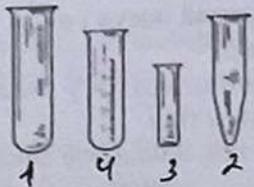
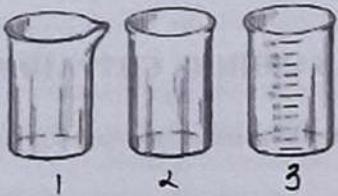
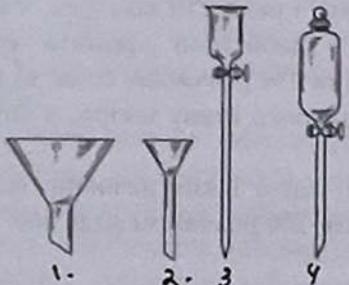
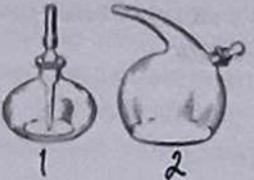
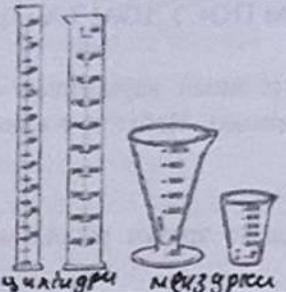
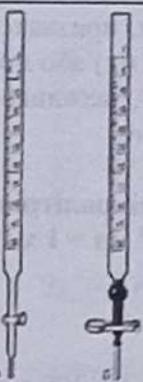
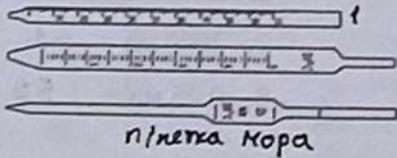


Заповніть таблицю «Основні види лабораторного посуду»

Назва	Зображення	Основне призначення
I. ПОСУД ЗАГАЛЬНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ		
пробірки		1 Для нагрівання матеріалу, який знаходиться в пробірці. Нагрівання з часом можливим. через погодження пробірки з термостатського апарату. (ТС № 1) 2 Для зберігання матеріалу. 3 Для мікроаналізу речовин. 4 Для операцій над малими об'ємами речовин. заповнення на 2/3 об'єму
хімічні склянки		1 Харacterні для злиття і діляння матеріалу. 2 Для перемішування, набирання, нагрівання рідини. (ТС № 1) Для нагрівання на бідкрайному горіхі треба підкладати азbestову сітку.
колби		1 Для нагрівання (ТС, № 1), 2 Для приготування розчинів та, що до ч. зберігання 3 Контрольне зберігання рідин Висористання в одиничні перегонки. Для приготування розчинів залишок (за кількості понад 10%)
лійки		1 Для зручного перемішування рідин 2 Для розділення твердого фракції 3 Для розділення рідкої фракції 4 Для дозованої подачі рідини
крапельниці		1 Для дозованої подачі рідини 2 (переважно індивідуальний розчин) Можна висористовувати для розділення рідини

2. МІРНИЙ ПОСУД

мірні циліндри та мензурки	 циліндри мензурки	Для отримання вимірювань/забору приблизного робочої концентрації. Не здатні нагріватися скло не термостійке
мірні колби		Для приготування розчинів заданої концентрації Для тривалого зберігання рідини (приверте покриття біла фарбінка)
бюretки		Для погруджання розчинів передачко в чисті аналітичні хімії
піпетки для рідин	 піпетка Нора	Для забору речовини та перенесення її до робочого середовища. 1.Лабораторна сіліконова (є на північній землі та кенгурі) скляна, рідше пластик; не здатні нагріватися піпетка Нора - фіксований об'єм рідини

3. КЕРАМІЧНИЙ ТА ВИСОКОВОГНЕТРИВКИЙ ПОСУД

ступки		Для подрібнення твердої фракції. Заповнюють на 1/3 об'єму. Глиняні тисиці перетирають рукою діаметр діа не має силикатної фарфорової
тиглі		Для висушування речовин, але отримання твердої фракції.
кухлі		Зберігання рідини (є мотики різного зберігання за високими температурами)

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 1

РОБОТА З МІРНИМ ЛАБОРАТОРНИМ ПОСУДОМ ТА ОБЛАНДНЯНЯМ

Мета роботи: Опанування навичок роботи з різними варіантами мірного лабораторного посуду (мірні циліндри, мірні колби, піпетки тощо). Набуття вміння правильного під час роботи з автоматичним дозатором (самплером).

Обладнання та матеріали: дистильована вода та зразки різних варіантів градуйованого посуду, призначеного для вимірювання об'єму:

- ✓ градуйовані склянки та пробірки різного об'єму;
- ✓ мірні колби різного об'єму;
- ✓ мірні циліндри різного об'єму;
- ✓ скляні піпетки різного об'єму
- ✓ автоматичні дозатори на 10, 100 та 1000 мкл.

Теоретичні відомості:

Одиниця вимірювання об'єму у системі СІ – кубічний метр (1 m^3) або його кратні долі (cm^3 , dm^3). Проте мірний посуд та інше обладнання, призначене для вимірювання об'єму, градуйовані в позасистемних одиницях – мілілітрах (мл) або літрах (л), які, зокрема, є більш часто вживаними у лабораторній практиці. Тому, важливо вміти швидко виконувати метричні перетворення між різними одиницями об'єму.

ПАМ'ЯТАЙТЕ:

$$1\text{ dm}^3 = 1\text{ літр (л)} = 1000\text{ мілілітрів (мл)} = 1000000\text{ мікролітрів (мкл)}$$

$$1\text{ мкл} = 0,001\text{ мл} = 0,000001\text{ л або } 1\text{ мкл} = 1 \times 10^{-3}\text{ мл} = 1 \times 10^{-6}\text{ л}$$

Виконайте наступні метричні перетворення:

1. $3\text{ л} =$	3000	мл	5. $100\text{ мл} =$	0,1	л
2. $3\text{ мкл} =$	0,003	мл	6. $20\text{ мкл} =$	0,02	мл
3. $10\text{ мл} =$	10000	мкл	7. $2000\text{ мл} =$	2	л
4. $100\text{ мкл} =$	0,1	мл	8. $0.05\text{ мл} =$	50	мкл

Мірні циліндри – циліндричні посудини різної місткості (від 5-10 мл до 1 л і більше) з нанесеними на зовнішній стінці поділками, що вказують об'єм у мілілітрах! Щоб відміряти необхідний об'єм рідини, її наливають у мірний циліндр до тих пір, поки нижній меніск не досягне рівня потрібної поділки. Мірні циліндри виготовляють зі скла і прозорих поліетилену або поліпропілену. Об'єми легких органічних речовин зазвичай вимірюють за допомогою мірних циліндрів із притерткою скляною пробкою або пробкою з поліетилену.



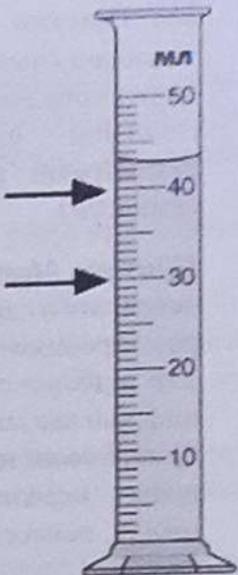
Намагайтесь розмістити циліндр на рівні очей так, щоб дивитися на рівень рідини в ньому під прямим кутом

Пригадайте, з якими властивостями води пов'язана поява увігнутого меніска.

Пригадайте, як правильно визначати ціну поділки циліндра.

 Для визначення ціни поділки потрібно:

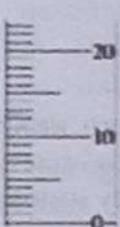
- 1) відшукати два найближчі штрихи шкали, позначені цифрами (на наведеному прикладі це 30 і 40)
 - 2) від більшого значення відняти менше ($40 - 30 = 10$)
 - 3) одержаний результат поділити на кількість поділок, що знаходяться між ними ($10/10 = 1$)
- Отже, ціна маленької поділки наведеного циліндра – 1 мл.



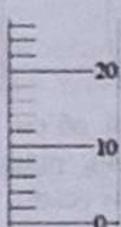
 Попрактикуйтесь у визначенні ціни поділки мірних циліндрів, що знаходяться у вашій лабораторній кімнаті.

 Виконайте наступні завдання.

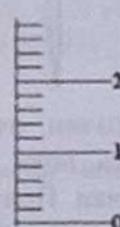
А) встановіть значення для малих поділок на циліндрі:



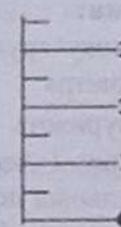
1) 1мл



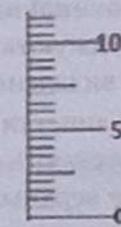
2) 2мл



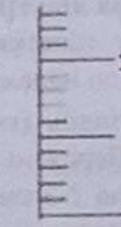
3) 0,2мл



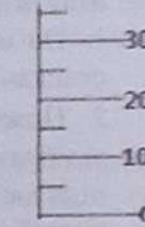
4) 0,5мл



5) 50мл

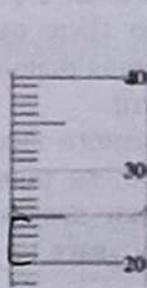


6) 1мл

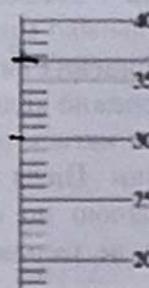


7) 5мл

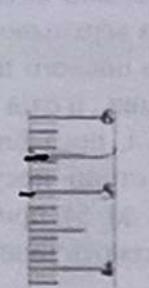
Б) визначте об'єм рідин в наступних циліндрах:



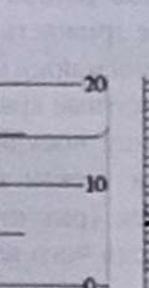
1) 25мл



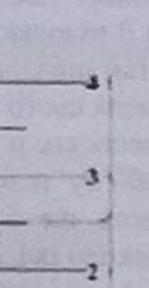
2) ≈36мл



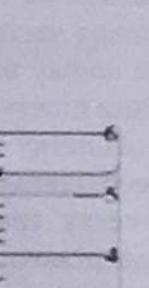
3) ≈5,5мл



4) 15мл

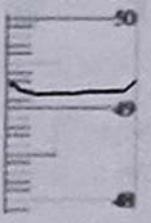


5) 2,5мл

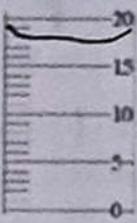


6) ≈5,2мл
(5,25мл)

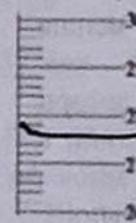
В) нарисуйте ліній меніска для наступних об'ємів:



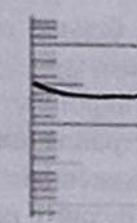
1) 49,2 мл



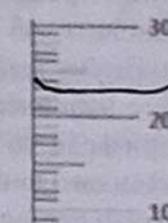
2) 18 мл



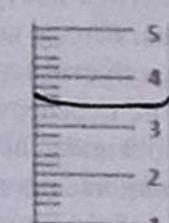
3) 27,6 мл



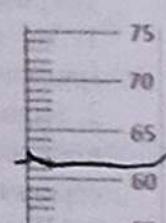
4) 64 мл



5) 23 мл



6) 3,4 мл



7) 63 мл

■ Техніка використання автоматичних мікропіпеток:

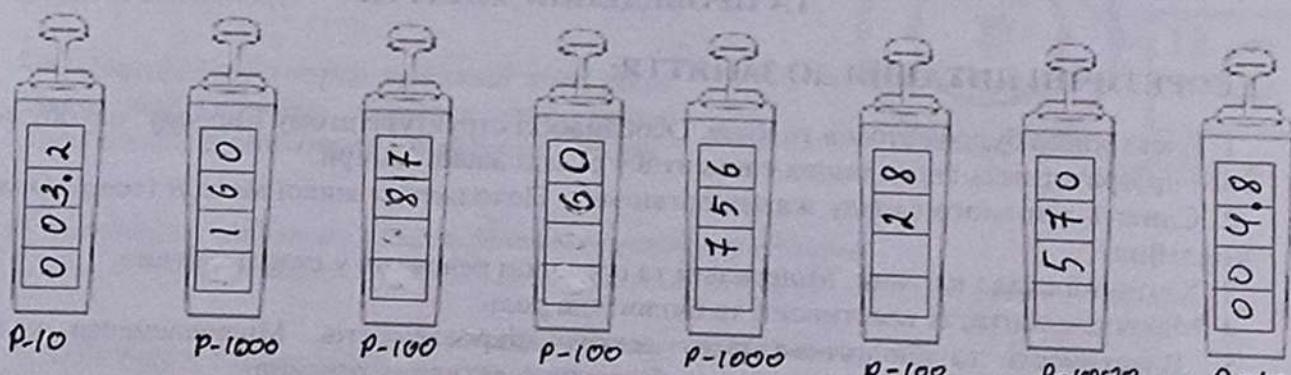
1. Перед початком роботи необхідно визначитись з правильним розміром автоматичної піпетки. Для встановлення об'єму, який ви плануєте відміряти, повертайте поршень до того моменту, поки не побачите бажаний об'єм на циферблаті, що зазвичай розміщений на рукоятці пристроя.
2. Підберіть відповідний розмір одноразового наконечника та обережно одягніть його на мікропіпетку.
3. Обережно натисніть на поршень вниз і зверніть увагу, що мікропіпетка має два "стоп" положення. Перша точка опору відповідає об'єму, який ви встановили попередньо. Друга точка опору допомагає повному видаленню з наконечника всієї рідини.
4. Для точного відмірювання рідини обережно натисніть на поршень до першої точки опору. Потім опустіть кінчик носика у розчин і поволі відпускати поршень. Вийміть носик з розчину.
5. Для правильного видалення відміряного об'єму рідини розмістіть носик над необхідною посудиною і, обережно натискаючи поршень, вдавіть його до другої точки опору. Тримайте великий палець у цій позиції («стоп» положення 2) поки ви повністю не вийняли носик з розчину, щоб уникнути затягування вашого зразка назад у мікропіпетку.
6. Після закінчення піпетування, скиньте носик у контейнер для сміття натисканням на спеціальну кнопку.

■ Поміркуйте, як можна швидко перевірити калібрування вашої автоматичної піпетки.

