єму у всі колбочки додають воду: в першу і другу по 3 мл, у третю – 1 мл і в четверту – 2 мл. Після цього в усі колби додають по 2 краплі фенолфталеїну і краплями розчин NaOH до появи слабо-рожевого забарвлення. Всі колби ставлять на 30 хв в термостат при температурі 38 °С. Кількість жирних кислот, що утворилися в результаті гідролізу, визначають титруванням 0,01 н. розчину NaOH до появи слабо-рожевого забарвлення. Активність ферменту виражають у мілілітрах 0,01 н. розчину NaOH, що були використані на титрування. Отримані результати порівнюють і записують висновки.

2. Виявлення кетонів у біологічних об'єктах.

У пробірку наливають 2 мл досліджуваної рідини (сечі), 10 крапель 10% розчину NaOH і 6 крапель реактиву Люголя. У лужному середовищі при взаємодії ацетону з йодом буде утворюватися йодоформ, який має різкий запах і випаде у вигляді жовтого осаду.

Лабораторне заняття № 7 (1)

КОЛЬОРОВІ РЕАКЦІЇ АМІНОКИСЛОТ ТА БІЛКІВ

Білки це особливий клас речовин, який називають протеїнами від грецького слова “protos” – перший, важливий. Білки становлять 50–60% сухої маси тіла. Добова потреба залежить від віку, умов праці, кліматичних умов. В середньому вона становить 100–120г білка (1,3г на 1кг маси тіла). В організм білки надходять з їжею рослинного і тваринного походження. Кількісно вони переважають над всіма макромолекулами, які є в клітині і складають більше половини сухої ваги більшості організмів. Вони виконують в організмі такі функції: слугують пластичним матеріалом клітин, транспортують речовини, необхідні для процесів життєдіяльності, каталізують всі реакції обміну речовин (ферменти), виконують захисну функцію (антитіла, антигени, чинники зсідання крові), регуляторну (гормони) тощо.

Зважаючи на структуру, це високомолекулярні азотовмісні органічні речовини, побудовані з амінокислот, які з'єднані пептидними зв'язками, тобто це високомолекулярні полімери, мономерами яких є амінокислоти. Молекули білків мають складну структурну організацію.

Молекулярна маса білків дуже велика і становить від 10 000 до декількох мільйонів вуглецевих одиниць. Це означає, що білкова молекула містить до декількох тисяч амінокислотних залишків. Білки у всіх організмах, незалежно від їх функцій і біологічної активності, побудовані з одного і того ж основного набору – 20 амінокислот.

Білки можна виявити за допомогою низки кольорових реакцій, які властиві складовим білка – амінокислотам або угрупованням, утвореним ними. Так, поліпептиди та білки утворюють біуретову реакцію, характерну для пептидного (кислотно-амідного) зв'язку, який є основним зв'язком первинної структури білкової молекули. Всі амінокислоти утворюють позитивну реакцію з нінгідрином.

Деякі амінокислоти (тирозин, триптофан, фенілаланін, цистин, аргінін, гістидин) утворюють кольорові реакції, характерні для циклічних амінокислот.

Мета: вивчити класифікацію, будову та властивості амінокислот, утворення пептидного зв'язку, а також навчитися проводити кольорові реакції амінокислот та білків.

Завдання для самостійної підготовки

1. Що таке білки? Їх біологічна роль.
2. Класифікуйте амінокислоти. Охарактеризуйте будову та властивості.
3. Обґрунтуйте замінні та незамінні амінокислоти.
4. Розкрийте суть пептидного зв'язку та його утворення.
5. Назвіть структуру та класифікацію білків.
6. Дайте коротку характеристику простих і складних білків.
7. Перелічіть основні функції білків.
8. Яка відмінність білків від жирів і вуглеводів (за елементарним складом)?
9. Назвіть сірковмісні амінокислоти. Наведіть приклади.
10. Назвіть циклічні амінокислоти. Наведіть приклади.
11. Чому за допомогою біуретової реакції не можна виявити вільні амінокислоти?
12. Напишіть рівняння реакції утворення дипептиду.

