

## Лабораторна робота №6

### ФЕРМЕНТАТИВНИЙ ГІДРОЛІЗ БІЛКІВ В ОРГАНІЗМІ ЛЮДИНИ.

#### Теоретичний вступ.

Білки - високомолекулярні органічні сполуки, до складу яких крім вуглецю, водню і кисню, входить азот. Крім цього, до складу білків може входити сірка, фосфор, а також залізо, мідь, магній, йод.

Білки є основним будівельним матеріалом організму і відповідно на їх долю припадає велика частка: до 30% від усієї маси організму.

Функції білків різні: скорочувальна, транспортна, секреторна, каталітична, захисна та інші. Основною структурною одиницею білка є амінокислоти. На сьогоднішній день відомо біля 24 амінокислот, але для побудови повноцінної молекули білка необхідно біля 20 амінокислот. Амінокислоти в молекулі білка зв'язані між собою за допомогою пептидного зв'язку, який утворюється при взаємодії карбоксильної групи однієї амінокислоти і аміногрупи іншої.

При гідролізі білків в лабораторних умовах кислотами або ферментами, чи в організмі вони розщеплюються на амінокислоти за принципом розриву пептидних зв'язків.

Білки їжі, які потрапляють в організм, проходять ряд стадій розщеплення, а саме:

- у шлунку під дією ферменту пепсину білки розщеплюються на високомолекулярні поліпептиди -- альбумози і пептони;
- у дванадцятипалій кишці під дією ферментів трипсин} і хімотрипсину (так званому триптичному гідролізі) альбумози і пептони розщеплюються до амінокислот та поліпептидів з коротшим ланцюгом;

у тонкому кишківнику під дією ферментів пептидаз (амінопептидази, карбоксипептидази і дипептидази) поліпептиди розщеплюються до вільних амінокислот. Амінокислоти всмоктуються у кров, розносяться по органах і тканинах організму-, де відбуваються їх біохімічні, перетворення.

- У товстому кишківнику залишки пептидів і амінокислот, які не всмокталися у кров, під дією ферментів мікрофлори дезамінуються або декарбоксилюються, перетворюючись в отруйні для організму речовини (індол, фенол та інші). Знешкодження їх відбувається в печінці.

До числа отруйних речовин відноситься й аміак, який утворюється при дезамінуванні амінокислот.

Аміак проходить ряд перетворень в печінці і виводиться з організму у вигляді сечовини із сечею.

Виділення сечовини й аміаку з організму свідчить про інтенсивність білкового обміну. Збільшення виділення сечовини із сечею пов'язане із посиленою білковою дієтою або є результатом посиленого дезамінування амінокислот, амінів, азотистих основ та ін. Крім сечовини, із сечею можуть виділятися й інші продукти білкового обміну, а саме: сечова кислота, креатинін, амонійні солі, гіпурова кислота та інші речовини.

**Мета:** Ознайомити студентів із процесами перетворення білків у шлунково-кишковому тракті. Вивчити обмін продуктів гідролізу білка (амінокислот) у печінці.

Навчитися проводити якісні реакції на визначення білків та продуктів гідролізу білків, самостійно зробити висновки із отриманих результатів.

### **Програмні питання**

1. Ферментативний гідроліз білків у шлунково-кишковому тракті.
2. Синтез білка в організмі; азотистий баланс організму.
3. Розщеплення амінокислот в організмі (декарбоксілювання, дезамінування та перерахування).
4. Утворення сечовини.
5. Взаємозв'язок обміну білків, вуглеводів та жирів.
6. Білкове харчування у процесі посилених фізичних навантажень. Біологічна роль білків.

### **Питання для самопідготовки**

1. Як відбувається ферментативний гідроліз білків у шлунково-кишковому тракті і які продукти гідролізу білків всмоктуються у кров?
2. Роль соляної кислоти та протеолітичних ферментів (пепсину, трипсину і хімотрипсину) у гідролізі білків.
3. Дайте пояснення основних етапів синтезу білка в організмі людини.
4. Дайте характеристику позитивного, негативного азотистого балансу; складіть на основі цього добову потребу організму в білкові у залежності від віку та фізичних навантажень.
5. Які кінцеві продукти розпаду амінокислот? Синтез сечовини.
6. Наведіть приклади неповноцінних харчових білків. Що таке замінні та незамінні амінокислоти?