Найчастіше в лабораторіях користуються наступними розмірами мікропіпеток:

- P-10, що має діапазон 1-10 мкл
- P-100, що має діапазон 10-100 мкл
- P-1000, що має діапазон 100-1000 мкл

■ Попрактикуйтесь у встановлені коректного об'єму відповідного мікродозатора:



○ Попрактикуйтесь у використанні автоматичних мікропіпеток для вимірювання заданих об'ємів. В зошиті вкажіть номер піпетки, яку ви плануєте використовувати:

1. 5 мкл P-10
2. 75 мкл P-100
3. 300 мкл P-1000
4. 0,7 мл P-1000
5. 3 мл P-1000

6. 1,5 мл P-1000 скрачено 2 по 75
7. 120 мкл P-1000
8. 2,5 мкл P-10
9. 3,5 мл P-1000
10. 0,45 мл P-1000

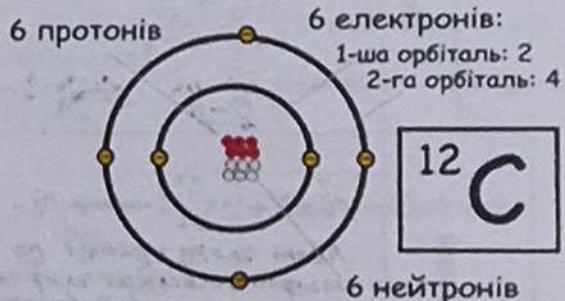
Непосідкої Марія (курс 3-го році)

Заповніть таблицю «Елементарний склад живих організмів»:

		Вміст, %	Біологічне значення окремих елементів
біогенні елементи	C	≈ 18	C - стисливоє собою основу всіх органічних молекул, є хребтами та радикалами органічного;
	O	≈ 65	O - основний елемент радикалів органічних, а також води;
	H	≈ 10	H - основний компонент води
	N	≈ 3	N - передача, основний гемопротеїн біомолекул, але також іншого і до інших молекул.
макроелементи	P		P - регулятор залучений до перевезу та зберігання енергії;
	S		компонент ДНК, РНК; гідрофільний сприяє фосфатам і іонам;
	K		регулює синтетичну активність;
	Мg		S - торчиний елемент, що залучений до безводних білоків та інших структур;
	Де		K - стабілізатор конформацій градієнт наявним та систоломиокарду;
	Сі		Mg - компонент великих білоків ензимів, ферментів, активатор АТФ;
	Ca		Fe - компонент, який допомагає при транспорті окисню та іонів;
мікроелементи	Na		Сі - кофактор білкового катализу (У в ЕТА);
	F		Ca - іони задіяні в спарингах, міжуб. діаграмах карб.; та ціто-анатозі.
	Мn		Na - електролітичний баланс, генерування енергії, зробітка концептуальних.
	Се		
	I		
ультра- мікроелементи	Zn	0,005-0,0001%	
	As	Mo	F - передача ролі в цитореті будь-якії смол (фтор вугілля смола)
	Ag		Mn - елемент і кофактор для ензимів, задіяних в різних процесах (цитологічний метаболізм, редоктац. вінок)
	Hg		I - горючий цитодіїкот зонезу
	Co	<0,000001	Zn - кофактор узник Ферміті, передача задіяних у генетіці (глутогі) та інших процесах.

Пригадайте структуру атома Карбону та поміркуйте, які властивості даного атома обумовили його пріоритетність у побудові біомолекул.

Пригадайте з курсу загальної хімії рівні гібридизацій атомів Карбону та вплив гібридизації на геометрію органічних сполук.



Заповніть таблицю «Класифікація органічних сполук»

I. За будовою карбонового скелета	1. а) Цикліческі ароматичні б) Гетероцикліческі	a) b)
	2. Ациклическі ароматичні	-C-C-C-C-
II. За кратністю хімічного зв'язку	1. Алкан насичений вуглеводень	
	2. Ненасичені вуглеводні а) Алкен б) Алкін	a) b)

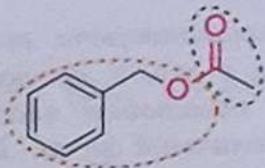
Атоми дуже рідко існують в ізольованому вигляді, більшість їх об'єднується з утворенням молекул. Це наштовхує на думку, що під час утворення молекули атоми досягають більш стабільного енергетично стану. Утворення хімічного зв'язку між атомами супроводжується вивільненням певної кількості енергії, яка називається енергією зв'язку. Чим більша кількість енергії виділяється, тим міцнішим виявляється утворений зв'язок і тим коротша довжина зв'язку. Американський вчений Дж. Льюїс у 1916 р. заклав основи сучасної інтерпретації хімічного зв'язку, визначивши, що участь в його утворенні беруть електрони зовнішнього енергетичного рівня (валентні електрони).

Пригадайте, про що говорить правило октету (Льюїс, 1916). Інтерпретуйте ключові положення правила октету на прикладі молекул H_2 , H_2O , $NaCl$.

Заповніть таблицю «Механізм утворення та властивості хімічних зв'язків»

Тип зв'язку	Механізм утворення (опишіть)	Властивості
неполярний	<p>$E_N = 2,2$ $H-H$ $\Delta E_N = 0,2$</p>	<p>симетрична молекула, з рівномірно розподіленими електронами Відбувається дипольний молекулярний зв'язок утворює симетричну молекулу Зв'язок H-H не полярний $\Delta E_N = 0,2 \quad \Delta E_H = 0$ (насіній ел. пари)</p>
полярний	<p>$E_N = 2,5 \quad E_O = 3,2 \quad \Delta E_{HO} = 0,7$</p>	<p>Молекула асиметрична, електрони з електроногідливих пар знаходяться в сторонах оксигена. Відбувається дипольний молекулярний зв'язок Зв'язок відбувається працює молекулою. Зв'язок H-O полярний $1,7 > \Delta E_N > 0,5$ $\Delta E_N = 0,7$ (насіній ел. пари)</p>
іонний	<p>$\Delta E_N = 2,2, \Delta E_{Cl} = 3,5$</p>	<p>$\Delta E_N = 2,2, \Delta E_{Cl} = 3,5$ (згідно зі зв'язком асиметрії молекули, якщо хлор здійснює спікери відповідно до свого боротьбу). Зв'язок утворює стійку молекулу і характеризується (оскільки сильно є електроногідливий та катіонний). Розмежування електронів енергетичною різницю ел. пари)</p>
водневий	<p>Принцип водневого зв'язку базується на поєднанні диполів або часткового заряду молекул, що молекулі (характерна форма), є стаканами одна частина стає частково позитивно заредженою, через висунені електронів на захисні кінці і ця молекула намагається пристягнутися до цього частково негативного кінця, тобто чи нечіє, але через диполів працює слабкими за звичай (чашкою)</p>	<p>Короткість, велика чи нелегко розривати. Донором акцептором працює</p>

Функціональні групи – це специфічні групи атомів всередині молекули, які відповідають за властивості цих молекул в хімічних реакціях. Одна і та ж функціональна група однаково себе поводить в хімічних реакціях, незважаючи на розмір молекули, частиною якої є ця група. Проте їх хімічну активність можуть змінити сусідні функціональні групи.



Бензилацетат має естерну функціональну групу (виділена червоним), апетильну (обведена зеленим) і бензилетанолову (обведена помаранчевим) функціональні групи

✓ Заповніть таблицю «Класифікація органічних сполук за їх функціональними групами»

Класи сполук	Функціональна група	Назва функціональної групи	Приклад
Спирти Реноци	- OH	Гідроксилка гідроксі- (окисгрупа)	Метанол Фенол
Альдегіди	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}$	Альдегідка	Етаналь Ретиналь
Кетони	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{R} \end{array}$	Карбонілка (окисгрупа)	Ацетон Диметилфеніл кетон
Органічні кислоти	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C} \\ \\ \text{OH} \end{array}$	Карбоксилка (карбоксі-) група	Угольна кислота Пентандільна кислота
Прості етери	$\text{R}-\text{O}-\text{R}$	Ефірка (окисокисла)	Діетильтільний ефір
Естери (сплавки етери)	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C} \\ \\ \text{O}-\text{R} \end{array}$	Складное фірка (карбоксикарбонілка)	Метиловий естер валеріанової кислоти Бутіл ацетат
Аміни	$\text{R}-\text{NH}_2$	Амінка (аміно-) група	Аніль (Анілобензен) Фенілаланін
Аміди	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Аміогрупа (карбоксамідка) група	Нікотинамід Акрілонімід

Використовуючи різні кольори, обведіть усі функціональні групи, які зможете знайти, у складі молекул органічних речовин, наведених нижче (1-17). Для створення ключа замалюйте квадрат тим кольором, який ви обрали для позначення певної функціональної групи. Зазначте загальну кількість віднайдених функціональних груп у вільному полі, як це показано на прикладі (1):

КЛЮЧ:

аміно група

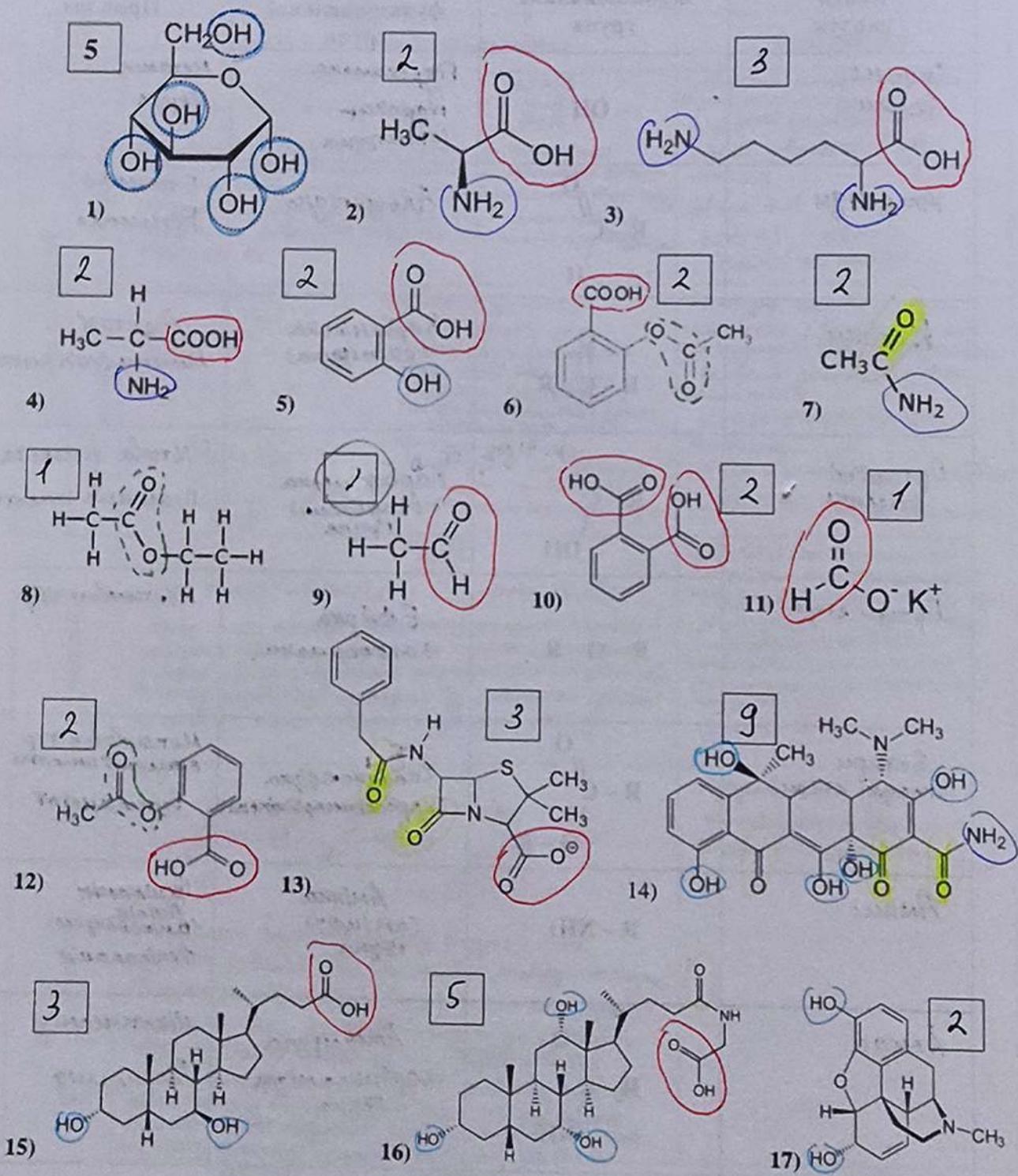
карбонільна група у складі альдегіду

гідроксильна група

карбонільна група у складі кетону

карбоксильна група

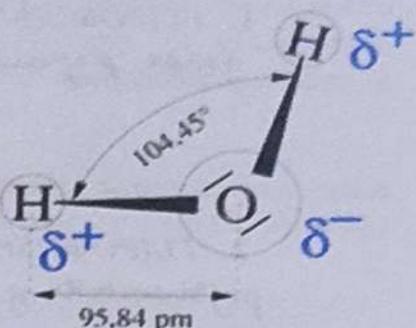
естерний зв'язок



8 Опишіть ключові характеристики структури молекули води, що визначають її унікальні властивості.

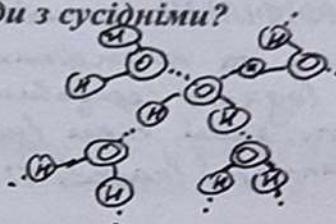
Дипольна властивості молекул води, залежні від властивості диполів води, можуть залежати один від інших властивостей зв'язків, формуючи ланцюжок структур та розчинного процесу речовин.

У дипольній властивості є видом зв'язку звичайних атомів прорвана атмосфера окисненості іонально, тобто розчин шлаком, через зменшення електроотриманості окисного, перед яким іонами гідрогену.



9 Схематично зобразіть взаємодію між молекулами води. Яку максимальну кількість водневих зв'язків може утворювати одна молекула води з сусідніми?

Одна молекула води може утворити до трьох зв'язків, оскільки молекулу води можна поділити на чотири альтернативні положення, для звичайних зв'язків за більше позитивний заряд, фіксуваний негативним, до частково позитивних положень пристягуються частково негативні положення інших диполів, а до часткового негативного положення, пристягуються частково позитивні положення іншого диполю води.

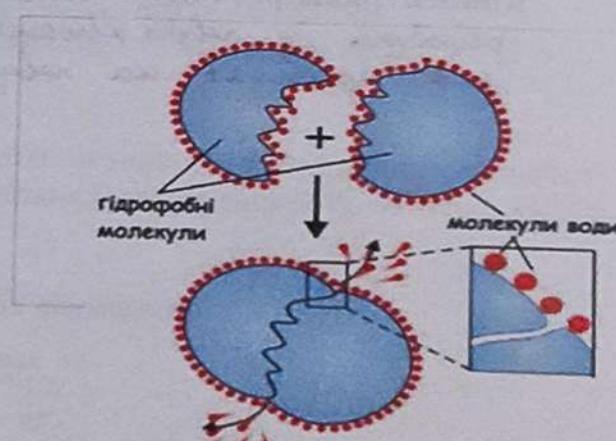


10 Пригадайте, які властивості води обумовлені наявністю водневих зв'язків між її молекулами. На окремих прикладах проаналізуйте їх біологічне значення.

Водні зв'язки обумовлюють властивості води наступних властивостей: ізотерму теплопровідності, ізотерму гептоемності, переважно рідини стоять на підвищенні розчинності іонізованої або коалегеної полієтилен зв'язані молекулами. Біологічне значення більшої гідроізотермності; та високої точкої кипіння води пов'язане з можливості организму підтримувати гомеостаз за різних, зокрема температурних, умов. Розчинна здатність води робить її, по-перше, універсальним розчинником, по-друге в статі розчину - буферного системного організму.

