

**Міністерство освіти і науки України
Миколаївський національний університет імені В. О. Сухомлинського
Факультет фізичної культури і спорту**

Кафедра теорії та методики фізичної культури

**ІНСТРУКТИВНО-МЕТОДИЧНІ МАТЕРІАЛИ ДО ЛАБОРАТОРНИХ
ЗАНЯТЬ З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ**

БІОХІМІЯ ФІЗИЧНИХ ВПРАВ

Ступінь бакалавра

Галузь знань 01 Освіта

Код та найменування спеціальності 014 Середня освіта

Предметна спеціалізація 014.11 Середня освіта (Фізична культура)

Освітні програми: Середня освіта: Фізична культура і спорт: Тренер з видів спорту

Середня освіта: Фізична культура, спортивно-масова робота та туризм

Середня освіта: Фізична культура та Захист Вітчизни

Склав:
викладач кафедри теорії і
методики фізичної культури
Лебедева В.К.

Вступ

Біологічна хімія - це фундаментальна наука, вивчення якої є обов'язковим у системі підготовки майбутніх вчителів фізичного виховання, тому при укладанні “Методичних рекомендацій до лабораторних занять з біохімії фізичних вправ” для студентів спеціальності 014 Середня освіта предметної спеціалізації 014.11 Середня освіта (Фізична культура)” були враховані як рекомендації типової програми з предмета, так і необхідність створення умов для формування у студентів біохімічного мислення, розвитку основних умінь та навичок оцінки метаболічних процесів в організмі людини в стані спокою та після час фізичних навантажень.

У “Методичних вказівках” викладена вся необхідна інформація для підготовки студентів до лабораторних занять (питання теми, теоретичний мінімум і рекомендована література), наведені послідовність етапів і методика виконання лабораторної роботи.

Дані “Методичні вказівки” допоможуть студентам при підготовці до лабораторних занять, а також правильно зорієнтують їх у досить великому обсязі наукової інформації при вивченні такої одночасно складної і цікавої науки, як біохімія.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №1

Тема: Хімічний склад живих організмів. Вода в біологічних системах

Мета: ознайомитись з елементарним складом живих організмів, визначити значення води і мінеральних речовин в житті організмів.

Теоретичний мінімум: (законспектувати)

Усі живі організми значно відрізняються від навколишньої неорганічної природи за кількісним хімічним складом. Великий вміст вуглецю в складі живих організмів пов'язаний з наявністю в них вуглецевмісних сполук, які називають органічними. У деяких живих організмах нагромаджуються певні хімічні елементи. Так у водоростях нагромаджується йод, у жовтці — літій, у болотній рясці — радій тощо. Із неорганічних сполук у клітині найбільше води.

Чим вища інтенсивність обміну речовин у тій чи іншій тканині, тим більше вона містить води. В ембріону людини у віці 1,5 місяці вода становить 97,5%, у восьмимісячного — 83, у немовляти — 74, у дорослої людини в середньому 66%. Вміст води в різних органах і тканинах людського організму також різний. Так, мозок дорослої людини містить 86%, печінка — 70, кістки — 20% води.

З віком вміст води у тканинах зменшується. Вода виконує в клітинах багато функцій: збереження об'єму, забезпечення пружності клітин, розчинення різних хімічних речовин. Крім того, вода — це середовище, в якому відбуваються всі хімічні процеси. Вона безпосередньо бере участь в усіх хімічних реакціях. Так, розщеплення жирів, вуглеводів та інших органічних сполук відбувається в результаті їх хімічної взаємодії з водою. Завдяки високій теплоємності вода захищає цитоплазму від різких коливань температури, сприяє терморегуляції клітин і організму. Частина молекул води (~15%) у клітинах перебуває у зв'язаному з білковими молекулами стані. Вони ізолюють білкові молекули одна від одної в колоїдних розчинах.

Вміст води в організмі є динамічним явищем і чітко контролюється центральною нервовою системою, яка завжди прагне до утримання оптимального водного балансу. Окрім цього, водні розчини організму завжди мають певний осмотичний тиск, стабільний рівень якого забезпечує нормальну життєдіяльність клітин, систем і органів. Стабільність рівня осмотичного тиску біологічних рідин базована на сольовому складі розчинів, компонентами яких є різноманітні солі з кислими і основними властивостями. Таке сольове різноманіття біологічних розчинів сприяє формуванню специфічного електролітного балансу та слугує основою буферних властивостей організму.

Потрапляння води в організм та обсяги її виведення прямо залежать від сольового балансу крові і контролюються центрами корки. При надмірній кількості води та виникненні загрози порушення сольового співвідношення

організм виводить надлишок води через сечу та піт. Рівень виведення рідини жорстко взаємозв'язаний із збереженням осмотичного тиску розчинів та утриманням потрібних концентрацій розчинів по обидві сторони клітинних стінок, через які відбувається рух води з речовинами, які транспортуються. Якщо розчин якоїсь речовини відділений від чистого розчинника напівпроникною мембраною, то розчинник буде проникати через мембрану до концентрованого розчину, одночасно збільшуючи його об'єм та зменшуючи концентрацію. Такий односторонній рух молекул розчинника через напівпроникну мембрану в сторону більшої концентрації розчину називається осмосом, а сила, що його виконує – осмотичним тиском. Оскільки розчини підкоряються законам ідеальних газів, то при визначенні осмотичного тиску можливим є використання рівняння газового стану Менделєєва – Клайперона: $PV = nRT$, де P – осмотичний тиск, V – об'єм розчину, T – абсолютна температура, R – газова константа (0,082), n – число грам-молекул розчиненої речовини в об'ємі. Спростовуючи формулу, можливо отримати рівняння $P_{\text{осмот.}} = CRT$, де C – концентрація, виражена в грам –молекулах речовини в 1 літрі. Відповідно, при всіх інших умовах осмотичний тиск розчину буде тим більшим, чим вища концентрація цього розчину.

Так, як рух води через біологічні мембрани завжди йде в сторону більшої концентрації, то при інтенсивній роботі м'язів в них збільшується концентрація низькомолекулярних сполук, таких як молочна кислота і солі фосфорної кислоти, які збільшують осмотичний тиск в тканині. Це в свою чергу, призводить до посилення руху води в м'язах, вміст її в м'язах після навантаження є більшим, чим в стані спокою.

В спорті існує проблема нормалізації ваги спортсменів по ваговим категоріям, що часто вимагає зменшення маси тіла на 2-3 кг за короткий період часу. В таких випадках звичайно втрату маси виконують за допомогою виділення води, але в фізіологічному плані цей захід є ризикованим, так як веде до згущення крові і поганого кровопостачання систем та органів, в тому числі і працюючих м'язів. При форсованому виведенні ваги у спортсменів за допомогою теплових процедур різко зростає потовиділення, але скоро воно припиняється, що сигналізує про початок досягнення негативного водного балансу. В цей період кров дещо згущується і її осмотичний тиск зростає, закономірно що гальмується і фільтрація води потовими залозами. Продовження теплових процедур в такому стані вже не дає форсованого виведення вологи і має негативні наслідки для організму. Невелика перерва, протягом 10-20 хвилин, між тепловими процедурами, дозволяє організму нормалізувати осмотичний тиск крові за рахунок переходу частини рідини із тканин в кров (в сторону розчину з більшою концентрацією, і більшим осмотичним тиском). Повторні теплові процедури в таких умовах знову спричиняють форсоване виділення поту і скидання деякої частини рідини, що дозволяє нормалізувати вагу. Сучасні методи нормалізації ваги спортсменами більш базовані на своєчасних видаленнях

надлишкової маси за рахунок зменшення енергетичних запасів, але також використовуються і традиційні методи регуляції водного балансу.

Основними речовинами, що зумовлюють осмотичний тиск крові і біологічних рідин є мінеральні солі, в першу чергу хлористий натр. Концентрація останнього і біологічних рідинах є сталою і утримується на рівні 0,9% (по масі), штучні розчини з осмотичним тиском, рівним тиску крові, називаються ізотонічними, або фізіологічними. Мінеральні солі потрібні організму не тільки для підтримки осмосу, але і для підтримки постійної реакції середовища в тканинах, забезпечуючи таким чином буферні властивості організму і біологічних рідин.

Дифузія в розчинах буває пряма та непряма. При непрямій дифузії частки розчиненої речовини та розчинника зустрічають вибірково проникну мембрану, наприклад колодійну плівку і вільно проникають через неї. У разі розділення напівпроникною мембраною чистого розчинника та розчину, через цю мембрану почнуть проходити тільки молекули розчинника, тобто, дифузія буде мати односторонній характер. Причиною такого явища є осмотичний тиск розчину, а одностороння дифузія розчинника через напівпроникну мембрану має назву осмосу. Молекули розчинника при своєму русі вільно проникають через мембрану, тоді як молекули (іони) розчиненої речовини із-за теплового коливання наштовхуються на мембрану, ударяються об неї і створюють при цьому певний тиск, який має назву осмотичного. Цей тиск складається із суми ударів молекул, які приходяться на певну площу мембрани, звичайно чим вища концентрація розчину (більша кількість молекул речовини в об'ємі розчинника), тим вищим є осмотичний тиск цього розчину. Величина осмотичного тиску виражається в атмосферах, або в мм ртутного стовпчика.

У біології розчини, в залежності від концентрації, тобто від величини створюваного ними осмотичного тиску, поділяються на ізотонічні (фізіологічні), гіпертонічні та гіпотонічні. У ізотонічному розчині клітини не піддаються змінам, так як тиск клітинного розчину всередині клітин і зовнішній тиск розчину однаковий і відбувається двобічний осмос. В гіпотонічних розчинах розчинник осмотично всмоктується в клітини, так як осмотичний тиск більш концентрованого розчину всередині клітин намагається вирівняти з навколишнім і для цього прагне урівняти концентрацію за рахунок всмоктаної води (ендосмос). При цьому об'єм клітини збільшується до тих пір, поки оболонка її не розірветься. Результатом цього є гемоліз еритроцитів та інших клітин і вивільнення із них біологічно активних речовин, які дестабілізують місцеві системи контролю.

У гіпертонічних розчинах клітини піддаються екзосмосу, який полягає у тому, що більш концентрований розчин ззовні клітин висмоктує розчинник із клітини. Це призводить до зменшення і зморщування клітин (плазмолізу), в яких порушуються процеси життєдіяльності.

Хімічний склад організмів, на відміну від об'єктів неживої природи, відносно сталий. З понад 100 різних типів атомів хімічних елементів та їхніх ізоотопів у живих організмах виявляють майже 60. Одні з них є обов'язковими

в усіх організмах без винятку, інші - лише в окремих. Разом з тим у живих організмах не виявлено жодного з хімічних елементів, якого б не було в неживій природі. Це одне зі свідчень єдності живої і неживої природи. Найбільший вміст у клітині чотирьох елементів: кисню (65 -70%), вуглецю (15-18%), водню (8- 10%), азоту (2-3%). Це органогенні елементи. Разом їх вміст становить 95-98% від загальної маси живого організму.

Вміст у живому організмі таких елементів, як кальцій, калій, фосфор, сірка, силіцій, натрій, хлор, магній, залізо, становить десяті частки відсотку. Перелічені хімічні елементи належать до макроелементів. Кобальт, цинк, мідь, хром, бром, бор, йод, літій, радій містяться у дуже малих кількостях (менше 0,01%), їх називають мікроелементами.

Важливість того чи іншого хімічного елементу для живих істот визначається не його кількістю. Багато мікроелементів входить до складу ферментів, гормонів та інших життєво важливих сполук, які впливають на процеси розмноження, кровотворення та ін.

Кальцій в організмі людини міститься в основному у складі кісток і зубів. Потреба дорослої людини в кальції — 0,8-1,0 г на добу. Значно більша кількість кальцію (до 2 г на добу) потрібна вагітним жінкам, жінкам, які годують немовлят, та дітям, в організмі яких кальцій використовується на утворення кісток.

Магній відіграє дуже важливу роль в організмі людини. Більша частина магнію міститься в кістках. Потреба дорослої людини в магнії — 400 мг на добу.

Натрій та калій відіграє дуже важливу роль у процесах обміну речовин та регулюванні осмотичного тиску крові. Іони натрію викликають набухання колоїдів тканин і тим самим затримують в організмі зв'язану воду. В організмі людини калій бере участь у біохімічних реакціях, утворенні буферних систем. У присутності калію зменшується здатність білків утримувати воду, що допомагає виводити її з організму.

Фосфору належить провідна роль у функціонуванні центральної нервової системи. Сполуки фосфору найбільш поширені в організмі людини і мають велике значення у процесах обміну речовин у м'язах. Фосфор входить до складу АТФ — головного акумулятору енергії тваринного організму. Крім того, фосфор потрібен кожному клітинному ядру, тому що на нуклеїнових кислотах, які містять фосфор, записана програма побудови кожної клітини, програма побудови усього організму — спадковість. Добова потреба людини у фосфорі 1,6-2,0 г.

Йоду в організмі людини міститься небагато (20-30 мг). Половина цієї кількості знаходиться у щитоподібній залозі, а друга частина — у м'язах, кістках та крові. Йод неорганічних сполук у щитоподібній залозі через кілька годин перетворюється в органічні сполуки. Ці сполуки стимулюють обмінні процеси організму. Якщо в раціоні харчування недостатня кількість йоду, то порушується діяльність щитоподібної залози і розвивається тяжке захворювання — зоб.

Практична частина:

Дослід 1. Визначення наявності вуглецю в органічних тканинах

Вуглець виявляється за потемнінням тканин при спалюванні органічних сполук концентрованою сірчаною кислотою.

В одну порцелянову чашку кладуть шматок яєчного білку, в другу – сало, в третю – глюкозу. до кожного продукту додають по 1мл концентрованої сірчаної кислоти. Спостерігають швидкість зміни забарвлення продуктів.

Дослід 2. Визначення вмісту азоту і сірки у тканинах організму людини.

Азот визначають у вигляді аміаку, що утворюється під дією лугів на тканини при нагріванні. Внаслідок летючості аміак виявляють за запахом, а також за посинінням червоного лакмусового папірця, який вводять у випари, що виділяються при нагріванні суміші у пробірці.

Наявність сірки виявляють за допомогою плумбату натрію, з яким при нагріванні вона утворює чорний осад PbS.

А. Визначення вмісту азоту в тканинах.

До однієї пробірки кладуть шматочок нігтя, до другої – світле волосся, у кожену додають по 1...2 краплі 10%-го розчину NaOH і кип'ятять. До отвору пробірки притуляють лакмусовий папірець. Слідкують, чи з'явився запах аміаку, а також чи змінився колір лакмусового папірця.

Б. Визначення вмісту сірки в тканинах (Реакція Фолья)

У пробірки з нігтем і волосиною додають по 1 мл плумбату натрію і нагрівають. Спостерігають зміну забарвлення.

Дослід 3. Виявлення кальцію і фосфору в солянокислій витяжці з кістки.

А. Виявлення кальцію

У пробірку наливають 1 мл солянокислої витяжки з кістки, додають рівний об'єм 4%-го розчину щавлевокислого амонію. Спостерігають зміну прозорості розчину.

Б. Виявлення фосфору

У пробірку наливають 1 мл витяжки з кістки, додають рівний об'єм молібденового реактиву і нагрівають. Спостерігають появу жовтого осаду.

(Молібденовий реактив отримують при додаванні до 7,5%-го розчину молібденовокислого амонію до 32%-го розчину HNO₃ у співвідношенні 1:1).

Дослід 4. Вплив розчинів з різним осмотичним тиском на клітини

Дослід демонструє прояв осмотичних процесів в міжклітинному просторі та на клітини рослинного походження.

А. В три пробірки наливають по 2-3 мл 10%, 0,9% і 0,1% розчину хлористого натру. В кожену із пробірок додають по 1-2 краплі цитратної крові. Вміст пробірок перемішують і відразу беруть краплину вмісту на предметне скельце, покривають рідину покривним скельцем і розглядають під великим збільшенням мікроскопу. При швидкому виконанні досліду

вдається добре розрізнити процеси змін в еритроцитах, які в залежності від концентрації розчину ведуть себе по різному (збільшуються, зменшуються, не змінюються).

Б. В три пробірки вносять по 1 краплі I2 і по 2-3 мл розчину хлористого натру з концентрацією 10%, 0,9% і 0,1%. До кожної пробірки вносять по дрібному шматочку тонкої плівки цибулі. Через 10 хвилин після занурення плівок їх виймають із розчинів, поміщають на предметне скельце, покривають покривним склом і розглядають під великим збільшенням мікроскопу. Відмічають характерні зміни в стані клітин і описують їх.

Сформулюйте загальний висновок

Контрольні запитання

1. Хімічна характеристика води
2. Розподіл і стан води в організмі
3. Що таке осмос і осмотичний тиск? Їх біологічне значення.
4. Чи застосовується в медицині гіпертонічний розчин, з якою метою?
5. Застосування ізотонічних розчинів у медицині та спорті?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Биохимия: Учеб. для ин-тов физ. культ./ Под ред. В.В. Меньшикова, Н.И. Волкова.- М.: Физкультура и спорт, 1986. – 384 с.

2. Боєчко Ф.Ф., Боєчко Л.О., Шмиголь І.В., Чепчуренко Н.В. Біохімія (практикум) .Черкаси, 2006.-352.

3. Алейникова Т.Л. Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии: Учебн. пособие/ Под. ред. Е.С.Северина.- М.:Медицинына, 2000.-128 с.

1. Гонський Я.П., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини: Підручник. –

2. Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.-744с.

3. Комов В.П. Биохимия: учеб. для вузов/ В.П. Комов, В.Н. Шведов.- 2-е изд. испр.-М.: Дрофа, 2006. - 638с.