### **Рекомендована література**

1. Биохимия. Учебник для институтов физической культуры под ред. проф. В. В. Меньшикова. М., ФиС, 1986. С. 65-82, 220-245, 257-266.
2. Березов Г. Г., Коровкин Г. Ф. Биологическая химия. М., Медицина, 1983. С. 16-76, 328-420.

3. Савицький І.В. Біологічна хімія. Київ, Вища школа, 1982. С.6-73, 256-293.

### **Наочні посібники**

#### Обладнання:

Таблиці, слайди, схеми.

1. Термостат.
2. Водяна баня.
3. Звичайні пробірки.
4. Піпетки на 1, 2, 5 мл.
5. Скляні палички.
6. Лопатки.
7. Паперові фільтри.
8. Чашки Петрі.
9. Годинникове скло.
10. Індикаторний папір.

#### Реактиви:

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

Матеріал для досліджування: фібрин, сечовина.

#### **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  $\text{H}_2\text{NCO}_3$ , додаючи 1 мл реактиву в пробірку (до рН-7). Потім в усі три пробірки кладуть по кусочку фібрину і ставлять у термостат при температурі  $38^\circ \text{C}$  на 20 хв. Відтак пробірки витягують і проводять біуретову реакцію (додають у кожен пробірку по 1 мл 10%  $\text{NaOH}$  і 2-3 краплі сірчанокислої міді).

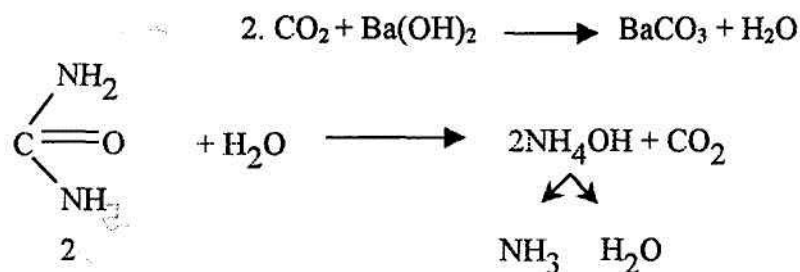
Висновки пояснюють і записують.

## 2. Відкриття амінокислот у поті.

Фільтрувальний папір стискають великим і вказівним пальцем так, щоб на ньому залишилися відбитки. Папір беруть пінцетом, змочують його 0,1% розчином нінгідрину. Кладуть папір на годинникове скло або в чашку Петрі і ставлять у термостат при температурі 60° (можна і при вищій). Через 20-30 хв на місці відбитків утворюється червоно-фіолетова пляма, яка вказує на присутність у поті амінокислот.

## 3. Гідроліз сечовини.

У пробірку наливають 1-2 мл 20% розчину сечовини і додають подвійний об'єм 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.



Рекомендована література

1. Яковлев Н.Н., Орещенко Н.И., Чаговец Н.Р. Руководство к практическим занятиям пообщей биохимии и биохимии спорта. М., ФиС, 1973.
2. Биохимия. Учебник для институтов физической культуры под ред. Н.Н.Яковлева М ,ФиС, 1974.
3. Равич-Щербо М.И., Новиков В.В. Физическая и коллоидная химия. М., Высшаяшк.,1975.
4. Лукьянов А.Б. Физическая и коллоидная химия. М, Химия, 1980.
5. Биохимия. Учебник для институтов физической культуры под ред. В.В.Меньшикова.М, ФиС, 1986.
6. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии по ред. проф.Т.Т.Березова. М., Медицина, 1986.
7. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. Учебник для студентов мед.институтов. М., Медицина, 1983.
8. Біологічна хімія. Ф.Ф.Боєчко. К., Вища школа, 1989.
9. Губський Ю І. Біологічна хімія. Київ-Тернопіль, Укрмедкнига, 2000.
10. Гонський ЯЛ., Максимчук М.П. Біохімія людини. Тернопіль, Укрмедкнига, 2001.