

Лабораторне заняття №8 **ПЕРЕТРАВЛЕННЯ ЛІПІДІВ ТА ЇХ ОБМІН (СЕМІНАР)**

Мета заняття: узагальнити особливості перетравлення ліпідів у шлунково-кишковому тракті та їх обміну в організмі людини.

Перед початком лабораторного заняття вдома виконати **≠ домашнє письмове завдання:** скласти **схему метаболізму ліпідів** на окремому аркуші, що включає: перетравлення ліпідів у шлунково-кишковому тракті; β -окиснення вищих жирних кислот; окиснення гліцеролу; синтез холестеролу.

Для засвоєння теоретичного матеріалу необхідно відповісти на **? питання самоконтролю:**

1. Хід роботи проведення досліду, щодо дії фосфоліпази підшлункової залози на гліцерофосфоліпіди яєчного жовтка.
2. Практичне значення роботи щодо визначення концентрації холестеролу в крові та сечі.
3. Основний хід роботи проведення досліду, щодо визначення концентрації холестеролу в біологічних рідинах за методом Ілька.
4. Розрахунок концентрації холестеролу. Норма та контроль якості.
5. Перетравлення ліпідів у шлунково-кишковому тракті. Роль жовчі в перетравленні жирів. Усмоктування та транспорт ліпідів.
6. Гідроліз триацилгліцеролів (загальна схема гідролізу, схема гідролізу пальмітостеариноолеїнату).
7. β -Окиснення жирних кислот: реакції, ферменти. Енергетичний ефект окиснення пальмітинової кислоти.
8. Окиснення гліцеролу: реакції, ферменти.
9. Зв'язок між обміном білків, вуглеводів та ліпідів. Наведіть приклади реакцій.

Лабораторна робота № 5 **ДЛЯ ФОСФОЛІПАЗ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ** **НА ГЛІЦЕРОФОСФОЛІПІДИ ЯЄЧНОГО ЖОВТКА**

Мета роботи: дослідити дію фосфоліпази підшлункової залози на гліцерофосфоліпіди яєчного жовтка на моделі *in vitro*.

Практичне значення роботи: у ході лабораторного дослідження виявити дію фосфоліпази підшлункової залози на гліцерофосфоліпіди яєчного жовтка.

Матеріали та реактиви: штатив для пробірок, пробірки, водяна баня або термостат, суспензія яєчного жовтка, панкреатин, дистильована вода, молібденовий реагент.

Хід роботи

У дві пробірки додають по 5 крапель суспензії яєчного жовтка.

У *першу* пробірку (дослідну) додають 2 краплі панкреатину, а в *другу* пробірку (контрольну) – 2 краплі води.

Обидві пробірки поміщають у термостат при температурі 38°C на 30 хвилин.

Після інкубації в обидві пробірки наливають по 5 крапель молібденового реактиву, нагрівають їх на полум'ї пальника та охолоджують водою під краном.

Спостерігають появу жовтого забарвлення, що свідчить про наявність залишку фосфорної кислоти у структурі фосфоліпідів.

За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.

Лабораторна робота № 6

ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ЗАГАЛЬНОГО ХОЛЕСТЕРОЛУ В БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ ЗА МЕТОДОМ ІЛЬКА

Мета роботи: засвоїти метод визначення концентрації холестеролу в біологічних рідинах за методом Ілька.

Практичне значення роботи: найчастіше показником ліпідного обміну є концентрація холестеролу, який може накопичуватися в крові.

Підвищення концентрації холестеролу спостерігається при атеросклерозі, цукровому діабеті, вроджених порушеннях обміну, захворюваннях печінки.

Матеріал: сироватка.

Реактиви: реагент на холестерол (карбонівий ангідрид – 75-85%, оцтова кислота –15-25%), калібрувальний розчин холестеролу (4,665±0,2328 ммоль/л), концентрована сульфатна кислота, дистильована вода, фізіологічний розчин (0,9%-й розчин натрій хлориду).

Приготування робочих розчинів.

Робочий розчин. Вміст флакона з реактивом на холестерол перенести в термостійку колбу на 200 мл та поступово додати при охолодженні холодною водою та перемішуванні 9 мл сульфатної кислоти із флакона. Отриманий реактив має бути *безбарвним* або *блідо-жовтим*. Зберігається він протягом одного тижня у холодильнику в склянці з темного скла з добре притертою скляною пробкою. Непридатним для використання реактив стає в разі набуття жовтого забарвлення.

Калібрувальний розчин холестеролу – придатний до використання.

Після відкриття ампули реактив зберігають у холодильнику в посуді з добре притертою скляною або пластмасовою пробкою. При зберіганні в герметичній ємності розчин стійкий. Концентрація холестеролу в розчині становить 4,665±0,2328 ммоль/л або 1,8±0,09 мг/мл.

Хід роботи

Аналіз проводиться згідно зі схемою, поданою в таблиці 8.

Принцип методу: холестерол у присутності карбонового ангідриду та суміші оцтової та сульфатної кислот утворює комплекс *зеленого кольору*, що визначається фотометрично при довжині хвилі 590-630 нм.

Таблиця 8

Робоча схема проведення досліду з визначення концентрації холестеролу в біологічних рідинах за методом Ілька

Робочий розчин (мл)	Фізіологічний розчин (мл)	Калібрувальний розчин холестеролу (мл)	Матеріал, що аналізується (мл)	Показники оптичної щільності	
				Е калібрувальної проби	Е дослідної проби
Холоста проба (контрольна проба)					
4,30	0,1	–	–	–	–
Калібрувальна проба					
4,30	–	0,1	–	–	–
Дослідна проба (1, 2, 3, ... 10)*					
4,30	–	–	0,1	–	–

Примітка. * – кількість дослідних проб має коливатися від 3-х до 10-и відповідно до достовірності результатів; мінімум 1, 2, 3.

Окремо холосту пробу (контрольну пробу), калібрувальну та дослідну струшують 10-12 разів і витримують у термостаті при температурі +37⁰С протягом 20 хвилин. Забарвлення стійке протягом 20 хвилин.

Проти холостої проби вимірюють оптичну щільність калібрувальної проби (Е калібрувальної проби) та дослідної проби (Е дослідної проби).

Розрахунок концентрації холестеролу (С, ммоль/л) проводять за формулою:

$$C = 4,665 \cdot E \text{ дослідної проби} / E \text{ калібрувальної проби} ,$$

де 4,665 – концентрація холестеролу в калібрувальному розчині, ммоль/л;

Е дослідної проби – оптична щільність дослідної проби;

Е калібрувальної проби – оптична щільність калібрувальної проби.

Контроль якості: достовірність одержаних результатів контролюють за допомогою атестованих контрольних сироваток «Ліонорм» (Чехія).

У нормі концентрація холестеролу в сироватці венозної крові становить 3,08-5,18 ммоль/л (у осіб віком 15-19 років); 3,16-5,59 ммоль/л (у осіб віком 20-24 років).

За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.