4. Боєчко Ф.Ф., Боєчко Л.А. Біохімія для вчителя: Посібник для вчителя.- К.: Рад. шк., 1985. - 264 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №2

Тема: Концентрація розчинів та активна реакція середовища

Мета: Оволодіти методом розрахунку для приготування розчинів заданого об'єму та даної концентрації.

Матеріали та обладнання:

- 0,1н розчин лугу (NaOH) - в склянці
- 0,1н розчин сірчаної кислоти (H₂SO₄) – в склянці
- Розчин фенолфталеїну (індикатор)
- Їдкий нар (кристали або гранули) – в склянці
- Дистильована вода – в колбі
- Хімічний стаканчик на 100 мл.
- Технічні терези з важелями
- Шпатель. Скляна чашка для зливу

Теоретична частина

Вода як розчинник. Системи, в яких одна речовина роздроблена (або розчинена) в іншій, називаються дисперсними системами. Роздроблена речовина називається дисперсною фазою, а рідина в якій знаходиться роздроблена речовина, називається дисперсним середовищем. Прикладами дисперсних систем є розчини і сплави. Якщо речовина дисперсної фази подрібнена до рівня молекул, або іонів, то така дисперсна система називається істинним розчином. Такі розчини однорідні (гомогенні), прозорі і стійкі, до них відносяться розчини солей, кислот, лугів, глюкози, сечовини.

Система, в якій дисперсна фаза представлена частинками речовини більшими за молекули (звичайно більшими за 0,1 мікрона) називається *грубою суспензією*, яка звичайно є неоднорідною (гетерогенною). Прикладом є розчин звичайної глини в воді. Великі частинки роздрібненої речовини здатні створювати скупчення молекул (агрегати), які можуть тривалий час утримуватися в такому підвішеному стані, відповідно вони легко випадають в осад, або підіймаються на поверхню.

Окрім істинних розчинів та грубих суспензій до дисперсних систем відносяться і **колоїдні розчини**, в яких дисперсна фаза також представлена у вигляді агрегатів молекул, але ці агрегати дуже дрібні (0,1- 0,001 мікрона). Колоїдні розчини різко відрізняються від інших дисперсних систем тим, що мають властивість утворювати чітку межу між дисперсною фазою і дисперсним середовищем. Завдяки цьому колоїдні розчини володіють опалесценцією, повільною дифузиею, важко проникають через мембрани, здатні відбивати та розсіювати прохідний промінь світла. В залежності від умов одна і та ж речовина може утворювати як істинний, так і колоїдний розчин. Наприклад, хлористий натр у воді утворює істинний розчин, а у бензолі – колоїдний, мила (солі жирних кислот) в спирті утворюють істинний розчин, а у воді – колоїдний.

Дисперсні системи, в яких рідиною є не тільки дисперсне середовище, але і дисперсна фаза, яка розміщується в середовищі у вигляді дрібних крапельок, називаються **емульсіями**. Основна умова існування емульсій – це нерозчинність обох рідин одна в одній. Для цього звичайно використовують полярні і неполярні рідини. Якщо емульсія створена двома рідинами, то така емульсія не буде стабільною, крапельки легко зливаються між собою і через деякий час емульсія розшарується. З метою збільшення стійкості емульсій застосовують емульгатори, які здатні стабілізувати емульсії. В якості потужних емульгаторів виступають поверхнево-активні речовини (детергенти), які понижують рівень поверхневого натягу рідин. Окрім цього, молекули поверхнево-активних речовин покривають крапельки емульсованої рідини і попереджують їх злиття між собою, забезпечуючи таким чином стабільність емульсії. В якості таких речовин виступають мила, жовч та інші.

Колоїдні розчини – це особливий вид розчинів, в яких одна речовина розташована всередині іншої і має загальний дисперсний характер. До таких систем відносять істинні розчини з розміром частинок на рівні 1 нм (молекули та іони) і менше, а також суспензії та емульсії, в яких частинки мають розмір на рівні 100 нм. **Суспензії** – це дисперсні системи, в яких дисперсійною фазою є тверда речовина, а дисперсійною фазою – рідина, при цьому тверда речовина практично нерозчинна у воді. **Емульсії** – це дисперсійні системи, в яких і дисперсна і дисперсійна фази взаємно не змішуються. Так, із води і масла можливо виготовити емульсію шляхом механічного перемішування двох складових частин.

Розчини, методи вираження їх концентрації. *Розчини* – це однорідні системи, які складаються із 2 і більше компонентів та продуктів їх взаємодії. Концентрацією розчину називають кількість (масу, об'єм) розчиненої речовини, що міститься у визначеній кількості (масі, об'ємі) розчину, або розчинника. Точне вираження концентрації розчинів проводиться різними методами, в залежності від зручності та вимог щодо чіткості показників. Найбільш поширеним і звичайним методом вираження концентрації розчинів для повсякденного вжитку є процентна концентрація, яка може бути виражена в об'ємній та масовій характеристиці розчину. Процентна концентрація по масі виражається числом грамів розчиненої речовини, що міститься в 100 г розчину. Наприклад 5% розчин NaOH містить 5 г в 100 г розчину.

Молярна концентрація, або молярність розчину, виражена кількістю молей речовини, розчинених в 1 л розчину. Розчин, що містить в 1 л (об'єму) 1 моль речовини, називають молярним, при 2 молях - двомолярним, 0,1 моль – децимолярним, 0,001 М - сантимольярним. Для виготовлення молярного розчину потрібно відміряти на електронних вагах масу 1 моля речовини і розчинити його в 1 л води. Молярну масу речовини вираховують із маси її молекули, помножуючи масу молекули на сталу Авагадро ($6,02 \times 10^{23}$). Наприклад, молярна маса води визначається шляхом множення маси молекули води на $6,02 \times 10^{23}$, що дає 0,018 кг/моль, або 18 г/моль. Для визначення вказаного показника в повсякденній роботі сприймають, що

молярна маса речовини, виражена в грамах, чисельно рівна її відносній молекулярній масі, вираженій у атомних одиницях маси. Наприклад, відносні атомні і молекулярні маси O₂ і C складають 32 і 12, відповідно, їх молярні маси складають 32 і 12 г/моль, аналогічним чином, відносна молекулярна маса води складає 18 а.о.м., тому молярна маса води буде сприйматися як 18 г/моль.

Концентрацію розчину, окрім процентного і молярного вираження, також визначають у показниках нормальності. *Нормальна концентрація* (або нормальність розчину), виражена числом еквівалентів речовини, що міститься у 1 л розчину. Розчин, у 1 л якого знаходиться 1 еквівалент розчиненої речовини називається нормальним, 2 еквіваленти - двонормальним, 0.1 еквівалент - децинормальним. *Нормальний розчин готується аналогічно молярному.* Знаючи нормальність розчину і еквівалент розчиненої речовини, легко вирахувати, скільки грам речовини утримується в 1 л (чи в 1 мл) розчину. Для цього масу розчиненої речовини в 1 л розчину, ділять на 1000 і отримують кількість у грамах на 1 мл.

Практична частина

Дослід 1. Визначення титру розчину.

Кількість розчиненої у 1 мл речовини (в грамах) *називається титром розчину.* Розчин з відомою концентрацією речовини в 1 мл називається титрованим. Використовуючи титровані розчини кислоти, можливо встановити титр розчину лугу і навпаки. Для цього потрібно знайти об'єми розчинів, в яких вони еквівалентні між собою, для чого проводять титрування, тобто змішування цих розчинів до закінчення реакції, що фіксують з допомогою індикаторів. При титруванні найкраще використовувати нормальні розчини, так як розчини однакової нормальності реагують між собою в рівних об'ємах. При різних нормальностях ці розчини реагують між собою в об'ємах, зворотно пропорційних їх нормальностям, наприклад - $N_k : N_l = V_l : V_k$ або $N_k \times V_k = N_l \times V_l$, де N_k –нормальність розчину кислоти, N_l –нормальність розчину лугу, V_k –об'єм розчину кислоти, V_l –об'єм розчину лугу. Цими співвідношеннями користуються при вирахуванні результатів титрування. Із отриманих даних можливо встановити і процентну концентрацію, і масу речовини, і кількість речовини, що міститься у 1 мл чи 1 л досліджуваного розчину. Для точних розрахунків методами аналітичної хімії в лабораторіях користуються спеціальними фіксаналами, які представляють собою точні розчини різних речовин, виготовлених у фабричних умовах з високим рівнем точності. Завдяки використанню фіксаналів перевіряють точність самотійно виготовлених розчинів та кількість речовини у розчинах, які титруються з їх допомогою.

Дослід 2. Дослідження розчинності різних речовин та електролітичної дисоціації.

Розчинність речовин – це здатність речовини розчинятися у воді чи іншому розчиннику, показником розчинності є коефіцієнт розчинності речовини при сталій температурі. Звичайно при збільшенні температури розчинність твердих речовин збільшується. Різні речовини можуть утворювати як істинні розчини, так і іонні розчини, перші відрізняються розпадом молекул на атоми, тоді як іонні розчини створені розпадом молекул на іони. Іони являють собою електрично активні атоми, які мають, або не мають, однієї (декількох) структурних частинок. Відповідно, іони мають позитивний, або негативний заряд і відповідну направленість хімічної активності.

Речовини, розчини яких проводять електричний струм, називають *електролітами*, речовини, розчини яких не проводять струм є неелектролітами, або *діелектриками*. Розпад речовин-електролітів на іони при розчиненні їх у воді називається *електролітичною дисоціацією*. Так, хлорид натрію при розчиненні у воді, повністю розпадається на іони натрію та іони хлору, але сама вода в укрій мінімальних кількостях розпадається на іони водню та іони гідроксиду.

Відповідно до ступеня і характеру дисоціації речовин, їх визначають у якості кислот, або лугів. *Кислотою* називають електроліти, що дисоціюють з утворенням позитивно заряджених іонів водню (H^+) у якості катіонів. При цьому основність кислоти визначається кількістю іонів водню, які утворюються при дисоціації кислоти, так HCl та HNO_3 –це одноосновні кислоти, що дають один іон водню. Такі кислоти, як H_2SO_4 , H_2CO_4 - двоосновні, H_3PO_4 , H_3AsO_4 -трьохосновні. Дво- і багатоосновні кислоти дисоціюють ступінчато.

Основами називають електроліти, які при дисоціації утворюють негативно заряджені гідроксид – іони (OH^-) в якості аніонів. Розчинні у воді основи називаються *лугами*. Лугами є переважно сполуки лужних і лужноземельних металів – літію, натрію, калію, магнію, кальцію, барію, а також NH_4OH . Більшість основ у воді малорозчинні. Кислотність основи визначається числом гідроксильних груп, що вивільняються при дисоціації основи. Наприклад, NH_4OH – **однокислотна основа**, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ – **двохкислотна основа**, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ – **трикислотна основа**.

Солями називають речовини, при дисоціації яких утворюються позитивні катіони металів (або катіони амонію) та негативні аніони кислотних залишків. Кислі і основні солі дисоціюють ступінчато. Солі – це сполуки, які утворюються при заміщенні водневого атома кислоти якимось металом, наприклад кухонна сіль – хлористий натр. Клітини містять багато різних солей, при цьому найбільш важливими катіонами з позитивним зарядом є натрій, калій, кальцій і магній, а головними аніонами з негативним зарядом – хлорид, бікарбонат, фосфат і сульфат –іони. Рідини тіла тварин по загальному вмісту солей і по їх концентрації близькі до морської води.

Ступінь дисоціації – це відношення числа молекул, що розпалися на іони, до загальної кількості розчинених молекул. Для спрощення оцінки ступеню кислотності, або лужності середовища, тобто оцінки концентрації в

середовищі іонів водню H^+ , цей показник виражають логарифмічно на спеціальній шкалі рН. При нейтральній реакції середовища показник рН рівний 7, відповідно, концентрація водневих іонів складає 10^{-7} М, при цьому кількість іонів водню H^+ і OH^- рівні одне одному. Зміна показнику рН від 7 до 1 веде до посилення кислотності середовища, зміна показнику рН від 7 до 14 веде до посилення лужності середовища. Кожна одиниця на логарифмічній шкалі рН відрізняється десятикратною різницею в концентрації іонів водню H^+ . Згідно рівню кислотності, або основності, та ступеню дисоціації молекул речовин, розрізняють сильні та слабкі електроліти. Сильні електроліти повністю дисоціюють на іони, тоді як слабкі дисоціюють із наявністю залишку і не можуть створити великі концентрації іонів в розчині.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Що таке електролітична дисоціація?
2. Чому в розчинах утворюються іони з різним зарядом?
3. Що таке титр розчину і навіщо потрібна ця величина?
4. Які сполуки є кислотами?
5. Які сполуки є лугами?
6. Чому ряд сполук та речовин володіє як кислотними, так і основними властивостями?
7. В чому переваги вираження концентрації розчинів в показниках полярності над показниками процентної концентрації?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Биохимия: Учеб. для ин-тов физ. культ./ Под ред. В.В. Меньшикова, Н.И. Волкова.- М.: Физкультура и спорт, 1986. – 384 с.
2. Боечко Ф.Ф., Боечко Л.О., Шмиголь І.В., Чепчуренко Н.В. Біохімія (практикум) .Черкаси, 2006.-352.
3. Алейникова Т.Л. Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии: Учебн. пособие/ Под. ред. Е.С.Северина.- М.:Медицина, 2000.-128 с.
4. Гонський Я.П., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини: Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.-744с.
5. Комов В.П. Биохимия: учеб. для вузов/ В.П. Комов, В.Н. Шведов.- 2-е изд. испр.-М.: Дрофа, 2006. - 638с.
6. Боечко Ф.Ф., Боечко Л.А. Біохімія для вчителя: Посібник для вчителя.- К.: Рад. шк., 1985. - 264 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №3

Тема: Фізико-хімічні властивості білків

Мета роботи: дослідити фізико-хімічні властивості білків, ознайомитись з явищем діалізу, проводити розділення білкових фракцій.

Теоретична частина

Розчинність різних білків у воді і в різних розчинниках неоднакова і залежить від природи білка й розчинника, значення рН, температури, іонної сили тощо. У кислому середовищі краще розчиняються білки, для яких характерні кислотні властивості, а в лужному - білки, з основними властивостями. Альбуміни добре розчиняються в дистильованій воді, а глобуліни розчинні у воді тільки в присутності електролітів. Білки опорних тканин (кератини, колаген, еластин та ін.) не розчиняються у воді й сольових розчинах, у воді вони лише набрякають. Розчинність білків у воді зростає за невеликих концентрацій нейтральних солей (Na_2SO_4 , MgSO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ та ін.). Цей ефект називають сольовим розчиненням. Нейтральні солі в малих концентраціях збільшують ступінь дисоціації іонізованих груп білка, екранують заряджені групи білкових молекул і цим зменшують білок-білкові взаємодії. Високі концентрації нейтральних солей, навпаки, осаджують (висолюють) білки з водних розчинів; найактивніше це відбувається у ІЕТ білка. При цьому солі відтягують до себе від заряджених груп білка поляризовані молекули води і тим самим частково позбавляють білок гідратної оболонки, котра запобігає його осадженню з розчину.

Різна розчинність білків використовується для їх одержання і очистки, у науково-експериментальній роботі.

Білки – амфотерні поліелектроліти, у водних розчинах мають властивості слабких кислот або слабких лугів, залежно від переваги в молекулі білка залишків моноамінодикарбонових (глутамінової і аспарагінової) кислот або залишків діаміномонокарбонових кислот. Білки кислотного характеру (альбуміни, глобуліни) у водному розчині несуть негативний заряд, білки лужного характеру (протаміни, гістони) – позитивний заряд. Наявність заряду на макромолекулі білка стабілізує його в розчині, оскільки заважає злипанню білкових частинок і випаданню їх в осад. Зміною концентрації протонів у середовищі (додаванням кислот або лугів) можна зменшити дисоціацію білкових частинок і перетворити їх на електронейтральні амфіони, тобто досягнути ізоелектричного стану білка.

Концентрація йонів гідрогену, при якій білок знаходиться в ізоелектричному стані (сумарні кількості негативних і позитивних зарядів однакові), називається ізоелектричною точкою (ІЕТ) білка. ІЕТ характеризує хімічну природу білка. Для кожного білка існує своя ІЕТ. При рН, близькому до ІЕТ, розчинність, набухання, в'язкість білка стають найменшими, а осадження, аглютинація та комплексоутворення – найлегшими.

Висолювання білків (розділення білкових фракцій).

У водному розчині більшість білків та їх частинок заряджені і гідратовані. При додаванні великих кількостей солей лужних і лужноземельних металів (натрію сульфату, магнію сульфату, натрію хлориду та інших), а також нейтральних солей, наприклад, амонію сульфату, відбувається руйнування гідратної оболонки (дегідратація) білка. Крім цього, електричний заряд білкової молекули знижується йонами солі, що на ній адсорбуються, частинки білка злипаються одна з одною і випадають в осад. Таке явище називають «висолюванням» білка. При висолюванні білок не втрачає притаманних йому фізико-хімічних і біологічних властивостей. Він знову розчиняється у воді і проявляє майже з тією активністю ферментативні, антигенні, імунні та інші біологічні властивості, тобто залишається нативним (натуральним).

Осадження білка методом висолювання використовують для розділення білкових фракцій при отриманні очищених білків, у тому числі ферментних і гормональних препаратів, а також для одержання білків в кристалічному стані. Його використовують у клініко-біохімічних лабораторіях для розділення альбумінів і глобулінів і визначенні їх співвідношення в сироватці крові. Осажену фракцію білка відділяють центрифугуванням, розчиняють і кількісно визначають за допомогою різних методів. У нормі альбуміно-глобулінове співвідношення (А/Г – коефіцієнт) дорівнює 1,5-2,3 і може змінюватися при патології, наприклад при хронічних дифузних ураженнях печінки (гепатит і цироз), інфекційних захворюваннях, лихоманці, пневмонії, туберкульозі, ендокардиті, злоякісних процесах, амілоїдозі, при збільшенні вмісту глобулінів.