Наочні засоби

Таблиці:

1. Класифікація білків.
2. Класифікація амінокислот.
3. Замінні та незамінні амінокислоти.
4. Молекулярні маси деяких білків.

Реактиви:

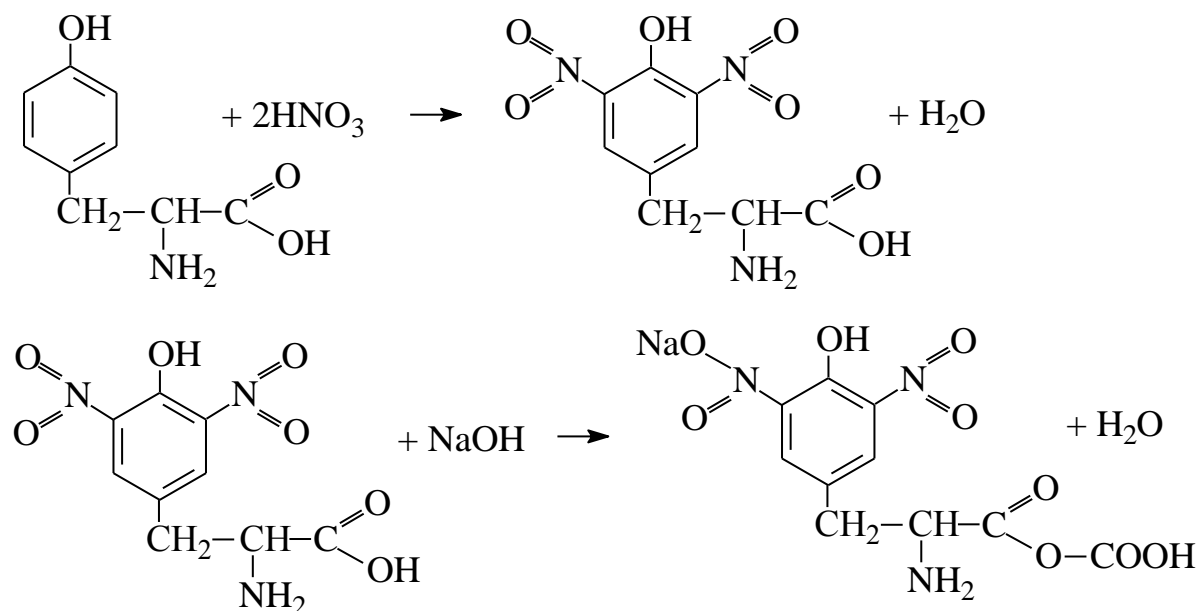
1. Яечний білок 1%.
2. Гідроксид натрію 10% і 30%.
3. Мідь сірчаноокисла 1%.
4. Азотна кислота концентрована.
5. Желатин 1%.
6. Оцтова кислота льодяна.

У пробірку наливають 5 крапель 1% розчину яєчного білка, 5 крапель 10% розчину гідроксиду натрію і 1 краплю 1% розчину сірчанокислої міді. Перемішують і спостерігають появу фіалкового забарвлення, що засвідчує про пептидні зв'язки між амінокислотами у білковій молекулі.

2. Ксантопротеїнова реакція.

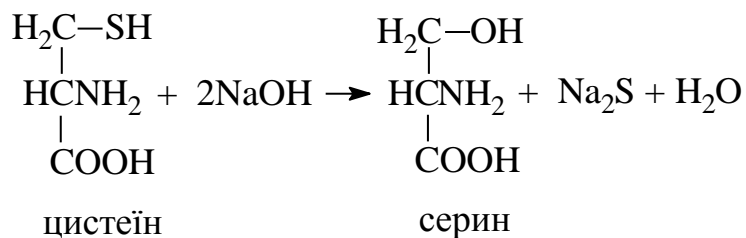
При додаванні до розчину білка концентрованої азотної кислоти білок спочатку осідає, а потім при нагріванні розчиняється і рідина забарвлюється у жовтий колір. Ця реакція підтверджує наявність у білку ароматичних амінокислот (фенілаланіну, тирозину, триптофану) і ґрунтується на утворенні нітропохідних цих амінокислот.

