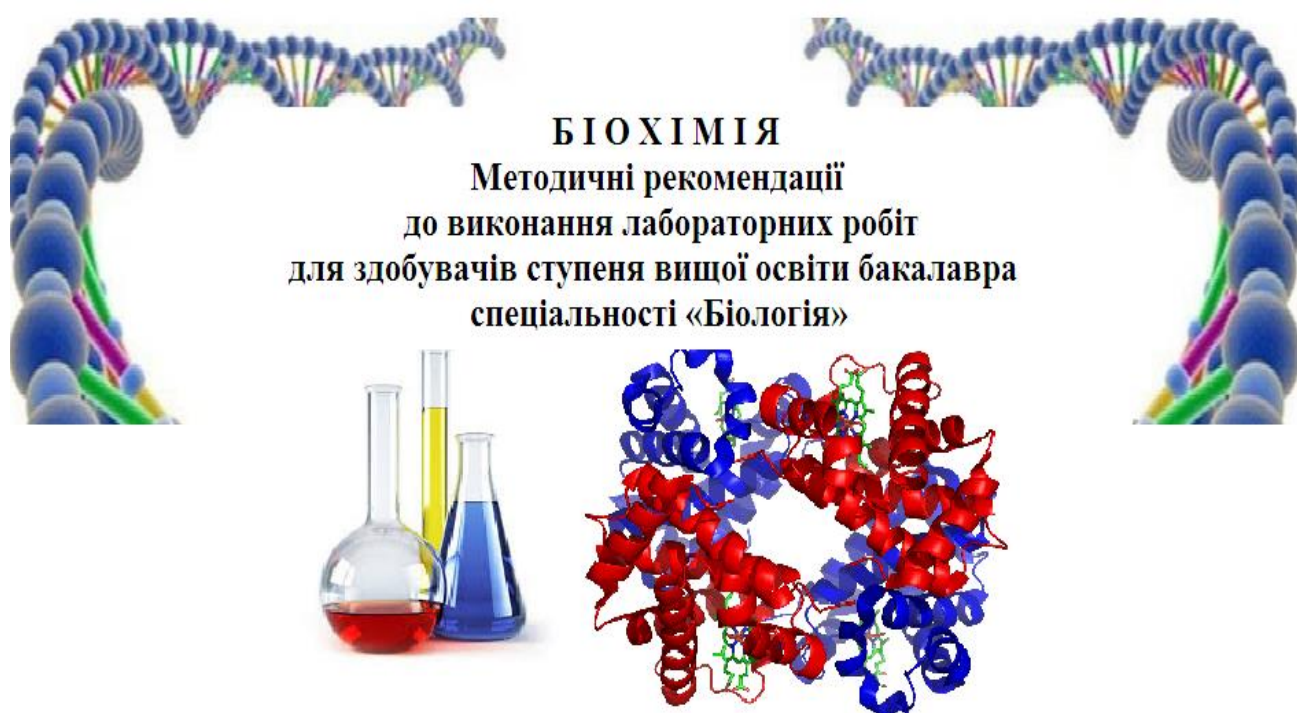


**Міністерство освіти і науки України  
Запорізький національний університет**

**Л.О. Омелянчик, В.І. Генчева, Н.В. Новосад**



**Запоріжжя  
2018**

**Міністерство освіти і науки України  
Запорізький національний університет**

**Л.О. Омелянчик, В.І. Генчева, Н.В. Новосад**

## **БІОХІМІЯ**

Методичні рекомендації  
до виконання лабораторних робіт  
для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра  
спеціальності «Біологія»  
освітньо-професійної програми «Біологія»  
денної та заочної форм навчання

Затверджено  
вченою радою ЗНУ  
Протокол №9 від 27.03.2018 р.

**Запоріжжя  
2018**

УДК 577.1(076.5)

О – 572

Омельянчик Л.О. Біохімія: методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Біологія» освітньо-професійної програми «Біологія» денної та заочної форм навчання / Л.О. Омельянчик, В.І. Генчева, Н.В. Новосад. – Запоріжжя : Запорізький національний університет, 2018. – 60 с.

У виданні відповідно до робочої програми дисципліни «Біохімія» подано зміст п'ятнадцяти лабораторних робіт (тематику, перелік матеріалів та реактивів, принципи біохімічних реакцій, методику проведення дослідів у їх логічній послідовності) із зазначенням їх практичного значення. Викладено правила техніки безпеки, дотримання яких є обов'язковим під час роботи у хімічній лабораторії. Описано способи приготування окремих реактивів. Рекомендовано основну та додаткову літературу для опрацювання. Пояснення та інструкції до виконання лабораторних робіт проілюстровано достатньою кількістю рисунків, графіків і формул.

Для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Біологія» освітньо-професійної програми «Біологія» денної та заочної форм навчання.

Рецензент

*І.Б. Лабенська*, канд. біол. наук, доцент кафедри хімії

Відповідальний за випуск

*О.А. Бражко*, д-р біол. наук, проф., завідувач кафедри хімії

## ЗМІСТ

Передмова.....	4
Техніка безпеки під час роботи у хімічній лабораторії.....	6
Особливості роботи з автоматичними піпетками.....	9
Особливості роботи з фотоколориметром (КФК-2).....	12
<b>Лабораторна робота №1.</b> Якісні реакції на амінокислоти та білки.....	16
<b>Лабораторна робота №2.</b> Властивості білків.....	21
<b>Лабораторна робота №3.</b> Кількісне визначення загального білка в сироватці крові за допомогою біуретового реактиву.....	24
<b>Лабораторна робота №4.</b> Реакції з моносахаридами, дисахаридами та полісахаридами.....	26
<b>Лабораторна робота №5.</b> Реакції на жири та жироподібні речовини.....	29
<b>Лабораторна робота №6.</b> Реакції на складові компоненти нуклеопротейдів дріжджів.....	32
<b>Лабораторна робота №7.</b> Загальні властивості ферментів.....	34
<b>Лабораторна робота №8.</b> Якісні реакції на водорозчинні та жиророзчинні вітаміни.....	40
<b>Лабораторна робота №9.</b> Якісні реакції на гормони.....	43
<b>Лабораторна робота №10.</b> Визначення концентрації глюкози в біологічних рідинах глюкозооксидазним методом.....	46
<b>Лабораторна робота №11.</b> Визначення молочної кислоти в біологічному матеріалі.....	47
<b>Лабораторна робота №12.</b> Перетравлення білків у шлунково-кишковому тракті.....	48
<b>Лабораторна робота №13.</b> Визначення сечовини в біологічних рідинах діацетилмонооксимним методом.....	50
<b>Лабораторна робота №14.</b> Дія фосфоліпаз підшлункової залози на гліцерофосфоліпиди яєчного жовтка.....	52
<b>Лабораторна робота №15.</b> Визначення концентрації загального холестеролу в біологічних рідинах (за методом Ілька).....	52
Індивідуальне практичне завдання для студентів заочної форми навчання....	56
Способи приготування реактивів.....	58
Рекомендована література.....	59

## ПЕРЕДМОВА

*«Біологічна хімія – це той фундамент, на якому ґрунтується наше уявлення про живу природу, про її вражаючу доцільність і єдність законів, це той матеріалістичний принцип, що допомагає нам зрозуміти сутність, могутність і красу явищ, завдяки яким існує найвеличніше на Землі життя».*

*Ю. Овчинников*

**Біохімія**, біологічна хімія (грец. *bios* – життя + *chemia* – хімія) – це наука, яка вивчає хімічний склад живої матерії, хімічні процеси, що відбуваються в живих організмах і лежать в основі їх життєдіяльності. Сучасна біохімія вивчає будову біологічно важливих речовин з точки зору виконуваних ними функцій, їх хімічні перетворення, процеси, що відбуваються в живих організмах на молекулярному рівні. Біохімію ще називають наукою про молекулярну логіку живого. Останніми десятиліттями простежується посилення біохімічного підходу до вирішення багатьох нагальних проблем. Успіхи біохімії є фундаментом для розвитку медицини, фармакології, мікробіології, вірусології, сільського господарства та становлення таких галузей науки, як генетична і клітинна інженерія, біотехнологія.

**Метою вивчення навчальної дисципліни «Біохімія»** є набуття студентами уявлення про хімічну будову макромолекул (біополімерів) у клітинах живих організмів, засвоєння їх фізико-хімічних властивостей та біологічної ролі, усвідомлення сутності процесів вуглеводного, білкового й ліпідного обміну в організмі людини.

**Основним завданням вивчення навчальної дисципліни «Біохімія»** є засвоєння теоретичних основ статичної та динамічної біохімії і набуття навичок практичного застосування знань.

**Очікувані результати навчання (компетентності)**, яких має досягти студент згідно з вимогами освітньо-професійної програми:

- здатність оперувати науковими знаннями про основні субклітинні компоненти (амінокислоти, білки, вуглеводи, ліпіди, нуклеїнові кислоти, ферменти, вітаміни, гормони);
- здатність встановлювати взаємозв'язок між структурою біополімерів та їх функцією;
- здатність виявляти властивості біологічно активних речовин (ферментів, вітамінів, гормонів);
- здатність проводити якісні реакції на амінокислоти, моносахариди, полісахариди, на складові компоненти ліпідів, нуклеїнових кислот;
- здатність проводити взаємозв'язок структури біополімерів і функцією цих речовин;
- здатність оперувати науковими знаннями про хімічні реакції та процеси, які лежать в основі анаболізму та катаболізму речовин;
- здатність застосовувати набуті знання для постановки та проведення експериментальних досліджень;

- здатність проводити експерименти в межах лабораторного практикуму зі статичної та динамічної біохімії;
- здатність зіставляти дані біохімічних досліджень з теоретичними положеннями;
- здатність вільно користуватися біохімічною мовою;
- здатність критично аналізувати довідкову, навчальну й наукову літературу, самостійно знаходити джерела інформації;
- готовність до майбутньої професійної діяльності, до успішного застосування засвоєних знань.

У результаті вивчення дисципліни студент повинен засвоїти основні поняття біохімії; отримати міцні та ґрунтовні знання про склад, хімічну будову, властивості та функції амінокислот, білків, вуглеводів, ліпідів, нуклеїнових кислот, ферментів, вітамінів, гормонів; усвідомити сутність біохімічних процесів і механізми перебігу біохімічних реакцій; оволодіти методикою проведення біохімічних лабораторних досліджень; поглибити навички роботи з хімічними реактивами, посудом та обладнанням; розвинути логічне мислення, вміння аналізувати, робити аргументовані висновки й узагальнювати результати проведених досліджень.

Базовими для успішного засвоєння курсу «Біохімія» є знання, отримані студентами в результаті вивчення таких дисциплін, як «Неорганічна хімія», «Аналітична хімія», «Органічна хімія», «Біоорганічна хімія».

Своєю чергою біохімія є основою для вивчення низки професійно-орієнтованих дисциплін, як-от: «Фізіологія та біохімія рослин», «Біохімія лікарських рослин», «Молекулярна біологія» і спецкурсу «Біохімія вітамінів, гормонів та цитокінів».

Запропоноване авторами навчально-методичне видання сприятиме засвоєнню основ статичної та динамічної хімії, підготовці до лабораторних робіт та успішному проведенню дослідів. Поданий матеріал систематизований і чітко структурований: зміст лабораторних робіт з інструкціями до проведення дослідів та оформлення звітів, завдання для домашнього виконання. Описуються способи приготування окремих реактивів.

Обов'язковою умовою допуску студента до виконання завдань лабораторного практикуму є ознайомлення з вимогами техніки безпеки, правилами роботи в біохімічній лабораторії (проходження інструктажу засвідчується підписом у журналі). Лабораторне заняття складається з двох частин: перша частина – теоретична – спрямована на актуалізацію знань і перевірку готовності до виконання завдань лабораторної роботи, друга частина – експериментальна – передбачає виконання дослідів лабораторної роботи й оформлення звіту у вигляді таблиці. Лабораторні заняття спрямовані на закріплення та поглиблення теоретичних знань, набуття вмінь, навичок і практичного досвіду, необхідних студентам для успішного здійснення професійної діяльності в майбутньому.

Кожна лабораторна робота має бути запротокольована в робочому зошиті. Записи необхідно вести за такою схемою: дата виконання лабораторної роботи, назва теми, короткий опис дослідів, основні механізми реакції, результати спостережень у вигляді таблиці та висновки.

Лабораторна робота оформлюється студентом в аудиторний час і надається викладачеві для перевірки наприкінці заняття.

## ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ ПІД ЧАС РОБОТИ У ХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

Студенти допускаються до роботи в хімічній лабораторії тільки в захисному одязі – халаті.

Сумки та особисті речі потрібно залишити у відведеному для цього місці.

Під час виконання лабораторних робіт студентам необхідно бути максимально уважними і чітко дотримуватися методики виконання дослідів.

З реактивами слід працювати тільки на робочих столах, з концентрованими кислотами, лугами й леткими речовинами – у витяжній шафі, звідки їх категорично забороняється переносити.

Перш ніж використовувати реактиви, необхідно уважно ознайомитися з інформацією на етикетці.

Для досліду слід брати речовини в кількостях, вказаних в інструкціях до лабораторної роботи.

Сухі реактиви потрібно брати чистим шпателем або спеціальною ложечкою; розчини наливати в пробірки в невеликих кількостях (по краплях).

При нагріванні колби чи хімічного посуду на електричній плитці необхідно покласти товстий шар азбестової сітки.

Досліди з легкозаймистими речовинами слід проводити дуже обережно й подалі від вогню.

Під час нагрівання розчинів у пробірках слід використовувати тримачі із зажимами. Пробірку з рідиною при нагріванні необхідно тримати в нахиленому положенні так, щоб її отвір був спрямований в протилежний бік від себе та своїх сусідів.

Завжди потрібно наливати кислоту у воду, а не навпаки.

Працювати з їдкими лугами й концентрованими кислотами слід дуже обережно, уникаючи хімічних опіків і псування одягу.

Залишки концентрованих кислот, основ, солей важких металів, цінних реактивів (наприклад, аргентум нітрат) необхідно зливати тільки в спеціально відведені для цього склянки.

Під час роботи забороняється відволікати увагу тих, хто працює.

Після закінчення роботи всі електронагрівальні прилади слід вимкнути та прибрати своє робоче місце.

У разі виникнення пожежі потрібно використовувати для її гасіння вогнегасники, щільну ковдру, пісок.

З метою уникнення травм, опіків, нещасних випадків **суворо забороняється:**

1) пити воду з хімічного посуду; пробувати хімічні речовини на смак; проливати й розсипати реактиви;

2) користуватися приладами та обладнанням без їх попередньої перевірки на справність та ознайомлення з інструкцією з експлуатації;

3) залишати без нагляду ввімкнені електронагрівальні прилади, палаючі спиртівки;

4) відміряти концентровані кислоти й луги, втягуючи їх ротом у піпетку;  
5) зберігати леткі й легкозаймісті речовини поблизу джерел тепла, відкритого вогню, ввімкнених приладів;

6) торкатися руками неізолюваних проводів;

7) вдихати пари отруйних речовин;

8) допускати потрапляння отруйних речовин на шкіру та одяг.

Під час роботи в лабораторії **студенти зобов'язані:**

– дотримуватися правил техніки безпеки та пожежної безпеки;

– чітко виконувати інструкції викладача (лаборанта).

– підтримувати в чистоті та порядку свої робочі місця.

### Перша допомога

Перев'язувальні матеріали (вата, бинти, серветки), необхідні розчини та медикаменти знаходяться в аптечці першої медичної допомоги, якою забезпечена кожна лабораторія.

У разі поранень, отруєнь, опіків та інших нещасних випадків потерпілому на місці слід надати першу долікарську допомогу і за необхідності направити його до медичної установи. У разі потреби викликати лікаря на місце пригоди.

При виникненні пожежі в лабораторії необхідно негайно вимкнути всі газові та нагрівальні прилади, прибрати легкозаймісті рідини. Якщо осередок пожежі невеликий, загоряння можна спробувати ліквідувати первинними засобами пожежогасіння: засипати піском або накрити щільною тканиною чи ковдрою, шматком азбесту або ж залити тетрахлорметаном. Для припинення інтенсивного горіння слід скористатися вогнегасником. Не можна задувати палаючу рідину або заливати її водою.

Якщо загорівся одяг, потерпілого необхідно негайно повалити на підлогу та намагатися збити полум'я, накинувши на нього мокру тканину.

Дерев'яні предмети, охоплені полум'ям, потрібно гасити водою або вогнегасником.

Під час роботи в хімічній лабораторії найбільш можливими є порізи склом, термічні та хімічні опіки, а також інгаляційне ураження парами токсичних речовин.

При теплових опіках роблять примочку з розчином 2%-го калій манганату або етанолу, а потім наносять мазь від опіків.

При хімічних опіках шкіри необхідно насамперед видалити відповідним розчинником речовину, яка стала їх причиною, а потім обробити уражену ділянку етанолом і змазати маззю від опіків.

При опіках кислотами уражену ділянку насамперед треба промити сильним струменем проточної води, а потім обробити 3%-им розчином натрій гідрогенкарбонату; при опіках їдкими лугами – промити водою, обробити 3%-им розчином оцтової або борної кислоти, а потім знову обполоснути водою.

При опіках очей кислотою необхідно промити їх великою кількістю води, потім обробити тампоном, змоченим у 3%-му розчині натрій гідрогенкарбонату, і знову промити водою; при опіках очей лугом – промити їх



великою кількістю води, потім обробити тампоном, змоченим у 3%-му розчині борної кислоти, і знову промити водою. Після цього потрібно негайно звернутися до лікаря.

При порізах насамперед необхідно пінцетом, попередньо обробленим спиртом, видалити з рани видимі шматочки скла, промити рану дистильованою водою або протерти тампоном, змоченим в етанолі, після чого змастити 5%-им спиртовим розчином йоду й забинтувати. Невеликі порізи можна заклеїти антисептичним пластиром.

## ОСОБЛИВОСТІ РОБОТИ З АВТОМАТИЧНИМИ ПІПЕТКАМИ

Відмірювання рідини є найважливішим технологічним елементом у діяльності клініко-діагностичної лабораторії. Дозування проби та реагентів є обов'язковим етапом. Точність вимірювання безпосередньо впливає на точність результату лабораторного дослідження.

На сьогодні в усіх лабораторіях для відмірювання відомої кількості речовини використовують механічні, електронні автоматичні піпетки (рис. 1, рис. 2) – пристрої з пневматичним механізмом, дія яких ґрунтується на витісненні рідини повітрям.

Автоматичні піпетки бувають різних видів: починаючи з піпеток із фіксованим об'ємом (смплери) і закінчуючи піпетками з електронним контролем дозування. Ці піпетки мають різні межі дозування – від 1 мкл (0,001 мл) до 50 мл.