Діаліз білків.

Діалізом називається особливий вид розділення речовин за допомогою мембран, які не здатні пропускати через свої пори високомолекулярні колоїдні частинки. Тому діаліз є зручним методом очищення білка від низькомолекулярних органічних і неорганічних домішок.

Діалізом користуються в біохімічних дослідженнях для очищення високомолекулярних сполук (білків, нуклеїнових кислот, полісахаридів та інших) від низькомолекулярних і при отриманні лікарських засобів, у тому числі і білкових. Метод діалізу використовується в практичній медицині для очищення крові від природних низькомолекулярних «шлаків» і токсичних сполук при захворюванні нирок і деяких отруєннях (апарат «штучна нирка»).

Денатурація білків. Білки під впливом фізичних (температури, ультразвуку, йонізуючої радіації та інших), хімічних (мінеральних і органічних кислот, лугів, органічних розчинників, важких металів, алкалоїдів тощо) та біологічних факторів зазнають глибоких змін, пов'язаних з порушенням четвертинної, третинної і вторинної структури, що призводить до зміни фізикохімічних і біологічних властивостей білка, тобто до *денатурації* (втрати нативності). При денатурації білка відбувається розрив «цементуючих» білкову молекулу вторинних зв'язків (водневих, дисульфідних, електростатичних, ефірних, вандервальсових та ін.). Це

призводить до зміни просторової структури і зменшує його гідрофільні властивості. Білок стає більш гідрофобним, втрачає здатність розчинятись у звичайних для нього розчинниках і втрачає свої біологічні функції. Глибока денатурація є незворотною на відміну від взаємно-зворотної, при якій зміни структури білка бувають неглибокими і білок за деяких умов може знову набувати своїх нативних властивостей. Наприклад, при осадженні білків органічними розчинниками – спиртом або ацетоном (при низькій температурі), з подальшим видаленням осаджувача.

Процес денатурації білків широко використовується для осадження білка в біологічному матеріалі з метою подальшого визначення в ньому небілкових і низькомолекулярних сполук, для виявлення присутності білка і його кількісного визначення; для знезараження шкіри, слизових покривів і відходів в санітарній практиці; для зв'язування солей важких металів білком при лікуванні отруєнь солями ртуті, свинцю, купруму та іншими, або їх профілактики на виробництві. Після отруєння негайно приймають білки молока або збитих збитих яєць, доки ці солі знаходяться в шлунку і не всмокталися. Після приймання білка у потерпілого викликають блювання, щоб видалити отруту з організму. Процеси денатурації білків спостерігають також при прийманні таніну чаю і танальбіну, що зумовлює їх в'язучу і протизапальну дію. В'язучі властивості таніну пов'язані з його здатністю осаджувати білки з утворенням густих альбумінатів, які захищають від подразнення чутливі нервові закінчення. При цьому зменшується безпосереднє потовщення клітинних мембран, що призводить до зменшення запальної реакції та послаблення болісних відчуттів. Препарат танальбін – продукт взаємодії таніну з білком казеїном, на відміну від таніну, не викликає в'язучої дії на слизові оболонки рота і шлунка. При надходженні до кишечника, розщеплюється з виділенням вільного таніну. Використовується як в'язучий засіб при гострих і хронічних захворюваннях кишечника, особливо у дітей. У фармацевтичній практиці знайомство з процесом денатурації білка дозволяє контролювати якість білкових препаратів, наприклад в ампулах.

Кислотний гідроліз простого білка. Гідроліз пептидних зв'язків (міцний ковалентний зв'язок) йде достатньо важко. У живих організмах він відбувається групою ферментів – гідролаз, які називаються пептидазами (пептидгідролазами). Розрізняють ендопептидази (здійснюють гідроліз пептидних зв'язків, що знаходяться у середині молекули білка), екзопептидази (здійснює відщеплення кінцевих амінокислотних залишків або руйнування пептидних зв'язків, що знаходяться недалеко від кінця молекули).

Хімічний гідроліз білка можна здійснити, дією на розчин білка концентрованими кислотами при високій температурі протягом тривалого часу.

Практична частина

Обладнання і реактиви: яєчний білок, 5% розчин натрію хлориду, 0,1 моль/л CH_3COOH , 1 моль/л CH_3COONa , 0,1 моль/л CH_3COONa , 1% розчин желатина, 96% етилового спирту, 0,1%-вого розчину казеїну, 0,2 моль/л CH_3COOH , 0,2 моль/л CH_3COONa , 10% розчин амоній сульфату, 18 концентрована оцтова кислота, біуретовий реактив, 5% розчин барію хлориду, 10 % розчин трихлороцтової кислоти, 10 % розчин сульфосаліцилової кислоти, 5% розчин купрум сульфату, 1% розчин аргентуму нітрату, 1% розчин плюмбум ацетату.

Дослід 1. Визначення розчинності білків

В одну пробірку вносять 1 мл нерозведеного яєчного білка, 10 мл дистильованої води, зміст перемішують. При цьому яєчний альбумін розчиняється, а яєчний глобулін випадає у вигляді невеликого осаду. У другу пробірку вносять 1 мл яєчного білка і 10 мл 5%-вого розчину натрію хлориду. У слабкому розчині солі розчиняються і глобуліни, і альбуміни. У дві інші пробірки поміщають невеликі кількості кератину (волосся). В одну вносять 10 мл дистильованої води, у другу – 10 мл 5%-вого розчину натрію хлориду. Указані білки не розчиняються ні у воді, ні в розчині солі.

Дослід 2. Діаліз білків

Діаліз – особливий вид розділення речовин за допомогою мембран, які не здатні пропускати через свої пори високомолекулярні колоїдні частинки. Молекули білків не проходять через напівпроникні мембрани (наприклад: целофан, пергамент, висушені плівки колодію та ін.). Тому діаліз є зручним методом очищення білка від низькомолекулярних органічних і неорганічних домішок.

Беруть невеликий квадратний аркуш целофану, замочують його в дистильованій воді і роблять з нього мішечок, закріплюючи між 2 скляними паличками за допомогою надітих на них гумових кілець. Дивись рисунок 1.

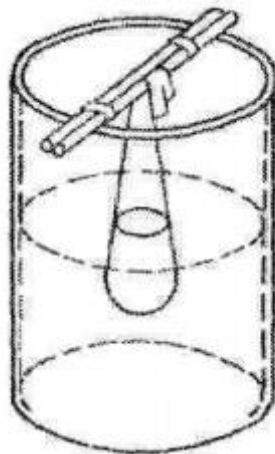


Рисунок 1 – Найпростіший діалізатор

Піпеткою в мішечок обережно вносять 5 мл 1%-вого розчину яєчного білка і 1 мл 10%-вого розчину амонію сульфату. Мішечок занурюють у склянку з дистильованою водою, поклавши палички на край склянки. Рівень рідини в мішечку не має бути вище від рівня рідини в склянці. Через годину після початку діалізу беруть дві проби (по 10 крапель) зовнішньої рідини (діалізат) і проводять з однією із них біуретову реакцію на білок, а з другою – реакцію на сульфати, додаючи 2-3 краплі 5%-вого розчину барію хлориду. Потім проводять ці ж проби з рідиною, що знаходилась у середині мішечка. Роблять висновок, де описують які компоненти знаходяться в середині рідини мішечка і в діалізаті (зовнішня рідина) і пояснюють, з чим це пов'язано.

Дослід 3. Денатурація білка

а.) Денатурація білка органічними розчинниками

Органічні розчинники (спирт, ацетон та інші) зневоднюють колоїдні частинки білка, порушують гідрофобні взаємодії всередині білкової молекули і викликають її денатурацію, що призводить до зниження розчинності і осадження денатурованого білка. Короткочасна дія органічних розчинників при низькій температурі від 0 до 10°C зберігає білок в нативному стані.

У дві пронумеровані пробірки вносять 1 мл 10 % розчину яєчного білка і додають рівні об'єми органічних розчинників: у першу – 95% етиловий спирт, у другу – ацетон. Перемішують вміст пробірок, спостерігають помутніння розчинів. Якщо до них додати по 1 мл насиченого розчину натрію хлориду, через деякий час білок випадає в осад.

б.) Денатурація білка органічними кислотами

Органічні кислоти здатні нейтралізувати заряд білка і руйнувати його просторову структуру, що призводить до денатурації і осадження білка. Реакції осадження білка трихлороцтовою (ТХО) та сульфосаліциловою кислотами знайшли широке практичне використання. Так, ТХО застосовують у кількісних аналізах для одержання безбілкових фільтратів, сульфосаліцилова кислота використовується в клінічних лабораторіях для виявлення білка в сечі, ексудатах та інших біологічних рідинах (чутливість 0,0015%).

У дві пробірки вносять 1 мл 10 % розчину яєчного білка і додають в одну з них 2 краплі 10 % розчину ТХО, а в другу – 2 краплі 10 % розчину сульфосаліцилової кислоти. В обох випадках спостерігається утворення осаду білка.

в.) Денатурація білка концентрованими мінеральними кислотами

Кислоти, крім ортофосфорної, викликають дегідратацію білкових часток і їх нейтралізацію. Порушення просторової структури білка призводить до утворення осаду, у вигляді комплексних солей білка з кислотами.

У три пробірки вносять по 1 мл нітратної, хлоридної та сульфатної концентрованих кислот і обережно, тримаючи пробірку під кутом 45°, нашаровують на кислоту 0,5 мл 10 %-вого яєчного білка. На межі розподілу двох рідин з'являється осад у вигляді білкового кільця. Обережно струшують кожен з пробірок та роблять висновок, зазначаючи ефект реакції.

Реакцію осадження білків нітратною кислотою використовують у клінічних дослідженнях сечі (проба Геллера). Ця якісна реакція лежить в основі кількісного і якісного визначення білка в сечі по методу Робертса-Стольниково-Брандберга.

г.) Денатурація білка важкими металами

Білки при взаємодії з солями важких металів (купрум, плюмбум, меркурію, цинку, аргентуму та інш.) утворюють нерозчинні у воді комплексні сполуки. Ці йони зв'язуються з функціональними групами білкових радикалів амінокислот у молекулі білка, у результаті чого руйнується його просторова структура і відбувається осадження денатурованого білка. При додаванні надлишку солей важких металів, крім аргентуму нітрату і меркурію (II) хлориду, відзначають розчинення первісно утвореного осаду через адсорбцію йонів металу на поверхні денатурованого білка і виникнення позитивного заряду на частинках білка (адсорбційна пептизація). При цьому білок у розчині залишається денатурованим.

У три пробірки вносять по 1 мл 1 %-вого розчину яєчного білка. У першу додають 1-2 краплі 5 %-вого розчину купрум сульфату, у другу – 1-2 краплі 1% розчину аргентуму нітрату, а в третю – 1-2 краплі 1 %-вого розчину плюмбуму ацетату. Спостерігають за появою осаду. Потім додають у кожен з пробірок надлишок відповідного осаджувача і спостерігають за змінами в осаді. Внаслідок додавання надлишку купрум (II) сульфату та плюмбум ацетату осад, що утворився, розчиняється.

Результати заносять у таблицю 3 і роблять висновок.

Таблиця 3 – Вплив йонів важких металів на осадження білка

Реактив осаджувач	Ефект при додаванні білку	Надлишок реактиву
CuSO_4		
$(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$		

Питання для самоконтролю

1. Дайте визначення білків.
2. Чим обумовлені кольорові реакції на білки?
3. Якщо з розчином одного білка реакції Міллона та ксантопротеїнова позитивні, а з розчином другого негативні, то що можна сказати про

- відмінність
амінокислотного складу цих білків?
4. Як за допомогою кольорових реакцій виявити в білку аргінін, цистеїн?
 5. Дані пептиди:

- Асп-Фен-Мет-Гис-Цис-Ала
- Тир-Цис-Про-Арг-Глу.

Які кольорові реакції будуть позитивні з цими пептидами?
Обґрунтуйте ваш вибір.

6. За допомогою яких кольорових реакцій можна встановити відмінність амінокислотного складу альбуміну й желатину?
7. Дані дві пробірки з розчинами: одна з розчином білка, друга вміщує суміш амінокислот. За допомогою кольорових реакцій визначити:
 - а) в якій пробірці міститься білок?
 - б) які амінокислоти містяться в другій пробірці?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Биохимия: Учеб. для ин-тов физ. культ./ Под ред. В.В. Меньшикова, Н.И. Волкова.- М.: Физкультура и спорт, 1986. – 384 с.
2. Боєчко Ф.Ф., Боєчко Л.О., Шмиголь І.В., Чепчуренко Н.В. Біохімія (практикум) .Черкаси, 2006.-352.
3. Алейникова Т.Л. Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии: Учебн. пособие/ Под. ред. Е.С.Северина.- М.:Медицина, 2000.-128 с.
4. Гонський Я.П., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини: Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.-744с.
5. Комов В.П. Биохимия: учеб. для вузов/ В.П. Комов, В.Н. Шведов.- 2-е изд. испр.-М.: Дрофа, 2006. - 638с.
6. Боєчко Ф.Ф., Боєчко Л.А. Біохімія для вчителя: Посібник для вчителя.- К.: Рад. шк., 1985. - 264 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №4

Тема: Вуглеводи. Моно- та поліцукри

Мета: Ознайомитись з властивостями основних груп вуглеводів

Теоретична частина

Вуглеводами називаються органічні сполуки, до складу яких входять вуглець, водень, кисень. Загальна формула вуглеводів $C_n(H_2O)_n$, де n – кількість атомів елементу. Звичайно вуглець, водень і кисень в складі вуглеводів знаходяться у певному співвідношенні 1:2:1. По характеру будови вуглеводи поділяються на складні (полісахариди і дисахариди) та прості (моносахариди), останні є первинним елементом будови складних. Моносахариди об'єднують прості цукри, спирти та альдегіди і в свою чергу, в залежності від кількості атомів вуглецю, поділяються на біози, триози, тетрози, пентози, гексози, гептози і т.д. По хімічній будові моносахариди є альдегідоспиртами (альдозами), а також кетоспиртами (кетози). Останні відрізняються наявністю подвоєного зв'язку між атомами С і таким чином володіють властивостями кетонів і спиртів. До альдоз відносяться цукри глюкозної групи, до кетоз – фруктозної групи.

Якісні і кількісні реакції на вуглеводи - альдози побудовані на їх властивості до легкого окислення по альдегідній групі. Альдозы при цьому перетворюються у відповідну спиртокислоту, а окисник (гідрат окислу металу) відновлюється. Другою якісною реакцією на вуглеводи є утворення фурфуролу, або оксиметилфурфуролу в результаті дегідратації вуглеводу міцними мінеральними кислотами. Наприклад, цукри-пентози і цукри-кетози (фруктоза) легко дегідруються 20% розчином соляної кислоти і в результаті утворюються індикаторні сполуки – фурфурол та оксиметилфурфурол. При взаємодії з сірчаною кислотою дегідратації піддаються практично всі вуглеводи, а продукти розпаду виявляються в реакції з резорцином, альфа-нафтолом, флороглюцином, наслідком яких утворення червоного, або фіолетового забарвлення.

Дисахариди, які складаються із двох моносахаридів, поєднаних між собою через кисень, мають загальну формулу $(C_{12}H_{22}O_{11})$, де також зберігається співвідношення 1:2:1. Розрізняють два типи дисахаридів, у першого молекули води виділяються за рахунок двох глюкозидних гідрооксилів, у другого – зв'язок утворений за рахунок глікозидного гідрооксила одного моносахариду і спиртового гідрооксила другого моносахариду. При цьому дисахариди другого типу, при наявності однієї вільної альдегідної групи, дають звичайні якісні реакції на вуглеводи, базовані на відновленні окислів металів, тоді як вуглеводи першого типу такі реакції не дають. Дисахарид сахароза, що складається із глюкози та фруктози, дає якісні реакції на кетози з утворенням оксиметилфурфуролу, але відновлювати метали сахароза не здатна із-за відсутності вільної

альдегідо групи. Тільки після розпаду сахарози на глюкозу та фруктозу, вільна глюкоза здатна давати звичайні окислювальні реакції з металами.

Поліцукриди (глікани) – вуглеводи, молекули яких містять понад 10 залишків моноцукридів, сполучених між собою глікозидними зв'язками. Вони мають вигляд лінійних і розгалужених ланцюгів. У складі молекул багатьох поліцукридів є і не вуглеводні компоненти. Це стало причиною поділу поліцукридів на дві підгрупи – гомополіцукриди і гетерополіцукриди.

Гомополіцукриди (від гр. homos – однаковий) – складні вуглеводи, молекули яких побудовані з великої кількості (від 10 до десятків і сотень тисяч) залишків одного з моноцукридів – глюкози, фруктози, галактози, манози, ксилози, арабінози і т. д. Серед гомополіцукридів розрізняють енергетичні (крохмаль, інουλін, глікоген) і структурні (клітковина, геміцелюлоза) поліцукриди.

Гетерополіцукриди (від лат. hetero – різний) – складні вуглеводи, молекули яких побудовані із залишків моноцукридів (наприклад, глюкози і галактози), їх похідних (глюкоза міну і галактозаміну, глюконової й галактонової кислот) та не вуглеводних сполук (сульфатної й ацетатної кислот, метанолу тощо). Їх поділяють на глікозамінглікани (гіалуронова кислота, хондроїтинсульфатна кислота, гепарин, гепарин-сульфат, кератан-сульфат, нейрамінова і сіалові кислоти) і глікополіцукриди (пектинові речовини, специфічні поліцукриди мікробів, агар-агар, гуміарабік тощо).