11 Обґрунтуйте природу гідрофобних взаємодій, спираючись на ключові положення другого закону термодинаміки.

Згідно з другого закону термодинаміки: «будь-яка система працює до здійснення ентропії». Відповідно в такій системі більше, що ентропія звичайних неагрегатних часток має нижчу ентропію, аніж у часток, які приєднуються виходом гідрофобних зв'язків. Таким чином порівняння частинок малої більшості розташують плоску, аніж разом. Виходом звичайних частинок працює до іншої ентропії і гідрофобної взаємодії.



Ө Охарактеризуйте речовини за їх розчинністю у воді. Наведіть приклади.

1. ГІДРОФІЛЬНІ: речовини гілочкої природи, що мають здатність добре розчинятися у воді.

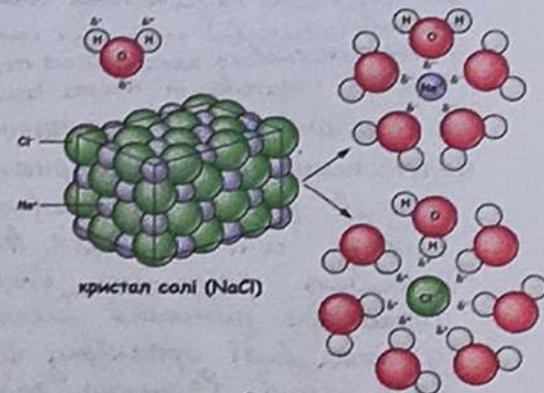
2. ГІДРОФОБНІ: речовини ісполеркої природи, які мають низьку розчинність у воді, оскільки витісняють нею.

3. АМФІФІЛЬНІ: речовини змішаної природи, що мають ізотропні польові та ісполеркові регіони, або ін. форм, які мають різну належність чодо водного середовища. Приклад фосфоліпід: ісполерковий регіон фосфорної кислоти, який може взаємодіяти з водою та ліпідним компонентом, який має ісполеркі властивості і в свою чергу поташа взаємодіє з водою.

■ Поміркуйте, які властивості води обумовлюють її якості як універсального розчинника.

■ Пригадайте механізм розчинення на прикладі кристалів солі (NaCl).

■ Дайте визначення терміну «гідратна оболонка». Це молекули води, які коагулюються наоколі йонів розчиненої речовини (гідратів).



Ө Дайте визначення поняття:

Концентрація розчину – речовина, яка вимірює здатність розчиненої речовини у певній кількості розчинника або кількості розчиненої речовини, яка припадає на певну кількість розчинника.

- 6) З л 0,15 л розчину?
2. Скільки моль натрій хлориду міститься в 100 мл фізіологічного 0,9 % розчину ($\rho = 1 \text{ г}/\text{cm}^3$)?
3. Обчисліть масу води та пентагідрату купруму (II) сульфату $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, які необхідні для приготування 500 мл розчину з масовою часткою безводної солі CuSO_4 8% ($\rho = 1,084 \text{ г}/\text{мл}$).
4. Які об'єми 50% ($\rho = 1,23 \text{ г}/\text{мл}$) і 10% ($\rho = 1,038 \text{ г}/\text{мл}$) сахарози необхідні для приготування 250 мл 30% сахарози ($\rho = 1,127 \text{ г}/\text{мл}$)?
5. Скільки мілілітрів 36% ($\rho = 1,18 \text{ г}/\text{cm}^3$) і 20% ($\rho = 1,10 \text{ г}/\text{cm}^3$) розчинів хлоридної кислоти (HCl) необхідно для приготування 100 мл 26% розчину ($\rho = 1,13 \text{ г}/\text{cm}^3$)?
6. Знайти молярну і нормальну концентрацію 49% розчину ортофосфорної кислоти (H_3PO_4) ($\rho = 1,88 \text{ г}/\text{cm}^3$).
7. Який об'єм 96% розчину сульфатної кислоти (H_2SO_4) густинною 1,84 г/мл потрібен для приготування 2 л 0,5 М розчину H_2SO_4 ?
8. Який об'єм 5 М розчину натрій карбонату (Na_2CO_3) потрібен для приготування 500 мл 2 н розчину Na_2CO_3 ?
9. У якому об'ємі води (густина води = 1 г/мл) слід розчинити 50 г солі для отримання 10% розчину?
10. Обчисліть масу натрій карбонату (Na_2CO_3), яка необхідна для приготування 250 мл 0,1 М розчину. Обчисліть нормальну концентрацію одержаного розчину.

Дано
 $w(\text{H}_3\text{PO}_4) = 24\%$
 $\rho = 1,127 \text{ г}/\text{cm}^3$

$\Rightarrow V_2 = 400 \text{ мл}$
 $C_{\text{нн}} = 0,25 \text{ М}$
 $S: V_2 = 3 \text{ л}$
 $C_{\text{нн}} = 0,15 \text{ М}$

$\frac{w}{V_1} = ?$
 $\frac{\rho}{V_1} = ?$

a) Оскільки g/cm^3 матрицю рівно вимірює $\text{г}/\text{мл}$, то число 1,25 залишається сталою
 $(\rho_2 = \frac{C_{\text{нн}} \cdot M}{\rho \cdot V_1} = \frac{0,25 \text{ М} \cdot 97,99}{1,25 \cdot 10} = 1,96\%)$ $C_{\text{нн}} \cdot V_1 = C_{\text{нн}} \cdot V_2$
 $V_1 = \frac{C_{\text{нн}} \cdot V_2}{C_{\text{нн}}} = \frac{0,25 \text{ М} \cdot 0,15 \text{ М}}{0,127 \text{ г}/\text{cm}^3} = 0,0181 \text{ л}$
 $\Rightarrow V_1 = 18 \text{ мл}$

b) Оскільки більше діє $\text{H}_3\text{PO}_4 = 1$, то кількість нормальної буде незмінною
 $C_{\text{нн}} = C_{\text{нн}} \cdot 5 \text{ М} = 0,15 \text{ М}$ $C_{\text{нн}} \cdot V_1 = C_{\text{нн}} \cdot V_2$
 $V_1 = \frac{C_{\text{нн}} \cdot V_2}{C_{\text{нн}}} = \frac{0,15 \text{ М} \cdot 0,1 \text{ М}}{0,127 \text{ г}/\text{cm}^3} = 0,0881 \approx 88 \text{ мл}$ $\text{Bignoligo: } V_1 = 88 \text{ мл}$

Дано
 $V_1 = 100 \text{ мл} = 0,1 \text{ л}$
 $w_{\text{п.}} = 0,9\%$
 $\rho = 1 \text{ г}/\text{cm}^3$
 $\frac{w}{V_1} = ?$

$\text{M}_{\text{нн}} = w_{\text{п.}} \cdot V_{\text{нн}} = 0,009 \cdot 0,1 = 0,0009 \text{ г} = 0,0009 \text{ моль}$
 $\rho = \frac{m}{V} \Rightarrow m = \rho \cdot V = 0,9 \text{ г}/\text{мл} \cdot 0,9 \text{ мл} = 0,81 \text{ г}$ $\text{Bignoligo: } m(\text{нн}) = 0,0154 \text{ моль}$
 $n = \frac{m}{M} = \frac{0,9 \text{ г}}{58,44 \text{ г}/\text{моль}} = 0,0154 \text{ моль}$

Дано
 $V = 500 \text{ мл}$
 $w(\text{CuSO}_4) = 2\%$
 $\rho = 1,084 \text{ г}/\text{мл}$
 $m(\text{H}_2\text{O}) = ?$
 $m(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = ?$

$\text{M}_{\text{нн}}(\text{CuSO}_4) = 159,6 \text{ г}/\text{моль}$
 $\text{M}_{\text{нн}}(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 250 \text{ г}/\text{моль}$
 $\text{M}_{\text{нн}}(\text{H}_2\text{O}) = 500 \text{ мл} \cdot 1,084 \text{ г}/\text{мл} = 542 \text{ г}$
 $m(\text{CuSO}_4) = 0,02 \cdot 250 \text{ г} = 5 \text{ г}$
 $m(\text{H}_2\text{O}) = 0,02 \cdot 542 \text{ г} = 10,84 \text{ г}$
 $\text{M}_{\text{нн}}(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 0,02 \cdot 250 \text{ г} + 0,02 \cdot 542 \text{ г} = 15,38 \text{ г}$

Дано
 $w_1 = 50\%$
 $w_2 = 10\%$
 $V_1 = 250 \text{ мл}$
 $\frac{w_1}{V_1} = ?$
 $\frac{w_2}{V_2} = ?$
 $\text{M}_{\text{нн}} = 84,625 \text{ г}$
 $\frac{w_1 + w_2}{V_1 + V_2} = 84,625 \text{ г}$
 $0,5 \cdot 0,5 + 0,1 \cdot 0,1 = 0,26$
 $V_1 + V_2 = 135,4 \text{ мл}$
 $V_1 = V_2 - V_2 = 114,53 \text{ мл}$

$159,6 \text{ г}/\text{моль} = 0,50 \text{ г}/\text{мл} \Rightarrow 0,3192 \text{ л}$
 $m(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = \frac{43,36}{0,3192} = 67,86 \text{ г}$
 $m(\text{H}_2\text{O}) = 542 \text{ г} - 67,86 \text{ г} = 474,04 \text{ г}$
 $B: m(\text{H}_2\text{O}) = 474,04 \text{ г}$
 $\approx (67,86 + 474,04) = 641,90 \text{ г}$

Дано
 $w_1 = 36\%$
 $w_2 = 50\%$
 $V_1 + V_2 = 100 \text{ мл}$
 $V_2 = 100 \text{ мл}$
 $\frac{w_1 + w_2}{V_1 + V_2} = 0,36 + 0,50 = 0,86$
 $\frac{w_2}{V_2} = \frac{0,86}{2} = 0,43 \text{ г}/\text{мл}$
 $V_2 = 63,82 \text{ мл}$
 $\Rightarrow V_1 = 36,18 \text{ мл}$

23 ✓

Останній не відповідає об'єму, після всіх цих обчисленнях /
 $\text{M}_{\text{нн}} = 1,88 \text{ г}/\text{мл} = 1,88 \text{ г}$
 Останній кількісно скількишов не відповідає, то
 після всіх цих обчисленнях його рівно 1

Дано
 $w = 96\%$
 $\rho = 1,084 \text{ г}/\text{мл}$
 $V_2 = 2 \text{ л}$
 $C_{\text{нн}} = 0,5 \text{ М}$
 $\frac{w}{V_1} = ?$

$\text{B: } C_{\text{нн}} = \frac{921,25}{97,99 \cdot 1,1} = 9,4 \text{ М}$

Дано
 $w = 96\%$
 $\rho = 1,084 \text{ г}/\text{мл}$
 $V_2 = 2 \text{ л}$
 $C_{\text{нн}} = 0,5 \text{ М}$
 $\frac{w}{V_1} = ?$

$C_{\text{нн}} \cdot C_1 = C_{\text{нн}} \cdot V_1 \Rightarrow V_1 = 0,188 \text{ л}$
 $C_1 = \frac{C_{\text{нн}} \cdot M}{\rho} = \frac{0,5 \cdot 97,99}{1,084} = 47,99 \text{ г}$
 $V_1 = \frac{47,99}{97,99} = 0,49 \text{ л}$

$B: V_1 = 188 \text{ мл}$

Дано:
 $C_{\text{нн}}(\text{Na}_2\text{CO}_3) = 25 \text{ М}$
 $V_2 = 500 \text{ мл} = 0,5 \text{ л}$
 $C_{\text{нн}} = 2 \text{ М} = 2 \text{ М}$
 $\frac{w}{V_1} = ?$

$C_{\text{нн}} = C_{\text{нн}} \cdot V_1 \Rightarrow V_1 = \frac{2 \text{ М} \cdot 0,5 \text{ л}}{25 \text{ М}} = 0,04 \text{ л}$
 $\Rightarrow V_1 = 40 \text{ мл}$

Дано
 $m(\text{NaCl}) = 50 \text{ г}$
 $\rho = 1 \text{ г}/\text{мл}$
 $w = 10\%$
 $(\text{H}_2\text{O}) = ?$

$\text{M}_{\text{нн}} = 50 \text{ г}/\text{мл} = 500 \text{ г}/\text{мл}$
 $\frac{w}{V_1} = \frac{50}{500} = 0,1 \text{ г}/\text{мл}$
 $V_1 = 500 \text{ мл}$

$B: V_1 = 500 \text{ мл}$

Дано
 $V_2 = 2 \text{ л}$
 $C_{\text{нн}} = 0,1 \text{ М}$
 $\frac{w}{V_1} = ?$

$C_{\text{нн}} = C_{\text{нн}} \cdot V_1 \Rightarrow V_1 = \frac{0,1 \text{ М} \cdot 2 \text{ л}}{0,1 \text{ М}} = 2 \text{ л}$

$\text{B: } V_1 = 100 \text{ мл}$

Дано
 $V_2 = 2 \text{ л}$
 $C_{\text{нн}} = 0,1 \text{ М}$
 $\frac{w}{V_1} = ?$

$C_{\text{нн}} = C_{\text{нн}} \cdot V_1 \Rightarrow V_1 = \frac{0,1 \text{ М} \cdot 2 \text{ л}}{0,1 \text{ М}} = 2 \text{ л}$

$\text{B: } V_1 = 100 \text{ мл}$

ДІСОЦІАЦІЯ ВОДИ. ІОННИЙ ДОБУТОК ВОДИ. ВОДНЕВИЙ ПОКАЗНИК (pH).