У пробірку наливають 5 крапель 1% розчину яєчного білка і 3 краплі концентрованої азотної кислоти. Обережно нагрівають і спостерігають появу жовтого забарвлення. Після охолодження у пробірку додають 10 крапель 30% розчину їдкого натру (NaOH). Жовте забарвлення переходить в оранжеве внаслідок нітрування залишків ароматичних амінокислот білкової молекули з утворенням таких полінітросполук:

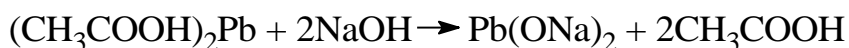


3. Реакція Фоля.

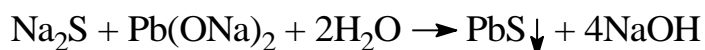
При додаванні до розчину білка 30% розчину лугу, оцтовокислого свинцю під час кип'ятіння розчин починає темніти. Реакція зумовлена наявністю у білку сірковмісних амінокислот: цистину, цистеїну і метіоніну. Ці амінокислоти при нагріванні сильного лугу руйнуються, утворюючи сірчистий натрій



Оцтовокислий свинець реагує з лугом, утворюючи плюмбїт натрію



Сірчистий натрій при взаємодії з плюмбїтом утворює чорний осад сірчистого свинцю



В одну пробірку наливають 5 крапель 1% розчину яєчного білка, у другу – 5 крапель 1% розчину желатину. В обидві пробірки додають по 5 крапель 30% розчину NaOH і по 1 краплі 5% розчину оцтовокислого свинцю. Після нагрівання розчин з яєчним білком темніє, у пробірці з розчином желатину забарвлення не з'являється.

Лабораторне заняття № 7 (2)

РЕАКЦІЇ ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ

Для осадження білка необхідно позбавити його чинників, що утримують його в розчині. Нативні білки під впливом зміни рН, підвищення температури, опромінення хвилями різних довжин, радіоактивного випромінювання, а також багатьох хімічних речовин (органічних розчинників, важких металів тощо) зазнають змін у просторовій структурі молекули. У результаті цих змін білок втрачає здатність розчинятися у звичайних для нього розчинниках (вода, солеві розчини тощо), втрачає свої гідрофільні властивості і набуває гідрофобних. Всі ці зміни становлять поняття денатурації. Пептидні зв'язки у білках при денатурації не гідролізуються.

Фактично процес денатурації білка зводиться до руйнування нативної вторинної і третинної структури, що, зазвичай, призводить до втрати ним біологічних властивостей.

Реакції осадження білків можна розділити на дві групи:

1) незворотні реакції осадження, у результаті яких білки зазнають глибоких змін і не можуть бути знову розчинені. Настає денатурація білка. До незворотніх реакцій належать такі: осадження білка солями важких металів, алкалоїдними реактивами, мінеральними й органічними кислотами, високою температурою;

2) зворотні реакції осадження, у результаті яких осаджені білки не зазнають глибоких змін і тому одержані осади білків можуть бути розчинені у воді. Молекула білка при цьому зберігає свої властивості і не піддається денатурації.

До зворотніх реакцій слід зарахувати осадження білків органічними розчинниками (спиртом чи ацетоном) і висолювання білків (осадження під впливом розчинів нейтральних солей: NH_4Cl , NaCl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ тощо).

Мета: вивчити фізико-хімічні властивості білків, зворотні і незворотні реакції осадження білків, а також навчитися осаджувати білки.