Значення поліцукридів велике. Багато з них є цінними поживними речовинами (наприклад, крохмаль та інουλін), у тваринному організмі є резервом енергетичних речовин (глікоген), виконують у рослинному організмі структурні функції (клітковина і геміцелюлоза), використовуються в медицині і ветеринарії як лікарські засоби (гепарин і декстрин), є живильним середовищем для мікробів (агар-агар) тощо.

Практична частина

Дослід 1. Якісні реакції на глюкозу. Дослід демонструє основні хімічні властивості вуглеводів різних груп, в першу чергу відновлювальні властивості моноцукрів.

А. Реакція срібного дзеркала

Хід роботи:

В пробірку наливають 2 мл 1% розчину азотнокислого срібла (AgNO_3) і приливають 2 мл 5% водного розчину аміаку. До одержаного аміачного розчину окислу срібла приливають 2 мл 5% водного розчину глюкози і кип'ятять суміш на спиртівці. Внаслідок реакції відбувається відновлення срібла і випадання металевого срібла на стінках пробірки.

Результати досліду і рівняння реакції записують в робочий зошит.

Б. Реакція Фелінга

Хід роботи:

В пробірку наливають 2 мл 5% водного розчину глюкози і приливають 2 мл реактиву Фелінга. Суміш піддають нагріванню і спостерігають реакцію відновлення міді, яка зафарбовує блакитну суміш в цегляно-коричневий колір. Реактив Фелінга складається із рівних частин розчину 1 (4% розчин CuSO_4) та розчину 2 (15% розчин NaOH , в 1 літрі якого міститься 200 г винокислого натрія-калія, який розчиняє осад гідрату окису міді).

Результати досліду і рівняння реакції записують.

В. Реакція Ніландера

Хід роботи:

В пробірку наливають 2 мл 5% водного розчину глюкози і доливають 5-6 крапель реактиву Ніландера. Для візуального визначення результатів реакції реагенти в пробірці піддають кип'ятінню протягом 2-3 хвилин. Позитивний прояв реакції супроводжується утворенням чорного кольору внаслідок відновлення і вивільнення металевого вісмуту. Реактив Ніландера складається із 2 г основного азотнокислого вісмуту, 100 мл 10% водного розчину їдкого натру, і 4 г сегнетової солі. При взаємодії двох перших реагентів утворюється гідрат окислу вісмуту, утримуваний в розчині сегнетовою сіллю.

Результати досліду і рівняння реакції записують.

Дослід 2. Відкриття альдоз

Вуглеводи - альдозиди відрізняються наявністю подвійного зв'язку в молекулі, що надає їм специфічних властивостей і пошук таких сполук побудований саме на знаходженні хвойного зв'язку.

Результати досліду і рівняння реакції записують.

А. Реакція Селіванова на фруктозу

Хід роботи:

В пробірку наливають 2 мл 5% розчину фруктози. Додають 5 крапель реактиву Селіванова і суміш піддають кип'ятінню. Розчин набуває вишнево-червоного кольору. Реактив Селіванова являє собою 0,5% розчин в 100 мл 20% розчину HCl .

Результати досліду і рівняння реакції записують в робочий зошит.

Б. Реакція Толленса на пентозу

В пробірку наливають 2 мл розчину будь якого цукру – пентози. При відсутності пентоз можливе використання стружки свіжої деревини, які містять пентозани (полісахариди, побудовані з пентоз, їх поміщають у пробірку, змочують концентрованою кислотою для гідролізу пентозанів, потім додають декілька кристаликів флороглюцину і розчин набуває червоного кольору). Прибавляють рівний об'єм 20% розчину HCl і 5 крапель 0,5% розчину флороглюцину. Суміш кип'ятять, в разі позитивної реакції

утворюється сполука фурфуролу з флороглюцином і виникає червоне забарвлення суміші.

Результати досліду і рівняння реакції записують.

Дослід 3. Відновні властивості дисахаридів

В три пробірки наливають по 2 мл розчинів дисахаридів – у першу – розчин сахарози, у другу – розчин мальтози, у третю – розчин лактози. З всіма реагентами проводять реакцію Фелінга. Результати досліду і їх рівняння записують.

Дослід 4. Кислотний гідроліз сахарози

В пробірку наливають 4 мл водного розчину сахарози, додають 1 мл одно нормального розчину H_2SO_4 , кип'ятять на спиртівці 2 хвилини. Розчин нейтралізують 1 мл двонормального розчину NaOH, додають рівний об'єм реактиву Фелінга і кип'ятять на спиртівці. Результати досліду, його результати і рівняння записують в робочому зошиті.

Дослід 5. Виявлення крохмалю в бульбах картоплі і зерні злаків.

Дослід демонструє відкриття крохмалю в різноманітних рослинних об'єктах.

Крохмаль – енергетичний поліцукрид зелених рослин. Утворюється в клітинних органелах (хлоро - і амілопластах) зелених частин рослин у результаті реакцій фотосинтезу, відкладається у вигляді запасних поживних речовин у листках, стеблах, цибулинах, бульбах та насінні. В клітинах виявляється у вигляді зерен різної форми (овальної, сферичної, неправильної), розміру і шаруватості. Масова частка крохмалю в зерні рису досягає 80 %, пшениці - 75, кукурудзи – 72, жита - 70, ячменю - 65, вівса - 58, проса – 57, у бульбах картоплі – 12 –25 %.

Крохмаль складається з двох фракцій: *амілози* (має лінійну будову молекули) і *амілопектину* (має розгалужену будову). Амілоза становить 10 –30 %, амілопектин – 70 –90 % загальної маси крохмалю. Молекула амілози складається з 200 – 1000 залишків глюкози, сполучених між собою глікозидними зв'язками за типом 1,4. Молекулярна маса амілози – 20 тис. – 1 млн. Амілоза легко розчиняється у воді без утворення клейстеру і забарвлюється розчином йоду в темно-синій колір. Молекула амілопектину побудована з 5000 – 6000 залишків глюкози, сполучених між собою за типом 1,4 і 1,6. Молекулярна маса амілопектину – від 100 тис. до кількох мільйонів. На відміну від амілози, молекула якої має ниткоподібну форму, молекула амілопектину має сферичну конфігурацію. Амілопектин з гарячою водою утворює клейстер, а після охолодження – драглисту масу. З розчином йоду дає червоно-фіолетове забарвлення. Розділення крохмалю на амілозу і амілопектин здійснюють розчиненням у гарячій воді. Крохмаль має високу енергетичну ємність – близько 20 кДж/г. Це цінний продукт харчування, сировина для добування глюкози і етанолу; використовується в паперовій промисловості, для виробництва клеїв, як лікарський засіб і добавка до деяких

лікарських препаратів, у текстильній промисловості (наприклад, при ситцевибиванні) тощо, в аналітичній хімії розчин крохмалю є індикатором на йод. У свою чергу, синє забарвлення, що з'являється при добавлянні до крохмалю розчину йоду в йодиді калію, є характерною реакцією на крохмаль. Йодокрохмальна реакція дуже чутлива і використовується в кількісному аналізі та в клінічній біохімії для визначення як крохмалю, так і йоду.

Хід роботи:

Беруть бульбу картоплі, розрізають її на 2 – 4 частини. Свіжорозрізаний шар змочують розчином йоду в йодиді калію. Беруть кілька зерен рису, пшениці, жита, кукурудзи і наносять на них той самий розчин йоду. В обох випадках з'являється синє або синьо-фіолетове забарвлення, яке свідчить про наявність у цих об'єктах крохмалю. Сутність реакції полягає в тому, що зміна забарвлення крохмалю при добавлянні розчину йоду виникає в результаті адсорбування величезними молекулами крохмалю (їх молекулярна маса становить від сотень тисяч до кількох мільйонів) маленьких молекул йоду (його молекулярна маса 254). При нагріванні відбувається десорбція, комплекс крохмаль – йод розпадається; при охолодженні забарвлення відновлюється (відбувається адсорбція молекулами крохмалю молекул йоду).

Дослід 6. Ступінчастий гідроліз крохмалю. Дослід демонструє стадійність та черговість розпаду складного полісахариду крохмалю (полісахарид – дисахарид – моносахарид). Крохмаль не має відновних властивостей (не відновлює реактив Фелінга, гідроксид купруму (II), не дає реакції «срібного дзеркала» тощо). Під час кислотного або ферментативного гідролізу молекули крохмалю розщеплюються з утворенням молекул проміжних продуктів розпаду (декстринів, мальтози і глюкози). Високомолекулярні продукти розпаду молекули крохмалю обертають площину поляризації світла вправо і дістали назву *декстринів* (вони містять альдегідні групи і здатні давати відновні реакції).

Про наявність процесу гідролізу свідчить поява відновних цукрів. Штучний кислотний гідроліз крохмалю імітує ферментативні реакції розщеплення крохмалю в травному каналі людини й тварин. Він розпочинається в ротовій порожнині, де гідролітичне розщеплення молекул крохмалю відбувається під впливом ферментів слини (амілази і мальтази) і закінчується в тонкій кишці (під впливом ферментів підшлункової залози – тих самих амілази і мальтази). В пропонуваній нижче роботі сутність реакцій полягає в явищі, коли у процесі гідролізу молекула крохмалю поступово розщеплюється через ряд проміжних продуктів (декстринів, мальтози) до глюкози.

Хід роботи:

В пробірку наливають 9 мл 1 % розчину крохмального клейстеру і добавляють 1 мл концентрованої хлоридної кислоти. Вміст пробірки ретельно перемішують і рівномірно розподіляють у 5 хімічно чистих пробірок. Пробірки нагрівають на киплячій водяній бані, виймаючи їх по одній через 3, 5, 8, 12 і 20 хв. Вміст кожної пробірки порівню ділять на дві інші пробірки. В

перших п'яти пробірок виконують реакцію Троммера (див. роботу 1 п. Моноцукриди), в другі п'ять пробірок додають по кілька крапель йоду в розчині йодиду калію.

У перших п'яти пробітках виразна реакція Троммера, як правило, спостерігається в четвертій пробірці, де є мальтоза, і в п'ятій пробірці, де утворилась глюкоза. У других п'яти пробітках залежно від ступеня гідролізу спостерігається гама забарвлень: у першій пробірці – синьо-фіолетове (містяться амілодекстрини і крохмаль), у другій – червоно-буре (еритродекстрини), в третій – оранжеве (ахро- і мальтозодекстрини), у четвертій – оранжево-жовте (мальтозодекстрини і мальтоза), в п'ятій – жовте і світло-жовте забарвлення (мальтоза і глюкоза). Звичайно, ці межі до деякої міри умовні, декстрини забарвлюються в результаті адсорбції їх молекулами йоду, мальтозодекстрини, мальтоза і глюкоза йод не адсорбують.

Дослід 7. Розчинення клітковини в аміачному розчині оксиду купруму (II). Дослід демонструє стадійність явища розпаду складного полісахариду целюлози.

Клітковина, або целюлоза – поліцукрид, що становить основу оболонок клітин рослин. У деревині міститься разом з геміцелюлозами, зокрема з пентозанами і лігніном. Клітковина є основою рослинних кормів, у листках трав'яних рослин її міститься до 30%, в деревині – до 40 – 70%, у волокні бавовнику – до 95 – 98 %. Молекула клітковини являє собою лінійний полімер, який складається з 3 – 6 тис. залишків димеру р-D-глюкози (целобіози), сполучених між собою глікозидними зв'язками за типом 1,4, – структурної одиниці клітковини. Молекулярна маса клітковини становить 10 – 20 млн.

Хімічно чиста клітковина – це біла волокниста речовина без смаку й запаху, не розчиняється у воді, етанолі, діетиловому етері, ацетоні та інших органічних розчинниках. Розчиняється в реактиві Швейцера – розчині гідроксиду купруму (II) в концентрованому розчині аміаку. Цю властивість використовують для добування мідно-аміачного шовку («штучного шовку»). Його ниткам властиві рівномірна структура, м'якість, еластичність і незначна щільність, але їх міцність становить у середньому 120 – 180 ОДН, відносне видовження – 10–40%. Штучний шовк добре фарбується органічними барвниками (кубовими, фталоціановими тощо).

Хід роботи:

Готують реактив Швейцера: беруть насичений розчин гідроксиду купруму (II) і концентрований розчин аміаку. До 100 мл 10 % розчину сульфату купруму додають 30 – 40 мл 10 % розчину їдкого натру. Добутий осад відфільтровують, промивають водою і розчиняють у 25 % розчині аміаку так, щоб залишилось трохи осаду.

Беруть суху пробірку, пінцетом вносять у неї невеликий кусочок гігроскопічної вати або фільтрувального паперу, додають 6 – 8 крапель реактиву Швейцера і енергійно збовтують. Вміст пробірки ретельно перемішують склянню паличкою до повного розчинення клітковини. До

добутого в'язкого розчину добавляють кілька крапель води і збовтують. Вміст пробірки виливають у стакан з теплою водою (50– 100 мл) і добавляють 2 –3 мл концентрованої сульфатної або хлоридної кислоти. Випадають пластівці клітковини.

Сутність реакцій пов'язана з тим, що клітковина – це трьохатомний спирт $[C_6H_7O_2(OH)_3]_n$. Взаємодіючи з реактивом Швейцера, вона утворює сполуки типу алканолітів (алкоголітів). На целюлозних комбінатах клітковину спочатку мерсеризують (обробляють їдким натром і промивають водою), потім розчиняють у реактиві Швейцера. Добутий в'язкий розчин клітковини пропускають крізь фільтри в посудини з сульфатною кислотою. Нейтралізують. Утворюються нитки, з яких прядуть мідно-аміачну тканину. Утворення мідно-аміачного волокна ґрунтується на взаємодії реактиву Швейцера з клітковиною.

Дослід 8. Добування рослинного пергаменту.

Рослинний пергамент – продукт обробки паперу сульфатною кислотою, що не пропускає вологи й жирів. Названий на честь міста Пергам, де в 2 ст. до н. е. почали виготовляти особливий матеріал для письма. Нині штучним пергаментом називають жиронепроникний папір, який використовують для пакування різних речей та для технічних потреб, а також для друкування цінних документів.

Хід роботи:

Беруть три стакани. В перший наливають 100 мл 80 % розчину сульфатної кислоти, в другий – дистильованої води, в третій – 5 % розчину аміаку. В перший стакан на 10– 15 с вносять смужку фільтрувального паперу, потім промивають упродовж 1 – 2 хвилин в стакані з дистильованою водою і нейтралізують у розчині аміаку. Після висушування папір стає міцним і блискучим. Таких цінних якостей він набуває завдяки утворенню амілоїду – продукту неповного гідролізу клітковини. Амілоїд склеює волокна клітковини в міцну масу. На не оброблені кислотою та аміаком ділянки паперу наносять по кілька крапель розчину йоду в йодиді калію. Амілоїдні ділянки забарвлюються йодом у синій, не забарвлені – у буруватий колір.

Під час неповного гідролізу клітковини утворюються проміжні продукти гідролізу, які називають загальним терміном «амілоїд». Хімізм утворення амілоїду можна зобразити таким рівнянням реакції:

Дослід 9. Кислотний гідроліз клітковини

Клітковина – полімер, побудований із залишків молекул Р -D (+)-глюкози. Структурною одиницею клітковини є дицукридна ланка целобіози, побудована з двох молекул (З -D (+)-глюкози. Клітковина – основа рослинних кормів для жуйних і трав'яних тварин. У травному каналі (в передшлунках жуйних і ободовій кишці однокопитних) клітковина під дією бактеріальних ферментів (целюлози й целобіази) гідролізується до (З -D (+)-глюкози. Остання зазнає різних видів бродіння у кишковій трубці і

використовується тваринним організмом для енергетичних та пластичних потреб (продукти цих бродінь – в основному ацетатна, бутанова, пентанова, лактат-на та інші низькомолекулярні кислоти). Процес гідролізу клітковини до Р -D (+)-глюкози в організмі тварин відбувається під дією бактеріальних ферментів і його імітує кислотний гідроліз клітковини.

Хід роботи:

В пробірку вносять 2 – 3 мл концентрованої сульфатної кислоти і кілька кусочків фільтрувального паперу. Вміст пробірки перемішують скляною паличкою до повного розчинення клітковини, після чого виливають у конічну колбу з 20 – 30 мл дистильованої води. Кип'ятять. За необхідності, коли вода википає, в колбу добавляють воду. Через годину після початку гідролізу з колби беруть 2 – 3 мл гідролізату, нейтралізують 10 %-м розчином їдкого натру і виконують реакцію Троммера (див. с. 170).

Внаслідок кислотного гідролізу молекула клітковини поступово розщеплюється до проміжних (амілоїдів і целобіози) та кінцевих (глюкози) продуктів гідролізу:

Дослід 10. Відкриття лігніну в деревині

Лігнін (від лат. lignum – дерево, деревина) – складна полімерна сполука, основа інкрустуючих речовин оболонки рослинних клітин. Разом з геміцелюлозою заповнює порожнечу між фібрилами целюлози. Відкладання лігніну в клітинних оболонках зумовлює здерев'яніння клітин рослин і збільшує їхню міцність. Це аморфна речовина жовто-коричневого кольору, молекулярна маса – від кількох тисяч до мільйона. Деревина листяних порід дерев містить до 20 – 25 % лігніну, хвойних – 35 – 50 % сухої маси. Мікрофібрили целюлози в оболонках клітин порівнюють з арматурою, між якою розміщені молекули лігніну, що створює майже «залізобетонну» структуру рослинної клітини. Це надає клітинам міцності.

Лігнін – нерегулярний полімер, молекула якого побудована із залишків фенолоспиртів (наприклад, коніферилового, 3,5-диметилокси-4-оксикоричного, або синапового, спиртів) сполучених між собою карбон-карбонними або простими етерними зв'язками. Структуру лігніну поки що повністю не з'ясовано.