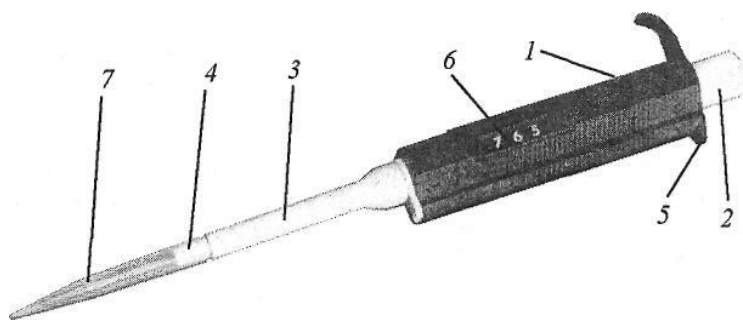


Рисунок 1 – Механічна одноканальна піпетка зі змінним об'ємом (фірма «Лабсистемс», Фінляндія): 1 – рукоятка з гачком, 2 – головка плунжера, 3 – стволова частина; 4 – нижня частина стволової частини, 5 – видаляч наконечника; 6 – віконце цифрового індикатора, 7 – змінний наконечник

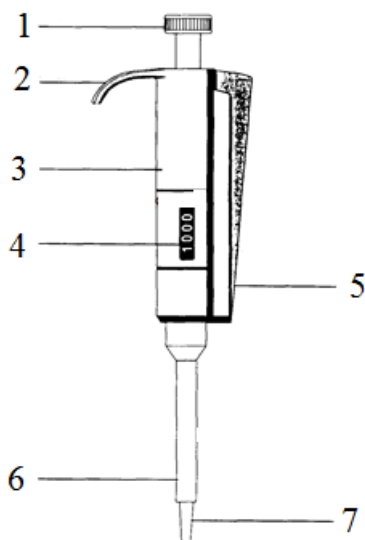


Рисунок 2 – Електронна одноканальна піпетка зі змінним об'ємом (фірма «Лабсистемс», Фінляндія): 1 – операційна кнопка; 2 – упор; 3 – рукоятка; 4 – цифровий дисплей; 5 – штовхач видаляча наконечника; 6 – видаляч наконечників; 7 – конус наконечника

На кінчик кожної піпетки вдягається одноразовий наконечник, через який набирається відповідна речовина (за винятком концентрованих кислот).

Автоматичні піпетки мають суттєві переваги, порівняно зі скляними, завдяки вищій швидкості відбору, удосконаленому механізму регулювання об'єму рідини, точності та відтворюваності, зручності у використанні.

Однак автоматичні піпетки не позбавлені недоліків. Наприклад, більшість цих пристроїв не призначені для відбирання агресивних речовин (концентрованих кислот, лугів, розчинників тощо). Під час роботи з такими речовинами відбувається псування механізму для дозування, що робить піпетку непридатною для подальшого використання

Розрізняють такі автоматичні піпетки:

- 1) механічні та електронні;
- 2) одноканальні та багатоканальні;
- 3) фіксованого та змінного об'єму.

Механічні та електронні піпетки можуть бути одноканальними, багатоканальними, фіксованого та змінного об'єму.

Механічні автопіпетки мають пружинний механізм та пристрій, який дозує об'єм рідини – мікрометричний гвинт (налагоджують вручну). В електронних – пневматичний механізм приводиться в дію електромотором, який управляється мікрокомп'ютером з електроживленням від акумуляторів. Якщо автопіпеткою не користуються, її встановлюють у тримач, який одночасно є живильним пристроєм для її акумуляторів. Тримач підключають до електромережі.

Одноканальні автопіпетки – це універсальні прилади, які використовуються в біохімічних лабораторіях.

Обсяги виробництва багатоканальних автопіпеток значно перевищують одноканальні, але сфера їх використання обмежується вузькоспеціалізованою апаратурою. Наприклад, дев'ятиканальна піпетка для автоаналізаторів «Фінпіпет» фірми «Лабсистемс» (Фінляндія); багатоканальні автопіпетки для імунологічних досліджень, які розраховані на роботу з планшетами визначених параметрів.

Автопіпетки фіксованого об'єму використовуються для вимірювання тільки одного суворо визначеного об'єму рідини.

Автопіпетки змінного об'єму використовуються для вимірювання об'ємів рідини в більшому діапазоні. Наприклад, піпетки фірми «Лабсистемс» (Фінляндія) розраховані на вимірювання об'ємів рідини від 5 до 5000 мкл (0,005 до 5 мл відповідно). Комплект містить автопіпетки для вимірювання об'ємів рідини від 5 до 40 мкл, від 40 до 200 мкл, від 200 до 1000 мкл, від 1000 до 5000 мкл. Такі автопіпетки є найбільш практичними.

Автоматична піпетка: механічна одноканальна автопіпетка зі змінним об'ємом (фірма «Лабсистемс», Фінляндія) виготовляється з механічно пружних і хімічно інертних пластмас. Складається вона з корпусу та пневматичного механізму, який міститься всередині нього (рис. 1). Будова корпусу: рукоятка з гачком у верхній частині 1, головка плунжера 2, стволова частина 3, нижня частина стволової частини 4, видаляч наконечника 5, на рукоятці піпетки є віконце цифрового індикатора об'єму рідини 6. Пневматичний механізм складається з пружини та мікрометричного гвинта, крок якого відповідає суворо визначеному об'єму рідини. Мікрометричний гвинт приводиться в рух

обертанням головки плунжера. При цьому у віконці цифрового індикатора позначається об'єм рідини. Кожна автопіпетка має набір змінюваних наконечників. Вони виготовлені з прозорого поліпропілену. Використовуються 3 типи наконечників залежно від об'єму, який вимірюють піпеткою.

### **Правила роботи з автопіпеткою.**

1. На піпетці встановлюють необхідний об'єм рідини для вимірювання. Це досягається обертанням головки плунжера за годинниковою стрілкою (зменшення об'єму) або проти годинникової стрілки (збільшення об'єму). Кожний крок обертання головки плунжера супроводжується клацанням. Обраний об'єм фіксується у віконці цифрового індикатора. Цифри мають бути на індикаторі автопіпетки.

2. Рукоятку піпетки вкладають в долоню («рукоятка кинджала»), вушко рукоятки навішують на вказівний палець. Цим забезпечується мінімальне напруження кисті руки при роботі з піпеткою. На нижню частину ствольної частини піпетки щільно насаджують відповідний наконечник. Під час роботи автопіпетка повинна знаходитися у **вертикальному положенні**. Відбір і дозування рідини проводять, використовуючи плунжер. За ходом руху плунжера є два натискання.

3. Піпетування можна проводити двома способами – прямим і зворотним. При прямому способі пікетування надавлюють на головку плунжера великим пальцем до першого натискання. Опускають наконечник піпетки в розчин, повільно вивільняючи плунжер. У наконечник набирається необхідний об'єм рідини. Для того щоб злити рідину, повторно надавлюють на головку плунжера, але тепер уже до другого натискання, тобто до упору. При цьому із наконечника видаляють усі залишки рідини. Потім палець піднімають, і плунжер повертається у вихідне положення.

При зворотному способі пікетування натискають на головку плунжера великим пальцем до упору. Опускають наконечник піпетки в розчин а повільно вивільнюють плунжер. Набирається об'єм рідини, але дещо більший від необхідного. Для дозування визначеного об'єму надавлюють на головку плунжера тільки до першого натискання. Частина рідини, яка залишилася в наконечнику, не входить у вимірюваний об'єм. Її необхідно видалити. Для цього повторно натискають на плунжер до упору. Потім піднімають палець, і плунжер повертається у вихідне положення. Зворотний спосіб зручний при дозуванні в'язких рідин і рідин, які легко утворюють піну.

Для того щоб зняти наконечник, натискають на видаляч до упору, після чого він самостійно від'єднується від кінця піпетки. Використаний наконечник потрібно опустити в 6%-й розчин гідроген пероксиду для кращого очищення та знезараження. Після миття та просушування наконечник можна використовувати повторно.

Порядок роботи з механічними багатоканальними автопіпетками аналогічний описаному вище для одноканальних. Багатоканальні піпетки комплектуються відповідними для їх конфігурації змінними блоками наконечників. Точність відтворення вимірювань, які проводять за допомогою автопіпеток, коливається в межах від  $\pm 0,5\%$  до  $\pm 3\%$  залежно від їх типу.

## ОСОБЛИВОСТІ РОБОТИ З ФОТОЕЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРОМ (КФК-2)

Колориметр фотоелектричний концентраційний (КФК-2) (рис. 3, рис. 4) призначений для вимірювання в окремих діапазонах довжин хвиль (315-980 нм), які виділяються світлофільтрами, визначення коефіцієнта пропускання та оптичної щільності рідких розчинів, твердих тіл, а також концентрації речовин у розчинах методом побудови градуювальних графіків.

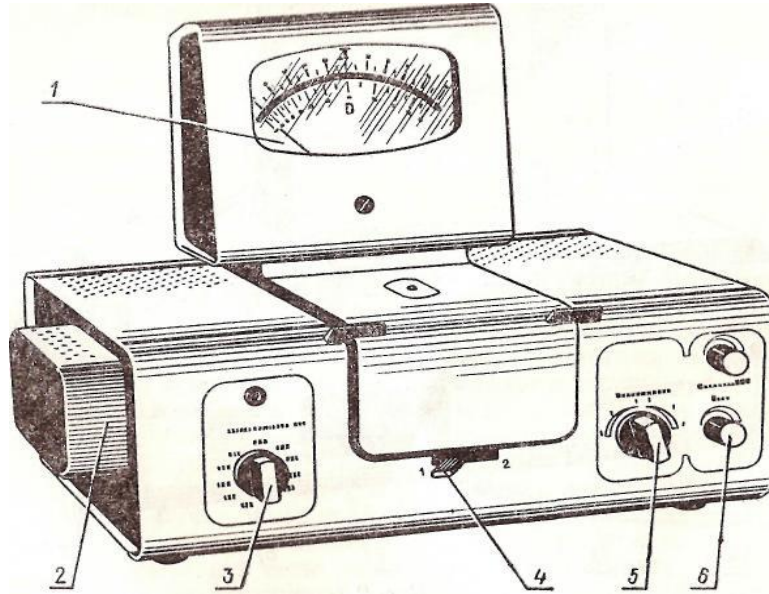


Рисунок 3 – Колориметр фотоелектричний концентраційний КФК-2:  
1 – мікроамперметр, 2 – джерело світла, 3 – ручка для введення світлофільтра у світловий пучок, 4 – ручка для переведення кювет у світловому пучку, 5 – включення фотоприймача, 6 – чутливість



Рисунок 4 – Колориметр фотоелектричний концентраційний КФК-2 (зовнішній вигляд)

## Правила експлуатації

1. Якщо колориметр було внесено до приміщення з морозу, тоді його розпакування та розконсервація повинні проводитися не раніше ніж через 12 год..

Після довгого зберігання колориметр необхідно включити та провести тренування протягом 2-5 год.

2. Вимірювання на колориметрі слід проводити при температурі повітря від плюс 10 до плюс 35 °С.

3. При вимірюванні зі світлофільтрами 315, 364, 400, 440, 490, 540 нм, які відмічені на передній панелі колориметра чорним кольором, ручку ЧУТЛИВІСТЬ встановлюють в одне із трьох положень («1», «2», «3»), так само позначених чорним кольором.

При вимірюванні зі світлофільтрами 590, 670, 750, 870, 980 нм, які відмічені на передній панелі колориметра червоним кольором, ручку ЧУТЛИВІСТЬ встановлюють в одне із трьох положень («1», «2», «3»), так само позначених червоним кольором.

4. Робочі поверхні кювет (рис. 5) перед кожним вимірюванням необхідно протирати спиртово-ефірною сумішшю. При установці кювет у кюветотримач торкатися пальцями робочих установок поверхонь (нижче від рівня рідини в кюветі) забороняється.



Рисунок 5 – Різновиди кювет

Наявність забруднень або крапель розчину на робочих поверхнях кювети призводить до отримання недостовірних результатів вимірювань.

Рідину в кювету необхідно наливати по бічній стінці. Рідина в обмеженому об'ємі кювети в деяких випадках утворює меніск. За капілярами, особливо по кутах кювети, рідина піднімається на значну висоту (на 4-6 мм).

Не треба нахилити кювету з рідиною при установці в кюветотримач.

5. Після зміни світлофільтра вимірювання починають проводити після 5-хвилинного засвічення фотоприймача.

6. При переключенні світлофільтрів ЧУТЛИВІСТЬ повинна знаходитися в положенні «1», а ручка 6 – УСТАНОВКА 100 ГРУБО – у крайньому лівому

положенні (мінімальна чутливість). Це дозволяє запобігти перевантаженню приладу, який реєструє дані, та його псуванню.

#### **Вказівки щодо заходів безпеки**

1. Робота на колориметрі повинна проводитися в чистому приміщенні, в якому немає пилу, парів кислот і лугів.

2. Поблизу колориметра не повинні знаходитися громіздкі вироби, що перешкоджають роботі оператора.

3. Роботи, пов'язані з проникненням усередину колориметра (заміна ламп, несправних деталей тощо), повинні проводитися після від'єднання колориметра від електромережі.

4. При експлуатації колориметр має бути надійно заземлений.

#### **Визначення концентрації речовини в розчині**

При визначенні концентрації речовини в розчині необхідно дотримуватися такої послідовності: вибір світлофільтра; вибір кювети; побудова градувальної кривої для речовини; вимірювання оптичної густини досліджуваного розчину та визначення концентрації речовини в розчині.

1. Вибір світлофільтра.

Наявність у колориметрі наборів світлофільтрів і кювет дозволяє підібрати оптимальне їх поєднання, при якому похибка у визначенні концентрації буде мінімальною.

Вибір світлофільтра проводять таким чином: наливають розчин у кювету і визначають оптичну густину для всіх світлофільтрів.

За отриманими даними будують криву, відкладаючи по осі абсцис (x) довжини хвиль, які відповідають максимуму коефіцієнта пропускання світлофільтрів, а по осі ординат (y) відповідні значення оптичної густини розчину. Відмічають ту ділянку кривої, де:

– оптична густина має максимальну величину;

– хід кривої приблизно паралельний осі абсцис, тобто оптична густина мало залежить від довжини хвиль.

Світлофільтр для роботи обирають так, щоб довжина хвилі відповідала максимуму коефіцієнта пропускання і знаходилася на відміченій вище ділянці спектральної кривої досліджуваного розчину.

2. Вибір кювети. Абсолютна похибка вимірювання коефіцієнта пропускання не перевищує 1%. Відносна похибка визначення концентрації розчину буде різною при роботі на різних шкалах колориметра, досягаючи мінімуму при значенні оптичної густини 0,4. Тому при роботі на колориметрі рекомендується шляхом відповідного вибору кювет працювати, наближаючись до вказаного значення оптичної густини.

Попередній вибір кювет проводять візуально відповідно до інтенсивності забарвлення розчину. Якщо розчин інтенсивно забарвлений (темний), слід користуватися кюветами з малою робочою довжиною. У випадку слабозабарвленого розчину рекомендується працювати з кюветами з більшою робочою довжиною.

У попередньо обрану кювету наливають розчин і вимірюють його оптичну густину, вводячи у хід променів відповідний для даного розчину світлофільтр.

При вимірюванні певної кількості розчинів кювету заповнюють розчином середньої концентрації. Якщо отримане значення оптичної густини становить приблизно 0,3-0,5 – обирають відповідну кювету, призначену для роботи саме з цим розчином. Якщо вказана вище умова не виконується, потрібно перевірити іншу кювету. Якщо величина оптичної густини, яку визначили, перевищує 0,5-0,6, обирають кювету з меншою робочою довжиною. Якщо величина оптичної густини менше 0,2-0,3, обирають кювету з більшою робочою довжиною.

3. Побудова калібрувальної кривої для даної речовини.

Побудова калібрувальної кривої виконується в такій послідовності:

1) Готують розчини визначуваної речовини з відомими концентраціями таким чином, щоб охопити діапазон можливих змін концентрацій у досліджуваному розчині.

2) Вимірюють оптичні густини всіх розчинів.

3) Будують калібрувальну криву, відкладаючи по осі абсцис (x) відомі концентрації, а по осі ординат (y) – відповідні значення екстинкції (або оптичної густини).

4. Визначення концентрації речовини в розчині. За калібрувальною кривою (рис. 6) визначають невідому концентрацію речовини в досліджуваному розчині. Для цього розчин наливають у ту саму кювету, для якої побудована калібрувальна крива, вводять той самий світлофільтр і визначають оптичну густину розчину. Потім за калібрувальною кривою знаходять концентрацію, що відповідає значенню оптичної густини; можна використовувати градуювальні таблиці, що складаються за даними калібрувальної кривої.

Калібрувальну криву час від часу необхідно перевіряти.

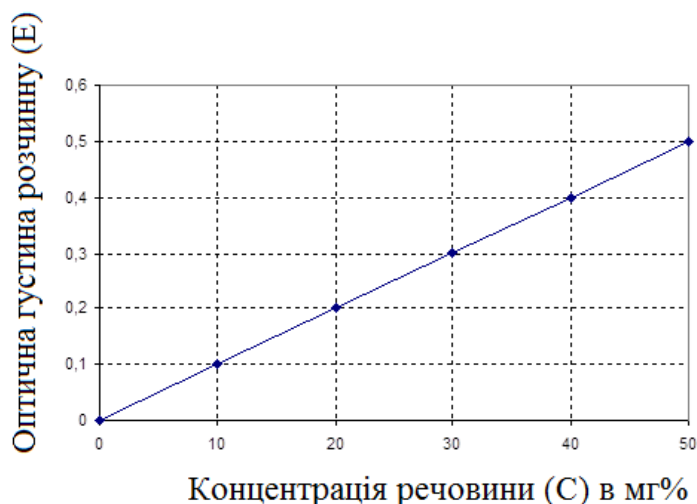


Рисунок 6 – Градуювальний графік залежності оптичної густини розчину (E – екстинкції) від концентрації речовини (C) у мг%



## Лабораторна робота № 1

### ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА АМІНОКИСЛОТИ ТА БІЛКИ

**Мета роботи:** провести якісні реакції на амінокислоти та білки; засвоїти механізм цих реакцій.

**Практичне значення роботи:** якісні реакції на амінокислоти та білки широко використовуються для встановлення білкової природи речовини, вивчення амінокислотного складу різноманітних природних білків, пептидів, для ідентифікації індивідуальних амінокислот, для виявлення амінокислот у гідролізатах білків, у біологічних рідинах, тканинах організму, в лікарських засобах.