Завдання для самостійної підготовки

1. Назвіть колоїдні властивості білків та їх розчинів.
2. Охарактеризуйте біологічну роль білків.
3. Опишіть денатурацію білків і назвіть чинники, які її викликають.
4. Назвіть зворотні і незворотні реакції осадження білків.
5. До яких дисперсних систем належать білкові розчини?
6. Від чого залежить стійкість колоїдних білкових розчинів?
7. Від чого залежить розчинність білка? Які чинники стабілізують білок у розчині?
8. Що таке гідроліз білка і які види гідролізу Ви знаєте?
9. Що називається амфотерністю білка?
10. Що таке ізоелектрична точка білка?
11. Яка залежність існує між амінокислотним складом білка і його ізоелектричною точкою?
12. Що таке денатурація білка? Які чинники, що денатурують білки, Вам відомі?
13. Що відбувається з білками при кип'ятінні?
14. Які загальні механізми осадження білків із розчинів Ви знаєте? Чому білки найкраще осаджуються в ізоелектричній точці?
15. Чи можна осадити білки спиртом?
16. Як діють солі важких металів на білки?
17. Що таке висолювання білків?
18. Чому при отруєнні солями важких металів дають яєчний білок або молоко?

Наочні засоби

Таблиці:

1. Хімічні властивості білка.
2. Білки – амфотерні сполуки.
3. Денатурація білка.
4. Амінокислоти, що належать до складу білків та їх будова.
5. Типи зв'язків, що стабілізують білкову молекулу.

Реактиви:

1. Яєчний білок 1%.
2. Спирт етиловий.
3. Оцтова кислота 3% і 5%.
4. Їдкий калій 10%.
5. Мідь сірчанооксида 5%.
6. Свинець оцтовокислий 0,5%.
7. Соляна кислота концентрована.
8. Сірчана кислота концентрована.
9. Азотна кислота концентрована.
10. Трихлороцтова кислота (ТХОК) 10%.
11. Сульфосаліцилова кислота 5%.
12. Калій залізосинеродистий 5%.
13. Пікринова кислота.

Обладнання:

1. Пробірки .
2. Піпетки на 5 мл.
3. Лійки.
4. Фільтрувальний папір.
5. Газовий пальник.
6. Тримачі для пробірок.
7. Олівець для писання по скла.

ХІД РОБОТИ

1. Осадження білків водовід'ємними реагентами.

У пробірку, що містить 10 крапель 1% розчину білка, додають 10 крапель етилового спирту. При перемішуванні спостерігають випадання білка в осад внаслідок дегідратації білкових молекул. Якщо частину вмісту пробірки відлити і розвести водою, осад знову розчиниться.

2. Осадження білків під впливом високої температури.

Випадання білків в осад при нагріванні – згортання – характерне майже для всіх білків (окрім желатину). Особливо легко і повніше відбувається осадження

білків у слабкокислому середовищі, біля ізоелектричної точки. У нейтральному і сильнокислому середовищах осадження білків відбувається значно гірше, а в лужному середовищі зовсім не настає.

У чотири пробірки наливають по 10 крапель 10% розчину яєчного білка. Потім у другу пробірку додають 1 краплю 3% оцтової кислоти, у третю – 15 крапель 3% оцтової кислоти, а у четверту – 1 краплю 10% розчину їдкого натрію. Усі пробірки нагрівають до кипіння. Спостерігають у котрій пробірці відбувається осадження білка і з якою швидкістю.

3. Осадження білків солями важких металів.

У дві пробірки наливають по 10 крапель 1% розчину яєчного білка. У першу додають 5 крапель 5% розчину сірчаної кислоти міді, у другу 5 крапель 0,5% розчину оцтовокислого свинцю. Спостерігають утворення осадів.

Солі важких металів (ртуті, срібла, міді, свинцю тощо) викликають незворотне осадження білків, утворюючи з ними нерозчинні у воді сполуки.

4. Осадження білків мінеральними кислотами.

Концентровані мінеральні кислоти викликають осадження білків. Це пов'язано як з дегідратацією білкових молекул, так і з денатурацією білка.

У три пробірки наливають по 5 крапель таких концентрованих кислот: соляної, сірчаної і азотної. Тоді, нахиливши пробірки, у кожную обережно додають, доливаючи по стінці, 5 крапель 1% розчину білка. На межі двох шарів рідини утворюється осад білка.

