

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 кишечника (трипсин, хімотрипсин, панкреатин, фестал та ін.)

Перетравлення білків (лабор. роботи)

N	Вміст пробірок	Умови досліду	Зображення біурет. реакції	Висновок
1	Na ₂ CO ₃ , трипси білок	10'	прозорий р-н	Трипси активний в слабко-лужній середовищі; гідроліз білку відбувається ризикується — CO-NH-пептиди з'являються
2	NaOH, кількісн трипси білок	38 °C	фавлет. заб-не	В нейтр. середовищі трипси не активний. Кількісна ферменту впливає на втрату власт. трипсиногідроліз білку не відбувається; CO-NH-зв'язки захищаються
3	HCl, трипси білок		фавлет заб-не	Трипси не активний в кислому середовищі. Гідроліз білку не відбувається; CO-NH-зв'язки біурет. реакції позитивно



Визначення концентрації сечовини в біологічних рідинах діацетилмонооксимним методом

Перегляньте **ОБОВ'ЯЗКОВО** попередньо відео:
Кількісне визначення сечовини в сироватці крові
за посиланням <https://www.youtube.com/watch?v=jc18zl-3zrk>



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.

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°C до +25°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 °C до +25 °C протягом не більше ніж 2 місяці.

Калібрувальний розчин сечовини – готовий до роботи.

Принцип методу:

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

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

Фізіологічний розчин (мл)	Калібрувальний розчин сечовини (мл)	Матеріал, що аналізується (сироватка) (мл)	Розчин тіосемікарбазиду (мл)	Розчин діацетилмонооксиму (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	0,23	–
Дослідна проба (1, 2, 3, ... 10)*						
–	–	0,02	2,00	2,00	–	0,11

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 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.

Розрахунок концентрації сечовини (С, ммоль/л)

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

де 16,65 – концентрація сечовини в калібрувальному розчині, ммоль/л;

E дослідної проби – оптична щільність дослідної проби;

E калібрувальної проби – оптична щільність калібрувальної проби.

У нормі концентрація сечовини в сироватці венозної крові становить 3,53-8,3 ммоль/л.

$$C_{\text{сечовини}} = 16,65 \cdot 0,11 / 0,230 =$$
$$= 7,96 \text{ ммоль/л}$$

ДЯКУЮ ЗА УВАГУ!