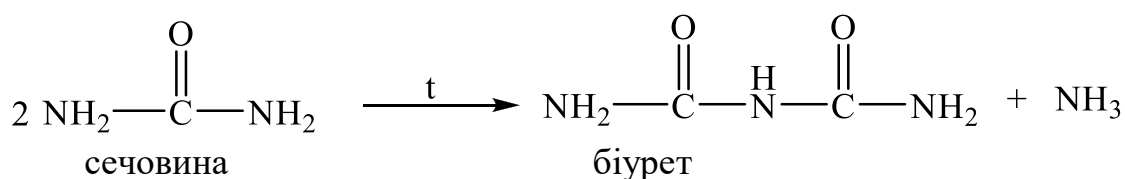
**Матеріали та реактиви:** штатив для пробірок, пробірки, пробіркотримач, піпетки, сухе пальне, сірники; дистильована вода, 1%-й розчин яєчного білка або концентрований розчин яєчного білка, 10%-й розчин натрій гідроксиду, 1%-й розчин купрум (II) сульфату, розчин нінгідрину, концентрована нітратна кислота, волосся або шматочок нігтя, розчин плюмбум ацетату, розчин натрій нітриту, концентрована оцтова кислота.

#### Хід роботи

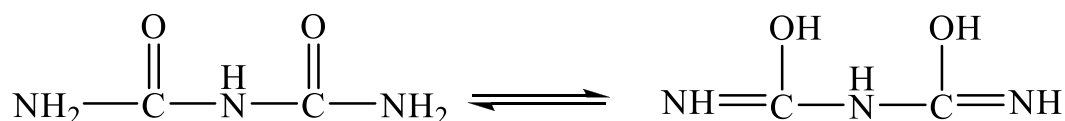
**Дослід 1.** Біуретова реакція (реакція Піотровського)

**Принцип реакції.** Біуретова реакція доводить наявність у молекулах білків пептидних зв'язків (-CO-NH-). Сполуки, які мають у своєму складі не менше двох пептидних зв'язків (білки, пептиди), у лужному середовищі утворюють із купрум сульфатом комплекс *фіолетового кольору*. Біуретова реакція доводить наявність пептидних зв'язків у білках і поліпептидах.

Біуретову реакцію вперше було досліджено О.Я. Данілевським. Реакція отримала назву від похідного сечовини – біурету. Він утворюється при взаємодії 2-х молекул сечовини внаслідок відщеплення амоніаку, при температурі 180 °С.

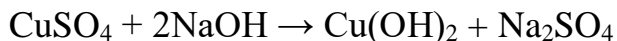


У лужному середовищі біурет зазнає енолізації:

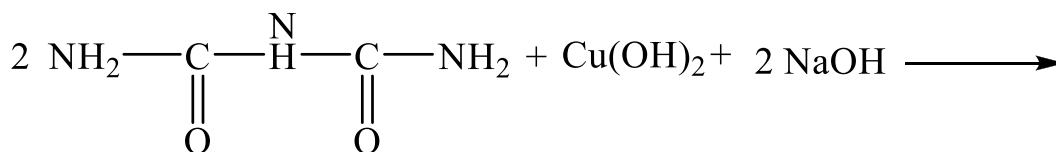


Дві молекули енольної форми біурету взаємодіють з купрум (II) гідроксидом та утворюють комплекс, у якому координаційні зв'язки утворені за рахунок електронних пар атомів Нітрогену імінних груп.

Купрум (II) гідроксид для проведення біуретової реакції отримують, як правило, в результаті взаємодії купрум (II) сульфату з натрій гідроксидом:



Утворення комплексу біурету з купрум (II) гідроксидом відбувається за схемою:



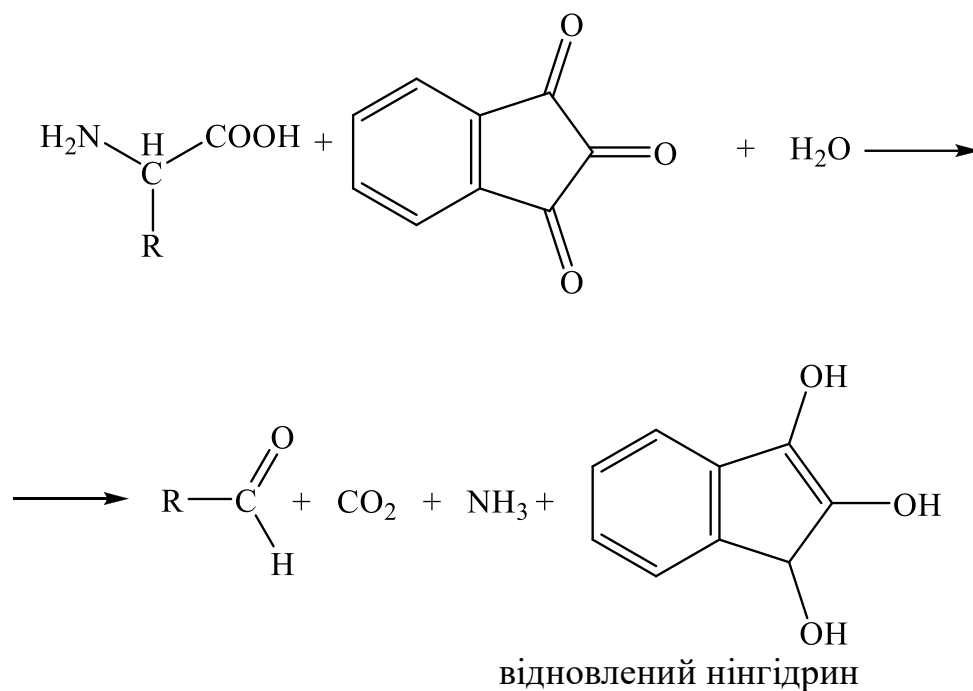
**Хід роботи.** До 5 крапель 1%-го розчину яєчного білка (або концентрованого яєчного білка) додають 5 крапель 10%-го розчину натрій гідроксиду, 2 краплі 1%-го розчину купрум (II) сульфату та все перемішують. Вміст пробірки набуває *фіолетового забарвлення*.

**Примітка.** Не можна додавати надлишок купрум (II) сульфату, оскільки маскується характерне *фіолетове забарвлення* біуретового комплексу білка.

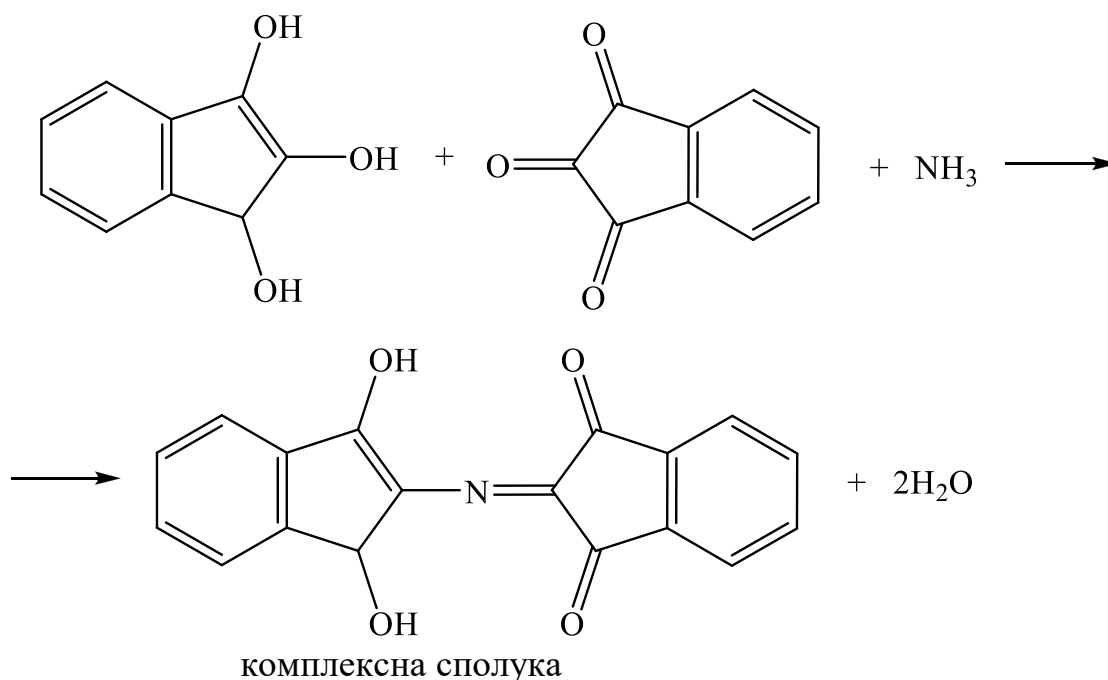
## Дослід 2. Нінгідринова реакція

**Принцип реакції.** Білки, поліпептиди, вільні амінокислоти при нагріванні з нінгідрином дають *рожево-фіолетове забарвлення*. Реакція характерна для  $\alpha\text{-NH}_2$ -групи, використовується для виявлення  $\alpha$ -амінокислот.

Реакція ґрунтується на окисно-відновних властивостях нінгідрину. Внаслідок нагрівання до  $70^\circ\text{C}$  та окиснювального дезамінування та декарбоксілювання від амінокислоти відщеплюється аміногрупа з утворенням амоніаку, виділяється карбон (IV) оксид та утворюється альдегід. Нінгідрин за цих умов відновлюється.



Відновлений нінгідрин конденсується з амоніаком та окисненою формою нінгідрину й утворює комплексну сполуку *рожево-фіолетового кольору*:



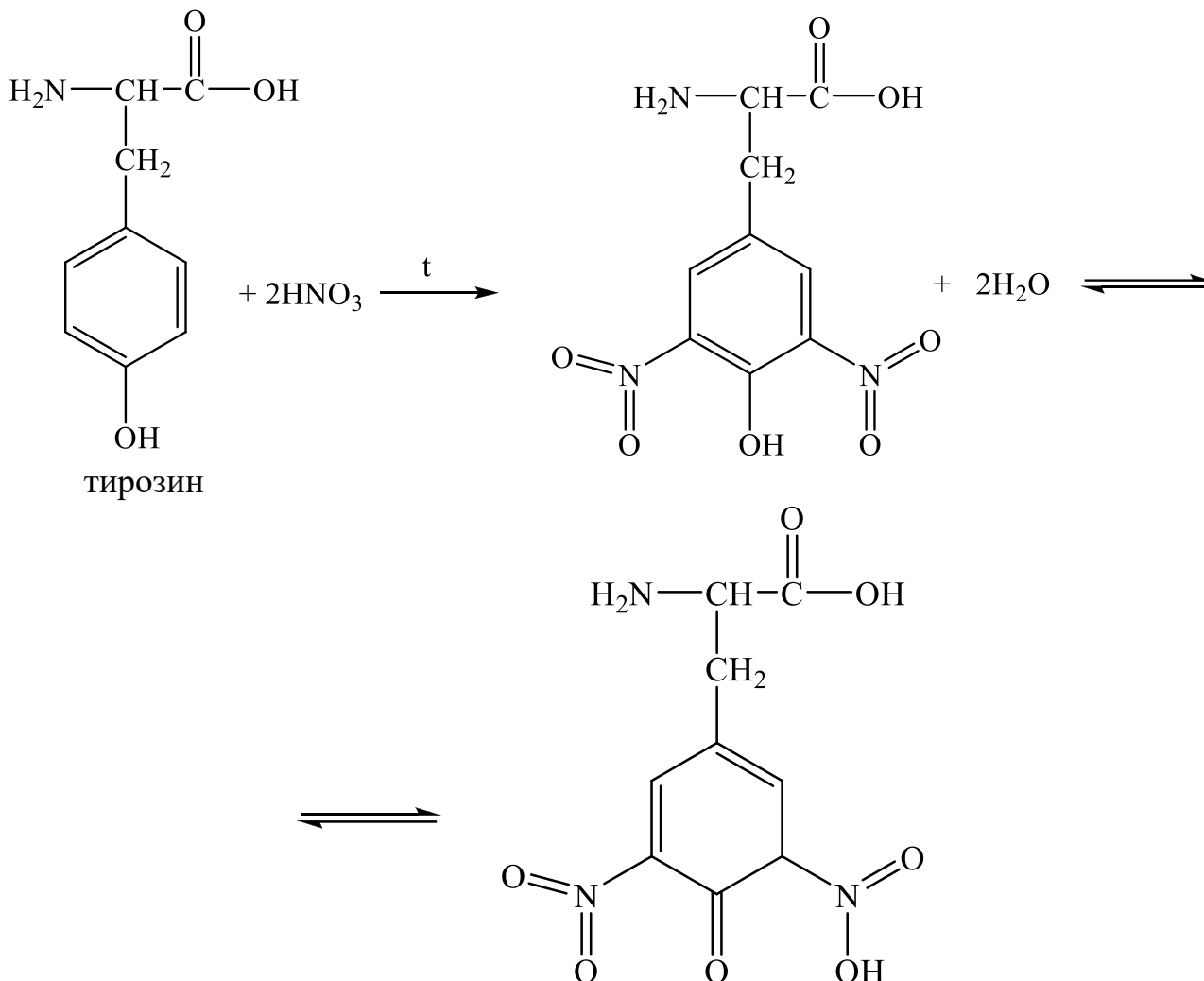
Ця реакція не є специфічною лише для амінокислот, оскільки її дають деякі аміни та амід.

**Обережно!!!** Нінгідрин токсичний, тому слід уникати його потрапляння на шкіру та слизові оболонки.

**Хід роботи.** До 3-4 крапель 1%-го розчину яєчного білка або концентрованого яєчного білка додають 1-2 краплі розчину нінгідрину та нагрівають пробірку. У ній з'являється *рожево-фіолетове забарвлення*.

### Дослід 3. Ксантопротеїнова реакція (реакція Мульдера)

**Принцип реакції.** Реакція характерна для бензенового ядра ароматичних амінокислот (фенілаланіну, тирозину, триптофану). Ароматичне кільце амінокислот нітрується при дії концентрованої нітратної кислоти з утворенням нітросполук, забарвлених у *жовтий колір*:

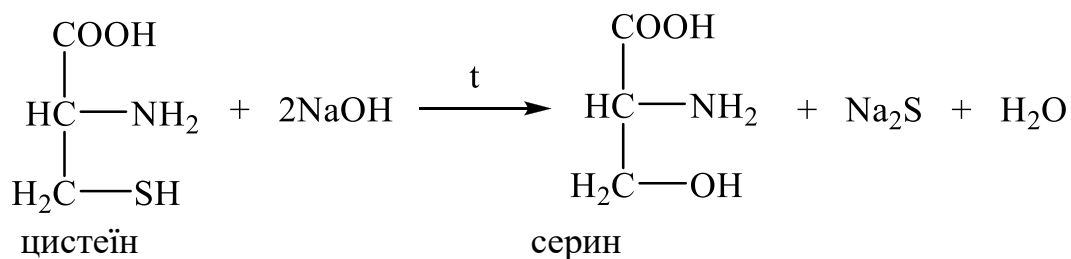


При додаванні амоніаку забарвлення переходить в *оранжове*.

**Хід роботи.** У пробірку до 3-4 крапель 1%-го розчину яєчного білка або концентрованого яєчного білка додають 1-2 краплі концентрованої нітратної кислоти. Пробірку обережно нагрівають, спостерігають за зміною забарвлення. Утворюється нітросполука *жовтого кольору*.

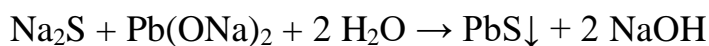
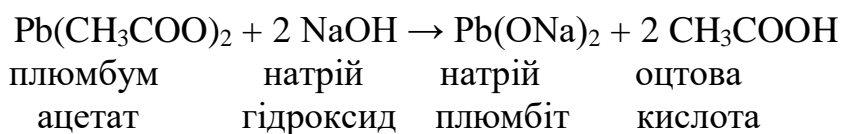
### Дослід 4. Реакція Фоля

**Принцип реакції.** Реакція відкриває сульфуровмісні амінокислоти (цистин, цистеїн). При нагріванні цистеїну (або цистину) в лужному середовищі від них легко відщеплюється Сульфур у вигляді гідрогенсульфіду, який в лужному середовищі утворює натрій сульфід:



Утворення натрій сульфїду можна визначити за допомогою іонів важких металів, наприклад, іонів плюмбуму, які утворюють з іонами Сульфуру нерозчинний плюмбум сульфїд *чорного кольору*.

Для виявлення Сульфуру можна використовувати плюмбум ацетат, який при взаємодії з натрій гідроксидом утворює натрій плюмбіт. Своєю чергою натрій плюмбіт, реагуючи з натрій сульфїдом, зумовлює утворення плюмбум сульфїду:

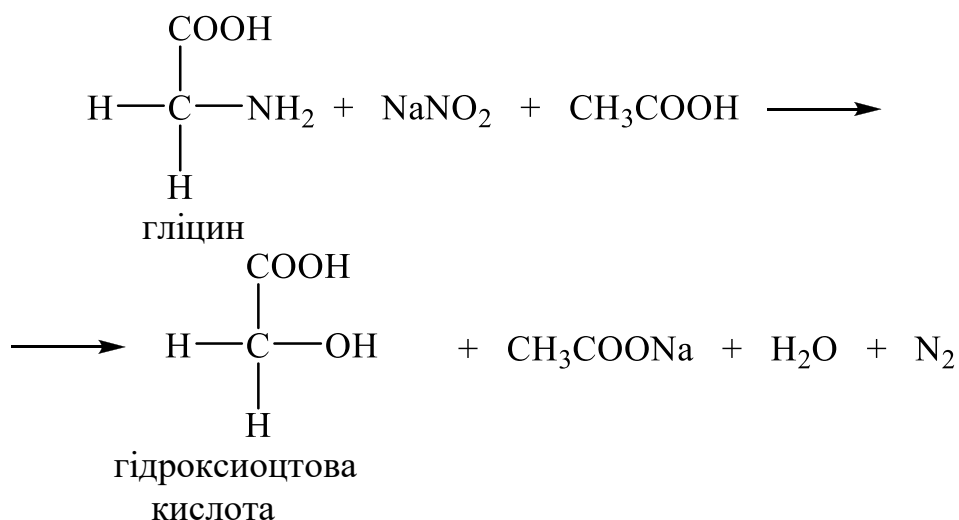


**Хід роботи.** В 1-у пробірку поміщають трохи волосся або шматочок нігтя, а в 2-у пробірку – 5 крапель 1%-го розчину яєчного білка або концентрованого яєчного білка. У кожену із пробірок додають по 1 краплі розчину плюмбум ацетату, а потім 1 краплю розчину гідроксиду натрію; пробірки нагрівають до кипіння. У 1-й пробірці з'являється *осад чорного кольору*, у 2-й пробірці – нічого не відбувається або ж утворюється осад білого кольору.