Лігнін може бути виділений з рослинних тканин розчиненням вуглеводних компонентів деревини (наприклад, гідролізом за наявності кислот) або самого лігніну (наприклад, дією лугів). У промисловості лігнін одержують як домішку і під час добування целюлози та під час гідролізу рослинних матеріалів. Використовується в медицині й ветеринарії як деревинна вата у вигляді тонких гофрованих листків для перев'язування ран та інших травм.

Хід роботи:

Беруть три пробірки. В кожену пробірку наливають по 2 – 3 мл 1 % водного розчину сульфату аніліну. В першу пробірку вносять соснову скалку, в другу – смужку газетного паперу, в третю – кусочок фільтрувального паперу. Через кілька хвилин скалка і смужка газетного паперу забарвлюються в жовтий

колір, оскільки в їх складі є лігнін. Фільтрувальний папір не забарвлюється, оскільки під час його виготовлення лігнін екстрагувався.

Контрольні питання:

1. Класифікація вуглеводів-моноцукрів та біологічне значення окремих представників
2. Основні представники класу вуглеводів та їх використання людиною
3. Основні хімічні властивості вуглеводів та найбільш типові якісні реакції на вуглеводи
4. Хімічна будова моноцукрів, структурні формули найбільш поширених представників
5. Хімічні зв'язки в молекулах вуглеводів та їх особливості
6. Функція глюкози в організмі, її депонування, отримання та основні етапи перетворення
7. Основні джерела фруктози і глюкози для організму людини (екзогенні та ендогенні).
8. Біологічне значення складних вуглеводів
9. Основні представники групи вуглеводів та їх джерела

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Биохимия: Учеб. для ин-тов физ. культ./ Под ред. В.В. Меньшикова, Н.И. Волкова.- М.: Физкультура и спорт, 1986. – 384 с.
2. Боечко Ф.Ф., Боечко Л.О., Шмиголь І.В., Чепчуренко Н.В. Біохімія (практикум) .Черкаси, 2006.-352.
3. Алейникова Т.Л. Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии: Учебн. пособие/ Под. ред. Е.С.Северина.- М.: Медицина, 2000.-128 с.
4. Гонський Я.П., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини: Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.-744с.
5. Комов В.П. Биохимия: учеб. для вузов/ В.П. Комов, В.Н. Шведов.- 2-е изд. испр.-М.: Дрофа, 2006. - 638с.
6. Боечко Ф.Ф., Боечко Л.А. Біохімія для вчителя: Посібник для вчителя.- К.: Рад. шк., 1985. - 264 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5

ТЕМА: ЛІПІДИ (ЖИРИ)

МЕТА РОБОТИ: Встановити хімічні та фізичні властивості жирів

РЕАКТИВИ ТА ОБЛАДНАННЯ :

1. 1% розчин яєчного білку
2. 1% розчин натрію гідроксиду (NaOH)
3. 1% розчин соди (Na₂CO₃)
4. 15-20% розчин натрію гідроксиду (NaOH)
5. 10% розчин твердого мила
6. 5% розчин сульфату купрум (CuSO₄)
7. Бензин
8. Етиловий спирт
9. Дистильована вода

Теоретична частина

Жири, або *тригліцериди*, – це естери, молекули яких утворені залишками трьохатомного спирту гліцерину і вищими жирними кислотами (ВЖК). Останні можуть бути представлені насиченими (стеариною, пальмітиною) і ненасиченими (олеїною, лінолевою, ліноленою) кислотами, рідше – циклічними та гідроксикислотами. Розрізняють прості й складні тригліцериди. В складі простого жиру, або тригліцериду, містяться залишки однієї ВЖК (наприклад, тристеарин – три залишки стеаринової кислоти), складного – двох або трьох ВЖК (наприклад, стеаропальмітолеїн – по одному залишку стеаринової, пальмітинової, олеїнової кислот).

Відомо понад 600 індивідуальних жирів: 420 – рослинних, 80 – 90 – тваринних (тварин, що живуть на Землі) і 100 – мешканців водойм. У складі жирів тваринного походження переважають залишки насичених ВЖК, що й визначає їх тверду консистенцію. Жири рослинного походження містять переважно залишки ненасичених ВЖК і є рідинами, крім пальмітинового. їх, як правило, називають *олями*. Жири тваринного походження називають *сенами* (крім вершкового масла).

Жири найчастіше добувають з природної сировини, рідше – синтетично. Для цього використовують витоплювання (переважно для жирів тваринного походження), екстрагування і віджимання (рослинні жири). Якість і чистота кожного жиру визначаються фізичними та хімічними константами (густина (щільність), температура топлення, температура тверднення, коефіцієнт заломлення, число омилення, число Рейхарда – Мейсля, йодне число, кислотне число та деякі інші).

Фізичні й хімічні властивості жирів залежать від природи та кількісного співвідношення залишків насичених і ненасичених ВЖК, що входять до складу їхніх молекул. Жири не розчиняються у воді, розчиняються в органічних розчинниках. При сильному збовтуванні з водою утворюють емульсії. Молекули жирів можуть розщеплюватися водою на гліцерин і ВЖК під впливом ферментів – ліпаз, деяких фізичних і хімічних факторів (перегрітої пари, концентрованої сульфатної кислоти, лугів).

Жири – цінні продукти харчування людини й тварин. Вони є високоенергетичним джерелом хімічної енергії. Наприклад, при тканинному окисненні в організмі тварини з 1 г жиру утворюється 39 кДж енергії (вуглеводів – 18, білків – 17 кДж). Жири – важливе джерело утворення ендогенної води в організмі тварини (при окисненні 100 г жиру утворюється 107,1 г води). Вони беруть також участь у терморегуляції, захищають органи й тканини від механічних пошкоджень (входять до складу сполучнотканинних капсул серця, нирок, печінки, очей), зумовлюють еластичність шкіри (основа підшкірної жирової клітковини).

Технічні жири використовують для виготовлення мил, інших мийних засобів, мастил, свічок, косметичних кремів. Рослинні жири – сировина для добування оліф, алкідних смол (зокрема, з рибних відходів). Гідрогенізацією рослинних жирів отримують маргарини.

Дослід 1. Розчинність жирів у різних розчинниках

Жири не розчинні у воді, але добре розчиняються в органічних розчинниках. Самі жири є добрими органічними розчинниками, що має велике значення для депонування в організмі тварин і людей жиророзчинних вітамінів.

Хід роботи

Беруть три пробірки. В першу пробірку наливають 2 –3 мл води, в другу стільки ж бензину, в третю – етилового спирту. В кожну пробірку додають по кілька крапель олії. Всі три пробірки збовтують, спостерігають за результатом дослідження. Потім усі три пробірки вмішують на 2 –5 хв на киплячий водяну баню. Після завершення роботи запишіть результати дослідження.

Дослід 2. Емульгування жирів

Емульсія – грубодисперсна система, що складається з дрібних крапель рідини (дисперсної фази), розміщених в іншій рідині (дисперсійному середовищі). Розрізняють емульсії прямого типу «олія у воді» (неполярна рідина а полярному водному середовищі) і зворотні емульсії типу «вода в олії» (краплі полярної рідини в неполярному середовищі).

Емульгування здійснюється і стабілізується за допомогою спеціальних речовин – емульгаторів, дія яких зумовлена їх здатністю накопичуватися на межі двох фаз. Емульгатори, як правило, краще розчиняються у дисперсійному середовищі, ніж у дисперсній фазі. Вони зменшують поверхневий натяг і створюють навколо крапель емульгованої речовини захисний шар, який запобігає коагуляції. Емульгуванню належить важлива роль у процесах травлення. Прикладом стійкої природної емульсії може бути молоко, де роль емульгаторів виконують білки та деякі солі.

Хід роботи:

В 5 пробірок наливають по кілька крапель рослинної олії і додають по 2 –3 мл дистильованої води. В першу пробірку додають 2 – 3 краплі розчину білка, в другу – 1 % розчину їдкою калі, в третю – розчину мила, в четверту – гідрокарбонату натрію (1 % розчину), в п'яту – води (контроль). Вміст усіх пробірок ретельно збовтують, вмішують пробірки в штатив і спостерігають за стійкістю емульсії. Запишіть результати проведення дослідів.

Дослід 3. Окислення ненасичених жирів

Ненасичені жири під впливом ультрафіолетового випромінювання і кисню повітря, а також вологи набувають неприємного смаку і запаху. Нерідко цим процесам сприяють і мікроорганізми. Відбувається псування жирів, в основі таких процесів лежать окислення й гідроліз їхніх молекул. Процеси, що призводять до таких наслідків, називають *згіркненням жирів*.

Розрізняють два види згіркнення жирів – окисне і гідролітичне. При окисному згіркненні жирів за місцем розривання подвійних зв'язків залишків ВЖК в молекулі жиру відбувається приєднання гідроксильних груп, а іноді з них утворюються альдегіди і кетони з коротким карбоновим радикалом та неприємним запахом і смаком.

Гідролітичне згіркнення жирів призводить до утворення гліцерину і низькомолекулярних жирних кислот, гірких на смак і з неприємним запахом. Воно виникає під впливом мікроорганізмів, зокрема їхніх ферментів. Типовим прикладом може бути згіркнення вершкового масла, основу якого становить тригліцерид трибутирин. Під час гідролізу утворюються гліцерин і бутанова (масляна) кислота, гірка на смак і з неприємним запахом. Після промивання такого масла в розчині питної соди утворюється бутират натрію, що видаляється з промивною водою, і масло відновлює свої

органолептичні якості. Для запобігання згіркненню олій і вершкового масла слід ретельно дотримуватися правил їх зберігання і застосовувати добавки – антиоксиданти, що послаблюють процес згіркнення (вони за своєю хімічною природою є фенолами, хінонами, катехінами, вітамінами – наприклад, вітамін Е).

Хід роботи:

В пробірку наливають 2–3 г рослинної олії і додають 1–2 мл 1 % водного розчину питної соди (гідрокарбонату натрію). Суміш збовтують. Випадає бурий осад MpO_2 . Суміш знебарвлюється. В основі окислення ненасиченого жиру лежить розривання подвійних зв'язків між атомами карбону у вуглеводневому радикалі, приєднання до розірваних зв'язків груп $-OH$ і утворення гідрокислотних залишків ВЖК: $сир-от(сн_2-сн=сн(сн_2)_7-сн_а$

У деяких випадках процес окислення йде глибше – розриваються й інші зв'язки (наприклад, етерний зв'язок), утворюються гліцерин і жирні кислоти, альдегіди й кетони, карбонові кислоти з короткими вуглеводневими ланцюгами.

Дослід 4. Добування твердого мила

Тверде мило – натрієва сіль ВЖК з кількістю атомів карбону від 10 до 20. ВЖК найчастіше представлені стеариною і пальмітиною кислотами. Використовуються як мийні засоби. Тверді мила – речовини, що мають тверду консистенцію і температуру плавлення 220–270 °С. Вони гігроскопічні, добувають їх з тваринних жирів і саломасу (твердих продуктів гідрогенізації рослинних жирів), олій (або рідких жирів морських тварин, зокрема китів). Залежно від потреб добувають мила різного призначення – господарські, туалетні, технічні, тощо (крім ВЖК і лугів у сировинну суміш додають інші компоненти).

Хід роботи:

В пробірку вносять 0,5–1 г тваринного жиру і додають 2–5 мл 15–20 % водного розчину їдкого натру. Пробірку переносять на 10–15 хв на киплячий водяний нагрівник. Після цього суміш охолоджують проточною водою. Додають кілька мілілітрів насиченого розчину кухонної солі. На поверхню спливає шар твердого мила.

Під дією лугу і високої температури відбувається гідроліз молекули жиру на гліцерин і ВЖК. Потім ВЖК взаємодіють з їдким натром, відбувається реакція нейтралізації жирної кислоти лугом і утворюється сіль – тверде мило:

Дослід 5. Добування рідкого мила

Рідке мило – рідина, хімічною основою якої є калійні солі переважно ненасичених жирних кислот (олеїнової, лінолевої, ліноленової). Розрізняють кілька видів рідкого мила, головними з яких є господарське, туалетне і зелене. Зелене мило (*Sapo Siridis*) використовують у медицині і ветеринарії як зовнішній дезінфекційний засіб. Зелене мило – м'яка прозора темно-бура рідина або зеленувата маса зі слабким мильним запахом. Добувають його омиленням рослинних олій розчином їдкого калі. Розчиняється в 4 частинах води або етанолу і в 2 частинах гарячої води з утворенням майже прозорих мильних розчинів, що сильно піняться при збовтуванні.

Зелене мило використовують виключно як зовнішній лікарський засіб. Воно має добре виражені мийні й очищувальні властивості, пом'якшує епідерміс, подразнює нервові закінчення шкіри, викликає її активну гіперемію. Зелене мило – складова частина мильного спирту. Його використовують для лікування багатьох захворювань шкіри, зокрема корости, для миття рук і підготовки операційного поля, дезінсекції халатів, білизни, посуду, забруднених окремими видами мікроорганізмів. Зелене мило – складова частина дьогтьового мила (1 частина мильного спирту, 1 частина дьогтю і 2 частини етанолу).

Хід роботи:

В пробірку вносять 0,5–1 мл рослинної олії і добавляють 1–2 мл 10 – 20 % спиртового розчину їдкою калію. Суміш переносять на киплячий водяний нагрівник на кілька хвилин (до утворення прозорого розчину). Пробірку охолоджують і добавляють 2 – 4 мл дистильованої води. Струшують. Виникає мильна піна, спочатку відбувається гідроліз жиру, потім – утворення мила.

Дослід 6. Добування нерозчинних мил

Нерозчинні мила – солі ВЖК з лужноземельними або перехідними (наприклад, Al, Ca, Co, Pb, Zn) металами, їх іноді називають «металічними» милами. Застосовують як згущувачі пластичних мастил .

Хід роботи

У кожен з двох пробірок наливають по 3 – 5 мл 10 % розчину твердого мила. В першу пробірку добавляють 1–2 мл 3 – 5 % розчину сульфату купрум, в другу – 3 – 4 мл 3 – 5 % розчину ацетату плюмбуму. Пробірки струшують і збовтують. Випадають осадки нерозчинних мил.

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ:

- 1.Складові частини молекули жиру?
- 2.Основні функції жирів в організмі?
- 3.Навіщо у людини існують сальні залози і функції секрету цих залоз?
- 4.Екзогенний та ендогенний шляхи утворення жиру в організмі людини?
- 5.Стадійність процесів утворення жиру в організмі?
- 6.Шляхи окислення жиру та кінцеві продукти жирового розпаду
- 7.Кетонові тіла та їх значення для організму?
- 8.Шляхи раціонального використання жирових запасів організму при голодуванні та при важкому фізичному навантаженні?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Биохимия: Учеб. для ин-тов физ. культ./ Под ред. В.В. Меньшикова, Н.И. Волкова.- М.: Физкультура и спорт, 1986. – 384 с.
2. Боєчко Ф.Ф., Боєчко Л.О., Шмиголь І.В., Чепчуренко Н.В. Біохімія (практикум) .Черкаси, 2006.-352.
3. Алейникова Т.Л. Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии: Учебн. пособие/ Под. ред. Е.С.Северина.- М.:Медицина, 2000.-128 с.
4. Гонський Я.П., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини: Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.-744с.
5. Комов В.П. Биохимия: учеб. для вузов/ В.П. Комов, В.Н. Шведов.- 2-е изд. испр.-М.: Дрофа, 2006. - 638с.
6. Боєчко Ф.Ф., Боєчко Л.А. Біохімія для вчителя: Посібник для вчителя.- К.: Рад. шк., 1985. - 264 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №6

Тема: Ферментативний гідроліз і обмін білків

Мета роботи: розширити знання про метаболізм білків та з'ясувати роль ферментів у білковому обміні.

Теоретична частина

Серед обмінних процесів організму особливу увагу заслуговує обмін білків, оскільки всі структурні елементи клітин, тканин і органів людини побудовані з білків. Наявність специфічних фізико-хімічних і біологічних властивостей дозволяє білкам приймати участь у формуванні геному клітини. Саме завдяки особливій видовій специфічності білків, вони не можуть бути використані організмом у тому вигляді, в якому вони надходять з їжею.

Весь процес обміну білків включає перетравлювання, всмоктування продуктів розщеплення, внутрішньоклітинний обмін та синтез специфічних білків.

Перетравлювання білків починається в шлунку під впливом ферменту пепсину, який активується хлоридною кислотою. Вона створює оптимальні умови середовища для дії цього ферменту (рН 1,0...2,5) і викликає набрякання білка. Під дією пепсину білки розщеплюються на високомолекулярні поліпептиди – пептони. Отже, молоко при додаванні нейтралізованого шлункового соку зсідає. Це обумовлено здатністю пепсину, перетворювати казеїноген молока в казеїн, кальцієва сіль якого нерозчинна у воді.

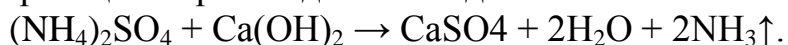
У дванадцятипалій кишці та тонкому кишечнику під дією ферментів підшлункового та кишкового соку перетравлювання білків і пептонів триває. Ферменти, які виділяються підшлунковою залозою: трипсин, хімотрипсин і панкреатопептидаза, каталізують розщеплення пептидних зв'язків у молекулі білка до поліпептидів і проявляють найбільшу активність у нейтральному або слабо лужному середовищі. Лужний сік підшлункової залози та жовч нейтралізують хлоридну кислоту, що надходить зі шлунка, і реакція кишкового середовища стає близької до нейтральної (рН 6,5...7,0). Поліпептиди, що утворилися, розщеплюються ферментами панкреатичного та кишкового соку на дипептиди й окремі амінокислоти. Гідролітичне розщеплення білків відбувається за схемою:

білки → протеози → пептони → поліпептиди → дипептиди → амінокислоти.