■ Вода – слабкий електроліт, що діссоціює за схемою: $\text{H}_2\text{O} = \text{H}^+ + \text{OH}^-$.
Згідно з законом двочінних мас

$$K_{\text{дисо}} = \frac{C_{\text{H}^+} \times C_{\text{OH}^-}}{C_{\text{H}_2\text{O}}}$$

Числове значення Кд для води було встановлено експериментальним шляхом і за нормальних умов дорівнює $1,8 \cdot 10^{-16}$. Рівноважна концентрація недіссоціованих молекул води практично дорівнює її мольній концентрації = 55,56 моль/л і є постійною величиною. Добуток двох постійних величин Кд та См дає третю постійну величину, так званий іонний добуток води.

$$C_{\text{H}^+} \times C_{\text{OH}^-} = K_{\text{дисо}} \times C_{\text{H}_2\text{O}} = 1,8 \times 10^{-16} \times 55,56 = 1 \times 10^{-14}$$

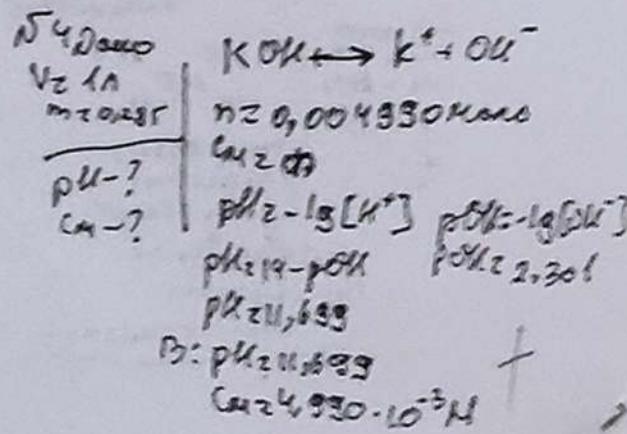
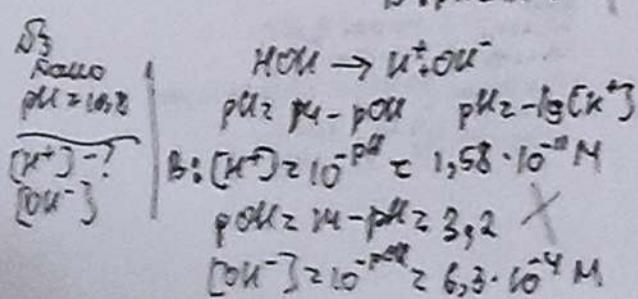
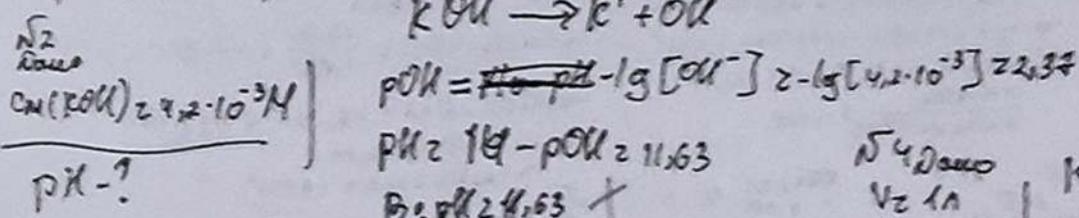
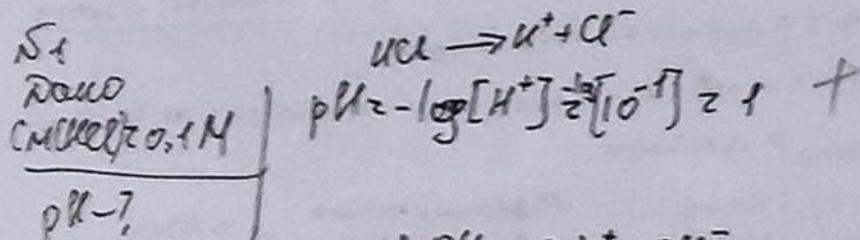
Співвідношення іонів H^+ і OH^- у будь-якому водному розчині визначає активну реакцію середовища. На практиці користуються водневим показником pH, що є від'ємним десятковим логарифмом концентрації іонів водню $[\text{H}^+]$ (моль/л):

$$\text{pH} = -\lg[\text{H}^+].$$

Іонний добуток води (за 22°C) дорівнює $1 \cdot 10^{-14}$. У чистій воді і у будь-яких нейтральних розчинах концентрація H^+ і OH^- буде однаакова, відповідно $\text{pH}=7$. За додавання кислоти у розчині pH стає менше 7, а за додавання лугу – більше.

ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

- Розрахувати pH розчину HCl, концентрація якого 0,1 моль/л.
- Розрахувати pH розчину KOH, молярна концентрація якого дорівнює $4,2 \cdot 10^{-3}$ моль/л.
- Розрахувати концентрації іонів H^+ та OH^- в розчині, pH якого дорівнює 10,8.
- Розрахувати См та pH розчину гідроксиду калію, вважаючи його діссоціацію повною, якщо відомо, що 1 л розчину містить 0,28 г KOH.



ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 2

2.1. МЕТОДИ ВІЗНАЧЕННЯ рН РОЗЧИНІВ

Мета роботи: Опанування навичками визначення рН розчинів індикаторним (колориметричним) та іонометричним (потенціометричним) методами. Набуття практичних навичок роботи з pH-метром.

Реактиви та матеріали: чотири розчини для дослідження (1-4); універсальний індикаторний папір.

Обладнання: хімічні склянки, скляні палички, піпетки, pH-метр

Теоретичні відомості:

Для визначення pH існує два методи – індикаторний (колориметричний) та іонометричний (потенціометричний). Індикаторний метод ґрунтуються на властивості деяких речовин, що називаються індикаторами (наприклад, лакмус, фенолфталейн, метиловий оранжевий та ін.), змінювати свій колір в залежності від pH досліджуваного розчину. Такий метод відносять до експрес-методів попереднього наближеного визначення pH. Індикатори можуть бути одноколірними, такими, що мають забарвлення тільки в лужному середовищі, а в кислому середовищі – безбарвні (фенолфталейн, нітрофеноли), і двоколірними, такими, що мають різне забарвлення в кислому і лужному середовищах (метилоранж, феноловий червоний та ін.).

Більш точним методом визначення pH є іонометричний, основи якого заклав Вальтер Нернст. У 1889 році він записав рівняння, що показує пряму пропорційну залежність між електрорушійною силою та активністю іонів у розчині. Суть іонометричного методу вимірювання водневого показника зводиться до вимірювання електрорушійної сили системи, що складається з індикаторного (вимірювального) електрода та електрода порівняння. Потенціал індикаторного електрода залежить від активності іонів водню в розчині, а потенціал електрода порівняння, відносно якого вимірюється потенціал індикаторного електрода, відомий і незмінний.

ХІД РОБОТИ:

У чотири хімічні склянки наливіте приблизно 20 мл розчинів для дослідження (1-4).

А) У кожну склянку обережно занурте чисту скляну паличку, після чого доторкніться нею до смужки індикатора. Порівняйте забарвлення водяної ділянки індикаторного паперу за колориметричною шкалою pH. Визначте pH досліджуваного розчину і запишіть його значення у таблицю результатів досліду.

Б) У розчинах для дослідження виміряйте pH за допомогою pH-метра. Під час роботи з pH-метром дотримуйтесь загальних інструкцій щодо порядку роботи на пристрії. Результати запишіть в таблицю.

Результати вимірювання pH розчинів

№	Назва зразка	Значення pH	
		індикаторний метод	іонометричний метод
1.	Роштас	3,5	2,83
2.	Іблісік	4	3,4
3.	Сіха солі	4	2,53
4.	Морашківська (міц. форма)	6	7,69

2.2. ПРИГОТУВАННЯ БУФЕРНИХ РОЗЧИНІВ

Мета роботи: навчитися готувати буферні розчини; розраховувати pH; вивчити механізм буферної дії при додаванні води або невеликої кількості кислоти/лугу.

Реактиви та матеріали: 0,1 н розчин оцтової кислоти (CH_3COOH); 0,1 н розчин ацетату натрію (CH_3COONa); універсальний індикатор; 0,1 н розчин NaOH ; 0,1 н розчин HCl .

Обладнання: штатив із пробірками, піпетки, pH-метр.

Теоретичні відомості:

Буферні розчини – це розчини, величина pH яких мало змінюється при додаванні до них невеликих кількостей сильних кислот або лугів, а також за розведення. Кислотно-основні буферні розчини містять суміш слабкої кислоти та її солі, або слабкої основи та її солі, а також зберігають сталу концентрацію іонів водню при додаванні до них певної кількості кислоти, лугу або за розведення.

ХІД РОБОТИ:

1) У 7 пробірок налийте розчини оцтової кислоти та ацетату натрію згідно з таблицею:

Номер пробірки	1	2	3	4	5	6	7
Об'єм відповідного розчину в мл							
0,1 н CH_3COOH	9,8	9,0	8,0	5,0	3,0	1,5	0,2
0,1 н CH_3COONa	0,2	1,0	2,0	5,0	7,0	8,5	9,8
pH	3,04	3,55	3,88	4,42	4,65	5,36	6,22

2) Виміряйте pH приготовлених розчинів, використовуючи pH-метр, і запишіть значення у таблицю.

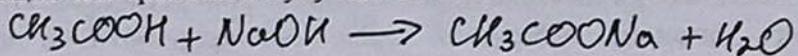
3) У пробірки №1 і №7 додайте по 2 краплинини універсального індикатора. Після чого:

А) у пробірку №1 долийте по краплинам 0,1 н розчин NaOH .

Спостереження:

спостерігаю залиш pH на 3,19

Запишіть реакцію нейтралізації лугу відповідними компонентами даної буферної системи:

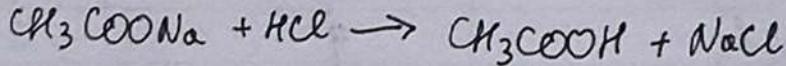


Б) у пробірку №7 долийте по краплинам 0,1 н розчин HCl .

Спостереження:

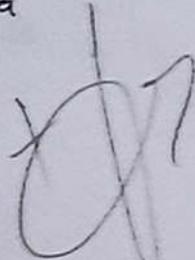
спостерігаю зміну pH на 6,19

Запишіть реакцію нейтралізації кислоти відповідними компонентами даної буферної системи:



ВІСНОВОК:

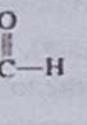
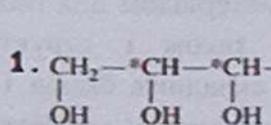
- 2.1: У ході лабораторної, і надається працевничих певних
вимог з рН мідра та індикаторами наперед. Із існуючою можу
справи, що передачі рН мідра є точністю ± 0.1 pH, до чого може
міжна відхилення між методом цього методу. До передачі індикаторного
наперед міжна відхилення між методом та компаратором, проте
відхилення є відносно певного методу. Віддача метода є диверсальними,
до показань близьких на свою кислотному спектрі.
- 2.2 В ході лабораторної роботи. І надається показання будериного розчину;
розрахувати pH та певний відхилення від будериного розчину при
здовoleniї кислоту/кургу, якщо погана, у тому, що при здovoleniї
кислоти будеринний спектр реагує сополімером композицією з
здовoleniїм кислоту та кетоном з цієї, стабілізуючи системи;
за здovoleniїм кургу до будеринової системи, та кислотна частина
кетону з цієї роботи утворюється рН.
- В кислотну здovoleniї та будерину за відсутності
задовільного pH при здovoleniї кетону/кургу, що може статися
про факт з/вздовленості кетону будериног. системи, оскільки
присутні від будериного розчину підтверджені, отриманіми
поміж даними.
- Показання будериног. системи, їхні зазначені певних змін, або
якого стається в кетонів кислотного функціоналу, такого єк
щє ідеально приготованій будериний розчин єдиної залежності
кислоту/кургу. Проте від будериного розчину єк абсолютно незалежного
передовища (рН), показання за геометрично ідеальних умов. В
реальних же умовах мало б може бути певні відхилення та
комбінації.



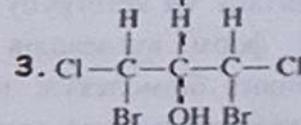
Дайте визначення терміну:

ХІРАЛЬНИЙ ЦЕНТР – асиметричний атом карбону (переважно з чотирьох різними групами), що здатний отримувати активність молекули, монтиюється до ізомерів.

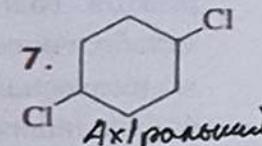
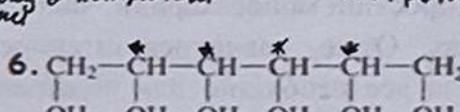
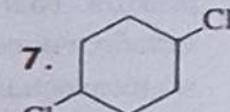
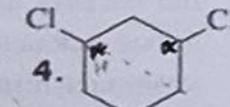
Використовуючи знак (*), позначте всі асиметричні атоми карбону, які відшукаете в структурах наведених органічних сполук:



Буква X
з означенням
координати
карбону в координаті
груп

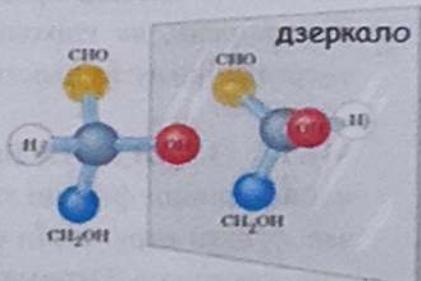


Ахіральна



Ахіральний

Найпростіша альдоза гліцеральдегід містить лише один асиметричний центр (середній атом Карбону), і тому може існувати у вигляді двох різних оптично активних ізомерів або енантиомерів). Одну з цих форм називають D-ізомером, а іншу – L-ізомером.



Гліцеральдегід ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$)

Обґрунтуйте явище оптичної ізомерії («+» та «-» ізомери) та поясніть, чи існує відповідність між структурою D/L-ізомерів та їх здатністю обертати площину поляризованого світла праворуч чи ліворуч.

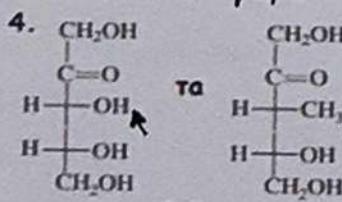
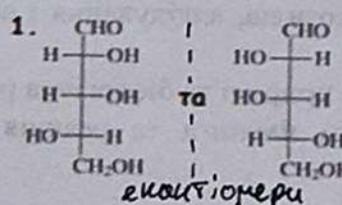
Дайте визначення таким термінам:

ЕНАНТИОМЕРИ – стереоізомера молекул, які не мають «дзеркальне зображення» чи є молекули (енантиомери).

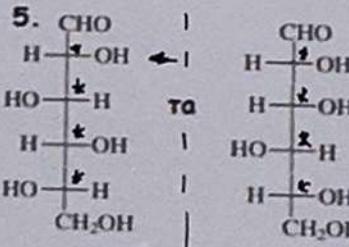
ДІАСТЕРЕОМЕРИ – пари просторогоризонтальних ізомерів, які мають таку ж конфігурацію, що не дозволяє зробити «дзеркальне зображення» молекул.

ЕПІМЕРИ – пара діастереомерів, в якій молекули мають «дзеркальне зображення» молекул, які мають багато різниць (конфігурації) щодо хірального центру (який має багато різниць).