5. Осадження білків органічними кислотами.

Сульфосаліцилова і трихлороцтова кислоти є надчутливими і специфічними реактивами на білок. Трихлороцтова кислота осаджує тільки білки і не осаджує продукти розпаду білка.

У дві пробірки наливають по 5 крапель 1% розчину білка і додають у першу 5 крапель 10% трихлороцтової кислоти, у другу – 5 крапель 5% сульфосаліцилової кислоти. При перемішуванні в обох пробірках утворюється осад.

6. Осадження білків алкалоїдними реактивами

Танін, пікринова кислота, жовта кров'яна сіль та інші алкалоїди утворюють з білками у кислому середовищі нерозчинні сполуки.

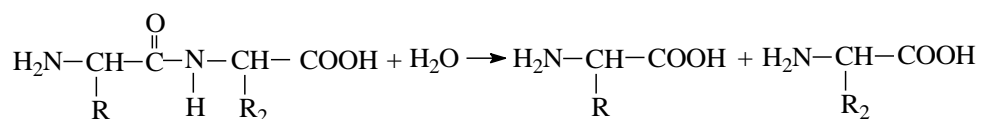
Механізм осадження білків алкалоїдними реактивами пов'язаний з утворенням нерозчинних солеподібних сполук з основними азотистими групами білка. У цій сполуці білок є катіоном, а алкалоїдний реактив – аніоном. У пробірку наливають 10 крапель 1% розчину яєчного білка, підкислюють 2 краплями 10% розчину оцтової кислоти і додають 3 краплі 5% розчину пікринової кислоти. Білок випадає в осад.

Лабораторне заняття № 8

ФЕРМЕНТАТИВНИЙ ГІДРОЛІЗ БІЛКІВ В ОРГАНІЗМІ ЛЮДИНИ

Перетворення білків відбувається у шлунково-кишковому тракті. У ротовій порожнині білки їжі не піддаються хімічним перетворенням, а лише механічно подрібнюються. Хімічні перетворення починаються у шлунку, стінки якого виділяють пепсиноген і соляну кислоту (рН 1,5–2). Під впливом соляної кислоти пепсиноген перетворюється у активний пепсин, який гідролітично розщеплює внутрішні, розташовані далеко від кінців молекули пептидні зв'язки, головню між ароматичними амінокислотами. В результаті утворюються грубі фрагменти (пептони) і невелика кількість амінокислот. Від складних білків відділяється небілкова компонента. Соляна кислота також спричиняє набухання білків.

Пептони надходять в кишківник, де травлення їх відбувається вже не у кислому, а в лужному середовищі (рН 7,8–8). У дванадцятипалій кишці на пептони діють трипсин і хемотрипсин, що виділяє підшлункова залоза. Активація їх відбувається під впливом специфічних ентерокіназ стінок кишківника. У результаті їх дії пептони перетворюються на низькомолекулярні полі- і дипептиди, які під впливом карбоксипептидаз, амінопептидаз та дипептидаз розщеплюються до амінокислот



Продукти травлення всмоктуються в тонкому кишечнику мікроросинками і попадають в кров. З кров'ю вони надходять у печінку, а потім у загальний метаболічний фонд крові, переносяться нею до тканин, а відтак беруть участь у процесах внутріклітинного обміну. Спрямованість внутріклітинного обміну (пластичні процеси – новоутворення клітинних структур, чи енергетичний обмін – дисиміляція до кінцевих продуктів) залежить від конкретних умов перебігу реакцій в клітинах і потреб організму. При м'язовій діяльності в клітині переважають процеси енергетичного обміну, у період відпочинку після роботи – пластичні процеси.

Дисиміляція амінокислот здійснюється за допомогою низки реакцій, найважливішими з яких є дезамінування, переамінування, декарбоксілювання, дегідрогенізації. Кінцевими продуктами цих процесів є вуглекислий газ, вода, аміак, сечовина. Аміак проходить ряд перетворень в печінці, а саме: потрапляє в орнітиновий цикл і виводиться з організму із сечею у вигляді сечовини.