Амінокислоти всмоктуються в кров і з нею розносяться до тканин. Невелика частина амінокислот у кишечнику піддається дії мікробної флори. У результаті гнильного розпаду амінокислоти перетворюються в отруті для організму продукти: індол, фенол, крезол і інші.

В органах і тканинах амінокислоти використовуються для побудови тканинних білків, ферментів, гормонів, пігментів, пуринових і піримідинових основ, азотистих речовин.

У результаті різних перетворень амінокислот у тканинах організму утворюються кінцеві продукти обміну: аміак, вуглекислий газ і вода. Оскільки аміак – дуже токсична речовина, то навіть незначне збільшення його кількості в крові викликає отруєння організму, особливо нервової системи. Щодоби в організмі людини утворюється 18-23,6 г аміаку. Проте, незважаючи на постійне утворення в тканинах і надходження в кров, концентрація його в крові незначна. У ході еволюції в людини виробилися спеціальні механізми для його знешкодження. До них належить утворення глютаміну, аспарагіну, амідів білків, синтез сечовини, зв'язування аміаку кислотами у вигляді амонійних солей. Для виявлення останніх використовують реакцію їх розкладання з виділенням вільного аміаку:



Практична частина

Дослід 1. Ферментативний гідроліз білка

У дві пробірки вмістити по 3 мл розчину яєчного білка та підігріти до його зсідання ($t = 85^\circ\text{C}$). У першу пробірку внести 6 мл розчину пепсину, в другу – 6 мл розчину хлоридної кислоти. Через 5...10 хвилин у першій пробірці білок починає розчинятися, а в іншій – зміни не відбуваються. Зробити висновок.

Дослід 2. Аналіз шлункового соку

Одну краплю шлункового соку нанести скляною паличкою на смужку індикаторного паперу. Що відбувається? Зробити висновок про кислотність середовища шлункового соку.

Дослід 3. Зсідання молока під впливом пепсину шлункового соку

В пробірку внести 5 крапель активного шлункового соку, потім додати 20 крапель дистильованої води та невелику кількість порошку кальцій карбонату до нейтральної реакції на лакмус; рідину профільтрувати. Частину цієї рідини (нейтралізованого шлункового соку) налити в пробірку, прокип'ятити та дати охолонути. В 2 пробірки налити по 10 крапель свіжого молока. В одну пробірку додати 2 краплі нейтралізованого шлункового соку, в іншу – 2 краплі кип'яченого нейтралізованого шлункового соку. Обидві пробірки помістити у водяну баню при температурі 40° і стежити за початком зсідання молока. Воно настає тільки в тій пробірці, у якій присутній не кип'ячений фермент, субстрат та іони кальцію. Результати роботи зафіксувати у табл. 3. Зробити висновки.

Таблиця 3. Зсідання молока під дією шлунковим соком

Номер проби	Субстрат	Фермент	Видимі зміни та їх причини
1			
2			

Дослід 4. Виявлення амонієвих солей

У пробірку налити 2-3 мл реагенту, що містить амоній сульфат $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ і 1...2 мл насиченого розчину кальцій гідроксиду $\text{Ca}(\text{OH})_2$, перемішати. Смужку індикаторного паперу змочити дистильованою водою та піднести до отвору пробірки, не торкаючись її стінок. Через деякий час папір здобуває синій колір. Пояснити це явище. Написати рівняння хімічної реакції між амоній сульфатом та кальцій гідроксидом. Зробити висновки.

Контрольні запитання та задачі

1. Назвати ферменти, під дією яких відбувається розщеплення білків.
2. Які залози травного тракту синтезують ферменти, що впливають на перетравлювання білків?
3. Визначити роль хлоридної кислоти шлункового соку у процесі перетравлювання білків.
4. Які сполуки утворюються в процесі розщеплення білків?
5. Які амінокислоти відносять до незамінних і чому?
6. Назвати кінцеві продукти перетворень амінокислот у тканинах організму. Пояснити біологічне значення синтезу сечовини.
7. Гістидин містить 27,07 % Нітрогену. Обчислити молекулярну масу цієї амінокислоти, якщо в молекулі гістидину три атоми Нітрогену.
8. Яку масу гліцину потрібно використати для добування 14,42 г етилового естеру гліцину, якщо вихід продукту 80 %.

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Биохимия: Учеб. для ин-тов физ. культ./ Под ред. В.В. Меньшикова, Н.И. Волкова.- М.: Физкультура и спорт, 1986. – 384 с.
2. Боечко Ф.Ф., Боечко Л.О., Шмиголь І.В., Чепчуренко Н.В. Біохімія (практикум) .Черкаси, 2006.-352.
3. Алейникова Т.Л. Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии: Учебн. пособие/ Под. ред. Е.С.Северина.- М.: Медицина, 2000.-128 с.
4. Гонський Я.П., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини: Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.-744с.
5. Комов В.П. Биохимия: учеб. для вузов/ В.П. Комов, В.Н. Шведов.- 2-е изд. испр.-М.: Дрофа, 2006. - 638с.
6. Боечко Ф.Ф., Боечко Л.А. Біохімія для вчителя: Посібник для вчителя.- К.: Рад. шк., 1985. - 264 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №7

Тема: Визначення проміжних і кінцевих продуктів обміну вуглеводів

Мета: Ознайомитись з механізмами анаеробного окиснення глюкози та визначити кінцеві продукти її спиртового бродіння. Дослідити гідролітичне розщеплення вуглеводів; порівняти дії неорганічних каталізаторів і ферментів в процесі гідролізу вуглеводів. Навчитись визначати центральні метаболіти вуглеводів, моносахариди в біологічних рідинах (сечі, крові).

Теоретична частина

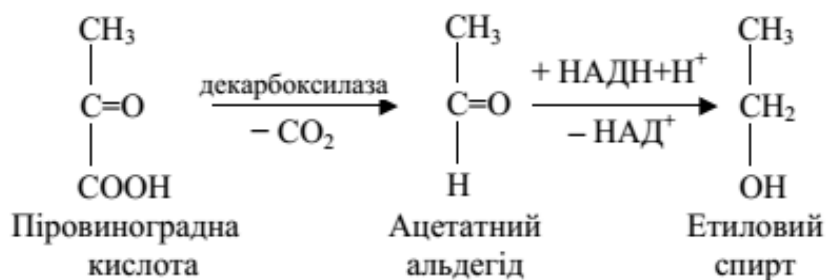
Перетворення вуглеводів, а саме глюкози, у тканинах організму може відбуватися двома шляхами анаеробним та аеробним. Найпростішим шляхом окиснення вуглеводів є бродіння – процес утворення енергії шляхом окиснення глюкози й інших субстратів при відсутності кисню, тобто в анаеробних умовах. Залежно від кінцевого продукту, що утворюється в ході бродіння глюкози, розрізняють молочнокисле, спиртове, оцтовокисле та інші види бродіння.

Молочнокисле бродіння, тобто розпад глюкози до молочної кислоти (гліколіз) та глікогену (глікогеноліз) відбувається під впливом специфічних ферментів.

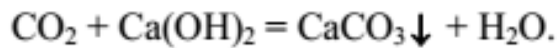
При спиртовому бродінні глюкози відбувається розщеплення її молекул на молекули етилового спирту та карбон (IV) оксиду під впливом ферментів, що містяться у дріжджах за схемою:



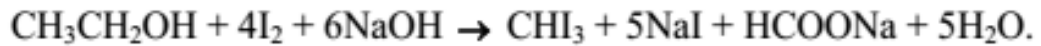
Процеси розпаду глюкози при бродінні та гліколізі протікають однаково до утворення пірвіноградної кислоти, розходження починається з подальшого перетворення пірвіноградної кислоти. Під дією декарбоксілази дріжджів пірвіноградна кислота перетворюється в ацетатний альдегід, який відновлюється за участю алкогольдегідрогенази та НАДН–Н⁺ в етиловий спирт.



Вуглекислий газ, який утворюється при бродінні глюкози, можна відкрити в спеціальних апаратах для зброжування. Карбон (IV) оксид, що виділяється, поглинається кальцій гідроксидом і при цьому утворюється нерозчинний осад кальцій карбонату:



Спирт, який утворюється при бродінні, можна відкрити за допомогою реакції одержання йодоформу:

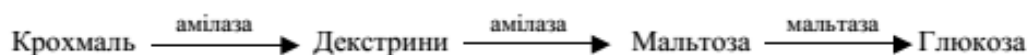


Енергетичний ефект анаеробного розпаду вуглеводів менше аеробного. За умов анаеробного окиснення виділяється всього 197 кДж енергії, з яких 40 % акумулюється в макроергічних зв'язках двох молекул АТФ, а в аеробній фазі виділяється 2675 кДж, складає близько 93 % усієї енергії. Накопичення енергії пов'язане з утворенням АТФ. При гліколізі накопичуються 3 молекули АТФ, тобто значно менше, ніж при аеробному окисненні глюкози (38 молекул АТФ). Незважаючи на менший енергетичний ефект, анаеробний розпад вуглеводів відіграє велику роль як джерело енергії, котра швидко утворюється. Особливе значення анаеробний розпад здобуває під час великого короточасного фізичного навантаження, наприклад, у спортсменів під час бігу на короткі дистанції.

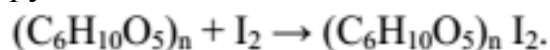
Вуглеводи є основним джерелом енергії, що надходять в організм людини, головним чином, з продуктами рослинного походження: мукою, крупами, картоплею та ін. Людина повинна одержувати на добу не менш 500 г вуглеводів. До найбільш поширених представників вуглеводів належать полісахариди – крохмаль, клітковина та глікоген, дисахариди – мальтоза, сахароза, лактоза, моносахариди – глюкоза, фруктоза, галактоза.

Гідролітичне розщеплення (гідроліз) вуглеводів – крохмалю та глікогену починається в ротовій порожнині під впливом ферментів слини – амілази та мальтази. Оптимум дії цих ферментів лежить у нейтральному та слабко-лужному середовищі. Тому в шлунку розщеплення практично припиняється, оскільки шлунковий сік має кислу реакцію (рН 1,5-2,5). У дванадцятипалій кишці й у порожнині тонкої кишки під дією ферментів підшлункової залози і кишкового соку відбувається завершальне розщеплення вуглеводів до моносахаридів. Сік підшлункової залози має лужну реакцію та нейтралізує хлоридну кислоту, яка попадає зі шлунка, а натрій хлорид, що утворюється при цьому, активізує дію амілази.

Гідроліз крохмалю під дією ферментів проходить через стадію утворення декстринів – продуктів його неглибокого розщеплення та здійснюється за наступною схемою:



У разі взаємодії крохмалю з йодом утворюються комплексні адсорбційні сполуки синього кольору за схемою:



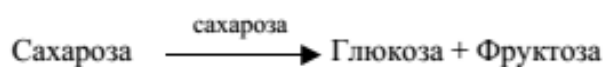
Відсутність кольору при цьому вказує на утворення мальтози або глюкози.

Крохмаль може розщеплюватися до глюкози також при гідролізі з кип'ятінням у присутності концентрованих мінеральних кислот – сульфатної або хлоридної, які в цьому випадку є неорганічними каталізаторами, за наступною схемою:



Глюкозу, що утворюється у цьому процесі, можна виявити за допомогою реакції Тромера.

Розщеплення дисахаридів – мальтози, сахарози та лактози відбувається в тонкому кишечнику за участю ферментів мальтази, сахарази та лактази, які виділяються слизовою оболонкою кишечника. Фермент сахараза каталізує гідроліз сахарози до глюкози та фруктози за наступною схемою:



Моносахариди, які при цьому утворюються, також визначають за допомогою реакції Тромера. Далі моносахариди всмоктуються стінками кишків та через капіляри кишкових ворсинок і надходять у кров'яне русло. З током крові вони потрапляють у печінку й інші органи та тканини, де з глюкози синтезується глікоген, утворюються жироподібні речовини, а також відбувається її окиснення.

Практична частина

Дослід 1. Виявлення глюкози в біологічних рідинах *методом Ніландера*.

Матеріали та реактиви: сеча, реактив Ніландера.

Обладнання: штатив з пробірками, водяна баня.

Принцип методу заснований на властивості глюкози при нагріванні в лужному середовищі окислюватись, відновлюючи солі тяжких металів. До складу реактиву Ніландера входять сегнетова сіль та вісмут нітрат (III), який в лужному середовищі утворює вісмут гідроксид (III), потім комплексне поєднання з сегнетовою сіллю.

Хід роботи:

До 20 крапель сечі додають 10-15 крапель реактиву Ніландера, нагрівають до кип'ячої водяної бані протягом 5-7 хв. При наявності в сечі глюкози утворюється чорний осад металічного вісмуту.

Дослід 2. Виявлення фруктози в біологічних рідинах реакцією Селіванова.

Матеріали та реактиви: сеча, реактив Селіванова (суміш концентрованої HCl і резорцину).

Обладнання: штатив з пробірками, водяна баня.

Принцип методу заключається в утворенні з фруктози при нагріванні з концентрованою HCl оксиметилфурфуролу, що утворює з резорцином продукт конденсації вишнево-червоного кольору. При більших концентраціях фруктози в сечі може утворюватись червоно-бурий осад.

Хід роботи:

До 10-15 крапель сечі додають 20-30 крапель реактиву Селіванова і суміш нагрівають. Якщо сеча містить фруктозу, з'являється інтенсивне вишнево-червоне забарвлення або червоно-бурий осад.

Дослід 3. Виявлення глікогену в печінці.

Матеріали та реактиви: штатив з пробірками: 0,5 г печінки тварини, 1%-ний розчин оцтової кислоти, розчин Люголя (I₂+KI), дистильована вода.

Обладнання: штатив з пробірками, фарфорова чашка, гранульовані піпетки по 5 мл, водяні бані, фарфорові ступки з пестиками, воронки, паперові фільтри.

Принцип методу: Реакція заснована на властивості глікогену утворювати з йодом забарвлені сполуки. Колір від винно-червоного до червоно-бурого (в залежності від походження глікогену) виникає в результаті складного процесу утворення нестійкої адсорбційної сполуки глікогену з йодом. Глікоген – полісахарид з молекулярною масою від 1 до 4 млн., структурною одиницею якого є глюкоза. Утворені по типу 1,4- та 1,6-а глюкозидних зв'язків. Найбільше глікогену в печінці та м'язах.

Хід роботи:

0,5 г печінки кладуть в фарфорову чашку, додають 5 мл киплячої дистильованої води і кип'ятять протягом 2-3 хв. для інактивації ферментів. Потім тканину печінки розтирають пестиком в фарфоровій ступці, розводять 1 мл дистильованої води і кип'ятять 20-30 хв. в фарфоровій чашці, періодично додаючи по краплям по мірі її википання та підкислюючи 5-10 краплями оцтової кислоти. Осад білку фільтрують через паперовий фільтр. До 5-10 крапель фільтрату додають 2-3 краплі розчину Люголя. При наявності глікогену розчин характерно забарвлюється.

Дослід 4. Ферментативний гідроліз крохмалу

У дві пробірки внести 5 мл крохмального клейстеру. В одну з них додати 0,5 мл розчину слини, що містить амілазу, добре перемішати та залишити на 15 хвилин.

Потім у дві пробірки додати по 5 крапель розчину Люголю (0,1%-й розчин I₂ в 0,2%-вому розчині KI). У пробірці з амілазою слини розчин поступово знебарвлюється. У пробірці, в якій не було амілази, розчин кольору не змінює, тобто залишається синьо-фіолетовим. Пояснити це явище. Навести схему ферментативного гідролізу крохмалу.

Дослід 5. Кислотний гідроліз крохмалу

У дві пробірки вмістити по 5 мл 1%-го розчину крохмалу. У першу додати 2...3 краплі розчину концентрованої хлоридної кислоти та кип'ятити її на водяній бані 15 хвилин. Друга пробірка – контрольна.

Потім в обидві пробірки налити по 2 мл 15%-го розчину NaOH, та по 5 крапель 1%-го розчину CuSO₄ і нагріти. У пробірці, де здійснювався гідроліз крохмалу в присутності HCl при нагріванні, спостерігається утворення червоного осаду Cu₂O (тобто реакція Тромера позитивна), а в контрольній

пробірці такий осад не спостерігається. Зробити висновок про продукти реакції. Навести схему кислотного гідролізу крохмалю та написати рівняння реакції Тромера.

Дослід 6. Ферментативний гідроліз сахарози

У дві пробірки налити по 1 мл ферменту сахарози. Вміст однієї з них (контрольний дослід) прокип'ятити 3 хвилини для руйнування сахарози. Після того, як вона охолоне, в обидві пробірки налити по 3 мл розчину сахарози, перемішати та поставити в термостат (на водяну баню) при температурі 38 °С. Через 15 хвилин з розчинами в пробірках здійснити реакцію Тромера. Зробити висновок про речовини, які утворюються.

Дослід 7. Відкриття продуктів дріжджового бродіння глюкози У ступці розтерти 1 г дріжджів, доливаючи невеликими порціями 20 мл 5%-го розчину глюкози. Отриману масу перелити в апарат для зброжування. До апарату приєднати газовідвідну трубку, кінець якої помістити в колбу з 5 %-вим розчином вапняної води ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Наповнений апарат поставити в термостат на 30-60 хвилин до накопичення газу в ньому.

Через вказаний час термостат вимкнути, апарат для зброжування глюкози вилучити з нього. Що відбувається в апараті? Записати свої спостереження та рівняння реакції, яка відбулася.

Дослід 8. Якісна реакція на CO_2 В колбі з 5 %-вим розчином $\text{Ca}(\text{OH})_2$ через газовідвідну трубку виділяється вуглекислий газ, який з кальцій гідроксидом утворює нерозчинний у воді кальцій карбонат. Що спостерігається у колбі? Пояснити це рівнянням реакції утворення осаду.