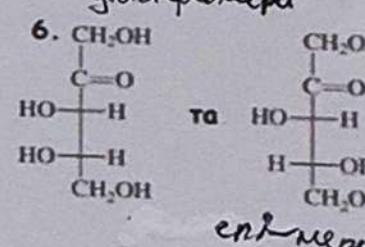
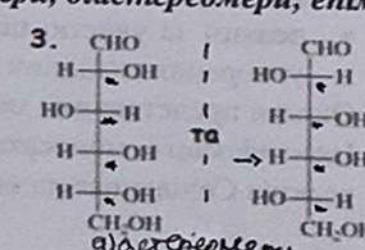
Охарактеризуйте наведені пари вуглеводів як енантиомери, діастереомери, епімери:



різни розширені



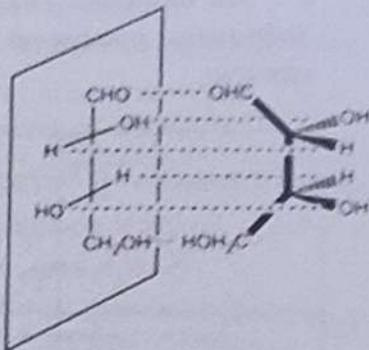
різни розширені



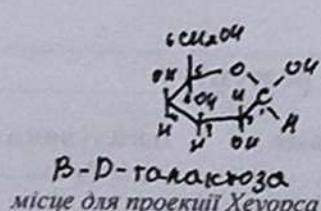
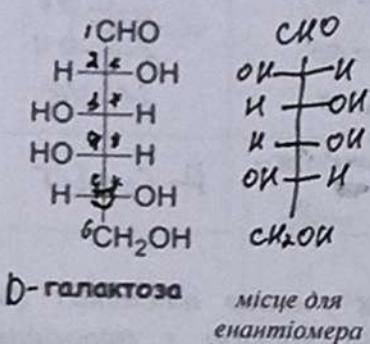
різни розширені

29

■ Проекція Фішера (формула Фішера, запропонована у 1891 р.) – спосіб зображення на площині тривимірної структури органічної сполуки, молекула якої містить один чи більше хіральних центрів. При проектуванні на площину асиметричні атоми Карбону зазвичай не позначають, зберігаючи лише лінії, що перехрещуються, та символи замісників (атом Н також дозволено не позначати). Замісники, розташовані перед площиною рисунка (-H, -OH), позначають праворуч і ліворуч, а ті, що за площиною (-CHO, -CH₂OH), – вище і нижче перехрещення ліній.

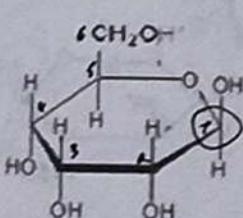
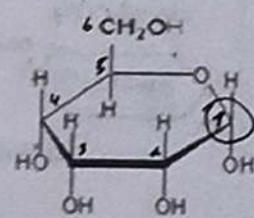


○ Розгляньте проекцію Фішера для структури галактози і виконайте наступні завдання:



- (право) **Денер** (ліво) **Лібо** ?
- Зображені структура відповідає D- чи L-ізомеру?
 - Природні моносахариди належать до D- чи L-ізомерів?
 - Пронумеруйте атоми Карбону (згідно з правилами органічної хімії). Позначте всі хіральні центри (*) та обведіть той, що визначає дану структуру як відповідний стереоізомер.
 - Поряд зобразіть структуру відповідного енантіомера.
 - Скільки стереоізомерів має галактоза (альдогексоза)? $2^4 = 16$
 - Чи така ж сама кількість стереоізомерів притаманна кетогексозам? *Число ізомерів кетогексоз 2^{C-3}*
 - Внизу зобразіть формулу Хеуорса (піранозне кільце) для D-галактози.
 - На прикладі галактози вкажіть номери атомів Карбону, які залучені до утворення: а) піранозного кільця – 1, 2, 3, 4, 5 ; б) фуранозного кільця – 1, 2, 3, 4

○ Проаналізуйте наведені проекції Хеуорса та виконайте завдання:



- Пронумеруйте атоми Карбону. Обведіть аномерний атом Карбону.
(неподалік ото альдегідна група)
- Яка з двох структур відповідає α-ізомеру, а яка – β-ізомеру? 1) α ; 2) β
- Як називаються ізомери, що відрізняються положенням біля аномерного атома Карбону?
Аномери

○ Дайте визначення термінам:

ТАУТОМЕРІЯ – структурна ізомерія, за якої ізомери легко претерпіють один інший, найчастіше відбувається за рахунок викиду гідрогену.

МУТАРОТАЦІЯ – зміна положення полірізації, що викликає зміни балансу відповідної аномерії.

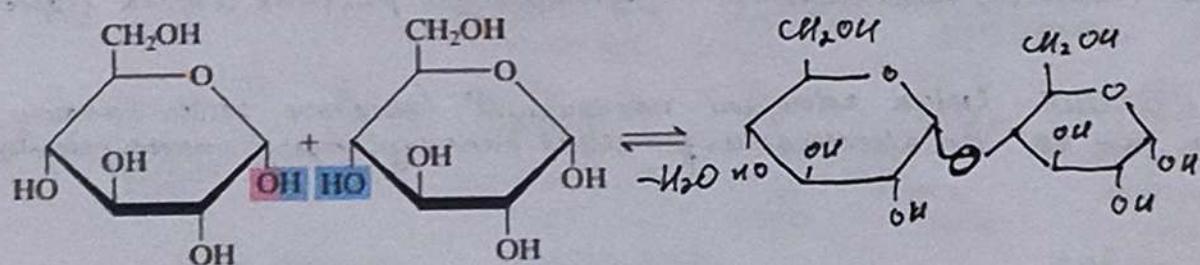
На прикладі D-глюкози опишіть реакції за участю відкритих форм моносахаридів. Зобразіть продукти реакцій за дії відповідних агентів та вкажіть назви утворених сполук:

	Агент			
	слабкий окиснювач	сильний окиснювач	в біологічних системах (за участю ферментів)	відновник (наприклад, H ₂) у присутності катализатора
D-глюкоза	D-глюкозова кислота	D-глюкароліка кислота	D-глюконова кислота	D-Сорбіт

На прикладі β-D-глюкопіранози опишіть реакції за участю цикліческих форм моносахаридів. Зобразіть продукти реакцій взаємодії β-D-глюкози з відповідними реагентами:

	Тип реакції (та приклад реагента)		
	Алкілювання	Фосфорилювання	Ацилування
	спирти (наприклад, CH ₃ CH ₂ -OH)	H ₃ PO ₄	5 CH ₃ COOH
β-D-глюкоза	етил-β-D-глюкопіраноза	β-D-глюкозо-6-фосфат	пентаакетилглюкопіраноза

Завершіть реакцію взаємодії двох моносахаридів на прикладі α-D-глюкози:



Заповніть таблицю «Біологічно важливі моносахариди та їх похідні»:

Назва	Структура (циклічна форма)	Емпірична формула та клас	Деякі властивості та біологічне значення
Глюкоза		C ₆ H ₁₂ O ₆ алідогексоза (моносахарид)	Гарна розчинність у полярних розчинниках. Основне джерело енергії для більшості організмів. Мономер багатьох полісахаридів. Висока температура плавлення.
Галактоза		C ₆ H ₁₂ O ₆ алідогексоза	Компонент синтезу гілоколігів та глікопротеїнів. Гарна розчинність у полярних розчинниках. Висока температура плавлення. Компонент лактози. Метаболізується до глюкози.
Фруктоза		C ₆ H ₁₂ O ₆ кетогексоза (моносахарид)	Компонент сахарози. Ключовий елемент гілоколігу. Гарна розчинність у воді.
Рибоза		C ₅ H ₁₀ O ₅ алідопентоза	Складова РНК Основа коферментів (АТФ, НАД, ФАД) Розчинна у воді
N-ацетил- <i>D</i> -глюказамін		C ₈ H ₁₅ NO ₆ амікохідкор	Складова глікозаміногліканів
N-ацетил-нейрамінова (сіалова) кислота		C ₁₁ H ₁₉ NO ₉ сіалова кислота	Компонент глікопротеїнів і гангліозидів. Ключовий у клітинному сигналізуванні, імунітет, вірогідні.
Глюкозамін-4-сульфат		C ₈ H ₁₅ NO ₈ S амікохідкор	Складова хондротинсульфату. Ключовий у хрящовій тканині.

І) ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ:

Визначте, яку конфігурацію мають більшість природних моносахаридів:

- A
- B
- D
- L
- Z

Оберіть складові, що входять до структури сахарози:

- глюкопіраноза та глюкопіраноза
- глюкопіраноза та глюкофураноза
- глюкопіраноза та фруктофураноза
- глюкофураноза та фруктопіраноза
- фруктофураноза та фруктофураноза

До моносахаридів належать:

- мальтоза
- фруктоза
- лактоза
- гепарин
- глікоген

Оберіть функції, які характерні для вуглеводів:

- енергетична
- транспортна
- екскреторна
- скоротлива
- каталітична

Зазначте особливості, які характерні для моносахаридів:

- солодкий смак
- оптична активність
- кристалічна структура
- розчинність у воді

Оберіть вуглеводи – представники альдоз:

- глюкоза
- рибоза
- фруктоза
- рибулоза
- галактоза

Оберіть вуглеводи – представники кетоз:

- глюкоза
- рибоза
- фруктоза
- рибулоза
- галактоза

Оберіть твердження, характерне для вуглеводів:

- моносахариди – лужні сполуки
- всі природні моносахариди мають оптичну активність
- моносахариди розчиняються в ефірі
- моносахариди мають постійні кути обертання
- просторова ізомерія моносахаридів пов’язана із асиметричним атомом Нітрогену у складі їх молекул

Оберіть найбільшу повну відповідь, що характеризує мутаротацію:

- дисоціація моносахаридів у водних розчинах
- утворення цикліческих структур моносахаридів у водних розчинах
- полімеризація моносахаридів у водних розчинах
- взаємоперетворення аномерних α - і β -форм моносахаридів

Визначте, від якого атома або групи атомів залежать редукуючі (відновлюючі) властивості альдомоноз:

- від 1 атому карбону (альдегідної групи)
- від 1 та 4 атому карбону пентози, які беруть участь у циклізації молекули
- від 1 та 5 атому карбону гексози, які беруть участь у циклізації молекули
- від останньої спиртової групи

Зазначте, які гексози найчастіше зустрічаються в організмах вищих тварин:

- глюкоза, маноза, ксилоза, сахароза
- рибоза, фруктоза, сахароза, маноза
- фруктоза, глюкоза, галактоза
- дігідроксикаетон, еритроза, рибоза, мальтоза

За кількістю атомів вуглецю в молекулі моносахариди класифікуються на:

- тріози
- тетрози
- пентози
- гексози
- фуранози

Визначте, які моносахариди належать до пентоз:

- рибулоза
- рибоза
- ксилулоза
- арабіноза
- дезоксирибоза
- ксилоза

Визначте, на які дві групи поділяються моносахариди залежно від форми оксогруп в молекулі:

- альдози
- рибози
- пентози
- кетози
- гексози
- фуранози

Оберіть моносахариди, які належать до гексоз:

- арабіноза
- глюкоза
- еритроза
- маноза
- галактоза
- фруктоза

Який моносахарид називають виноградним цукром:

- манозу
- галактозу
- фруктозу
- глюкозу
- альтрозу

Оберіть, як ще називають фруктозу:

- плодовим цукром
- виноградним цукром
- левульзою
- тростинним цукром
- буряковим цукром

Встановіть відповідність між родиною цукрів і моносахаридом:

1. альдотріоза	• маноза	- 7
2. кетотріоза	• фруктоза	- 8
3. альдотетроза	• рибулоза	- 6
4. кетотетроза	• арабіноза	- 5
5. альдопентоза	• ксилоза	- 6
6. кетопентоза	• еритрулоза	- 4
7. альдогексоза	• ксилулоза	- 6
8. кетогексоза	• треоза	- 3

Визначте сполуки, похідними яких є моносахариди:

- гідроксикарбонові кислоти
- аліфатичні карбонові кислоти
- багатоатомні спирти, що містять карбонільну групу
- ароматичні карбонові кислоти
- циклічні багатоатомні спирти

Визначте, яку кількість асиметричних атомів Карбону містять молекули альдогексоз:

- 1 атом
- 2 атоми
- 3 атоми
- 4 атоми
- 5 атомів

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 3

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВИЯВЛЕННЯ ГЕКСОЗ

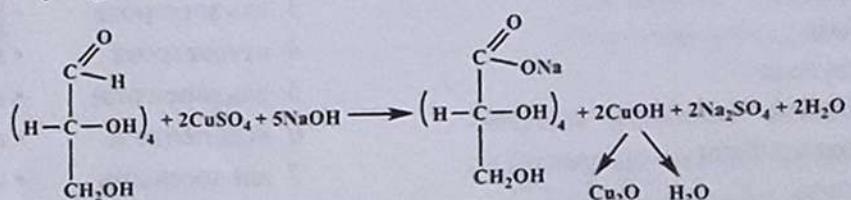
Мета роботи: Опанування навичками виявлення моносахаридів.

Теоретичні відомості:

Виявлення моносахаридів базується, зокрема, на окисно-відновних властивостях їх альдегідних груп. Вільна альдегідна група виявляє відновлюючі властивості. Наприклад, вона може відновлювати катіони металів: Cu^{2+} до Cu^+ , Ag^+ до Ag^0 . При окисненні альдегідної групи моносахаридів слабкими окиснювачами вона перетворюється на карбоксильну групу з утворенням одноосновних альдонових кислот, окиснювач при цьому відновлюється. Більш ефективно ці реакції відбуваються у лужному середовищі.

3.1. Реакція Троммера

Дана реакція базується на відновлюючих властивостях моносахаридів, що містять вільну альдегідну групу. У ході реакції відбувається відновлення гідроксиду міді (II) до геміоксиду міді (I), при цьому альдегідна група моносахариду окиснюється до карбоксильної групи з утворенням солей альдонових кислот. Кетози також здатні вступати в реакцію Троммера, оскільки в лужному середовищі вони ізомеризуються в альдози.



Реактиви та матеріали. 5% розчин глюкози; 5% розчин гідроксиду натрію (NaOH); 5% розчин сульфату міді (CuSO_4).

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, крапельниці, штатив для пробірок, водяна баня або пальник.

ХІД РОБОТИ:

1. Внесіть у пробірку 3 мл розчину глюкози.
2. Додайте у пробірку 1 мл 5% розчину NaOH, 5 краплин 5% розчину CuSO_4 та перемішайте.

∅ Запишіть свої спостереження

Спостерігаю чорне осад Cu(OH)_2

3. Обережно нагрійте пробірку до кипіння на кип'ячій водяній бані.

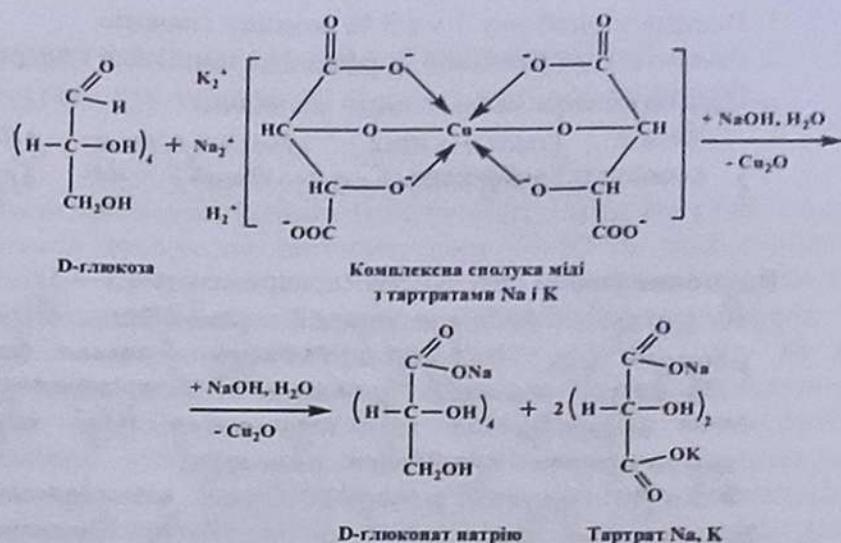
∅ Запишіть свої спостереження

Після заліплення розчину спостерігаю обертання з синього колору на характерний оранжевий колір

3.2. Реакція Фелінга

Ця реакція ґрунтуються на тому ж механізмові, що і реакція Троммера, але в реактиві Фелінга іон Cu^{2+} існує у вигляді комплексної сполуки з тартратами, тому за надлишку міді не осаджується з розчину у вигляді Cu_2O .