Виділення сечовини й аміаку з організму свідчить про інтенсивність білкового обміну. Збільшення виділення сечовини із сечею пов'язане із збагаченою білками дієтою або є результатом посиленого дезамінування амінокислот, амінів, азотових основ тощо. Окрім сечовини, із сечею можуть виділятися і амонійні солі.

Завдання для самостійної підготовки

1. Яка біологічна роль білків?
2. Охарактеризуйте синтез білка в організмі; азотовий баланс організму.
3. Опишіть розщеплення амінокислот в організмі (декарбоксілювання, дезамінування та переамінування).
4. Утворення сечовини в орнітиновому циклі печінки.
5. Охарактеризуйте взаємозв'язок обмінів білків, вуглеводів та жирів.
6. Білкове харчування в процесі посилених фізичних навантажень.
7. Як відбувається ферментативний гідроліз білків у шлунково-кишковому тракті? Які продукти гідролізу білків всмоктуються у кров?

8. Роль соляної кислоти та протеолітичних ферментів (пепсину, трипсину і хемотрипсину) у гідролізі білків.
9. Дайте пояснення основних етапів синтезу білка в організмі людини.
10. Охарактеризуйте позитивний та негативний азотистий баланс; складіть на основі цього добову потребу організму в білку, залежно від віку та фізичних навантажень.
11. Які кінцеві продукти розпаду амінокислот?
12. Що таке замінні та незамінні амінокислоти? Наведіть приклади неповноцінних харчових білків.

Наочні засоби

Таблиці:

1. Травлення білків у шлунково-кишковому тракті.
2. Синтез білка.
3. Перетворення амінокислот.
4. Орнітиновий цикл синтезу сечовини.

Реактиви:

1. Шлунковий сік.
2. Натрій двовуглекислий 10%.
3. Сульфат міді 1%.
4. Їдкий натр 10%.
5. Сечовина 20%.
6. Нінгідрин 0,1% (розчин в ацетоні).
7. Оцтова кислота концентрована.
8. Баритова вода.
9. Фібрин, сечовина.

Обладнання:

1. Термостат.
2. Водяна баня.
3. Звичайні пробірки.
4. Піпетки на 1, 2, 5 мл.
5. Скляні палички.

6. Скляні лопатки.
7. Паперові фільтри.
8. Чашки Петрі.
9. Годинникове скло.
10. Індикаторний папір.

ХІД РОБОТИ

1. Гідроліз білка.

У три пронумеровані пробірки наливають по 1 мл шлункового соку. Вміст першої пробірки кип'ятять дві хвилини і охолоджують. Вміст другої пробірки нейтралізують 10% розчином NaHCO_3 , додаючи 1 мл реактиву в пробірку (до рН 7). Потім в усі три пробірки кладуть по куску фібрину і ставлять у термостат при температурі $38\text{ }^\circ\text{C}$ на 20 хв. Відтак пробірки витягують і проводять біуретову реакцію (додають у кожен пробірку по 1 мл 10% NaOH та 3 краплі сірчаної кислоти).

Висновки пояснюють і записують.

2. Відкриття амінокислот у поті.

Фільтрувальний папір стискають великим і вказівним пальцями так, щоб на ньому залишилися відбитки. Папір беруть пінцетом, змочують його 0,1% розчином нінгідрину. Кладуть папір на чашку Петрі і ставлять у термостат при температурі $60\text{ }^\circ\text{C}$. Через 20–30 хв на місці відбитків утворюється червоно-фіалкова пляма, яка свідчить про наявність у поті амінокислот.

3. Гідроліз сечовини.

У пробірку наливають 2 мл 20% розчину сечовини і додають 4 мл прозорої баритової води. На край пробірки поміщають зволожений індикаторний папір. Нагрівають. Спостерігається утворення продуктів реакції, про що засвідчує посиніння лакмусового паперу і помутніння баритової води