#### Дослід 5. Реакція Ван-Слайка

**Принцип реакції.** Реакція дозволяє визначити  $\text{NH}_2$ -групу в амінокислотах і білках.

У результаті взаємодії амінокислоти з натрій нітритом та оцтовою кислотою відбувається утворення газоподібного азоту.



**Хід роботи.** У пробірку наливають 1-2 мл 1%-го розчину яєчного білка (або концентрованого яєчного білка) або амінокислоти, додають рівний об'єм (1-2 мл) розчину натрію нітриту та декілька крапель концентрованої оцтової кислоти. При цьому утворюється нітритна кислота, яка вступає в реакцію з аміногрупою. Виділяються бульбашки газу – азоту.

Результати дослідів 1-5 запишіть у таблицю 1 за аналогією:

Таблиця 1

Якісні реакції на амінокислоти й білки

№ п/п	Назва дослідів	Реактиви, які використовують	Зміни, що відбуваються під час реакції	Висновок
1	2	3	4	5
1	Біуретова реакція	1) 5 крапель 1%-го розчину яєчного білка (або концентрованого яєчного білка); 2) 5 крапель 10%-го розчину натрію гідроксиду; 3) 2 краплі 1%-го розчину купрум (II) сульфату; все перемішують.	Фіолетове забарвлення	Реакція доводить наявність у молекулах білків, пептидів, пептидних зв'язків (-CO-NH-).

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

#### ✍ Завдання для домашнього виконання

1. Напишіть реакції, які доводять амфотерність амінокислоти на прикладі моноаміномонокарбонової амінокислоти. Напишіть реакцію утворення цвітеріона цієї амінокислоти.

2. Напишіть реакцію утворення дипептидів – аланілтироzinу, валілсерину. Вкажіть N-кінець (N-кінцеву амінокислоту), C-кінець (C-кінцеву амінокислоту), пептидний зв'язок у структурах дипептидів.

## Лабораторна робота № 2 ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ

**Мета роботи:** провести реакції зворотного та незворотного осадження білка (висолювання та денатурацію відповідно); визначити ізоелектричну точку білка (желатину).

**Практичне значення роботи:** осадження білків методом висолювання використовують для розділення білкових фракцій при одержанні очищених білків, для розділення альбумінів і глобулінів, визначення їх співвідношення у

сироватці крові. Осадження білків методом денатурації білків використовується для осадження білків у біологічному матеріалі з подальшим визначенням у ньому небілкових і низькомолекулярних речовин. За допомогою ізоелектричної точки індивідуальних білків можна підібрати умови для осадження їх з біологічних рідин, що містять суміш різних білків.

**Матеріали та реактиви:** штатив для пробірок, пробірки, пробіркотримач, піпетки, сухе пальне, сірники; дистильована вода, 1%-й розчин яєчного білка або концентрований розчин яєчного білка, розчин амонію сульфату, 1%-й розчин купрум (II) сульфату, 10%-й розчин плюмбум ацетату; концентрована нітратна кислота, концентрована хлоридна кислота; 1%-й розчин желатину; 0,1 моль/л, 1 моль/л розчини оцтової кислоти, 0,1 моль/л розчин натрій ацетату, 96%-й етиловий спирт або 95 %-й ацетон.

### **Дослід 1.** Зворотне осадження білків – висолювання

**Принцип реакції.** Реакція висолювання зумовлена дегідратацією макромолекул білка з одночасною нейтралізацією його електричного заряду.

При додаванні солей лужних і лужноземельних металів  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{MgSO}_4$  до розчину білка відбувається дегідратація білкових часток, і білки випадають в осад. *При додаванні води до цього розчину гідратаційна оболонка білкових часток відновлюється, осад розчиняється.*

**Хід роботи.** До 1 мл нерозведеного яєчного білка або концентрованого розчину яєчного білка додають 1 мл розчину амоній сульфату. Рідину збовтують і спостерігають незначне помутніння. Доливають 1 мл води – *помутніння зникає*. Висолювання – зворотний процес осадження білків.

### **Дослід 2.** Незворотне осадження білків – денатурація

**Принцип реакції.** Осаджуються білки з розчинів солями важких металів (купрум сульфат, плюмбум ацетат), мінеральними й органічними кислотами, кип'ятінням. При незворотному осадженні порушується гідратаційна оболонка й заряд білка. *При додаванні води до розчину гідратаційна оболонка білкових часток не відновлюється, осад не розчиняється.*

#### **Хід роботи.**

**а) осадження білків солями важких металів.** У дві пробірки наливають по 1 мл концентрованого розчину яєчного білка, в 1-у пробірку додають декілька крапель 1%-го розчин купрум (II) сульфату, в 2-у пробірку – 10%-й розчин плюмбум ацетату;

**б) осадження білків неорганічними кислотами.** У дві пробірки наливають по 1 мл кислот: у 1-у пробірку – концентровану нітратну кислоту, в 2-у пробірку – концентровану хлоридну кислоту. Потім у кожен обережно по стінці доливають рівний об'єм концентрованого розчину яєчного білка;

**в) осадження білків при нагріванні.** У пробірку наливають 1 мл концентрованого розчину яєчного білка та кип'ятять.

! Доливають 1 мл води в усі пробірки – *осад не зникає*. Денатурація – незворотний процес осадження білків.

Результати дослідів 1-2 запишіть у таблицю 2 за аналогією:

Таблиця 2

Властивості білків

№ п/п	Назва дослідів	Реактиви, які використовують	Зміни, що відбуваються під час реакції	Зміни після додавання води	Висновок
1	2	3	4	5	6
1	Зворотне осадження білків – висолування	1) 1 мл нерозведеного яєчного білка; 2) 1 мл розчину амоній сульфату; збовтують	Слабке помутніння	Помутніння зникає	Висолування – зворотний процес осадження білків

**Дослід 3.** Визначення ізоелектричної точки білка (желатину)

**Принцип реакції.** Визначення ізоелектричної точки білків ґрунтується на здатності білків легко осаджуватися під дією осаджувачів, що викликають дегідратацію білків, при значенні рН середовища, яке відповідає їх ізоелектричній точці.

*Ізоелектрична точка (IET)* – значення рН, при якому білок має сумарний нульовий заряд, тобто є електронейтральним.

**Хід роботи.** У 6 пробірок поміщають відповідну кількість (мл) дистильованої води, розчинів оцтової кислоти (0,1 моль/л або 1 моль/л), натрій ацетату (0,1 моль/л) та желатину (таблиця 3).

Таблиця 3

Схема визначення ізоелектричної точки білка (желатину)

№ пробірки	Вода (мл)	CH <sub>3</sub> COOH (0,1 моль/л) (мл)	CH <sub>3</sub> COOH (1 моль/л) (мл)	CH <sub>3</sub> COONa (0,1 моль/л) (мл)	Розчин желатину (1%-й)	Спирт або ацетон (мл)	рН середовища	Зміни, що спостерігаються*
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	3,8	0,2	–	2,0	2,0	2,0	5,6	
2	3,5	0,5	–	2,0	2,0	2,0	5,3	
3	3,2	–	0,8	2,0	2,0	2,0	5,0	
4	3,0	1,0	–	2,0	2,0	2,0	4,7	
5	2,0	2,0	–	2,0	2,0	2,0	4,4	
6	–	4,0	–	2,0	2,0	2,0	4,1	

*Примітка.* \* – «–» – помутніння відсутнє; «+» – слабке помутніння; «+++» – середнє помутніння; «++++» – максимальнє помутніння

Вміст кожної пробірки перемішують. Потім у всі пробірки повільно по стінці доливають по 2 мл спирту (або ацетону).



Через 30 хв. визначають ізоелектричну точку. Вона буде відповідати значенню рН у пробірці з максимальним ступенем помутніння.

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

**✍ Завдання для домашнього виконання**

1. Охарактеризуйте прості (протеїни) та складні (протеїди) білки. Наведіть приклади білків та укажіть їх біологічну роль.
2. Опишіть етапи виділення білка з біологічного об'єкта (матеріалу).

**Лабораторна робота № 3**

**КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА В СИРОВАТЦІ КРОВІ  
ЗА ДОПОМОГОЮ БІУРЕТОВОГО РЕАКТИВУ**

**Мета роботи:** навчитися кількісно визначати загальний білок у сироватці крові за допомогою біуретового реактиву.

**Практичне значення роботи:** у клініко-біохімічних лабораторіях для встановлення діагнозу захворювання проводять кількісне визначення концентрації загального білка у біологічних рідинах організму (сироватці крові, сечі, спинномозковій рідині).

У нормі вміст загального білка у сироватці крові дорівнює у дорослих 65-85 г/л (6,5-8,5 мг/мл).

Зниження рівня концентрації білка (*гіпопротеїнемія*) спостерігається при недостатньому надходженні білків з їжею або зниженні процесів біосинтезу білків в органах, втраті білка організмом при гострих і хронічних кровотечах, підвищеній проникності капілярних стінок, при крововиливах і набряках.

Підвищення рівня концентрації білка (*гіперпротеїнемія*) відзначається рідко: при згущенні крові через значні втрати рідини, при інфекційному чи токсичному ураженні ретикулоендотеліальної системи, в клітинах якої синтезуються глобуліни, при хронічному поліартриті, ревматизмі.

Гіпопротеїнемія майже завжди пов'язана з гіпоальбунемією, гіперпротеїнемія – з гіперглобулінемією.

**Матеріали та реактиви:** біохімічні пробірки, піпетки, робочий розчин біуретового реактиву, стандартний розчин альбуміну (1 мл стандартного розчину альбуміну, що містить 10 мг або 0,01 г білка), фотоелектроколориметр (КФК-2 або КФК-3), кювети з товщиною шару 1 см, міліметровий папір.

**Принцип реакції.** Реакція утворення комплексу описана в лабораторній роботі №1, дослід 1.

**Хід роботи.** До 5 мл робочого розчину біуретового реактиву додають 0,1 мл 0,9%-й розчин натрій хлориду (фізіологічний розчин) (*холоста* або *контрольна проба*). Вміст пробірки перемішують.

До 5 мл робочого розчину біуретового реактиву додають, уникаючи утворення піни, 0,1 мл сироватки крові (*дослідна проба*). Вміст пробірки перемішують.

До 5 мл робочого розчину біуретового реактиву додають відповідно у 5 пробірок 0,2 мл; 0,4 мл; 0,6 мл; 0,8 мл; 1,0 мл розчину альбуміну, що містить 10 мг або 0,01 г білка в 1 мл (*калібрувальна проба*). Загальний об'єм у кожній пробірці доводять до 1 мл дистильованою водою. Вміст пробірок перемішують.

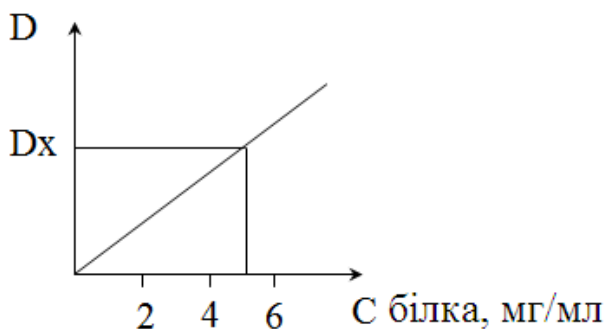
Через 30 хв, але не пізніше ніж через 1 год., усі проби (холосту або контрольну, дослідну, калібрувальну) колориметрують на фотоелектроколориметрі (КФК-2 або КФК-3) в кюветі з товщиною шару 10 мм при зеленому світлофільтрі (максимум пропускання 540-560 нм, краще 546 нм).

У холостій або контрольній пробі спостерігається розчин *синього кольору*. У дослідній та калібрувальних пробах розчин набуває *синьо-фіолетового забарвлення*.

Визначають експериментально показник екстинкції у всіх пробах при довжині хвилі 540 нм або 546 нм.

Будують калібрувальну криву за значеннями показників екстинкції 5 калібрувальних проб (див. пункт 3 – Побудова калібрувальної кривої для речовини та пункт 4 – Визначення концентрації речовини в розчині (див. рис. 6).

Розрахунки концентрації загального білка в сироватці крові виконують за калібрувальною кривою; розраховують на 1 мл нерозведеної сироватки крові. Графік будують на міліметровому папері за прикладом.



**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

### ✍ Завдання для домашнього виконання

1. Заповніть таблицю 4.

Таблиця 4

Методи очистки, розділення білків

№ з/п	Назва методу	Особливості методу, рисунок
1	Діаліз	
2	Центрифугування	
3	Гель-фільтрація	
4	Електрофорез	
5	Тонкошарова хроматографія	
6	Іонно-обмінна хроматографія	
7	Афінна хроматографія	

2. Опишіть метод Лоурі та метод Бредфорда. Оформіть у вигляді таблиці чи схеми. У чому полягає різниця між цими методами?

## Лабораторна робота № 4 РЕАКЦІЇ З МОНОСАХАРИДАМИ, ДИСАХАРИДАМИ ТА ПОЛІСАХАРИДАМИ

**Мета роботи:** вивчити властивості моносахаридів, дисахаридів і полісахаридів.

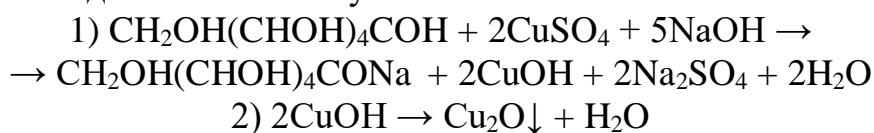
**Практичне значення роботи:** за допомогою якісних реакцій можна визначити наявність вуглеводів у пробах (моносахаридів, дисахаридів, полісахаридів).

**Матеріали та реактиви:** штатив для пробірок, пробірка, водяна баня; дистильована вода, сірники, спиртівка; 5%-й розчин глюкози, 5%-й розчин фруктози, 5%-й розчин сахарози, 1%-й розчин крохмалю, реактив Фелінга I, II (складається з розчинів купрум (II) сульфату, натрій гідроксиду, сегнетової солі), кристалічний резорцин, концентрована хлоридна кислота, амонійний розчин аргентум гідроксиду, реактив Люголя (1%-й розчин йоду в калій йодиді).

### Хід роботи

**Дослід 1.** Відновлення купрум (II) гідроксиду глюкозою – реакція Фелінга

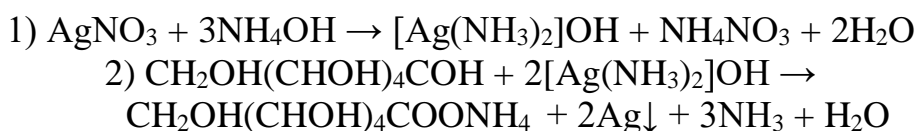
**Принцип реакції.** Усі моносахариди, а також більш складні цукри, які мають вільну альдегідну або кетонну групу, здатні відновлювати метали в лужному середовищі. Метали при цьому відновлюються з окисної форми в закисну чи навіть до вільного стану.



**Хід роботи.** У пробірку до 1 мл 5%-го розчину глюкози доливають рівний об'єм реактиву Фелінга (по 1 мл розчинів Фелінга I та Фелінга II). Суміш нагрівають до кипіння. Утворюється *червоний осад* купрум (I) оксиду ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ).

**Дослід 2.** Відновлення аргентум гідроксиду глюкозою – реакція «срібного дзеркала»

**Принцип реакції.** Глюкоза відновлює амонійний розчин аргентум гідроксиду, що утворений при взаємодії аргентум нітрату з натрій гідроксидом та водним розчином амоніаку, до металевого аргентуму.

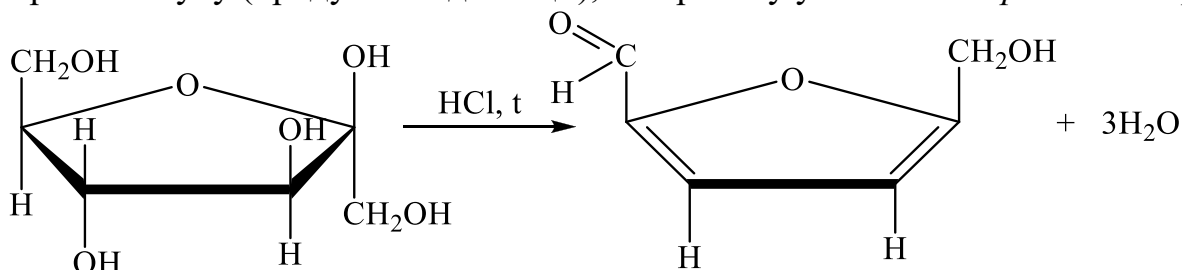


**Хід роботи.** У пробірку до 4 крапель 5%-го розчину глюкози додають 4 краплі амонійного розчину аргентум нітрату та нагрівають. Спостерігають

випадіння металічного срібла на стінках пробірки у вигляді блискучого дзеркального нальоту.

### Дослід 3. Реакція Селіванова на фруктозу

**Принцип реакції.** При нагріванні розчину фруктози із хлоридною кислотою утворюється оксиметилфурфурол. Оксиметилфурфурол з резорцином утворює сполуку (продукт конденсації), забарвлену у *вишнево-червоний колір*.



**Хід роботи.** У пробірку поміщають декілька кристаликів резорцину, додають 2 краплі концентрованої хлоридної кислоти, 2 краплі 5%-го розчину фруктози та нагрівають до кипіння. Рідина набуває *вишнево-червоного забарвлення*.

### Дослід 4. Реакція сахарози з реактивом Фелінга

**Принцип реакції.** У молекулі сахарози зв'язок між залишками  $\alpha$ ,D-глюкози і  $\beta$ ,D-фруктози утворюється за рахунок двох глікозидних гідроксилів. Сахароза не володіє відновлювальними властивостями. Спостерігається негативна реакція.

**Хід роботи.** У пробірку до 1 мл 5%-го розчину сахарози доливають рівний об'єм реактиву Фелінга (1 мл реактиву Фелінга I + 1 мл реактиву Фелінга II). Суміш нагрівають до кипіння. Вона залишається інтенсивного *синього кольору*.

### Дослід 5. Реакція сахарози з амонійним розчином гідроксиду аргентуму

**Принцип реакції.** У молекулі сахарози зв'язок між залишками  $\alpha$ ,D-глюкози і  $\beta$ ,D-фруктози утворюється за рахунок двох глікозидних гідроксилів. Сахароза не відновлює амонійний розчин аргентум нітрату. Спостерігається негативна реакція.

**Хід роботи.** У пробірку до 4 крапель 5%-го розчину сахарози додають 4 краплі амонійного розчину аргентум гідроксиду та нагрівають. Суміш залишається прозорою.