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуовані, крапельниці, штатив для пробірок, пальник.



Реактиви та матеріали. 5 % розчин глюкози; реактив Фелінга, який складається з двох розчинів: розчин Фелінга I (лужний розчин сегнетової солі) містить тартрат K^+-Na^+ , приготований на розчині $NaOH$; розчин Фелінга II містить водний розчин $CuSO_4$. Перед роботою змішують рівні об'єми розчину Фелінга I і розчину Фелінга II.

ХІД РОБОТИ:

- Внесіть у пробірку 1 мл 5 % розчину глюкози і додайте 1 мл свіжоприготовленого реактиву Фелінга.
- Перемішайте вміст пробірки і нагрівайте у полум'ї пальника до кипіння.

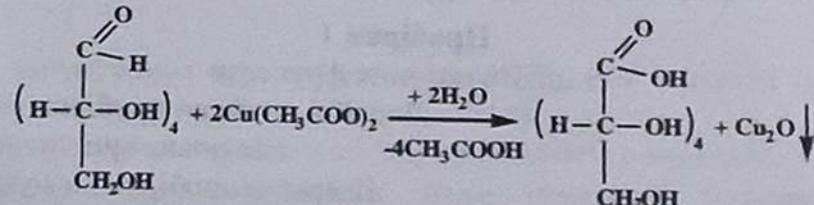
Що спостерігається після закипання?

Спостерігають зміну кільору розчину з блакитного на помаранчевий, без осадження.

3.3. Реакція Барфеда

Реакція з ацетатом міді відрізняється від усіх попередніх тим, що окиснення відновлюючих цукрів відбувається не в лужному, а в близькому до нейтрального середовищі, в якому редукуючі дисахариди, на відміну від моносахаридів, практично не окиснюються.

Глюкоза та інші гексози реагують з ацетатом міді з утворенням Cu_2O :



Реактиви та матеріали. 5 % розчин глюкози; реактив Барфеда (13,3 г ацетату міді розчиняють у 200 мл гарячої дистильованої води за температури 70°C. Суміш фільтрують і до фільтрату додають 1,9 мл льодяної оцтової кислоти).

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуовані, штатив для пробірок, водяна баня або пальник.

ХІД РОБОТИ:

- Внесіть у пробірку 1 мл 5% розчину глюкози.
- Додайте 1 мл реактиву Барфеда, перемішайте і нагрійте до кипіння у полум'ї пальника.

✓ Що спостерігається після закипання?

Після закипання посторігам зникає колючий розчину з сивого (блакитного) на брудно-коричневий (тігновий)

Висновок (щодо результатів експериментів 3.1-3.3):

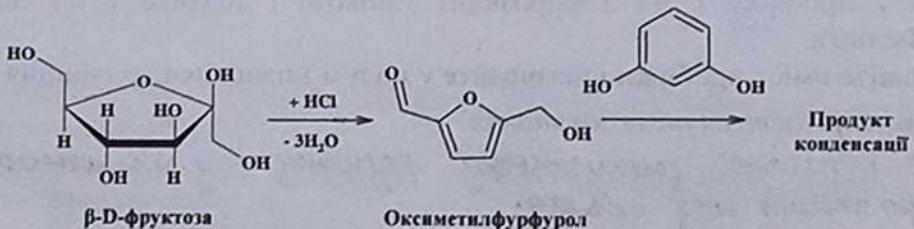
В ході лабораторної роботи було досліджене з основами реагентів на альдози (мюкоузу в нашо висновку).

В ході, першої реації в нейтральному середовищі сульфат магнію перетворюється на стрункий магній перехідить в CaO , осад харacteristичного оранжевого колючу.

В ході другої реації було досліджене аналогічних сполук (алдоз), характерні для цієї реації є відсутність осаду, в нейтральному середовищі реакція Фелдера надає сивого колючу та піддає нагрівання спостерігається зникнення колючу розчину на помаранчевий.

3.4. Реакція Селіванова на кетози

■ Реакція Селіванова дає можливість відрізняти кетози (наприклад, фруктозу) від альдоз (наприклад, глюкози). Кетози за нагрівання з концентрованою соляною кислотою підлягають дегідратації набагато легше, ніж альдогексози. Вони перетворюються на оксиметилфурфурол, який із резорцином (1,3-дигідроксibenзолом) утворює сполуку вишнево-червоного забарвлення:



Реактиви та матеріали. Кристалічний резорцин; 5% розчин фруктози; 5% розчин глюкози; 25% розчин соляної кислоти (HCl).

Обладнання. Скляні палички, пробірки, шпатель, мікропіпетки, штатив для пробірок, водяна баня.

ХІД РОБОТИ:

Внесіть у дві пробірки:

Пробірка 1

5 мл 5% розчину фруктози

Додайте в обидві пробірки 1 мл 25% розчину HCl

і декілька кристалів резорцину

Нагрійте пробірки на водяній бані до 80°C ,

витримайте 5 хв

Пробірка 2

5 мл 5% розчину глюкози

✓ Запишіть результати спостереження

✓ в пробірці що діє посторігам зміна колючу на 1,3-дигідроксibenзоль (в пробірці 2 на 1,3-дигідроксibenзоль).

Висновок:

Основою реації на кетози, то в ході лабораторної роботи спостерігається дегідратація фруктози та взаємодія з резорцином. як наслідок глюкоза не пройшла харчування настільки.

❖ Дайте визначення термінам:

ДИСАХАРИДИ - олігосахариди, складені з 2-х моносахаридів

ОЛІГОСАХАРИДИ - цепочки складені з моносахаридів у кількості від 2 до 20 моносахаридів.

ПОЛІСАХАРИДИ - складки моносахаридів, що количеством більше 20 моносахаридів.

O-глікозидний зв'язок

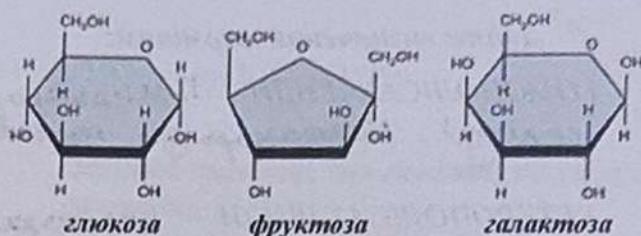
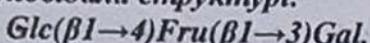
❖ Обґрунтуйте різницю між відновними та невідновними вуглеводами. Наведіть конкретні приклади.

?

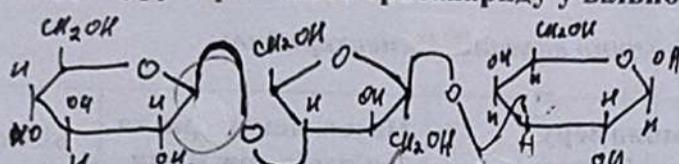
❖ Заповніть таблицю «Біологічно важливі дисахариди»:

Назва	Структура та назви мономерів	Деякі властивості та біологічне значення
Мальтоза	 $\alpha\text{-D-глюкоза}$ $\alpha\text{-D-глюкоза}$	Відновний цукор Гігроскопічний Продуцент розщеплення крохмалю. Джерело енергії.
Целобіоза	 $\beta\text{-D-глюкоза}$ $\beta\text{-D-глюкоза}$	Відновний цукор Розщепляється у фагіті Солодкий чуттєво
Лактоза	 $\beta\text{-D-галактоза}$ $\alpha\text{-D-глюкоза}$	Відновний цукор Основний вуглевод молока
Сахароза	 $\alpha\text{-D-глюкоза}$ $\beta\text{-D-фруктоза}$	Невідновний цукор Транспортний вуглевод у рослинах.

✓ Використовуючи наведені структурні формули моносахаридів – глюкози (Glc), фруктози (Fru), галактози (Gal), утворіть молекулу трисахариду, щоб вона відповідала структурі:



Зобразіть структуру отриманого трисахариду у вільному полі нижче.



✓ Розгляньте структури наведених олігосахаридів та доповніть таблицю відповідною інформацією:

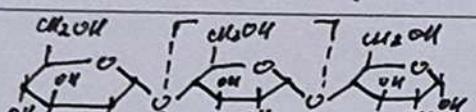
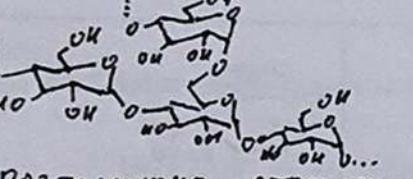
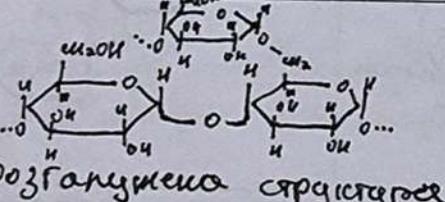
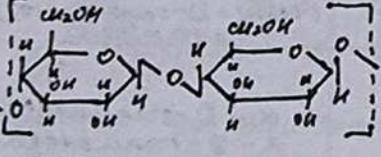
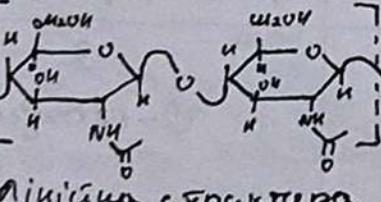
Структурна формула	 α-D-Galactose (1→6)α-D-Glucose (1→2) β-D-Fructose (galactose) (galactose)	 α-D-galactose (1→6)α-D-galactose (1→6)α-D-glucose (1→2)β-D-fructose (cellobiose)
Назва	3 α-D-галактоза α-D-глюкоза β-D-фруктоза	4 α-D-гликозид (1→6)α-D-галактоза 1→6)α-D-глюкоза (1→2)β-D-фруктоза (секстоза)
Загальна кількість та назви моносахаридних залишків		
Загальна кількість та назви глікозидних зв'язків	2 O-глікозидні зв'язки	3 O-глікозидні зв'язки
Біологічна роль	Рослинний протектор при екзогенних факторах стресу	Функціонуючий олігосахарид, якого є продотинкі властивості!

Дайте визначення термінам:

ГОМОПОЛІСАХАРИДИ - Полісахариди молекули, які мають в складі
однієї моносахариди одного типу.

ГЕТЕРОПОЛІСАХАРИДИ - полісахариди, що складаються з різних
моносахаридів.

Доповніть таблицю «Біологічно важливі полісахариди»:

Назва	Структура мономеру та особливості будови	Назви мономерів та зв'язків між ними	Біологічна роль
Крохмаль амілоза	 спіральна, згілока структура	α -D-глюкоза O-глікозиди $\alpha(1 \rightarrow 4)$	Цільний компонент крохмалю, легке усвоєння до перетравлювання. Запасна функція.
	 розгалуженка структура	α -D-глюкоза O-глікозиди $\alpha(1 \rightarrow 4)\alpha(6 \rightarrow 6)$	Компонент крохмалю, доступний до застосування. Запасна функція.
Глікоген	 розгалуженка структура	α -D-глюкоза O-глікозиди $\alpha(1 \rightarrow 4)\alpha(1 \rightarrow 6)$	Запасний багатогілок глюкози
Целюлоза	 лінійна структура	β -D-глюкоза O-глікозиди $\beta(1 \rightarrow 4)$	Основа рослинних клітинних стінок.
Хитин	 лінійна структура	N-ацетилглюкозамін O-глікозиди $\beta(1 \rightarrow 4)$	Основа екзосклерії членистохорих, іктінічних стінок грибів.

Обґрунтуйте біологічне значення існування глікогену у більш розгалужений формі порівняно з крохмалем.

ВІДПОВІДІ

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ:

Оберіть дисахариди, до складу яких входить β -D-глюкоза:

- сахароза
- лактоза
- целобіоза
- мальтоза
- целюлоза
- інулін

Оберіть дисахарид, до складу якого входить залишок β -D-фруктози:

- сахароза
- лактоза
- мальтоза
- целобіоза
- трегалоза

Визначте, від якого атома або групи атомів залежать редукуючі (відновні) властивості вуглеводів:

- від 1 атому Карбону (альдегідної групи)
- від 1 та 4 атому Карбону пентози, які беруть участь у циклізації молекули
- від 1 та 5 атому Карбону гексози, які беруть участь у циклізації молекули
- від останньої спиртової групи

Оберіть дисахарид, який не має відновних властивостей:

- сахароза
- мальтоза
- лактоза
- целобіоза

Вкажіть дисахариди, які мають відновні властивості:

- інулін
- лактоза
- мальтоза
- сахароза
- хітин
- целобіоза

Оберіть моноциукри, які входять до складу лактози:

- два залишки D-глюкози
- α -D-глюкоза та β -D-галактоза
- D-глюкоза та D-фруктоза
- D-глюкоза та D-маноза

Оберіть складові, що входять до структури сахарози:

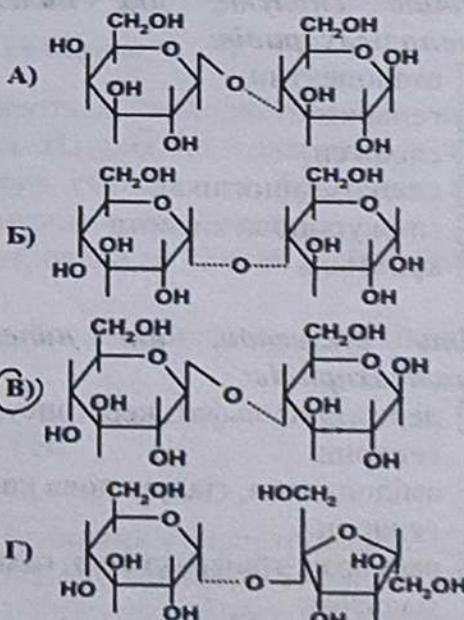
- глюкопіраноза та глюкопіраноза
- глюкопіраноза та глюкофураноза
- глюкопіраноза та фруктофураноза
- глюкофураноза та фруктопіраноза
- фруктофураноза та фруктофураноза

Встановіть відповідність між тривіальною та систематичною назвами вуглеводів:

- A. α -D-глюкопіранозил-(1 \rightarrow 1)-D-глюкопіранозид
- B. β -D-глюкопіранозил-(1 \rightarrow 4)-D-глюкопіраноза
- C. α -D-глюкопіранозил-(1 \rightarrow 4)-D-глюкопіраноза
- D. β -D-галактопіранозил-(1 \rightarrow 4)-D-глюкопіраноза

- | | | |
|-------------|---|----------|
| • Целобіоза | - | <u>B</u> |
| • Мальтоза | - | <u>B</u> |
| • Трегалоза | - | <u>A</u> |
| • Лактоза | - | <u>D</u> |
| • Сахароза | - | <u>G</u> |