Дослід 9. Якісна реакція на спирт Невелику кількість рідини з апарата відфільтрувати у пробірку. До фільтрату додати 2-3 краплі 10%-го розчину I_2 в KI – до появи жовтого забарвлення, злегка нагріти. Через якийсь час відчувається характерний запах йодоформу. Зробити висновок. Написати рівняння реакції одержання йодоформу.

Контрольні запитання та задачі

1. Скільки молекул АТФ накопичується при гліколізі та глікогенолізі?
2. У яких органах перебігає анаеробний процес розпаду вуглеводів?
3. Навести подібне та відмінності між процесами гліколізу й дріжджового бродіння.
4. Назвати продукти перетворення молочної кислоти в анаеробних умовах.
5. Навести схему аеробного розщеплення вуглеводів?
6. Навести види бродіння глюкози та визначити їхнє практичне значення.
7. Вміст цукру в крові здорової людини 80 – 120 мг, а глюкози на 20 % менше. Обчислити норму вмісту глюкози в крові.

8. Яку масу глюкози потрібно піддати бродінню, щоб отримати 200 г етилового спирту, вихід якого 90 %.
9. Під дією яких ферментів ШКТ відбувається розщеплення полісахаридів та дисахаридів?
10. Навести рівняння гідролізу крохмалю, сахарози та мальтози.
11. Чому в шлунку припиняється розщеплення крохмалю амілазою слини?
12. Який процес називається глікогенолізом і в чому його відмінність від процесу гліколізу?
13. Навести кінцеві продукти гідролізу лактози.
14. Чому процес розпаду глюкози до молочної кислоти називається анаеробним процесом?
15. Який об'єм карбону (IV) оксиду і яка маса етанолу утвориться внаслідок спиртового бродіння глюкози кількістю речовини 7 моль.
16. Обчислити масову частку сахарози в розчині, виготовленому з 5 г сахарози і 145 мл води ($\rho(\text{H}_2\text{O}) = 1 \text{ г/см}^3$).

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Биохимия: Учеб. для ин-тов физ. культ./ Под ред. В.В. Меньшикова, Н.И. Волкова.- М.: Физкультура и спорт, 1986. – 384 с.
2. Боечко Ф.Ф., Боечко Л.О., Шмиголь І.В., Чепчуренко Н.В. Біохімія (практикум) .Черкаси, 2006.-352.
3. Алейникова Т.Л. Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии: Учебн. пособие/ Под. ред. Е.С.Северина.- М.: Медицина, 2000.-128 с.
4. Гонський Я.П., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини: Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.-744с.
5. Комов В.П. Биохимия: учеб. для вузов/ В.П. Комов, В.Н. Шведов.- 2-е изд. испр.-М.: Дрофа, 2006. - 638с.
6. Боечко Ф.Ф., Боечко Л.А. Біохімія для вчителя: Посібник для вчителя.- К.: Рад. шк., 1985. - 264 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №8

Тема: Обмін та визначення продуктів розщеплення ліпідів

Мета роботи: поглибити знання про участь ліпідів в процесах метаболізму та з'ясувати механізм їх ферментативного розщеплення.

Теоретична частина

Завдяки структурній різноманітності ліпідів існує багато шляхів їх розщеплення та синтезу. Розщеплення жирів відбувається за допомогою ферментів – ліпаз. У шлунку перетравлюється лише 3-5 % жирів, оскільки в реакція середовища кисла (рН 1,5...2,5), у той час як оптимум дії ліпази знаходиться при рН 7,8...8,1. Основним місцем перетравлювання жирів є дванадцятипала кишка і відділи тонкої кишки. Оскільки, ферменти, під дією яких відбувається розщеплення нерозчинних у воді жирів, водорозчинні, необхідною умовою для їх гідролітичного розщеплення на складові частини є диспергування ліпідів з утворенням тонкої емульсії (емульгування). Диспергування й емульгування жиру відбувається в результаті дії декількох чинників: жовчних кислот, вільних вищих жирних кислот, моно- і дигліцеридів, білків. Гідролітичне розщеплення жирів і жироподібних речовин, відбувається в кишечнику під впливом ліпази підшлункової залози, яка виділяється в малоактивній формі й активується жовчю. При чому жовч не лише активує ліпазу, завдяки лужному характеру. Вона також сприяє емульгуванню жирів та підвищує проникність стінки кишків, утворюючи комплексні водорозчинні сполуки з вищими жирними кислотами, для їх подальшого транспортування. До складу жовчі входять жовчні кислоти, які утворюються в печінці та виділяються з жовчю у вільному стані та мають властивості поверхнево-активних речовин.

При збовтуванні жиру з розчином жовчі, білка, мила або соди утворюється стійка емульсія. Утворення емульсії обумовлене тим, що в поверхневий водний шар, що оточує жирові краплі, спрямовуються поверхнево-активні частинки жовчних кислот, білка, мила, які охоплюють крапельки жиру та перешкоджають їхньому злиттю. Емульгування жиру содою обумовлено утворенням мила в результаті взаємодії натрій карбонату із присутніми в жирі вільними жирними кислотами.

Якщо до розчину жовчі або жовчних кислот додати розчин сахарози та суміш підшарувати концентрованою сульфатною кислотою, то на межі двох рідин з'являється червоне кільце. Реакція обумовлена утворенням забарвлених продуктів конденсації жовчних кислот з фурфуролом, який утворюється із сахарози (а саме із фруктози) при дії концентрованої сульфатної кислоти.

Під дією ліпази нейтральний жир гідролітично розщеплюється на гліцерин і жирні кислоти. Лецитин під дією фосфоліпаз панкреатичного та кишкового соку гідролітично розпадається на гліцерин, жирні кислоти,

фосфорну кислоту та холін. Холестериди під впливом ферменту холестеролестерази розпадаються на холестерин і жирну кислоту.

Якщо до молока додати витяжку з панкреатичної залози, яка містить фермент ліпазу, у лужному середовищі (при додаванні соди) у присутності фенолфталеїну до його слабо рожевого забарвлення, то через певний час рожевий колір рідини зникне. Це обумовлене утворенням вільних жирних кислот у результаті розщеплення жиру під дією ліпази. Жирні кислоти нейтралізують доданий луг і викликають знебарвлення фенолфталеїну.

Всмоктування продуктів розщеплення жиру та жироподібних речовин відбувається в кишечнику. Гліцерин добре розчинний у воді та легко всмоктується стінками кишок. Жирні кислоти, навпаки, нерозчинні у воді та всмоктуються лише у вигляді розчинних холеїнових кислот, які являють собою комплексні сполуки жирних кислот з жовчними кислотами. У клітинах слизової оболонки кишечника холеїнові кислоти знову розпадаються на жовчні та жирні кислоти. Останні, з'єднуються із гліцерином і утворюють жир, специфічний для даного організму. Із клітин кишечника жир, який утворився, надходить переважно в лімфатичну систему, частина ж всмоктується безпосередньо в кров (близько 30 %). Жирова емульсія попадає через грудну лімфатичну протоку в русло крові та розноситься по всьому організмі. Далі гліцерин і жирні кислоти окиснюються в тканинах до CO_2 і H_2O , а хімічна енергія, яка при цьому вивільнюється, використовується для виконання різноманітних фізіологічних функцій та підтримки температури тіла.

Практична частина

Дослід 1. Емульгування жиру

У п'ять пробірок внести по 20 крапель: у першу – дистильованої води, у другу – жовчі, розведеної вдвічі, у третю – 1%-го розчину яєчного білка, у четверту – 1%-го розчину мила, у п'яту – 1%-го розчину натрій карбонату. У кожену пробірку додати по 2 краплі рослинного масла та ретельно перемішати. У всіх пробірках крім першої, утворюється стійка емульсія. Пояснити це явище. Результат роботи зафіксувати в табл. 1. Ступінь емульгування позначити знаками «+» і «-». Зробити висновок.

Таблиця 1. Емульгування жирів

	Вода	Жовч	Білок	Мило	Сода
Рослинне масло					

Дослід 2. Реакція на жовчні кислоти (фурфуролова реакція)

В пробірку прилити 10 крапель розведеного (1:2) розчину жовчі, додати 1 краплю 5%-го розчину сахарози й обережно, по стінці пробірки, нахиленої під кутом 45° , долити рівний об'єм концентрованої сульфатної кислоти. На межі двох шарів рідини з'являється червоне кільце. Пояснити спостережене явище. Зробити висновок.

Дослід 3. Ферментативне розщеплення жиру

У дві пробірки налити по 20 крапель кип'яченого молока, розведеного 1:1. В одну пробірку додати 2...3 краплі витяжки з панкреатичної залози, в іншу – 2...3 краплі тієї ж витяжки, але попередньо прокип'яченої й охолодженої. У кожну пробірку додати по 1 краплі фенолфталеїну і декілька крапель 10%-го розчину натрій карбонату до появи слабо рожевого забарвлення однакової інтенсивності. Обидві пробірки помістити у водяну баню на 10...15 хвилин при температурі 38-40 °С. Рідина в пробі з активною ліпазою знебарвлюється, у пробі із прокип'яченою витяжкою залишається без зміни. Результати роботи зафіксувати в табл. 2. Зробити висновок про дію ферменту.

Таблиця 2. Дія ліпази на жири

Фермент (вихідний матеріал)	Субстрат (найменування продукту)	Забарвлення рідини з фенолфталеїном в присутності Na ₂ CO ₃	
		вихідна	кінцева

Зробіть **висновки**

Контрольні запитання та задачі

1. Під дією яких ферментів ШКТ відбувається розщеплення жирів та ліпідів?
2. Напишіть реакцію гідролізу триолеїну.
3. Яка роль жовчних кислот в перетравлюванні ліпідів?
4. Яким шляхом транспортується жир від стінки кишечника до тканин?
5. Які тканини є жировими депо?
6. Навести схему гідролізу тристеарату.
9. У 100 г тріски в середньому міститься 11,6 г білків і 0,3 г жирів. Розрахувати енергію, що виділиться при засвоєнні порції тріски масою 288 г. Калорійність білків 17,1 кДж/г, жирів – 38,8 кДж/г.
10. Яку масу трипальмітину необхідно взяти для добування 0,92 кг гліцерину?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Биохимия: Учеб. для ин-тов физ. культ./ Под ред. В.В. Меньшикова, Н.И. Волкова.- М.: Физкультура и спорт, 1986. – 384 с.
2. Боечко Ф.Ф., Боечко Л.О., Шмиголь І.В., Чепчуренко Н.В. Біохімія (практикум) .Черкаси, 2006.-352.
3. Алейникова Т.Л. Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии: Учебн. пособие/ Под. ред. Е.С.Северина.- М.: Медицина, 2000.-128 с.
4. Гонський Я.П., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини: Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.-744с.
5. Комов В.П. Биохимия: учеб. для вузов/ В.П. Комов, В.Н. Шведов.- 2-е изд. испр.-М.: Дрофа, 2006. - 638с.
6. Боечко Ф.Ф., Боечко Л.А. Біохімія для вчителя: Посібник для вчителя.- К.: Рад. шк., 1985. - 264 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №9

Тема: Якісний аналіз м'язової тканини

Мета: вивчити хімічний склад скелетних м'язів і в'яснити механізм м'язового скорочення.

Обладнання і реактиви: Фарфорові ступки з пестиком, колби, марля, паперові фільтри, скляні палочки, пробірки, дистильована вода, 10% розчин їдкового натру, 2% розчин оцтової кислоти, 5% розчин сірчаної кислоти, насичений розчин пікринової кислоти, реактив Уффельмана, 3% розчин молібденовокислого амонію, 1% розчин хлористого барію, 5% розчин хлористого калію, азотна кислота.

Теоретична частина

М'яз володіє специфічною функцією – скороченням і розслабленням. Характерним для м'язової клітини є те, що вона містить специфічні скорочувальні білки – до 45%. Білки саркоплазми складають біля 30% і білки строми до 15% від загальної кількості білка.

З небілкових речовин до складу м'язів входять азотисті та безазотисті екстрактивні речовини, ліпіди і мінеральні речовини.

З катіонів у м'язах є калій, натрій, кальцій, магній, фтор, у невеликих кількостях мідь, марганець, цинк, кобальт, миш'як та ін. З аніонів – найбільше фосфорної і соляної кислоти. М'язи характеризуються високим вмістом калію, фосфору, сірки.

Різні іони, що є в м'язах, відіграють важливу роль у підтриманні сталості реакцій середовища, осмотичних процесів. Наприклад іони натрію підвищують збудливість м'яза, калію, кальцію, магнію – для процесів скорочення і розслаблення.

На долю м'язової тканини в організмі людини припадає 40-45% ваги всього тіла. Хімічний склад м'язів відрізняється своєю складністю. М'язи містять 72-80% води і 20-28% сухого залишку. Головна складова частина сухого залишку - білки; вони складають від 16,5 до 21% від ваги м'яза.

У м'язі відрізняють:

а) структурні білки (скорочувальні білки фібрил і білки м'язової строми - міостроміни);

б) білки саркоплазми, які представляють собою різні ферменти, що каталізують реакції обміну речовин у м'язі.

До структурних білків перш за все відноситься міозин - скорочувальний білок міофібрил, який володіє ферментативними властивостями аденозинтрифосфатази і каталізує реакцію розщеплення АТФ на АДФ і неорганічний фосфат. Інші структурні білки - актин і міостромін - складають основу м'язової строми і сарколеми (зовнішньої оболонки м'язового волокна). Крім того, актин утворює з міозином скорочувальний комплекс - актоміозин, який скорочується під впливом розщеплення АТФ.

Особливе місце серед м'язових білків займає хромопротеїд міоглобін, близький за своєю структурою до гемоглобіну крові. Причому цей білок здатний приєднувати кисень набагато активніше, ніж гемоглобін. Нагромаджуючи кисень, який приносить кров, він служить у м'язі ніби запасним його резервуаром.

Речовини небілкової природи, які переходять у розчин (екстракт) після осадження м'язових білків, називаються екстрактивними. До них відносяться багаті на енергію азотовмісні речовини: АТФ (основне джерело енергії м'язових скорочень), креатинфосфат (головний резерв макроергічних фосфорних груп, які використовуються для ресинтезу АТФ), а також креатин (використовується для синтезу креатинфосфату), його ангідрид - креатинін, дипептиди: карнозин і ансерин (регулятори процесів гліколітичного і дихального ресинтезу АТФ), трипептид глутатіон (приймає участь в окислювальних процесах), кодегідрогенази (НАД і НАДФ), вільні амінокислоти і ряд інших речовин.

До безазотистих екстрактивних речовин відноситься в першу чергу глікоген - резервний вуглевод м'язів (0,3%). Із м'язового екстракту він може бути легко осаджений за допомогою спирту і виділений у чистому вигляді.

Інші безазотисті екстрактивні речовини складають від 0,5 до 1,1% від ваги м'яза. Це глюкоза, гексозофосфорні ефіри, піровиноградна і молочна кислоти і інші; сюди ж відносяться холестерин і фосфоліпіди, які не розчиняються у воді і можуть бути вилучені із роздріблених м'язів розчинниками жирів. 3

Нарешті м'язи містять порівняно велику кількість мінеральних іонів (І-16,5%). Найбільший вміст K^+ і PO_4^{3-} , трохи менше Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , ще менше Fe^{3+} і SO_4^{2-} .

Всі ці речовини можуть бути виділені із м'яза, виявлені за допомогою специфічних якісних реакцій і визначені кількісно.

Фракційний склад білків скелетних м'язів (в % білкового азоту до загального азоту м'язової тканини).

№ п/п	Білкові фракції	Вміст, (%)	Відношення до розчинника
1.	Білки саркоплазми: - міоген; - білки-ферменти; - міоглобін.	до 30	розчинні у воді розчинний в розчині аміаку
2.	Структурні білки м'язів: - міозин; - актин; - тропоміозин; - тропонін.	до 50	розчинні у сольових розчинах (0,03 - 0,6 М КСІ)
3.	Білки строми Міостромін	до 10	нерозчинні у воді і сольових розчинах (КСІ)

Під впливом тренування у м'язах відбуваються зміни у їх хімічному складі та морфологічній будові.

Під впливом тренування у м'язах підвищується активність тканинних ферментів. Завдяки активації аеробних процесів посилюється синтез речовин необхідних для роботи м'яза: АТФ і креатинфосфату, збільшуються запаси глікогену. Значно прискорюється утворення скорочувальних білків міозину та актину, зростає буферна ємність крові, клітинної саркоплазми, зменшується кількість вільних жирів. Серед усіх біохімічних перетворень у м'язах, пов'язаних з тренуванням, відіграє збільшення в них АТФ, креатинфосфату, ГТФ. ІТФ, що є джерелами енергії для м'язової роботи. Тренування посилює окисно-відновні процеси в м'язах, сприяє перебудові їх обміну в бік посилення аеробних процесів. Треновані м'язи можуть виконувати більш тривалу і напружену роботу при витрачанні менших ресурсів, меншому нагромадженню молочної кислоти.

Підвищення вмісту креатину і креатинфосфату в м'язах при тренуванні зумовлено інтенсивністю синтезу креатину в нирках та печінці. Ріст м'язової тканини, збільшення її маси залежить від збільшення кількості води і мінеральних речовин у них, а це в свою чергу пов'язано із загальною динамікою водно-сольового обміну.

Підвищення процесів біосинтезу білків веде до морфологічних змін у м'язовому волокні: потовщення міофібрил, збільшення нервових контактів з сарколемою, збільшення кількості мітохондрій, збільшення буферної ємності клітин, завдяки чому підвищується аеробні енергетичні можливості м'язів.