### Дослід 6. Гідроліз сахарози

**Принцип реакції.** Під час гідролізу сахарози (кип'ятіння у присутності концентрованої сульфатної кислоти) утворюються моносахариди, які можна виявити за допомогою реакцій Фелінга й Селіванова.

**Хід роботи.** У пробірку додають 1 мл 5%-го розчину сахарози, 2 краплі концентрованої хлоридної кислоти та нагрівають на киплячій водяній бані

протягом 15 хвилин. Потім суміш розподіляють на 2 частини: з однією проводять реакцію Фелінга, а з іншою – реакцію Селіванова.

#### Дослід 7. Якісна реакція на крохмаль

**Принцип реакції.** При взаємодії розчину крохмалю з реактивом Люголя утворюється комплексна адсорбційна сполука, забарвлена в реакції з крохмалем у синій колір. При нагріванні забарвлення зникає, але з'являється знову при охолодженні, що свідчить про утворення нестійкого комплексу з крохмалем.

**Хід роботи.** У пробірку до 1 мл 1%-го розчину крохмалю додають 1-2 краплі реактиву Люголя. Розчин крохмалю забарвлюється в *синій колір*.

#### Дослід 8. Реакція крохмалю з реактивом Фелінга

**Принцип реакції.** Полісахариди не містять вільних редуційованих груп, спостерігається негативна реакція.

**Хід роботи.** У пробірку вносять 1 мл крохмального клейстеру та доливають рівний об'єм реактиву Фелінга (по 1 мл розчинів Фелінга I та Фелінга II). Суміш нагрівають до кипіння. Вона залишається інтенсивного *синього кольору*.

#### Дослід 9. Кислотний гідроліз крохмалю

**Принцип реакції.** При нагріванні розчину крохмалю з мінеральними кислотами відбувається гідроліз крохмалю з утворенням глюкози.

**Хід роботи.** У пробірку наливають 3 мл 1%-го розчину крохмалю та додають 2-3 краплі концентрованої хлоридної кислоти. Кип'ятять на водяній бані протягом 15-45 хвилин.

Щоб визначити, чи відбувся гідроліз крохмалю, відбирають 3-5 крапель розчину й додають краплю реактиву Люголя. *Якщо розчин не набуває синього забарвлення, то гідроліз завершено.* Потім відбирають у пробірку 1-2 мл гідролізату та проводять з ним реакцію Фелінга.

Результати дослідів 1-9 запишіть у таблицю 5 за аналогією:

Таблиця 5

Реакції з моносахаридами, дисахаридами та полісахаридами

№ п/п	Назва дослідів	Реактиви, які використовують	Зміни, що відбуваються під час реакції	Висновок
1	2	3	4	5
1	Відновлення купрум (II) гідроксиду глюкозою – реакція Фелінга	1) 1 мл 5%-го розчину глюкози; 2) реактив Фелінга. Суміш нагрівають до кипіння.	Червоний осад	Якісна реакція на глюкозу. Глюкоза володіє відновлювальними властивостями

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

#### ✍ Завдання для домашнього виконання

1. Поясніть сутність таутомерії та мутаротації моносахариду – глюкози.

2. Чому мальтоза володіє відновлювальними властивостями, а сахароза ні? Напишіть формули цих дисахаридів.

3. Опишіть функції вуглеводів на прикладах.

### Лабораторна робота № 5 РЕАКЦІЇ НА ЖИРИ ТА ЖИРОПОДІБНІ РЕЧОВИНИ

**Мета роботи:** у ході виконання дослідів засвоїти властивості простих ліпідів, стеролів, складових компонентів ліпідів і жироподібних речовин.

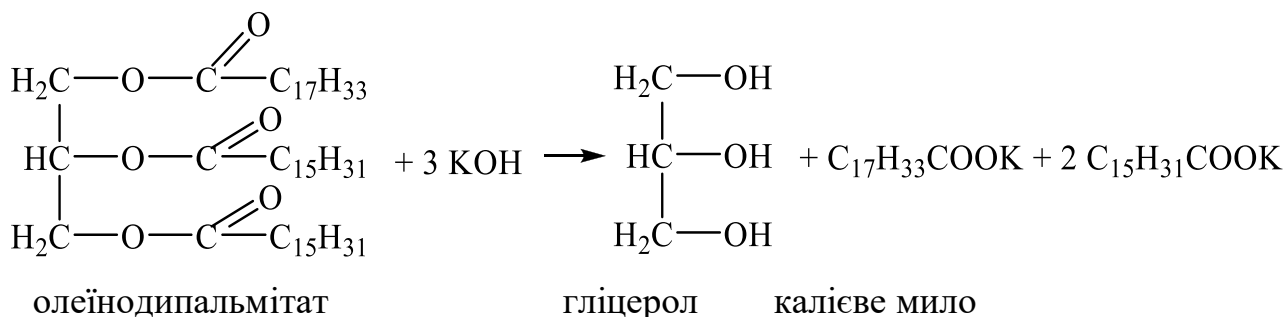
**Практичне значення роботи:** за допомогою якісних реакцій у біологічних рідинах визначають продукти розщеплення ліпідів.

**Матеріали та реактиви:** пробірки, колба об'ємом 50 мл, піпетки, сірники, водяна баня, спиртівка; дистильована вода, рослинна олія, 50%-й спиртовий розчин калій гідроксиду, концентрована хлоридна кислота, 5%-й розчин барій хлориду, 5%-й розчин плюмбум ацетату, кристалики калій гідросульфату, гліцерол, хлороформний розчин холестеролу, концентрована сульфатна кислота.

#### Хід роботи

**Дослід 1.** Омилення жиру (проводиться попередньо)!!!

**Принцип реакції.** Жири під впливом лугів гідролізуються з утворенням гліцеролу та калієвого мила.



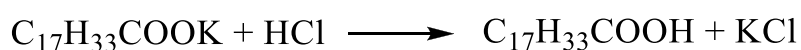
**Хід роботи.** У колбу об'ємом 50 мл до 1 мл рослинної олії додають 20 мл 50% спиртового розчину калій гідроксиду, суміш перемішують і кип'ятять.

Для того щоб перевірити, чи відбувся гідроліз, відбирають у пробірку декілька крапель розчину та додають 1 мл дистильованої води. При наявності жирових крапель гідроліз продовжують.

Після омилення розчин доводять до об'єму 20 мл дистильованою водою; одержують розчин калієвого мила.

**Дослід 2.** Одержання вільних жирних кислот

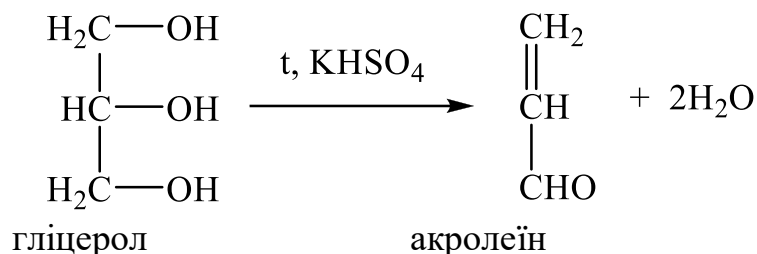
**Принцип реакції.** При додаванні до калієвого мила концентрованої хлоридної кислоти утворюються вільні вищі жирні кислоти.



**Хід роботи:** У пробірку до 1 мл розчину калієвого мила додають 0,5 мл концентрованої хлоридної кислоти. Вища жирна кислота збирається на поверхні.

**Дослід 3.** Якісна реакція на гліцерол (акролеїнова реакція)

**Принцип реакції.** При нагріванні гліцеролу з калій гідросульфатом відбувається дегідратація, у результаті якої гліцерол перетворюється на акролеїн – ненасичений альдегід етилового ряду зі специфічним запахом.

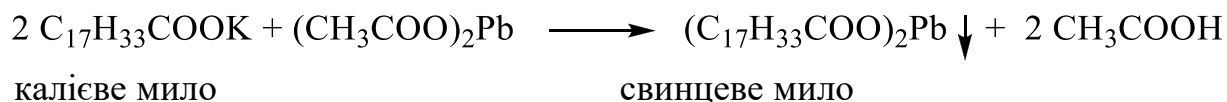
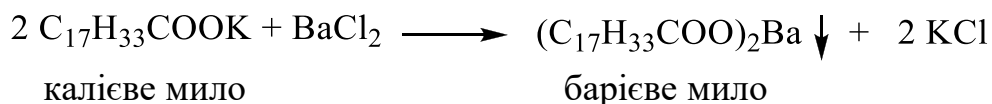


**Хід роботи.** На дно 2-х пробірок поміщають декілька кристаликів калій гідросульфату, потім в 1-у пробірку вносять 5 крапель розчину калієвого мила, отриманого в 1-му досліді, а в 2-у пробірку – 5 крапель гліцеролу.

Нагрівають дві пробірки в полум'ї пальника. Утворення акролеїну визначають за характерним запахом альдегіду в 2-ій пробірці – *запах горілого сала*.

**Дослід 4.** Одержання нерозчинних мил

**Принцип реакції.** При додаванні до розчину калієвого мила розчину солей барію та п्लумбуму утворюються нерозчинні солі вищих жирних кислот (нерозчинні мила).



**Хід роботи.** У дві пробірки додають 1 мл розчину калієвого мила та вносять відповідно по 1 мл 5 %-го розчину барій хлориду та 5%-го розчину п्लумбум ацетату. Спостерігають утворення нерозчинних мил у вигляді осаду.

**Дослід 5.** Якісна реакція на холестерол (реакція Сальковського)

**Принцип реакції.** Реакції якісного виявлення холестеролу ґрунтуються на його здатності перетворюватися із вторинного спирту на ненасичений вуглеводень.

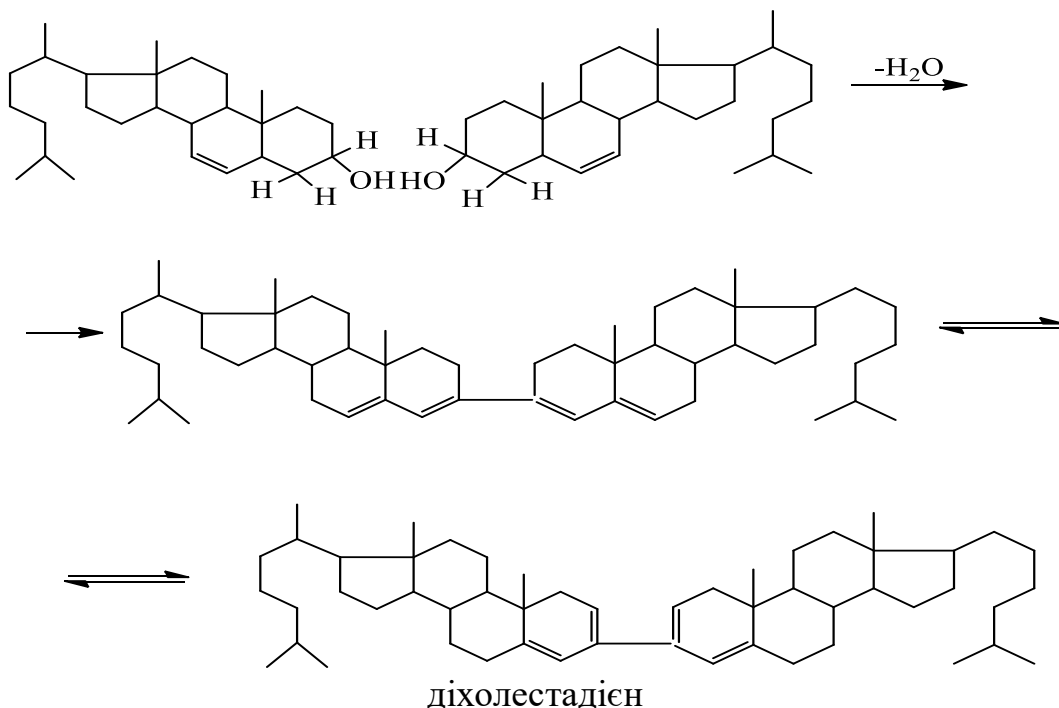
Розчин холестеролу у хлороформі дає з оцтовим ангідридом і концентрованою сульфатною кислотою червоне забарвлення, яке переходить потім у синє та зелене. Отже, у присутності сульфатної кислоти відбувається дегідратація та окиснення холестеролу. В результаті дві молекули холестеролу, які втрачають дві молекули води, сполучаються між собою біля третього атома

Карбону. Ненасичені вуглеводні, які утворилися, зі спряженими подвійними зв'язками дають різні похідні із сульфатною кислотою та оцтовим ангідридом.

**Хід роботи.** У пробірку вносять 0,5 мл розчину холестеролу у хлороформі, додають 0,5 мл концентрованої сульфатної кислоти й обережно струшують.

Після розшарування фаз спостерігають зміну забарвлення: верхній шар, який містить холестерол у хлороформі, забарвлюється в *пурпурово-червоний колір*, а нижній (шар сульфатної кислоти) – у *темно-червоний колір* із зеленою флуоресценцією.

Забарвлення згодом переходить у *фіолетове*, потім – у *зелене* і, зрештою, – у *жовте*.



Результати дослідів 1-5 запишіть у таблицю 6 за аналогією:

Таблиця 6

Реакції на жири та жироподібні речовини

№ п/п	Назва дослідів	Реактиви, які використовують	Зміни, що відбуваються під час реакції	Висновок
1	2	3	4	5
1	Омилення жиру (проводиться попередньо)	1) 1 мл рослинної олії; 2) 20 мл 50%-го спиртового розчину калій гідроксиду. Суміш перемішують та кип'ятять.	Прозорий розчин	Утворення калієвого розчину (лужний гідроліз)



**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

**✍ Завдання для домашнього виконання**

1. Розпишіть формули насичених (пальмітинової, стеаринової) та ненасичених (олеїнової, лінолевої, ліноленової, арахідонової) вищих жирних кислот. Покажіть числовий код цих кислот.

2. Напишіть формулу триацигліцеролу, що містить у своєму складі пальмітинову та дві стеаринові кислоти; триацилгліцеролу, що містить у своєму складі олеїнову, лінолеву, ліноленову кислоти. Дайте їм назви (наприклад, якщо триацигліцерол містить три залишки стеаринової кислоти, назва триацигліцеролу – тристеарат).

3. Заповніть таблицю 7:

Таблиця 7

**Хімічна будова та біологічна роль основних ліпідів**

Класи ліпідів	Хімічна будова	Біологічна роль
Триацилгліцероли		
Воски		
Фосфоліпід		
Стероли		

**Лабораторна робота № 6**

**РЕАКЦІЇ НА СКЛАДОВІ КОМПОНЕНТИ НУКЛЕОПРОТЕЇДІВ ДРІЖДЖІВ**

**Мета роботи:** виявити особливості складових компонентів нуклеопротеїдів.

**Практичне значення роботи:** у біохімічних дослідженнях кольорові реакції на складові компоненти нуклеопротеїдів проводяться для їх ідентифікації та кількісного визначення.

**Матеріали та реактиви:** штатив для пробірок, пробірки, термостат, пісочна баня, водяна баня; дріжджі, 5%-й розчин сульфатної кислоти, 20%-й розчин натрій гідроксиду, 1%-й розчин купрум (II) сульфату, концентрований розчин амоній гідроксиду, 2%-й амонійний розчин аргентум нітрату, молібденовий реактив, 1%-й розчин дифеніламіну.

**Хід роботи**

**Дослід 1.** Гідроліз нуклеопротеїдів дріжджів (проводиться попередньо!)

**Хід роботи.** У пробірку із пробкою та вставленою довгою скляною трубкою, що являє собою зворотний холодильник, вносять близько 1 г дріжджів та додають 10-15 мл 5%-го розчину сульфатної кислоти. Нагрівають на піщаній бані протягом 45 хв. Після охолодження гідролізат фільтрують. Отримують гідролізат дріжджів.

**Дослід 2.** Виявлення в гідролізаті дріжджів білка за допомогою біуретової реакції

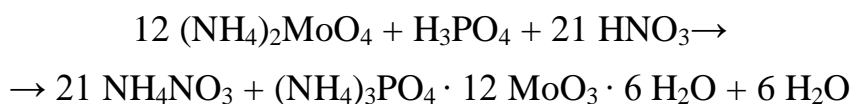
**Хід роботи.** У пробірку до 5 крапель гідролізату дріжджів доливають 10 крапель 20%-го розчину натрій гідроксиду, потім 2 краплі 1%-го розчину купрум (II) сульфату. Спостерігають появу *рожевого* або *рожево-фіолетового забарвлення*.

**Дослід 3.** Виявлення в гідролізаті дріжджів пуринових основ

**Хід роботи.** У пробірку до 10 крапель гідролізату дріжджів додають 10 крапель концентрованого розчину амоній гідроксиду, потім 10 крапель 2%-го амонійного розчину аргентум нітрату. Через 3-5 хв утворюється *пухкий осад солей пуринових основ*.

**Дослід 4.** Виявлення в гідролізаті дріжджів фосфорної кислоти

**Принцип реакції.** Метод ґрунтується на взаємодії фосфорної кислоти з молібденовим реактивом. У результаті утворюється забарвлена сполука – фосфорна сіль амоній молібдату.



**Хід роботи.** У пробірку до 3-5 крапель гідролізату дріжджів додають 20 крапель молібденового реактиву та кип'ячать на водяній бані протягом декількох хв. Розчин набуває жовтуватого забарвлення. При охолодженні утворюється *осад жовтого кольору*.

**Дослід 5.** Виявлення в гідролізаті дріжджів рибози та дезоксирибози

**Хід роботи.** У пробірку до 5 крапель гідролізату дріжджів додають 20 крапель 1%-го розчину дифеніламіну та кип'ячать на водяній бані протягом 15 хв. Спостерігають появу *синьо-зеленого забарвлення*.

Результати дослідів 1-5 запишіть у таблицю 8 за аналогією:

Таблиця 8

Реакції на складові компоненти нуклеопротейдів дріжджів

№ п/п	Назва дослідів	Реактиви, які використовують	Зміни, що відбуваються під час реакції	Висновок
1	2	3	4	5
1	Гідроліз нуклеопротейдів дріжджів (проводиться попередньо)	1) 1 г дріжджів; 2) 10-15 мл 5%-го розчину сульфатної кислоти. Нагрівають на піщаній бані впродовж 45 хв.	Прозорий розчин жовтуватого забарвлення	Утворення гідролізату дріжджів

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

**✍ Завдання для домашнього виконання**

1. Опишіть схематично методи виділення нуклеїнових кислот.
2. Відзначте особливості будови вторинної структури нуклеїнових кислот. Напишіть, як утворюються антипаралельні ланцюги в молекулі ДНК.
3. Опишіть типи РНК, їх будову, перелічіть біологічні функції та вкажіть локалізацію в клітині (мРНК, тРНК, рРНК). Подайте дані у вигляді таблиці.