Оберіть, яка з наведених структурних формул відповідає будові целобіози:



Визначте олігосахариди, які належать до трисахаридів:

- рафіноза, трифруктозан, генціаноза
 сахароза, стахіоза, мальтоза, целобіоза
 мальтоза, мелітріоза
 мальтоза, сахароза, рафіноза

Вкажіть, з якої кількості моносахаридів складаються полісахариди:

- 2-5
 5-10
 10
 менше 10
 більше 10

Вкажіть емпіричну формулу полісахаридів, утворених залишками глюкози:

- $(CH_2O)_n$
 $(C_2H_4O_2)_n$
 $(C_6H_{10}O_5)_n$
 $(C_6H_6O)_n$

Оберіть сполуку, яка є структурним елементом крохмалю:

- маноза
 глюкоза
 фруктоза
 галактоза

Оберіть сполуку, яка є структурним елементом глікогену:

- галактоза
 глюкоза
 маноза
 фруктоза

Визначте сполуки, які належать до гетерополісахаридів:

- амілопектин
 гепарин
 глікоген
 глукозаміноглікан
 глукuronova кислота
 крохмаль

Оберіть вуглеводи, які належать до гомополісахаридів:

- дерматансульфат, кератансульфат, гепарин
 амілопектин, гіалуронова кислота, гепарин
 рафіноза, трифруктозан, сахароза, мальтоза
 крохмаль, глікоген, декстрин, клітковина

Оберіть, з яких компонентів складається крохмаль:

- амілоза та амілопектин
 амілоза та лактоза
 амілопектин та глікоген
 глікоген та декстрин

Які з перерахованих характеристик притаманні крохмалю:

- залишки глюкози, зв'язані α -(1,4 та 1,6)-глікозидними зв'язками
 лінійний полімер
 надходить до організму у складі тваринної їжі
 солодкий на смак
 за нагрівання у воді утворює клейстер
 побудований із залишків глюкози
 форма депонування глюкози у клітинах рослин

Оберіть полісахарид, побудований з сульфатованих залишків глукuronової кислоти та глукозаміну:

- глікоген
 крохмаль
 гепарин
 целюлоза
 хітин
 хондроїтінсульфат

Визначте полісахарид, який є продуктом конденсації N-ацетилгалактозамінсульфату і глукuronової кислоти:

- гепарансульфат
 кератансульфат
 хітин
 сіалові кислоти
 хондроїтінсульфат
 гіалуронова кислота

Назвіть компоненти, з яких складається гіалуронова кислота:

- глюкоза і фруктоза
 глюкоза і галактоза
 ідуронова кислота і N-ацетилглюкозамін
 глукuronova кислота і N-ацетилглюкозамін
 глукuronova кислота і N-ацетилгалактозамін-6-сульфат

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 4

РЕАКЦІЇ ВИЯВЛЕННЯ ДИСАХАРИДІВ ТА ПОЛІСАХАРИДІВ

Мета роботи: Опанування навичками виявлення дисахаридів та полісахаридів.

4.1. Виявлення дисахаридів мальтози і лактози

■ Завдяки наявності вільної альдегідної групи в молекулі лактози (в залишку глюкози) та мальтози (в другого залишку глюкози) ці дисахариди мають відновлюючі властивості й можуть брати участь у реакціях відновлення, зокрема, мальтоза та лактоза дають позитивну реакцію Троммера.

Реактиви та матеріали. Розчини лактози, мальтози, сахарози, гідроксиду натрію (NaOH) та сульфату міді ($CuSO_4$). Усі розчини є 5%.

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, крапельниці, штатив для пробірок, пальник.

ХІД РОБОТИ:

У три пробірки додайте:

Пробірка 1

2 мл 5% розчину мальтози

Пробірка 2

2 мл 5% розчину лактози

Пробірка 3

2 мл 5% розчину сахарози

1 мл 5% розчину NaOH

5 краплин 5% розчину $CuSO_4$

Обережно нагрійте пробірки у полум'ї пальника

✓ Запишіть результати спостереження

Розчин мальтози змінив свій колір, але зберіг свій характерний оранжевий колір, який починає відступати з концентрацією залежно від температури, але зберігається.

Висновок: пробірка №3 лишилася без змін оскільки в сахарозі відсутній залишок у неї була б лише -ОН група, що зумовлює реакцію Троммера, тому розчин лишився без змін. На противагу пробірки №1 та №2 проявляли, оскільки мальтоза та лактоза мають у своєму складі залишки глюкози, які здають до редукції, що зумовило зміну коліору на характерний оранжевий.

4.2. Виявлення сахарози

■ Для виявлення дисахаридів, які не відновлюються, використовують методи, що базуються на гідролізі дисахаридів до моносахаридів. Наприклад, сахароза (нередукуючий цукор) у реакції гідролізу розкладається до молекул глюкози та фруктози, а утворені моносахариди виявляють за реакціями Троммера, Селіванова, Фелінга тощо.

Реактиви та матеріали. 5% розчин сахарози; концентрована та 25% HCl; 5% розчин NaOH; 5% розчин $CuSO_4$; кристалічний резорцин.

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, шпатель, крапельниці, штатив для пробірок, пальник або водяна баня.

ХІД РОБОТИ:

A. Отримання гідролізату сахарози.

1. Додайте в пробірку 5 мл 5% розчину сахарози і 4 краплини концентрованої HCl.
2. Помістіть пробірку в кип'ячу водяну баню і нагрівайте її протягом 15 хв.
3. Після охолодження підпишіть пробірку «ГІДРОЛІЗАТ» та додайте 5% розчин NaOH до лужного pH (контроль з використанням індикаторного паперу).

Б. Реакція Троммера для виявлення глюкози

У дві пробірки додайте:

Пробірка 1

2 мл ГІДРОЛІЗАТУ
(отриманий у кроці A)

1 мл 5% розчину NaOH і 5 краплин 5% розчину CuSO₄

Обережно нагрійте пробірки у полум'ї пальника до кипіння

Пробірка 2 (контроль)

2 мл 5% розчину сахарози

✓ Запишіть результати спостереження:

Розчин забарвлюється в характерний оранжевий колір.

Колір зміни колору, що характерно для реакції.

В. Реакція Селіванова для виявлення фруктози

У дві пробірки додайте:

Пробірка 1

2 мл ГІДРОЛІЗАТУ
(отриманий у кроці A)

1 мл 25% розчину HCl і декілька кристалів резорцину

Нагрійте пробірки на водяній бані до 80°C упродовж 5 хв

Пробірка 2 (контроль)

2 мл 5% розчину сахарози

✓ Запишіть результати спостереження:

Зміна колору на виникнення.
Проте не сильна.

Зміна колору на характерний виникнення.

Висновок: Основою реакції Селіванова, є виникнення колору на виникнення, тобто засновано на тому, що фруктоза наявна у обох пробірках (лівої і правої) прореагує з HCl, що призведе до реакції з резорцином. Крім того колору в пробірці, може бути надано із зачіпкою (змішаною з додатковим резорцином).
 В усіх пробах з реагуванням троммера бачимо, що з'являється глюкоза у молекулі сахарози, що реагує з йодом розчином Троммера проба №2, які прореагують проба №1, де молекула сахарози гідролізується, має здатність реагувати з розчином Троммера, через що дає позитивний результат харacteristичний колір.

4.3. Виявлення полісахаридів

A. Реакції на виявлення полісахаридів

■ Резервні полісахариди тканин рослин і тварин – крохмаль і глікоген – реагують з йодом з утворенням нестійких комплексних адсорбційних сполук синього (крохмаль) або червоно-бурого (глікоген) колору, які знебарвлюються при нагріванні і знову забарвлюють розчини при охолодженні. Знебарвлення розчинів сполук глюканів з йодом спостерігається також при додаванні лугу. Зникнення забарвлення внаслідок нагрівання або додавання лугу зумовлене тим, що у результаті реакції формується комплекс з молекулярним йодом, а не формування йодид-іону.

Реактиви та матеріали. 1% розчин крохмалю; реактив Люголя (1 г йоду та 2 г йодиду калію розчиняють у 15 мл дистильованої води й потім доводять водою до об'єму 300 мл); 5% розчин NaOH.

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, крапельниці, штатив для пробірок, водяна баня.

ХІД РОБОТИ:

1. Внесіть у пробірку №1 2 мл 1% розчину крохмалю.
2. Додайте 1-2 краплинни розчину Люголя і ретельно перемішайте.

✓ Запишіть свої спостереження

Спостерігаю зникнення колору на характерний темно-сірий.

3. Перенесіть 1 мл забарвленого розчину в пробірку №2, що містить 1 мл 5% розчину NaOH.

✓ Запишіть свої спостереження

Спостерігаю зневарливий розчину

4. Нагрійте на водяній бані забарвлений суміш, що залишилась у вихідній пробірці (№1).

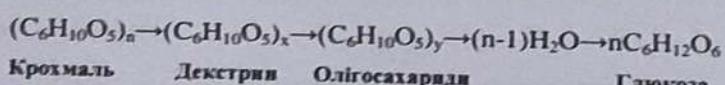
✓ Запишіть свої спостереження

Спостерігаю позначення просітленого розчину

Висновок: Оскільки розчин Люголя це суміш йоду та кальцію іодиду, то при засмодії з крохмалем йод "відводиться" в спіралі крохмалю, зумовлюючи забарвлення розчину в темно-сіру (чорко-сірий) колір. При додаванні NaOH утворюється мішування сіаду, що зневарливе розчин. При нагріванні відбувається розрізування спіралей крохмалю йодомідом, звідки відмінно зневарливе розчин, який має попереднього колору при охолодженні.

Б. Гідроліз крохмалю

■ При нагріванні розчину крохмалю з мінеральними кислотами відбувається його гідроліз за схемою:



При повному гідролізі крохмалю утворюється D-глюкоза, яку можна виявити відповідними якісними реакціями.

Реактиви та матеріали. 1% розчин крохмалю; концентрована HCl; 5% розчин NaOH; 5% розчин CuSO₄.

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, крапельниці, штатив для пробірок, водяна баня або пальник.

ХІД РОБОТИ:

У дві пробірки додайте:

Пробірка 1

5 мл 1% розчину крохмалю

5 краплин концентрованої HCl

Кип'ятіть на водяній бані упродовж 15 хв.

Пробірка 2

Після охолодження додайте до гідролізату 1 мл

5% NaOH. Перевірте лужне середовище, використовуючи індикаторний папір.

В обох розчинах проведіть реакцію Троммера:
Додайте 2 мл 5% розчину NaOH і 5 краплин 5% розчину CuSO₄,
ретельно перемішайте і нагрійте на водяній бані

Запишіть результати спостереження
Синій "баловнений" осад

чорний баловнений осад з
чорними гранулами

Висновок В ході експерименту ми можемо отримати характерний
оранжевий колір для пробірки з гідролізом, проте не отримали
бажаного результату че могло статися, через низьку фасторять, зокрема
залишок кількості щелів. Це недостатньотої концентрації, зокрема
"ількоєдно" наслідує діє гідролізування.
Пробірка з кіногрізаним зразком містить відсутній колір.
Проте в пробірці з'явилася чорні гранули, що мають
недостатню природу, оскільки крохмаль не починав віасмогість з NaOH
та CuSO₄. Ці гранули могли бути викликані внаслідок контамінації;
недостатнім реагентом.

Наведіть структурні формулі протеїногенних амінокислот, вкажіть асиметричний атом Карбону, а також одно- та трилітерні скорочені назви, як показано на прикладі:

Неполярні амінокислоти

$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{H}}{\text{CH}}}-\text{COOH}$ гліцин Глі, (Gly, G); замінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}}-\text{COOH}$ Аланін Ала, (Ala, A); замінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{COOH}$ Пролін Про, (Pro, P); замінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_3}{\text{CH}}}-\text{COOH}$ Валін Вал, (Val, V); незамінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_3}{\text{CH}}}-\text{COOH}$ Лейцин Лей, (Leu, L); незамінна АК
$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Ізолейцин Іле, (Ile, I); незамінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Метіонін Мет, (Met, M); незамінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Фенилаланін Феа, (Phe, F); незамінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Триптофан Трип, (Trp, W); незамінна АК	

Полярні незаряджені амінокислоти

$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Серин Сер, (Ser, S); замінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Тронін Тре, (Thr, T); незамінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Аспарагін Асн, (Asp, N); замінна АК
$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Глутамін Глу, (Glu, E); незамінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Цистеїн Цис, (Cys, C); замінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Тирозін Тир, (Tyr, Y); незамінна АК

Полярні негативно заряджені

$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Аспартат Асп, (Asp, D); незамінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Глютаміт Глю, (Glu, E); незамінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Лізин Лиз, (Lys, K); незамінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Аргінін Арг, (Arg, R); незамінна АК	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{COOH}}{\underset{\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2}{\text{CH}}}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$ Гістидин Гіс, (His, H); незамінна АК
---	---	--	--	---



Пригадайте природу явища стереоізомерії. На чому ґрунтуються поділ ізомерів на сполуки D- та L-ряду?

Уважно розгляньте структурні формули стандартних амінокислот та дайте відповідь на наступні запитання:

- 1) Чи можна віднести амінокислоти до оптично-активних сполук? (Коротко обґрунтуйте)

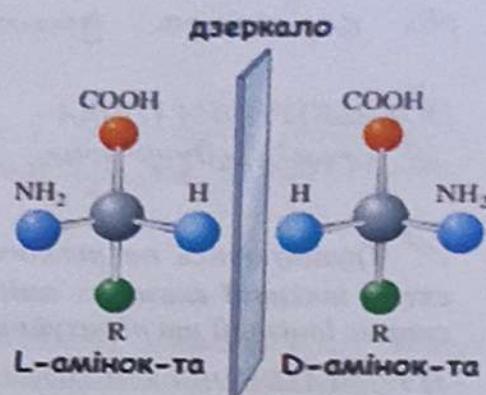
Так, оскільки існують L-та D-ізомери амінокислот

- 2) Яка амінокислота не має стереоізомера? (Чому?)

Глутамін, бо у нього (як і у всіх інших) хіральний центр є лише один.

- 3) Які дві амінокислоти мають більше ніж один хіральний центр? Відповідно, скільки для них існує можливих ізомерів? (Задесичши та трохи, по чи для кожного.)

- 4) Яка стереоізомерна форма амінокислот (L чи D) переважає у природі? L-форма

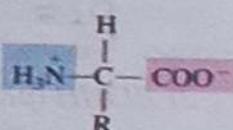


Наведіть приклади нестандартних амінокислот. Вкажіть особливості їх структури та біологічне значення.