Особливості біохімічних змін у м'язах певною мірою залежать від характеру тренувань. При тренуванні на швидкі та короткочасні навантаження м'язи працюють за рахунок алактатного (креатинкіназного) чи лактатного гліколітичного енергозабезпечення. При тренуванні на тривалі навантаження м'язами використовується енергія аеробного обміну.

Практична частина

Дослід 1. Якісне дослідження м'язових білків.

Підготовка матеріалу для дослідження: м'яз звільнити від жиру і сполучної тканини і добре подрібнити ножицями. 6-8 г подрібненої кашки помістити у фарфорову ступку, залити 30 мл дистильованої води і старанно розтерти товкачиком. Через 10 хв. рідину профільтрувати через подвійний шар марлі в колбу.

М'язову кашку, яка залишилася після фільтрування перенести з марлевого фільтра в фарфорову ступку, залити 10-12 мл 5% розчину хлористого калію, впродовж 2-3 хв. розтирати і профільтрувати через паперовий фільтр в іншу колбу.

Одержані екстракти (водний і сольовий) використати для виконання лабораторних робіт.

Дослід 2. Вивчення білкових фракцій м'язової тканини.

а) Білки м'язової плазми.

В пробірку налити 2 мл водного екстракту і провести біуретову реакцію (до досліджуваної рідини додати 2 мл 10% розчину їдконого натру і 2-3 краплі 2% розчину сірчаної кислоти).

Результати:

б) Структурні білки м'язів.

В пробірку налити 2 мл сольового екстракту і провести біуретову реакцію.

Дослід 3. Якісне визначення деяких екстрактивних і мінеральних речовин м'язів.

Одержання безбілкового екстракту: 15 мл водного екстракту підкислити 5 краплями 10% розчину оцтової кислоти і нагріти до кипіння для осадження білків. Після цього рідину профільтрувати через паперовий фільтру велику пробірку. В одержаному безбілковому фільтраті відкрити екстрактивні речовини і мінеральні солі.

а) Відкриття креатину і креатиніну.

У дві пробірки налити по 1 мл одержаного безбілкового екстракту. В перу додати 1 мл 5% розчину сірчаної кислоти і нагрівати впродовж 10 хв. у киплячій водяній бані, після чого рідину профільтрувати і обережно нейтралізувати (за лакмусом) 10% розчином їдконого натру. Потім в дві пробірки налити по 3 мл 10% їдконого натру і по 5-8 крапель насиченого розчину пікринової кислоти. В обох пробірках появляється оранжево-червоне забарвлення, причому більш інтенсивне у 1-ій пробірці.

Креатин, який знаходиться у фільтраті першої пробірки, при нагріванні з кислотою перетворюється в креатинін, що призводить до його збільшення у фільтраті.

В 2-ій пробірці перехід креатину в креатинін не відбувається. Креатинін, взаємодіючи з енольною формою пікринової кислоти, утворює пікрат 7 креатиніну, який в лужному середовищі перетворюється в свою таутомерну форму, яка має оранжево-червоне забарвлення. В кислому середовищі реакція проходить у протилежному напрямку і забарвлення зникає.

б) Відкриття молочної кислоти.

При взаємодії молочної кислоти з реактивом Уффельмана (100 мл 2% розчину фенолу + 10 крапель хлористого заліза) виникає зелено-жовте забарвлення внаслідок утворення молочнокислого заліза.

В пробірку калити 1 мл реактиву Уффельмана і додати по краплях водний безбілковий фільтрат - фіолетове забарвлення реактиву переходить у зелено-жовте.

Результат:

в) Відкриття мінеральних речовин м'язової тканини.

У дві пробірки налити по 1 мл безбілкового водного екстракту відкрити у 1-ій із них фосфати (нагріваючи з декількома (5-6 кр.) азотної кислоти і 2 мл 3% розчину молібденовокислого амонію) і в 2-ій сульфати (додати 2 мл 1% розчину хлористого барію).

Сформулюйте **висновок**

Контрольні запитання:

1. За рахунок посиленого синтезу яких речовин проходить робоча гіпертрофія м'язів.
2. Перелічити:
 - а) фосфоровмісні речовини м'язів;
 - б) вуглеводи;
 - в) макроергічні сполуки м'язів.
3. Роль іонів Ca^{2+} і Mg^{2+} в процесах м'язового скорочення.
4. Чи потрібна енергія при розслабленні м'язів. Якщо так, то навіщо?
5. Назвіть м'язовий білок, який володіє ферментативною здатністю.
6. Назвіть суттєві відмінності гіпотез Девіса і Хакслі. На які макроергічні сполуки особливо багатий м'яз?

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Биохимия: Учеб. для ин-тов физ. культ./ Под ред. В.В. Меньшикова, Н.И. Волкова.- М.: Физкультура и спорт, 1986. – 384 с.
2. Боечко Ф.Ф., Боечко Л.О., Шмиголь І.В., Чепчуренко Н.В. Біохімія (практикум) .Черкаси, 2006.-352.
3. Алейникова Т.Л. Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Руководство к практическим занятиям по биохимии: Учебн. пособие/ Под. ред. Е.С.Северина.- М.: Медицина, 2000.-128 с.
4. Гонський Я.П., Максимчук Т.П., Калинський М.І. Біохімія людини: Підручник. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2002.-744с.
5. Комов В.П. Биохимия: учеб. для вузов/ В.П. Комов, В.Н. Шведов.- 2-е изд. испр.-М.: Дрофа, 2006. - 638с.
6. Боечко Ф.Ф., Боечко Л.А. Біохімія для вчителя: Посібник для вчителя.- К.: Рад. шк., 1985. - 264 с.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 10

Тема: Методи біохімічного контролю у спорті. Особливості біохімічних змін в різних видах спорту.

Мета: Закріпити теоретичні матеріали по розділу «Біохімія фізичних вправ» на прикладі встановлення змін показнику рН слини в залежності від різного рівня фізичного навантаження

Обладнання і реактиви: дистильована вода, хімічний стакан, циліндр, фільтрувальна папір, індикаторний папір, рН-метр, або апарат Міхаеліса, розчин їдкою натру в різній концентрації, центрифужні пробірки, центрифуга.

Теоретична частина

Будь яка м'язова діяльність, в тому числі зв'язана із спортивними навантаженнями, призводить до відчутного посилення споживання АТФ в м'язах та зростання загальної потреби організму в кисню, який інтенсивно витрачається на окислення макроергичних сполук. Особливо інтенсивно витрачається АТФ і кисень при максимальних рівнях фізичного навантаження та при вправах на витривалість. При цьому організм не встигає ефективно витратити енергію АТФ, тому продукти розпаду АТФ, які містять ще досить значну кількість макроергичних зв'язків, у великій кількості виділяються з сечею і втрачаються для організму. Загальна ефективність енерговитрат в таких випадках не перевершує 30-35% потенціальної енергії макроергичних сполук.

Виконання фізичних вправ середнього рівня потужності при стабільній працездатності м'язів і адекватному забезпеченні цих процесів киснем сприяє більш економному витрачання енергомістких сполук. Вказана економність забезпечена процесами зворотного синтезу (ресинтезу) АТФ і АДФ із менш енергоємних продуктів їх розпаду. Відновлення останніх в енергетичному плані для організму є набагато більш вигідним, ніж самостійна побудова макроергичних сполук в процесі окислення глюкози. Тому постійне зворотне синтезування АТФ із продуктів його розпаду дозволяє організму використовувати до 90-97% енергії зв'язків макроергичних сполук (із якої до 55-60% ви водиться у вигляді теплової енергії). На відновлення креатинфосфату, АМФ і АДФ до найвищого рівня енергонасиченості енергоносія – АТФ, потрібна відносно велика кількість кисню, тому оптимальні умови для відновлення запасів АТФ мають місце в період відпочинку та під час початкових вправ з стабільно низьким м'язовим навантаженням. Відповідно, зростання потреби організму в кисні під навантаженням частково пов'язане також і з інтенсифікацією усіх окислювальних процесів, в тому числі і процесів, що забезпечують ресинтез безперервно витрачаємої АТФ.

Найбільш швидким шляхом ресинтезу АТФ є реакція перефосфоритування між АТФ і креатинфосфатом, але можливості цього шляху обмежені із-за загального невеликого вмісту креатинфосфату в м'язах. Якби на ресинтез АТФ витрачався тільки креатинфосфат, то всієї маси цієї речовини в м'язах хватило б лише на 2-3 секунди роботи максимальної інтенсивності.

Самим ефективним шляхом ресинтезу АТФ є шлях дихального фосфоритування, тобто генерування АТФ в ході аеробного окислення різних субстратів. В той же час, для рівномірного протікання вказаного процесу необхідно співвідношення між потребами організму в кисні і фактичним його споживанням. При виконанні більшості спортивних навантажень фактичне споживання кисню є набагато нижчим за потребу в кисні, так, при забігу на 100 м потреба у кисні складає близько 7 л, а фактично споживається не більше 0,5 л. При забігу на 400 м киснева потреба сягає 11-13 л, а фактичне споживання не перевершує 3 л, при забігу на 10 км різниця між потребою і споживанням кисню дещо вирівнюється і складає майже половину (150 л потреби при 125 л споживання).

У вказаних умовах суттєва роль в енергозабезпеченні м'язової роботи належить процесам анаеробного гліколізу (анаеробного розпаду вуглеводів), яке закінчується утворенням молочної кислоти, яка вже після припинення інтенсивної м'язової роботи піддається частковому ресинтезу в глікоген, а залишкові об'єми її піддаються подальшому окисленню до CO₂ і води. Тому чим вища інтенсивність м'язової роботи, тим вищою є і інтенсивність гліколізу. Відповідно, при виконанні короточасних фізичних вправ максимальної і субмаксимальної потужності організм використовує в якості субстрату окислення переважно вуглеводи, а при більш тривалих, але менш інтенсивних навантаженнях – ліпіди і продукти їх розпаду (жирні кислоти та кетонові тіла). В період відпочинку ця група речовин також виступає в якості основного субстрату окислювальних реакцій, що поставляють енергію в формі АТФ, необхідну для ресинтезу креатинфосфату, глікогену, білків, тощо.

Використання при м'язовій діяльності в якості джерела енергії вуглеводів та ліпідів знаходиться в реципрокних відносинах, тобто збільшення потреби у вуглеводах супроводжується зменшенням використання ліпідів і навпаки. При високому рівні цукру в крові, вміст в ній ліпідів (вільних жирних кислот) є незначним, але при низькому рівні цукру вміст останніх зростає. Інтенсивна мобілізація цукру пригнічує ліполіз і вивільнення вільних жирних кислот із резервного жиру, тоді як зростання ліполізу різко пригнічує процес глікогенолізу в печінці.

Приблизно такі ж самі співвідношення процесів мають місце в крові між рівнем молочної кислоти і кількістю кетонових тіл. При високому рівні молочної кислоти вміст кетонових тіл звичайно не перевершує їх вміст в стані спокою, але при низьких рівнях молочної кислоти під час виконання вправ на витривалість (або в період відпочинку) вміст кетонових тіл в крові

зростає. Останнє свідчить про посилене окислення жирних кислот і перехід організму з вуглеводних на ліпідні джерела енергії.

Навантаження високої інтенсивності, які супроводжуються активним гліколізом. А відповідно і різким зростанням рівня молочної кислоти в крові. призводять до зменшення лужного резерву крові. Але, в зв'язку з тим, що буферність крові досить велика, суттєвих змін рН крові звичайно не відбувається, ацидоз лишається компенсованим. Інша ситуація при цьому спостерігається в інших біологічних рідинах (сеча, слина), які володіють набагато меншою буферністю, ніж кров. Відповідно, показник рН в них зміщується в кислу сторону і це є прямим показником реакції організму на фізичне навантаження. Визначення рН слини та сечі в стані спокою та в стані інтенсивного навантаження дозволяє створити певну таблицю їх залежності, орієнтовану на рівень м'язової роботи і відповідних змін в організмі.

Практична частина

Дослід 1. Вплив фізичних навантажень різного характеру на активну реакцію слини.

Дослід демонструє зміни в рівні активної реакції слини (рН) та її динаміку в залежності від рівня фізичного навантаження на досліджуваний організм.

Хід роботи:

Двом, або чотирьом студентам, які не піддавались попереднім фізичним навантаженням, пропонують встановити рН слини. Для цього полощуть ротову порожнину водою, потім беруть по 20 мл дистильованої води і утримують 2 хвилини. Потім воду з екстрактом слини зливають в стакан, фільтрують і виливають в пробірки, помічені ініціалами обстежених студентів.

Половині досліджуваних студентів пропонують фізичне навантаження з максимальною інтенсивністю протягом 30 секунд – швидкий біг на місці.

Другій половині піддослідних студентів пропонується фізичне навантаження помірною рівня – біг на місці протягом 3-х хвилин. Після цього знову беруть проби слини, фільтрують і наливають у числі пробірки з аналогічними ініціалами. За допомогою рН-метра, або компаратора Міхаеліса, або за допомогою індикаторного паперу та кольорової шкали рН визначають рН слини (з точністю до 0,2 одиниці рН) до навантаження і після навантаження. Отримані результати записують, порівнюють між собою і пояснюють (таблиця 1).

Таблиця для визначення зміни показників рН

№	Досліджувана слина	Вид фізичного навантаження	рН слини			
			Приблизно	Контроль	Точно	Контроль
1	До фізичного навантаження,					

	група 1 Проба № Проба №					
	група №2 Проба 1 Проба 2					
2	Після фізичного навантаження, група №1 Проба 1 Проба 2					
	група №2 Проба 1 проба 2					

Дослід 2. Вплив фізичних навантажень різного характеру на вміст в крові цукру, вільних жирних кислот, молочної кислоти і активності каталази.

Дослід демонструє певні взаємозалежності вмісту вказаних органічних сполук в крові людей при різних рівнях фізичного навантаження.

Хід роботи:

Звичайно протягом заняття практично неможливо виконати всі дослідження по 4 параметрам, тому краще поділити групу на 4 підгрупи, в кожній із яких виконується дослідження на цукор, молочну кислоту, кетонів тіла, активність каталази. В кожній підгрупі відбирають по 2 студенти, у яких із пальця беруть проби крові по 0,1мл в пробірку з 1 мл 0,1н розчином їдкою натру (для визначення цукру); 0,1 мл в центрифужну пробірку з 1 мл дистильованої води для визначення молочної кислоти); 0,5-0,7 мл в дрібні вузькі центрифужні пробірки (для відділення сироватки та наступного визначення вільних жирних кислот); 0,1 мл в мірну колбу на 100 мл, де знаходиться 10 мл дистильованої води (для визначення каталази). Всі пробірки помічають ініціалами досліджуваних студентів і цифрою 1 (стан покою). Потім першій половині досліджуваних студентів надають фізичні навантаження високої інтенсивності протягом 30 секунд (біг на 200 метрів), а другій половині – фізичні навантаження середньої інтенсивності (біг на місці) протягом 10 хвилин. Відразу після припинення вправ із пальця знову відбирають проби крові на відповідні параметри.

Відібрані проби крові в стані спокою та після навантаження піддають дослідженням за узгодженими методиками на молочну кислоту, каталазу, вільні жирні кислоти, рівень цукру. Отримані результати записують, порівнюють і пояснюють.

Контрольні питання:

1. Коли вміст у крові вільних жирних кислот буде більшим – після бігу на 5000 м, або після 30 хвилин кросу?
2. При спортивних іграх рівень цукру в крові особливо різко зростає. Чи можливо сказати теж саме про вміст у крові вільних жирних кислот?
3. Коли рівень молочної кислоти зростає в більшій мірі – при виконанні темпових вправ зі штангою, або при повільному виконанні жиму?
4. Чи можливо очікувати збільшення рівня кетонових тіл в крові після лижних гонок на 30 км? Дайте обґрунтовану відповідь.
5. Що може слугувати причиною зменшення вмісту цукру у крові при виконанні короткочасних спортивних навантажень максимальної і субмаксимальної інтенсивності? Дайте обґрунтовану відповідь.

Рекомендована література:

1. Биохимия: Учебное пособие для институтов физической культуры/ Под ред. В.В.Меньшикова, Н.И.Волкова. – М.: Физкультура и спорт. – 1986. – 503 с.
2. Волков Н. И. и др. Биохимия мышечной деятельности. – К.: Олимпийский спорт. – 2000. – 503 с.
3. Михайлов С. С. Спортивная биохимия. – М.: Советский спорт. – 2006. – 260 с.
4. Яковлев Н.Н. Биохимия спорта. – М.: Физкультура и спорт. – 1974. – 288 с.
5. Боечко Ф.Ф. Біологічна хімія. – К.: Вища школа. – 1995. – 536 с.
6. Буховец С.В. Упражнения по биологической химии: Учебное пособие. – М.: Просвещение. – 1969. – 310 с.
7. Вишневецька Л.В. Навчально-методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт з біохімії та біохімії спорту (для студентів факультету фізичного виховання та спорту). – Херсон: Видавництво ХДУ. – 2004. – 54 с.
8. Копильчук Г.П., Волощук М.М. Біохімія. – Чернівці: Рута. – 2004. – 224 с.
9. Кучеренко Н.Е. Биохимия: Практикум. – К.: Вища школа. – 1998. – 104 с.
10. Строев Е.А., Макарова В.Г. Практикум по биологической химии: Учебное пособие. – М.: Высшая школа. – 1986. – 174 с.
11. Пустовалова Л.М. Практикум по биохимии – Ростов-на-Дону: Феникс. – 1999. – 544 с.
12. Филиппович Ю.Б. и др. Практикум по общей биохимии: Учебное пособие. – М.: Просвещение. – 1975. – 311 с.
13. Шевряков М.В., Яковенко Б.В., Явоненко О.Ф. Практикум з біологічної
14. www.fizkult-ura.com
15. www.sport-health.com.ua
16. www.biology.com.ua