**Лабораторна робота № 7  
ЗАГАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ**

**Мета роботи:** засвоїти загальні властивості ферментів у ході виконання дослідів.

**Практичне значення роботи:** вивчення властивостей ферментів необхідне для підбору оптимальних умов дії ферментів або визначення їх активності в наукових чи клінічних дослідженнях, а також для проведення фармакологічного аналізу ферментативних препаратів.

**Матеріали і реактиви:** штатив для пробірок, пробірки, піпетки, крапельниці, фарфорова ступка з товкачиком, термостат, водяна баня з термометром, сірники, спиртівка, скляні палички, годинникове або предметне скло, чашка Петрі; лід, розчин амілази слини, дистильована вода, 1%-й розчин крохмалю, реактив Люголя (1%-й розчин йоду в калій йодиді), варена й сира картопля, 3%-й розчин  $H_2O_2$ , 5%-й розчин сахарози або 2%-й розчин сахарози, препарат сахарози (гідролізат дріжджів), 0,4%-й розчин натрій гідроксиду, 0,4%-й розчин хлоридної кислоти, 1%-й розчин натрій хлориду, 1%-й розчин купрум (II) сульфату, реактив Фелінга (реактив Фелінга I та реактив Фелінга II).

**Хід роботи**

**Дослід 1.** Дія амілази

**Принцип методу.** Амілаза є ферментом, який каталізує гідроліз  $\alpha$ -глюкозидного зв'язку  $\alpha$ -1-4-крохмалю до проміжних продуктів – декстринів. Крохмаль утворює з йодом сполуку *синього* кольору, амілодекстрин – *фіолетового*, еритродекстрин – *червоно-бурого*, ахродекстрин – *жовтого*.

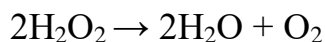
**Хід роботи.** У дві пробірки наливають по 2 мл 1%-го розчину крохмалю, в одну із пробірок додають 2 мл розчину амілази слини; вміст пробірки добре перемішують. Обидві пробірки із зануреними в них скляними паличками одночасно поміщають у водяну баню при температурі 40 °С. Через 4 хв з кожної пробірки за допомогою скляної палички відбирають по краплі рідини, змішують їх окремо з краплею реактиву Люголя, заздалегідь нанесеною на годинникове або предметне скло. Повторюють взяття проб через 6 та 10 хвилин.

Забарвлення з йодом проб із пробірки, що містить **слину**, змінюється від *синього* до *синьо-фіолетового*, *буро-червоного*, *червоного* і, зрештою, – *жовтого*.

До вмісту пробірки з розчином амілазою слини додають реактив Фелінга (реактив Фелінга I та реактив Фелінг II по 0,5 мл відповідно) і нагрівають до кипіння. Утворюється червоний осад купрум (I) оксиду.

### Дослід 2. Дія каталази

**Принцип методу.** Каталаза прискорює реакцію розщеплення гідроген пероксиду на  $\text{H}_2\text{O}$  та  $\text{O}_2$ :



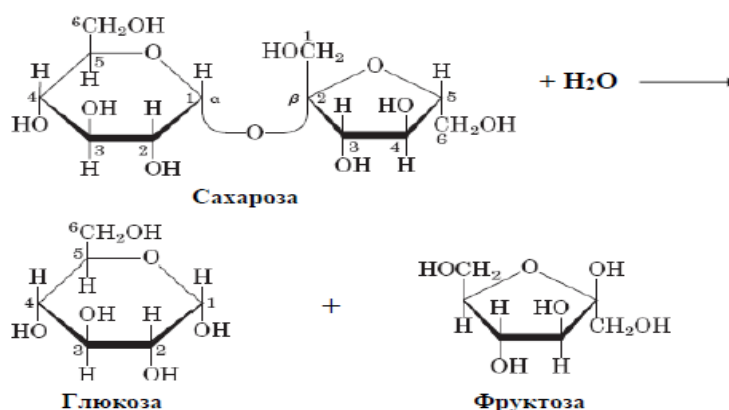
У цій реакції одна молекула гідроген пероксиду окиснюється і виступає донором електронів, а друга молекула відновлюється і виступає акцептором електронів.

**Хід роботи.** Розрізати сирю та варену картоплю, додати на зрізи по 2 краплі розчину  $\text{H}_2\text{O}_2$ .

На зрізі сирої картоплі внаслідок утворення молекулярного кисню утворюється велика кількість бульбашок. На вареній картоплі бульбашки газу не спостерігатимуться.

### Дослід 3. Дія сахарози

**Принцип методу.** Сахароза каталізує гідроліз сахарози до глюкози та фруктози.



Моносахариди, які утворюються, визначають реакцією Фелінга. Сахароза не містить вільної альдегідної групи і тому не має відновних властивостей.

**Хід роботи.** У дві пробірки наливають по 1 мл препарату сахарози (гідролізат дріжджів). Вміст однієї з них (контроль) кип'ятять протягом 3 хв, після чого в обидві пробірки (охлаждені) додають по 3 мл 5%-й розчину сахарози або 2%-й розчину сахарози, добре перемішують і ставлять у термостат (або у водяну баню) при температурі  $38^\circ\text{C}$ . Через 15 хв у пробірки вносять реактив Фелінга (реактив Фелінг I та реактив Фелінг II по 0,5 мл відповідно), перемішують і нагрівають до кипіння.

У контрольній пробірці осаду немає, а в пробірці з активним ферментом сахаразою (дослід) утворюється *червоний осад купрум (I) оксиду*.

**Дослід 4.** Термолабільність ферментів. Вплив температури на активність амілази слини

**Принцип методу.** Швидкість розщеплення крохмалю під дією амілази залежить від температури й визначається за інтенсивністю забарвлення розчину крохмалю чи продуктів його перетворення з йодом.

**Хід роботи.** У чотири пробірки наливають по 5 мл 1%-го розчину крохмалю. Пробірку 1 залишають при кімнатній температурі, пробірку 2 поміщають у термостат при температурі 40<sup>0</sup>С, пробірку 3 – у киплячу водяну баню, а пробірку 4 – ставлять у лід.

Через 15 хв у всі пробірки, залишаючи їх за тих самих умов, додають по 1 мл розчину амілази слини та перемішують скляною паличкою. За гідролізом крохмалю спостерігають за реакцією з краплею реактиву Люголя, заздалегідь нанесеною на годинникове або предметне скло через 1, 2, 4, 6, 8, 10 та 12 хвилин.

У пробірці 1 при кімнатній температурі відзначається *червоне* чи *фіолетово-червоне забарвлення*, у пробірці 2 при оптимальній температурі (40<sup>0</sup>С) – *жовте забарвлення*, у пробірці 3 (100<sup>0</sup>С) та пробірці 4 (лід) – *синє забарвлення*.

**Дослід 5.** Вплив рН середовища на активність амілази слини

**Принцип методу.** Для амілази слини оптимальне значення при рН = 6,8. У дуже кислому й сильнолужному середовищі активність амілази знижується.

**Хід роботи.** У 1-у, 2-у та 3-ю пробірки додати по 0,5 мл 1,0%-го розчину крохмалю, 0,5 мл розчину амілази слини; в 1-у пробірку – 1,0 мл 0,4%-го розчину натрій гідроксиду, в 2-у пробірку – 1,0 мл 0,4%-го розчину хлоридної кислоти, в 3-ю пробірку – 1,0 мл води. Нагрівають у термостаті при t = 38<sup>0</sup>С (або водяній бані). Через 15 хв у кожен пробірку додати по 3 краплі реактиву Люголя.

У 1-й пробірці спостерігається *жовте забарвлення*, у 2-й і 3-й пробірках – *фіолетове забарвлення*.

**Дослід 6.** Дія активаторів та інгібіторів на активність амілази слини

**Принцип методу.** Активатором амілази є натрій хлорид, а інгібітором – купрум (II) сульфат. Вплив цих речовин на активність амілази визначають за ступенем гідролізу крохмалю під впливом ферменту за наявності натрій хлориду та купрум (II) сульфату.

**Хід роботи.** В 1-у пробірку наливають 1,5 мл води, в 2-у пробірку – 1 мл води та 0,5 мл розчину NaCl, у 3-ю пробірку – 1 мл води та 0,5 мл розчину купрум (II) сульфату. В усі пробірки додають по 1,5 мл розчину амілази слини, перемішують, вносять по 1,5 мл 1%-го розчину крохмалю, знову перемішують і

ставлять у термостат при температурі 38<sup>0</sup>С (або у водяну баню). Через 5 хв додають по 5 крапель 1%-го розчину реактиву Люголя.

У 1-й пробірці спостерігається *фіолетове* або *червоне забарвлення*, у 2-й пробірці – *прозора рідина* або *жовте забарвлення*, у 3-й пробірці – *синє забарвлення*.

### Дослід 7. Специфічність дії амілази та сахарози

**Принцип методу.** Амілаза розщеплює полісахарид крохмаль і не діє на дисахариди (мальтозу чи сахарозу). Сахароза розщеплює тільки сахарозу й не розщеплює крохмаль та інші дисахариди.

**Хід роботи.** В 1-у та 2-у пробірки наливають по 1 мл 1%-го розчину крохмалю. У 1-у пробірку додають 1 мл розчину амілази слини, в 2-у пробірку – 1 мл препарату сахарози (гідролізат дріжджів), потім перемішують і поміщають у термостат при температурі 38<sup>0</sup>С (або у водяну баню).

У 3-ю та 4-у пробірки наливають по 1 мл 5%-го розчину сахарози або 2%-го розчину сахарози. У 3-ю пробірку додають 1 мл препарату сахарози (гідролізат дріжджів), а 4-у пробірку – 1 мл розчину амілази слини й залишають за тих самих умов.

Через 5 хв у 1-у та 2-у пробірки додають по 5 крапель реактиву Люголя та спостерігають за забарвленням.

У 3-ю та 4-у пробірки додають реактив Фелінга (реактив Фелінг I та реактив Фелінг II по 0,5 мл відповідно) та нагрівають до кипіння.

У 1-й пробірці з розчином амілазою слини синє забарвлення розчину зникає внаслідок розщеплення крохмалю амілазою та спостерігається *прозора рідина* або *жовте забарвлення*. У 2-й пробірці розчин набуває *синього забарвлення*.

Сахароза відновних властивостей немає, тому в пробірці, де під впливом сахарози (гідролізату дріжджів) 5%-й розчин сахарози або 2%-й розчин сахарози розщепилася на глюкозу та фруктозу, відзначається *червоне забарвлення*, утворюється червоний осад купрум (I) оксиду.

Результати дослідів 1-7 запишіть у таблицю 9 за аналогією:

Таблиця 9

### Загальні властивості ферментів

Дослід 1. Дія амілази					
№ пробірки	Субстрат	Фермент	Умови	Час	Спостереження із реактивом Люголя
1	1%-й розчин крохмалю	Вода	Водяна баня, 40 <sup>0</sup> С	4 хв	
				6 хв	
				10 хв	
2	1%-й розчин крохмалю	Розчин амілази слини	Водяна баня, 40 <sup>0</sup> С	4 хв	
				6 хв	
				10 хв	

№ пробірки	Реактив	Умови	Спостереження із реактивом Фелінга
2	Фелінга	Після кипіння, 10 хв	
Дослід 2. Дія каталази			
Картопля	Реактив	Спостереження із H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	
Сира	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		
Варена	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>		

Дослід 3. Дія сахарози					
	Фермент	Субстрат	Умови	Реактив	Спостереження із реактивом Фелінга
К	Сахараза кип'ячена (кип'ячений гідролізат дріжджів)	5%-й розчин сахарози або 2%-й розчин сахарози	Термостат 38°C, 15 хв	Фелінга	
Д	Сахараза (гідролізат дріжджів)	5%-й розчин сахарози або 2%-й розчин сахарози		Фелінга	

Дослід 4. Термолабільність ферментів					
№	Субстрат	Фермент	Умови	Час	Спостереження із реактивом Люголя
1	1%-й розчин крохмалю	Розчин амілази слини	Кімнатна температура	1 хв	
				2 хв	
				4 хв	
				6 хв	
				8 хв	
				10 хв	
2	1%-й розчин крохмалю	Розчин амілази слини	Термостат 40°C	12 хв	
				1 хв	
				2 хв	
				4 хв	
				6 хв	
				8 хв	

3	Кипляча водяна баня 100°C	10 хв	
		12 хв	
		1 хв	
		2 хв	
		4 хв	
		6 хв	
		8 хв	
		10 хв	
4	Лід	12 хв	
		1 хв	
		2 хв	
		4 хв	
		6 хв	
		8 хв	
		10 хв	
12 хв			

**Дослід 5. Вплив рН середовища на активність амілази слини**

№	Субстрат / Фермент	Реактив	Умови	Спостереження із реактивом Люголя
1	1%-й розчин крохмалю / розчин амілази слини	NaOH	Термостат 38°C, 15 хв	
2		HCl		
3		Вода		

**Дослід 6. Дія активаторів та інгібіторів на активність амілази слини**

№	Субстрат / Фермент	Реактив	Умови	Спостереження із реактивом Люголя
1	1%-й розчин крохмалю / розчин амілази слини	вода	Термостат 38°C, 5 хв	
2		NaCl		
3		CuSO <sub>4</sub>		

**Дослід 7. Специфічність дії амілази та сахарози**

№	Субстрат	Фермент	Умови	Спостереження	
				Із реактивом Люголя	Із реактивом Фелінга
1	1%-й розчин крохмалю	розчин амілази слини	Термостат 38°C, 5 хв		
2	1%-й розчин крохмалю	сахараза (гідролізат дріжджів)			
3	5%-й розчин	сахараза (гідролізат			



	сахарози або 2%-й розчин сахарози	дріжджів)			
4	5%-й розчин сахарози або 2%-й розчин сахарози	розчин амілази слини			

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

#### **✍ Завдання для домашнього виконання**

1. Охарактеризуйте будову ферменту. Наведіть схематичне зображення розташування активного (каталітичного, адсорбційного) та алостеричного центрів ферменту. Вкажіть роль кожного центру.
2. Запишіть приклади основних класів ферментів: оксидоредуктаз, трансфераз, гідролаз, ліаз, ізомераз, лігаз (синтетаз).
3. Поясніть, у чому полягає специфічність дії ферментів. Укажіть сфери та особливості їх застосування.

### **Лабораторна робота № 8**

#### **ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВОДОРОЗЧИННІ ТА ЖИРОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ**

**Мета роботи:** навчитися виявляти вітаміни в різноманітних речовинах або біологічних рідинах, застосовуючи якісні реакції.

**Практичне значення роботи.** За допомогою якісних реакцій вітаміни можна виявляти в лікарських рослинах, препаратах і харчових продуктах.

**Матеріали та реактиви:** штатив для пробірок, пробірки, піпетки, сірники, водяна баня, спиртівка; 1%-й розчин сульфанілової кислоти та 5%-й розчин натрій нітриту – діазореактив, 10%-й розчин натрій карбонату, 5%-й розчин тіаміну (В<sub>1</sub>), розчин вітаміну В<sub>2</sub>, концентрована хлоридна кислота, металевий цинк (Zn); 3%-й розчин вітаміну РР, 5%-й розчин купрум ацетату; 1%-й розчин вітаміну В<sub>6</sub>, 1%-й розчин ферум (III) хлориду; 0,1%-й розчин аскорбінової кислоти, 0,01%-й розчин метиленового синього; риб'ячий жир у хлороформі, концентрована сульфатна кислота, розчин бром у хлороформі (1:60).

#### **Хід роботи**

#### **Якісні реакції на водорозчинні вітаміни**

### Дослід 1. Діазореакція на вітамін В<sub>1</sub>

**Принцип реакції.** У лужному середовищі тіамін із діазореактивом утворює складну комплексну сполуку *оранжевого або червоного кольору*.

**Хід роботи:** До діазореактиву, що складається з 5 крапель розчину сульфанілової кислоти та 5 крапель 5%-го розчину натрій нітриту, додають 1-2 краплі розчину тіаміну (вітаміну В<sub>1</sub>), потім по стінці, нахиливши пробірку, обережно додають 5-7 крапель 10%-го розчину натрій карбонату. На межі двох рідин утворюється *кільце оранжевого кольору*.

### Дослід 2. Реакція на вітамін В<sub>2</sub>

**Принцип реакції.** Гідроген, що утворився при додаванні металевого цинку до концентрованої хлоридної кислоти, відновлює жовтий рибофлавін спочатку в проміжну сполуку рожевого кольору, а потім в безбарвний лейкофлавін.

**Хід роботи.** У пробірку наливають 10 крапель розчину вітаміну В<sub>2</sub>, додають 5 крапель концентрованої хлоридної кислоти й опускають зернятко металевого цинку (Zn). Спостерігають *виділення пухирців водню*. Рідина поступово набуває *рожевого кольору*, а потім *знебарвлюється*.

### Дослід 3. Реакція на вітамін РР

**Принцип реакції.** Вітамін РР при нагріванні з розчином купрум ацетату утворює синій осад мідної солі нікотинової кислоти.

**Хід роботи.** Перед визначенням 3%-й розчин вітаміну РР обов'язково збовтують. Потім набирають у пробірку 20 крапель вітаміну РР і нагрівають до кипіння. При цьому каламутний розчин стає прозорим. Збовтавши 5%-й розчин купрум ацетату, доливають 20 крапель до попередньо нагрітого розчину вітаміну РР. Потім вміст пробірки доводять до кипіння, відразу ж охолоджують під струменем холодної води. Спостерігають випадіння на дні пробірки *синього осаду мідної солі нікотинової кислоти*.

### Дослід 4. Реакція на вітамін В<sub>6</sub>

**Принцип реакції.** Вітамін В<sub>6</sub> при взаємодії з розчином ферум хлориду утворює комплексну сіль ферум феноляту червоного кольору.

**Хід роботи.** До 5 крапель 1%-го розчину вітаміну В<sub>6</sub> доливають рівну кількість 1%-го розчину ферум (III) хлориду, перемішують. Спостерігають появу *червоного забарвлення*.

### Дослід 5. Реакція на вітамін С

**Принцип реакції.** Аскорбінова кислота легко вступає в окисно-відновні реакції та відновлює метиленовий синій. При цьому метиленовий синій відновлюється в безбарвну сполуку.

**Хід роботи.** У дві пробірки вносять по 1 краплі 0,01%-ого розчину метиленового синього і додають по 1 краплі 10 %-го розчину натрій карбонату. У 1-у пробірку додають 5 крапель розчину аскорбінової кислоти, у 2-у пробірку

– 5 крапель води. Обидві пробірки ставлять у термостат при  $t = 37-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Через деякий час у пробірці з розчином аскорбінової кислоти спостерігають знебарвлення рідини.

### Якісні реакції на жиророзчинні вітаміни

#### Дослід 1. Реакція на вітамін А

**Принцип реакції.** При взаємодії вітаміну А, що міститься в риб'ячому жирі, із концентрованою сульфатною кислотою з'являється червоне забарвлення.

**Хід роботи.** У суху пробірку наливають 3 краплі ретинолу та додають 1 краплю концентрованої сульфатної кислоти. Спостерігають появу фіолетового забарвлення, яке переходить у червоно-буре.

#### Дослід 2. Реакція на вітамін D

**Принцип реакції.** Вітамін D, що міститься в риб'ячому жирі, при взаємодії з розчином бром у хлороформі набуває зеленувато-блакитного забарвлення.

**Хід роботи.** У суху пробірку вносять 2-3 краплі риб'ячого жиру та 2-4 краплі розчину бром у хлороформі (1:60). Про наявність вітаміну D свідчить поява зеленувато-блакитного забарвлення.

Результати досліду 1-5 (водорозчинні вітаміни) та досліду 1-2 (жиророзчинні вітаміни) запишіть у таблицю 10 за аналогією:

Таблиця 10

#### Якісні реакції на водорозчинні та жиророзчинні вітаміни

№ п/п	Назва реакції	Реактиви, які використовують	Зміни, що відбуваються під час реакції	Що виявляє реакція
1	2	3	4	5
1	Діазо-реакція на вітамін B <sub>1</sub>	1) діазореактив; 2) 1-2 краплі розчину тіаміну (розчину вітаміну B <sub>1</sub> ); 3) 5-7 крапель 10%-го розчину натрій карбонату	Кільце оранжевого кольору	Вітамін B <sub>1</sub>

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

#### ✍ Завдання для домашнього виконання

1. Заповніть таблицю 11:

## Характеристика водорозчинних і жиророзчинних вітамінів

Назва вітаміну	Хімічна будова вітаміну	Добова потреба, джерела	Біологічні функції	Авітаміноз	Гіповітаміноз	Гіпервітаміноз
1	2	3	4	5	6	7

### Лабораторна робота № 9 ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ГОРМОНИ

**Мета роботи:** провести якісні реакції на гормони та засвоїти їх особливості.

**Практичне значення роботи.** За допомогою якісних реакцій можна визначити наявність гормонів різної природи у пробі.

**Матеріали та реактиви:** штатив для пробірок, пробірки, піпетки, електрична плитка, азбестова сітка; дистильована вода, розчин адреналіну (1:1000), розчин інсуліну (в ампулах), 3%-й розчин ферум (III) хлориду, 10%-й розчин натрій гідроксиду, діазореактив (або 1%-а сульфанілова кислота та 5%-й розчин натрій нітриту), 10%-й розчин натрій карбонату; 10%-й розчин натрій гідроксиду, 1%-й розчин купрум сульфату, 5%-й розчин плюмбум ацетату, 20%-й розчин сульфосаліцилової кислоти.

#### Хід роботи

**Дослід 1.** Якісні реакції на адреналін

**Принцип реакції.** Реакції ґрунтуються на утворенні забарвлених продуктів під час окиснення адреналіну в пробі.

**а) реакція з ферум (III) хлоридом**

**Хід роботи.** У пробірку вносять 0,5-1 мл розчину адреналіну (1 : 1000), додають 1-2 краплі 3%-го розчину ферум (III) хлориду, перемішують. Спостерігають появу *смарагдово-зеленого забарвлення*. Далі додають 1 краплю 10%-го розчину натрій гідроксиду – з'являється *вишнево-червоне забарвлення*, а потім *коричнєве*.

**б) реакція з діазореактивом**

**Хід роботи.** До 0,5 мл діазореактиву (або до 0,5 мл 1%-ої сульфанілової кислоти додають 0,5 мл 5%-го розчину натрій нітриту – утворюється діазореактив) додають 0,5 мл розчину адреналіну (1 : 1000), 0,5 мл 10%-го розчину натрій карбонату, перемішують. Розчин забарвлюється у *червоний колір*.

**Дослід 2.** Якісні реакція на інсулін

**а) біуретова реакція на інсулін**

**Принцип реакції.** У лужному середовищі поліпептиди утворюють комплексні солі Купруму, які мають фіолетове забарвлення. Біуретова реакція підтверджує білкову природу інсуліну, що містить пептидний зв'язок.

**Хід роботи.** До 5 крапель розчину інсуліну додають 5 крапель 10%-го розчину натрій гідроксиду та 1 краплю 1%-го розчину купрум сульфату. Перемішують, струшують. Спостерігають появу *фіолетового забарвлення*. Роблять висновки про пептидну природу інсуліну.

**б) реакція на залишки сульфуровмісних амінокислот в інсуліні (реакція Фоля)**

**Принцип реакції.** Реакція ґрунтується на взаємодії сульфуровмісних амінокислот з лугами при нагріванні. При цьому від амінокислот відщеплюється Сульфур у вигляді гідроген сульфід, який виявляють за допомогою реакції з плюмбум ацетатом.

**Хід роботи.** До 5 крапель розчину інсуліну додають 5 крапель 10%-го розчину натрій гідроксиду, нагрівають до кипіння. Потім додають 2-3 краплі 5%-го розчину плюмбум ацетату. Спостерігають появу *коричневого або чорного забарвлення*. Роблять висновок про вміст цистину, цистеїну в складі інсуліну, а також відмічають значення дисульфідних зв'язків у його структурі.

**в) реакція на інсулін із сульфосаліциловою кислотою**

**Принцип реакції.** Реакція ґрунтується на взаємодії інсуліну з розчином сульфосаліцилової кислоти з утворенням осаду білого кольору.

**Хід роботи.** До 1 мл розчину інсуліну, додають 5 крапель 20%-го розчину сульфосаліцилової кислоти. Спостерігають утворення *білого осаду*.

Результати дослідів 1-2 запишіть у таблицю 12 за аналогією:

Таблиця 12

Якісні реакції на гормони

№ з/п	Назва реакції	Реактиви, які використовують	Зміни, що відбуваються під час реакції	Висновок
1	2	3	4	5
1	Якісна реакція на адреналін а) реакція з ферум (III) хлоридом	1) 0,5 мл-1 мл розчину адреналіну (1 : 1000); 2) 1-2 краплі 3%-го розчину ферум (III) хлориду. Перемішують. 4) 1 краплю 10%-го розчину натрій гідроксиду	З'являється смарагдово-зелене забарвлення, потім – вишнево-червоне та зрештою – коричневе.	Якісна реакція на адреналін

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

## ✍ Завдання для домашнього виконання

1. Заповніть таблицю 13:

Таблиця 13

Класифікація гормонів

Місце синтезу гормону	Назва гормону	Хімічна природа гормону	Функція гормону	Надлишок, недостатність гормону
1	2	3	4	5
Гіпоталамус				
Гіпофіз: Передня частка Задня частка				
Паращитовидна залоза				
Щитовидна залоза				
Підшлункова залоза				
Наднирники				
Статеві залози				

### Лабораторна робота № 10

#### ВИЗНАЧЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ ГЛЮКОЗИ В БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ ГЛЮКОЗООКСИДАЗНИМ МЕТОДОМ

**Мета роботи:** навчитися визначати концентрацію глюкози в біологічних рідинах глюкозооксидазним методом.

**Практичне значення роботи:** найчастіше показником вуглеводного обміну з діагностичною метою є вміст глюкози в крові та сечі. Підвищення рівня глюкози досить часто відзначається при цукровому діабеті, пухлинах кори наднирників, гіперфункції щитовидної залози, захворюваннях печінки, ураженнях ЦНС.

**Матеріал:** сироватка (концентрація глюкози стабільна протягом 24 год при температурі від +2 до +8<sup>0</sup>С; за умови, що сироватку або плазму приготовлено не пізніше ніж через 30 хв після забору крові. Якщо вміст глюкози в сироватці крові або плазмі перевищує 27,7 ммоль/л, її необхідно розбавити фізіологічним розчином у співвідношенні 1:5 та повторити дослід); штатив для пробірок, біохімічні пробірки.

**Реактиви:** ензими (розчин): пероксидаза, β,D-глюкооксидаза, 4-амінофеназон, стабілізатори, активатори, буферний розчин (фосфатний буфер – рН = 7,2-7,4), фенол, калібрувальний розчин глюкози (10±0,5 ммоль/л), фізіологічний розчин (0,9%-й розчин натрій хлориду).

#### **Приготування робочих розчинів.**

Для варіанта аналізу з використанням БІРЕАГЕНТУ всі розчини готові до роботи та стабільні до закінчення гарантійного терміну придатності (при дотриманні умов зберігання – температура від +2 до +16<sup>0</sup>С).

**Калібрувальний розчин глюкози розбавляють у 10 разів** (0,1 мл калібрувального розчину глюкози – 10 ммоль/л – змішують із 0,9 мл фізіологічного розчину).

### Хід роботи

Аналіз проводиться згідно зі схемою, поданою в таблиці 14.

**Принцип методу:** глюкоза в присутності глюкозооксидази окиснюється киснем повітря до глюконової кислоти й гідроген пероксиду, який у присутності пероксидази реагує з фенолом та 4-амінофеназоном з утворенням хіноніміну *червоно-фіолетового кольору*, який визначається фотометрично при довжині хвилі 540 нм.

Таблиця 14

Робоча схема проведення досліду із визначення концентрації глюкози в біологічних рідинах глюкозооксидазним методом

Буферний розчин (мл)	Ензими (мл)	Фізіологічний розчин (мл)	Розведений калібрувальний розчин глюкози (мл)	Матеріал, що аналізується (мл)	Показники оптичної щільності	
					Е калібрувальної проби	Е дослідної проби
Холоста проба (контрольна проба)						
2,00	2,00	0,04	–	–	–	–
Калібрувальна проба						
2,00	2,00	–	0,4	–	–	–
Дослідна проба (1, 2, 3, ... 10)*						
2,00	2,00	–	–	0,04	–	–

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

Окремо пробірки холостої проби (контрольної проби), калібрувальної проби, дослідної проби змішати, витримати протягом 20 хв при кімнатній температурі від +18<sup>0</sup>С до +25<sup>0</sup>С або протягом 12 хвилин при температурі +37<sup>0</sup>С.

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

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

$$C = 10,0 \cdot E_{\text{дослідної проби}} / E_{\text{калібрувальної проби}},$$

де 10 – концентрація глюкози в калібрувальному розчині (ммоль/л);

E дослідної проби – оптична щільність дослідної проби;

E калібрувальної проби – оптична щільність калібрувальної проби.

### Контроль якості.

Достовірність отриманих результатів контролюють за допомогою атестованих контрольних сироваток «Ліонорм» (Чехія).

У нормі вміст глюкози в сироватці венозної крові становить 4,1-6,11 ммоль/л.

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

### ☞ Завдання для домашнього виконання

1. Заповнити таблицю 15:

Таблиця 15

Перетравлення вуглеводів у шлунково-кишковому тракті

Назва ферменту	Місце знаходження ферменту	pH середовища	Місце дії ферменту, в молекулі вуглеводу	Що утворюється в результаті розщеплення
1	2	3	4	5

2. Написати реакції (стадії) синтезу (глікогенезу) та розщеплення глікогену.
3. Поясніть, до чого призводить порушення вуглеводного обміну.

### Лабораторна робота № 11

#### ВИЗНАЧЕННЯ МОЛОЧНОЇ КИСЛОТИ В БІОЛОГІЧНОМУ МАТЕРІАЛІ

**Мета роботи:** навчитися виявляти молочну кислоту в м'язовій тканині.

**Практичне значення роботи:** у ході лабораторного дослідження виявити в м'язовій тканині молочну кислоту, що утворюється під час гліколізу.

**Матеріали та реактиви:** чашка Петрі, ножиці, фарфорова ступка, марля, електроплитка, фільтрувальний папір, штатив для пробірок, пробірка, піпетки; м'язова тканина; 1%-й розчин фенолу, 1%-й розчин ферум (III) хлориду, 0,5%-й розчин молочної кислоти, дистильована вода.

#### Хід роботи

Подрібнюють 2-3 г м'язової тканини у чашці Петрі ножицями та поміщають у фарфорову ступку, де розтирають з 5-6 мл дистильованої води.

Отриману м'язову кашкицю фільтрують через два шари марлі. Фільтрат кип'ятять протягом 1 хв та знову фільтрують.

У три пробірки, які містять по 5 мл 1%-го розчину фенолу, по краплях додають 1%-й розчин Ферум (III) хлориду до появи *інтенсивного фіолетового забарвлення*.



До вмісту *першої* пробірки приливають 1 мл 5%-го розчину молочної кислоти, *другої* пробірки – 1 мл витяжки з м'язової тканини, *третьої* пробірки – 1 мл води. Вміст усіх 3-х пробірок добре перемішують.

Результати досліду запишіть у таблицю 16 за аналогією:

Таблиця 16

Визначення молочної кислоти в біологічному матеріалі

Вміст пробірки	Кількість, мл		
	1-а пробірка	2-а пробірка	3-я пробірка
Розчин фенолу	5 мл	5 мл	5 мл
Розчин FeCl <sub>3</sub>	5 крапель	5 крапель	5 крапель
Забарвлення (1)			
Розчин молочної кислоти	1 мл	–	–
Витяжка з м'язової тканини	–	1 мл	–
Дистильована вода	–	–	1 мл
Забарвлення (2)			

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

**☞ Завдання для домашнього виконання**

1. Запишіть ферменти, які беруть участь у процесі гліколізу (для кожної реакції). Укажіть клас, до якого вони належать і виконувану ними роль.

2. Запишіть шляхи утворення високоенергетичних фосфатних зв'язків у ході катаболізму глюкози. Укажіть, скільки молекул АТФ при цьому утворюється.

3. На яких етапах циклу Кребса виділяється CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, протони водню? Запишіть реакції.

4. Складіть схему метаболізму вуглеводів на окремому аркуші, що включає: перетравлення вуглеводів у шлунково-кишковому тракті; реакції синтезу й розщеплення глікогену (глікогеноліз); реакції гліколізу; реакції циклу Кребса; дихальний ланцюг; гліконеогенез; пентозофосфатний цикл (тільки загальне значення, без реакцій).

**Лабораторна робота № 12**

**ПЕРЕТРАВЛЕННЯ БІЛКІВ У ШЛУНКОВО-КИШКОВОМУ ТРАКТІ**

**Мета роботи:** провести дослідження процесу перетравлення білків у шлунково-кишковому тракті на моделі *in vitro*.

**Практичне значення роботи:** дослідження проводиться для визначення активності отриманих ферментів лікарських засобів із підшлункової залози та зі слизової кишки (трипсин, хімотрипсин, панкреатин, фестал та ін.)

**Матеріали та реактиви:** штатив для пробірок, пробірки, термостат; шматочок вареного курячого яйця, 0,4%-й розчин натрію карбонату, дистильована вода, 0,1 моль/л розчин хлоридної кислоти, 0,1%-й розчин трипсину, біуретовий реактив.

## Хід роботи

Беруть три пробірки й наливають до *першої* пробірки 2 мл 0,4%-го розчину натрію карбонату, до *другої* пробірки – воду, до *третьої* пробірки – розчин хлоридної кислоти (0,1 моль/л). У 1-у та 3-ю пробірки додають по 1 мл 0,1%-го розчину трипсину (або панкреатину) і в 2-у – 1 мл розчину трипсину (або панкреатину), попередньо прокип'яченого.

Перемішують проби струшуванням.

У кожен пробірку поміщають по однаковому шматочку звареного курячого яйця та ставлять їх у термостат при температурі 38<sup>0</sup>С на 10 хв, стежачи за розчиненням білка.

Відзначають зміни, що відбуваються з денатурованим білком у ході інкубації.

Потім вміст пробірок зливають в інші пробірки та проробляють біуретову реакцію.

Результати досліду запишіть у таблицю 17 за аналогією:

Таблиця 17

### Перетравлення білків у шлунково-кишковому тракті

№ з/п	Реактиви, які використовуються	Зміни, що відбуваються з денатурованим білком у ході інкубації	Зміни, що відбуваються під час біуретової реакції	Висновок
1	2	3		5
1	1) 2 мл 0,4%-го розчину натрій карбонату; 2) 1 мл 0,1%-го розчину трипсину (або панкреатину); Струшують. 3) шматочок звареного курячого яйця; Термостат при температурі 38 <sup>0</sup> С на 10 хвилин.	Розщеплення білка	Забарвлення відсутнє	Під час дії трипсину (або панкреатину) на шматочок звареного курячого яйця в лужному середовищі відбувається процес руйнування пептидних зв'язків; тому біуретова реакція негативна

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

## **Лабораторна робота № 13**

### **ВИЗНАЧЕННЯ СЕЧОВИНИ В БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ ДІАЦЕТИЛМОНООКСИМНИМ МЕТОДОМ**

**Мета роботи:** засвоїти метод визначення концентрації сечовини в біологічних рідинах діацетилмонооксимним методом.

**Практичне значення роботи:** найчастіше показником білкового обміну та функціонального стану нирок і печінки з діагностичною метою є вміст сечовини в крові й сечі.

**Підвищення концентрації сечовини** в крові спостерігається при порушенні видільної функції нирок, посиленому розкладі білків, надлишковому білковому харчуванні. **Зниження рівня сечовини** в крові та виділення її із сечею спостерігається при цирозі печінки.

**Матеріал:** сироватка.

**Реактиви:** реагент діацетилмонооксиму, реагент тіосемікарбазиду, калібрувальний розчин сечовини ( $16,65 \pm 0,832$  ммоль/л), розчин трихлороцтової кислоти, сульфатна кислота, дистильована вода, фізіологічний розчин (0,9%-й розчин натрій хлориду).

#### **Приготування робочих розчинів.**

**Розчин діацетилмонооксиму.** В мірну колбу на 100 мл переносять вміст 1 ампули реагенту діацетилмонооксиму, об'єм доводять до мітки дистильованою водою. Розчин стійкий при температурі від  $0^{\circ}\text{C}$  до  $+25^{\circ}\text{C}$  протягом не більше ніж 2 місяці.

**Розчин сульфатної кислоти.** В мірну колбу на 200 мл наливають 60-80 мл дистильованої води і додають при перемішуванні вміст флакона із сульфатною кислотою. Після охолодження об'єм розчину доводять до мітки дистильованою водою. Розчин стійкий.

**Розчин тіосемікарбазиду.** В мірну колбу на 100 мл переносять вміст 1 ампули реагенту тіосемікарбазиду й доводять розчином сульфатної кислоти до мітки. Розчин стійкий при температурі від  $0^{\circ}\text{C}$  до  $+25^{\circ}\text{C}$  протягом не більше ніж 2 місяці.

**Калібрувальний розчин сечовини** – готовий до роботи.

**Розчин трихлороцтової кислоти.** В мірну колбу на 50 мл переносять 50%-й розчин трихлороцтової кислоти і доводять його при перемішуванні до мітки дистильованою водою. Розчин стійкий.

#### **Хід роботи**

Аналіз проводиться згідно зі схемою, поданою в таблиці 18.

**Принцип методу:** сечовина з діацетилмонооксимом у присутності іонів  $\text{Fe}^{3+}$ , та тіосемікарбазиду утворює комплекс *червоно-рожевого кольору*, що визначається фотометрично при довжині хвилі 520 нм.

Окремо пробірки холостої проби (контрольної проби), калібрувальної проби, дослідної проби закривають ковпачком (або накривають алюмінієвою фольгою), перемішують вміст і одночасно поміщають у бурхливо киплячу водяну баню на 10 хвилин.

Потім пробірки швидко охолоджують під струменем проточної води.

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

Забарвлення стабільне протягом 15 хвилин. Якщо після нагрівання розчин у пробірці з дослідною пробою мутніє, то його центрифугують протягом 5 хв або депротейнують розчином трихлороцтової кислоти.

Таблиця 18

Робоча схема проведення досліду з визначення концентрації сечовини в біологічних рідинах діацетилмонооксимним методом

Фізіологічний розчин (мл)	Калібрувальний розчин сечовини (мл)	Матеріал, що аналізується (мл)	Розчин тіо-семі-карбазиду (мл)	Розчин діацетил монооксиму (мл)	Показники оптичної щільності	
					Е калібрувальної проби	Е дослідної проби
Холоста проба (контрольна проба)						
0,02	–	–	2,00	2,00	–	–
Калібрувальна проба						
–	0,02	–	2,00	2,00		–
Дослідна проба (1, 2, 3, ... 10)*						
–	–	0,02	2,00	2,00	–	

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

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

$$C = 16,65 \cdot E \text{ дослідної проби} / E \text{ калібрувальної проби} ,$$

де 16,65 – концентрація сечовини 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 сечовини** в сироватці венозної крові становить 3,53-8,3 ммоль/л.

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

### ☞ Завдання для домашнього виконання

Складіть **схему метаболізму білків** на окремому аркуші, що включає: перетравлення білків у шлунково-кишковому тракті; реакції загальних шляхів розкладу амінокислот в організмі; реакції утворення амоніаку; реакції орнітинового циклу; глікогенні та кетогенні амінокислоти.

### Лабораторна робота № 14 ДІЯ ФОСФОЛІПАЗ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ НА ГЛІЦЕРОФОСФОЛІПІДИ ЯЄЧНОГО ЖОВТКА

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

**Практичне значення роботи:** у ході лабораторного дослідження виявити дію фосфоліпази підшлункової залози на гліцерофосфоліпіді 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<sup>0</sup>С 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 № 15 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 (карбоневий 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 склянкою 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 склянкою 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 19.

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

Окремо холосту пробу (контрольну пробу), калібрувальну та дослідну струшують 10-12 разів і витримують у термостаті при температурі +37°C 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).

Таблиця 19

Робоча схема проведення досліду з визначення концентрації холетеролу 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.

**За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.**

#### **✍ Завдання для домашнього виконання**

Складіть **схему метаболізму ліпідів** на окремому аркуші, що включає: перетравлення ліпідів у шлунково-кишковому тракті; реакції  $\beta$ -окиснення вищих жирних кислот; реакції окиснення гліцеролу; реакції синтезу холестеролу.

## **ІНДИВІДУАЛЬНЕ ПРАКТИЧНЕ ЗАВДАННЯ ДЛЯ СТУДЕНТІВ ЗАОЧНОЇ ФОРМИ НАВЧАННЯ**

Номер варіанта індивідуального практичного завдання студенти обирають відповідно до списку студентів у групі за алфавітом (табл. 20).

Студенти оформлюють індивідуальне практичне завдання на аркушах паперу формату А4 від руки. Його обсяг має становити 6-10 сторінок.

Індивідуальне практичне завдання виконується виключно українською мовою. Відповіді на питання повинні бути лаконічними та вичерпними водночас.

У верхньому правому куті необхідно зазначити П.І.Б., номер групи; далі вказати номер варіанта, номер (-и) та формулювання питання, дати відповідь (-і); навести список використаних джерел (не менше 5 джерел інформації, два з яких вийшли друком протягом останніх 5 років).

### **Теоретичні питання**

1. Історія розвитку біохімії як самостійної науки в світі та Україні. Види біохімії.
2. Характеристика двомембранних, одномембранних, немембранних органел клітини.
3. Кислотно-основні властивості амінокислот. Якісні реакції на амінокислоти (від 10; у вигляді таблиці).
4. Основні шляхи метаболізму амінокислот. Біологічні функції амінокислот.
5. Функції білків. Просторова будова білків.
6. Типи зв'язків у структурах білків. Характеристика природних пептидів.
7. Характеристика простих і складних білків. Характеристика процесу виділення білка з біологічного матеріалу, діалізу.
8. Характеристика теплової денатурації, процесу осадження білка, гелефільтрації білків. Характеристика іонообмінної та адсорбційної хроматографії.
9. Характеристика афінної хроматографії, електрофорезу, методів кристалізації білків. Визначення поліпептидної послідовності в структурі білка.
10. Характеристика, структура та біологічна роль моносахаридів. Особливості якісних реакцій на моносахариди.
11. Характеристика, структура та біологічна роль дисахаридів. Властивості дисахаридів. Реакції на дисахариди, які підтверджують їх властивості.
12. Характеристика, структура та біологічна роль полісахаридів. Властивості полісахаридів. Реакції на полісахариди, які підтверджують їх властивості.
13. Функції ліпідів (приклади). Структура й біологічна роль простих та складних ліпідів.
14. Структура та характеристика стероїдів, терпенів, ейкозаноїдів. Їх біологічна роль.



15. Особливості будови та роль нуклеїнових кислот у клітині. Структури ДНК.
16. Біологічна роль ферментів (навести приклади). Локалізація ферментів у клітині. Карбоксипептидаза А.
17. Хімічна природа ферментів. Особливості ферментативного каталізу.
18. Чинники, які впливають на швидкість ферментативних реакцій. Регуляція активності ферментів. Види інгібування ферментів.
19. Класифікація ферментів (приклади). Номенклатура ферментів (приклади).
20. Водорозчинні вітаміни: структура та роль; авітаміноз, гіповітаміноз, гіпервітаміноз.
21. Жиророзчинні вітаміни: структура та роль; авітаміноз, гіповітаміноз, гіпервітаміноз.
22. Характеристика та роль пептидних гормонів (у вигляді таблиці).
23. Характеристика та роль гормонів, похідних амінокислот (у вигляді таблиці).
24. Характеристика та роль стероїдних гормонів (у вигляді таблиці).
25. Обмін речовин як особливість живої матерії. Асиміляція (анаболізм) та дисиміляція (катаболізм). Загальні закономірності.
26. Сучасна теорія біологічного окиснення. Аеробне й анаеробне окиснення.
27. Субстратне й окислювальне фосфорилування (приклади реакцій).
28. Шляхи утворення АТФ в організмі. Макроергічні сполуки.
29. Перетравлення вуглеводів у шлунково-кишковому тракті. Дія ферментів.
30. Гліколіз: реакції, ферменти. Енергетичні ефекти окиснення.
31. Цикл Кребса. Енергетичні ефекти.
32. Ланцюг перенесення електронів. Флавінові ферменти. Убіхінони. Цитохроми та цитохромоксидаза.
33. Синтез глікогену. Розщеплення глікогену.
34. Глюконеогенез: реакції, ферменти.
35. Нервова й ендокринна регуляція вуглеводного обміну.
36. Перетравлення білків у шлунково-кишковому тракті. Дія протеолітичних ферментів, їх специфічність, активація ферментів.
37. Загальні шляхи розпаду амінокислот в організмі (дезамінування, декарбоксилювання, переамінування). Наведіть приклади реакцій.
38. Орнітиновий цикл: реакції, ферменти.
39. Шляхи перенесення амоніаку в печінку та нирки з периферичних тканин і з м'язів. Виведення амінного азоту з організму. Класифікація живих організмів по виведенню амінного азоту.
40. Перетравлення ліпідів у шлунково-кишковому тракті. Роль жовчі в перетравленні жирів. Транспорт ліпідів.
41. Гідроліз триацилгліцеролів (загальна схема гідролізу, схема гідролізу пальмітостеариноолеїнату).
42.  $\beta$ -Окиснення жирних кислот. Енергетичний ефект окиснення пальмітинової кислоти.
43. Окиснення гліцерину: реакції, ферменти.

44. Зв'язок між обміном білків, вуглеводів та ліпідів. Наведіть приклади.
45. Роль мінеральних речовин (макро-, мікроелементів) в організмі.
46. Вміст і розподіл, стан води в організмі та клітині. Роль води в процесах життєдіяльності. Обмін води.
47. Загальна характеристика крові. Склад та основні функції крові. Фізико-хімічні властивості крові. Хімічний склад крові.
48. Здатність крові до згортання. Механізми згортання крові.
49. Будова біомембран і роль ліпідів, білків і вуглеводовмісних сполук в їх організації.
50. Будова м'язів. Механізм м'язового скорочення. Розслаблення м'язів.
51. Запишіть механізм утворення тетрапептиду, що містить залишки наступних  $\alpha$ -амінокислот: а) аланіну, ізолейцину, тирозину та цистеїну; б) валіну, фенілаланіну, серину та лейцину; в) гліцину, треоніну, лізину та лейцину; г) ізолейцину, фенілаланіну, серину та аргініну.
52. Запишіть реакції утворення молекул АТФ, під час процесів обміну вуглеводів, білків, ліпідів. Укажіть загальну кількість молекул АТФ, що утворюються під час обміну вуглеводів, білків і ліпідів.

Таблиця 20

Номери варіантів індивідуального практичного завдання

№ варіанта	№ теоретичного завдання	№ варіанта	№ теоретичного завдання
1	2	3	4
1	1, 26, 51 а, 52	16	16, 41, 51 б, 52
2	2, 27, 51 б, 52	17	17, 42, 51 в, 52
3	3, 28, 51 в, 52	18	18, 43, 51 г, 52
4	4, 29, 51 г, 52	19	19, 44, 51 а, 52
5	5, 30, 51 а, 52	20	20, 45, 51 б, 52
6	6, 31, 51 б, 52	21	21, 46, 51 в, 52
7	7, 32, 51 в, 52	22	22, 47, 51 г, 52
8	8, 33, 51 г, 52	23	23, 48, 51 а, 52
9	9, 34, 51 а, 52	24	24, 49, 51 б, 52
10	10, 35, 51 б, 52	25	25, 50, 51 в, 52
11	11, 36, 51 в, 52	26	4, 29, 51 г, 52
12	12, 37, 51 г, 52	27	6, 30, 51 а, 52
13	13, 38, 51 а, 52	28	8, 31, 51 а, 52
14	14, 39, 51, 52	29	10, 32, 51, 52
15	15, 40, 51, 52	30	12, 33, 51, 52

## СПОСОБИ ПРИГОТУВАННЯ РЕАКТИВІВ

*Амонійний розчин аргентуму.* До 5%-го розчину аргентум нітрату по краплях додають розчин амоніаку доти, доки не розчиниться сірий осад.

*Діазореактив.* Готують у день проведення дослідів із основного розчину сульфанілової кислоти.

0,9 г сульфанілової кислоти розчиняють у 9 мл концентрованої хлороводневої кислоти і доводять водою до 100 мл. Зберігають у темній склянці. Цей основний розчин сульфанілової кислоти може зберігатися протягом 2-х тижнів.

1,5 мл основного розчину сульфанілової кислоти наливають у мірну колбу на 50 мл, що стоїть у льоду (або крижаній воді), додають 1,5 мл 5%-го розчину натрій нітриту. Через 1 хв поступово додають воду (при охолодженні) до позначки. Перемішують, залишають розчин у льоду на 15 хв. Розчин діазореактиву може зберігатися в льоду протягом доби.

*Молібденовий реактив для визначення фосфорної кислоти.* 7,5 г молібдату амонію розчинити в 100 мл води та додати 100 мл концентрованої нітратної кислоти.

*Препарат сахарози.* 0,5 г висушених дріжджів добре розтирають у фарфоровій ступці, а потім гомогенізують з 5 мл дистильованої води.

*Реактив біуретовий.* У колбу на 1 л вносять 1,5 г купрум (II) сульфату та 6,0 г калій-натрій тартрату й розчиняють у невеликій кількості води. Далі додають 300 мл 10% розчину натрій гідроксиду та 0,1 г калій йодиду. Після перемішування загальний об'єм суміші доводять дистильованою водою до 1 л.

*Реактив біуретовий.* 4,5 г сегнетової солі ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ ) розчиняють у 40 мл 0,2 н розчину натрій гідроксиду. Після розчинення додають 1,5 г кристалогідрату купрум (II) сульфату ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), 0,5 г калій йодиду (KI) та доводять до 100 мл 0,2 н розчином натрій гідроксиду. Зберігають у темному місці (або в посуді з темного скла). Реактив придатний для використання впродовж одного місяця.

*Реактив біуретовий (робочий розчин).* 20 мл біуретового реактиву змішують з 80 мл розчину калій йодиду (0,5 г калій йодиду розчиняють у 100 мл 0,2 н розчину натрій гідроксиду). Зберігають у посуді з темного скла не більше 2-х тижнів.

*Реактив дифеніламіновий.* 1 г дифеніламіну розчиняють у суміші 2,75 мл концентрованої сульфатної кислоти та 100 мл концентрованої ацетатної кислоти.

*Реактив Фелінга.* Змішують рівні об'єми розчинів Фелінга I і II. I. 40 г купрум сульфату розчиняють у 1 л дистильованої води. II. 200 г калій-натрій тартрату розчиняють при нагріванні в невеликій кількості води. Додають 150 г натрій гідроксиду, загальний об'єм суміші доводять дистильованою водою до 1 л.

## РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

### *Основна:*

1. Авдеева Л.В. Биохимия: учебник / Л.В. Авдеева, Т.Л. Алейникова, Л.Е. Андрианова; под ред. Е.С. Северин. – М. : ГЭОТАР-МЕД, 2013. – 768 с.
2. Березов Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – М. : Высшая школа, 2007. – 710 с.
3. Гидранович В.И. Биохимия: учебное пособие / В.И. Гидранович, А.В. Гидранович. – Минск : ТетраСистемс, 2012. – 528 с.
4. Гонський Я.І. Біохімія людини / Я.І. Гонський, Т.П. Максимчук. – Тернопіль : Книга, 2002. – 750 с.
5. Губський Ю.І. Біологічна хімія: підручник / Ю.І. Губський. – К. : Нова книга, 2007. – 656 с.
6. Ершов Ю.А. Биохимия человека: учебник / Ю.А. Ершов. – 2-е изд., пер. и доп. – Люберцы : Юрайт, 2016. – 374 с.
7. Комов В.П. Биохимия: учебник / В.П. Комов, В.Н. Шведова. – 4-е изд., испр. и доп. – Люберцы : Юрайт, 2015. – 640 с.
8. Копильчук Г.П. Біохімія: навчальний посібник / Г.П. Копильчук. – Чернівці : Рута, 2004. – 224 с.
9. Механізми біохімічних реакцій: навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл.; рекомендовано МОН України / за ред. Н.О. Сибірної. – Львів : Видавничий центр ЛНУ ім. І. Франка, 2009. – 316 с.
10. Нельсон Д. Основы биохимии Ленинджера: в 3 т. / Д. Нельсон, М. Кокс; пер. с англ. – Т. 1. – М. : Бинوم. Лаборатория знаний, 2011. – 694 с.
11. Омелянчик Л.О. Біохімія: навчально-методичний посібник для студентів напряму підготовки «Біологія» денної та заочної форм навчання / Л.О. Омелянчик, Н.В. Новосад, В.І. Генчева. – Запоріжжя : ЗНУ, 2011. – 118 с.
12. Практикум по биохимии: учебное пособие / В.В. Рогожин. – М. : Лань, 2013. – 544 с.
13. Тарасенко Л.М. Функціональна біохімія: підручник / Л.М. Тарасенко. – Вінниця : ВДУ, 2007. – 384 с.
14. Чиркин А.А. Биохимия / А.А. Чиркин, Е.О. Данченко. – М. : Высшая школа, 2010. – 624 с.

### *Додаткова:*

1. Березов Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – М. : Медицина, 1998. – 704 с.
2. Биохимия: задачи и упражнения / А.С. Коничев, Г.А. Севастьянова, Т.А. Егорова. – К. : Колос, 2007. – 140 с.
3. Гринштейн Б. Наглядная биохимия / Б. Гринштейн, А. Гринштейн; перевод с англ. – М. : Мир, 2000. – 119 с.
4. Губський Ю.І. Біологічна хімія / Ю.І. Губський. – Тернопіль : Книга, 2002. – 508 с.

5. Кольман Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.-Г. Рем; перевод с нем. – М. : Мир, 2000. – 469 с.
6. Коничев А.С. Биохимия и молекулярная биология: словарь терминов / А.С. Коничев, Г.А. Севастьянова. – М. : Дрофа, 2008. – 359 с.
7. Пустовалова Л.М. Практикум по биохимии / Л.М. Пустовалова. – Ростов-на-Дону : Феникс, 1999. – 544 с.
8. Филиппович Ю.Б. Основы биохимии / Ю.Б. Филиппович. – М. : Агар, 1999. – 521 с.

### **Інформаційні ресурси**

1. Новая электронная библиотека. – Режим доступу: [http://www.newlibrary.ru/genre/наука/himija/biologicheskaja\\_himija](http://www.newlibrary.ru/genre/наука/himija/biologicheskaja_himija)
2. Биохимия онлайн. – Режим доступу: <http://employees.csbsju.edu/hjakubowski/classes/ch331/bcintro/default.html>
3. Биохимия. – Режим доступу: [http://ph4s.ru/book\\_him\\_bio.html](http://ph4s.ru/book_him_bio.html)
4. Электронная библиотека. – Режим доступу: <http://mol-biol.ru/biohimiya.html>
5. Книги по биохимии. – Режим доступу: <http://www.ex.ua/2605780>

Навчально-методичне видання  
(українською мовою)

**Омельянчик Людмила Олександрівна**  
**Генчева Вікторія Іванівна**  
**Новосад Наталія Василівна**

## **БІОХІМІЯ**

Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт  
для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Біологія»  
освітньо-професійної програми «Біологія»  
денної та заочної форм навчання

Рецензент *І.Б. Лабенська*  
Відповідальний за випуск *О.А. Бражко*  
Коректор *Н.В. Мацюх*