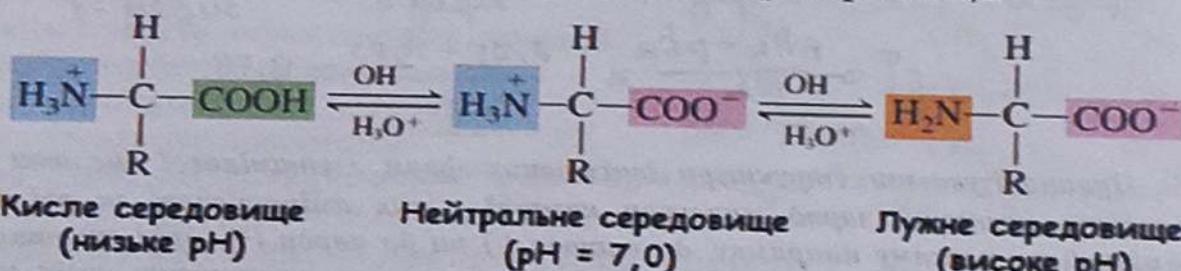
Дайте визначення термінам:

ЦВІТЕР-ІОН – стани молекул, в яких загалом, хоча і є хіральна структура, але має протонований та іонізовані зарядами радикал.

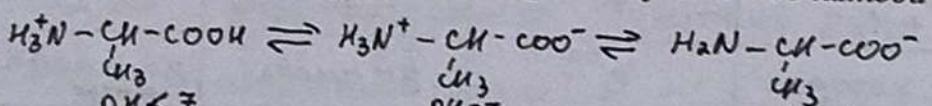
АМФОЛІТ (амфотерний електроліт) – сполука, кислотних та лужних властивостей, яка складена з цвітеріону.



Розгляньте загальну схему іонізації моноаміномонокарбонової α -амінокислоти. Проаналізуйте зміну заряду амінокислоти залежно від pH середовища:



Використовуючи власний приклад однієї з моноаміномонокарбонових α -амінокислот, у вільному полі нижче напишіть схему її іонізації, вкажіть заряд кожної з іонізованих форм та їх напрямок руху в електричному полі – до катода (-) чи до анода (+):



$\text{pK}_1 < 7$

Заряд +1

Рух до катода

$\text{pK}_2 = 7$

Заряд 0

$\text{pK}_3 > 7$

Заряд -1

Рух до анода

Дайте визначення термінам:

pK_1 - константа дисоціації карбоксильової групи. становить половина карбоксильних груп дисоціюючої, половина - K_1 .

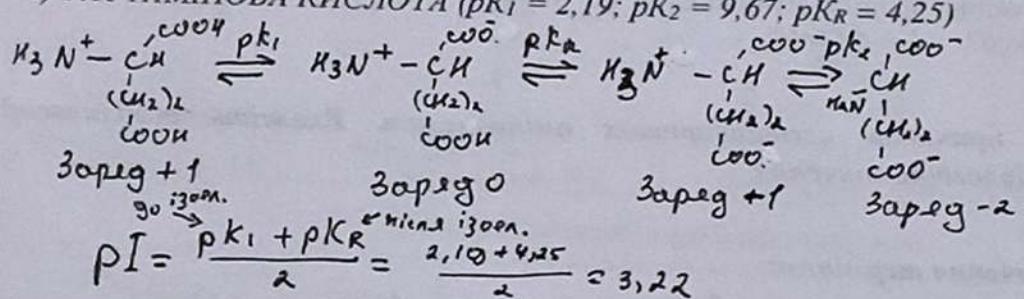
pK_2 - константа дисоціації аміогрупи.

pK_R константа дисоціації функціональної групи.

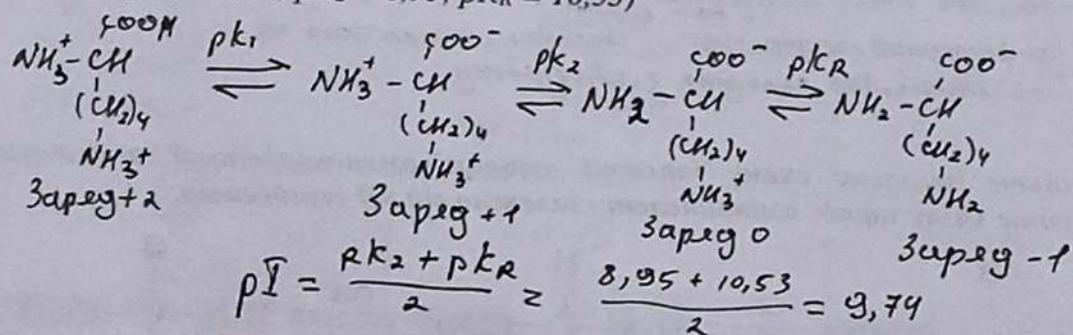
ІЗОЕЛЕКТРИЧНА ТОЧКА - pK при якому аміокислота, з якою є іонізація.

Грунтуючись на табличних значеннях всіх pK , у вільному полі нижче напишіть схему іонізації вказаних аміокислот, визначте сумарний заряд молекули у кожному з станів іонізації та обрахуйте значення pI для кожної з них:

1) ГЛУТАМИНОВА КИСЛОТА ($pK_1 = 2,19$; $pK_2 = 9,67$; $pK_R = 4,25$)



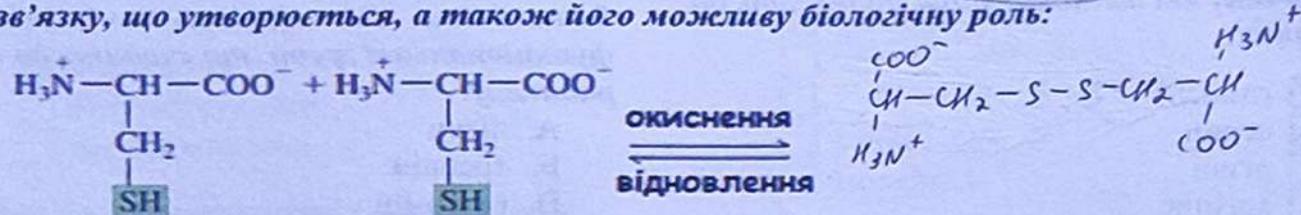
2) ЛІЗИН ($pK_1 = 2,18$; $pK_2 = 8,95$; $pK_R = 10,53$)



Проаналізувавши структури іонізованих форм глутамінової кислоти та лізину, визначте сумарний заряд молекули кожної з цих аміокислот за $pH 1, 3, 8, 12$. Поміркуйте, у якому напрямку, до катода (-) чи до анода (+), буде рухатися молекула відповідної аміокислоти за $pH 1, 3, 9, 12$. Запишіть результати своїх міркувань до таблиці:

		pH 1	pH 3	pH 9	pH 12
Глу	заряд	+ 1	0	- 1	- 2
	напрямок руху	заряд +2	0	заряд +1	заряд -1
Ліз	заряд	+ 2	+ 1	0	- 1
	напрямок руху	заряд +2	заряд +1	0	заряд -1

Запишіть реакцію димеризації цистеїну, вкажіть назву продукту реакції, тип і назву зв'язку, що утворюється, а також його можливу біологічну роль:

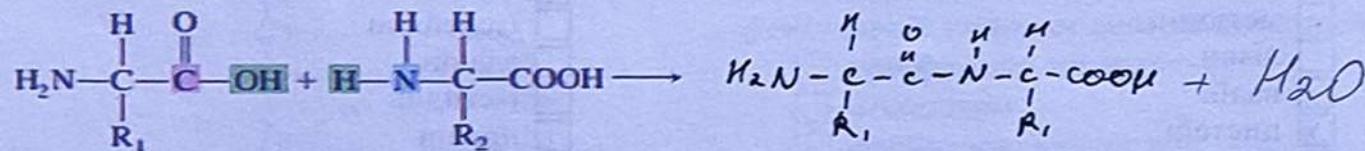


Назва зв'язку: Дисульфідний

Тип зв'язку: Коалентний неполярний

Біологічне значення: Зв'язки між поліпептидами (макромолекулами), що є складовою частиною білків залишають стабільні протягом тривалої структури.

Запишіть реакцію поліконденсації для двох амінокислот, вкажіть назву продукту реакції, тип і назву зв'язку, що утворюється, а також його можливу біологічну роль:



Назва зв'язку: Пентагідрид

Тип зв'язку: Коалентний

Біологічне значення: Зв'язки між амінокислотами, що утворюють поліпептидні конформації.

Уважно розгляньте структуру наведеного трипептиду та вирішіть наступні завдання:

1) Вкажіть кількість амінокислотних залишків та ідентифікуйте окремі амінокислоти: 3

серин, лейцин, глутамат

(глутамінова кислота)

2) Дайте назву даному трипептиду:

L-Серил-L-лейцин-L-глутамінова кислота (Сер-Лей-Глу)

3) Позначте на структурній схемі N- та C-кінці пептиду.

4) Обведіть пептидні зв'язки та вкажіть їх загальну кількість: 2

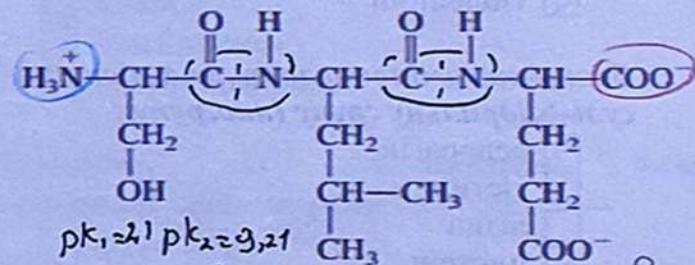
5) Проаналізуйте, який сумарний заряд матиме даний пептид за pH 2, 4, 11 та визначте напрямок його руху в електричному полі (скористайтеся табличними значеннями рК для бічних і кінцевих аміно- та карбоксильних груп).

pH 2 +1 рух до анода

pH 4 -1 рух до анода

pH 11 -1 рух до катода

6) Оцініть значення рІ цього пептиду:



$\text{pK}_1=2,1 \text{ } \text{pK}_2=9,21 \text{ } \text{pK}_3=4,07$

звідси $\text{pI} = \frac{2,1 + 4,07}{2} = 3,085$

Ю ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМІ:

Визначте, які амінокислоти належать до замінників:

- гістидин
- серин
- лізин
- аргінін
- метіонін

Оберіть амінокислоти, що є незамінними:

- триптофан
- аланин
- валін
- фенілаланін
- пролін

Оберіть сірковмісні амінокислоти:

- метіонін
- лізин
- валін
- цистеїн
- аргінін

Оберіть амінокислоти з гідрофобним радикалом:

- глутамін
- валін
- треонін
- фенілаланін
- ізолейцин

Визначте амінокислоту, яка містить сульфгідрильну групу (тиогрупу):

- аспарагін
- гістидин
- лізин
- цистеїн
- метіонін

Встановіть відповідність амінокислоти і радикала функціональної групи, що входить до їх складу:

- A. серин
- B. цистеїн
- C. аспарагін
- D. аспарагінова кислота

- тіольний (сульфгідрильна) - B
- гідроксильний - A
- карбоксильний - D
- амідний - C

Встановіть відповідність амінокислоти і функціональної групи, що входить до складу їх радикалу:

- A. лізин
- B. треонін
- C. глутамін
- D. глутамінова кислота

- аміногрупа - A
- гідроксильна - B
- карбоксильна - D
- амідна - C

Оберіть амінокислоту з полярним незарядженим радикалом:

- серин
- ізолейцин
- аланин
- гістидин
- пролін

Оберіть до кожної з амінокислот (цифри) відповідну властивість радикала (літери):

1. триптофан G
 2. аспарагінова кислота B
 3. цистеїн B
 4. лейцин G
 5. аргінін A
 6. серин B
- A. гідрофільний, позитивно заряджений
 B. гідрофільний, негативно заряджений
 C. гідрофільний, незаряджений
 D. гідрофобний

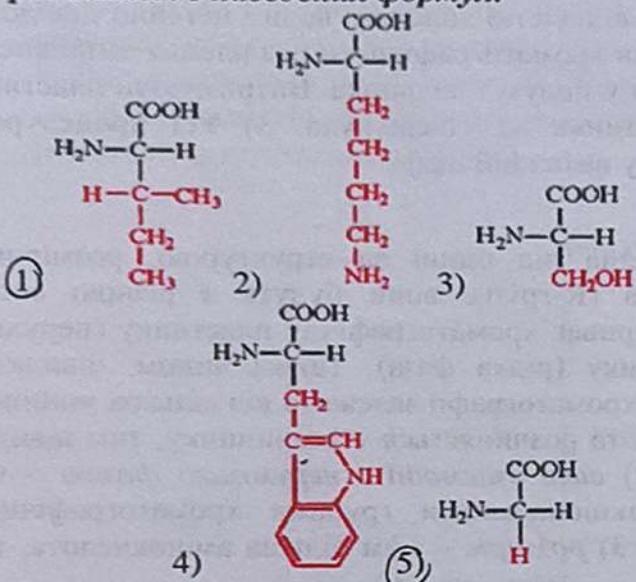
Визначте, як будуть вести себе під час електрофорезу в нейтральному середовищі наступні амінокислоти:

- A. лізин A
 - B. триптофан B
 - C. аспарагінова кислота
 - D. глутамінова кислота
 - E. гістидин
- переміщуються до аноду - B, G
 - переміщуються до катоду - A
 - залишаються на лінії старту - E, A, B

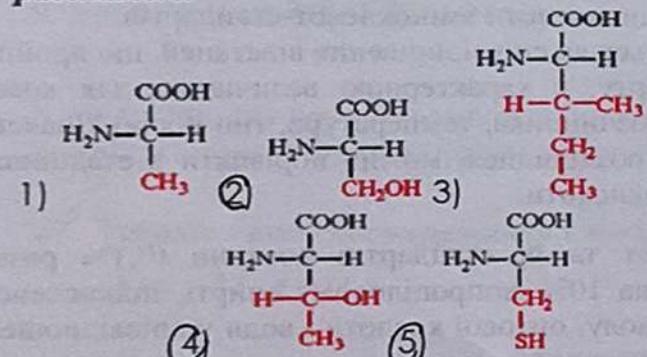
Оберіть вірні відповіді. Природними амінокислотами є:

- α-амінокислоти
- L-амінокислоти
- D-амінокислоти
- β-амінокислоти

Оберіть амінокислоти з гідрофобним радикалом з наведених формул:



Оберіть амінокислоти з гідрофільним радикалом:



Вкажіть амінокислоту, що має позитивний заряд за pH=7,0:

- глутамін
- глутамінова кислота
- серин
- лізин
- метіонін

Вкажіть амінокислоту, що має негативний заряд за pH=7,0:

- лейцин
- валін
- аспарагін
- аспарагінова кислота
- аргінін

Встановіть, які амінокислоти мають чотири стереоізомери:

- треонін
- аланін
- метіонін
- валін
- ізолейцин

Визначте амінокислоти, які не можна розділити методом іонообмінної хроматографії:

- лізин
- лейцин
- аспарагін
- валін
- глутамінова кислота

Вкажіть, при взаємодії з якою сполукою фенілаланін утворює жовте забарвлення:

- сульфатною кислотою
- імідазолом
- фосфатною кислотою
- нітратною кислотою
- оцтовою кислотою

Якісною реакцією на α-амінокислоти є їх взаємодія з:

- HNO_2
- аніліном
- KMnO_4
- нінгідрином
- бромною водою

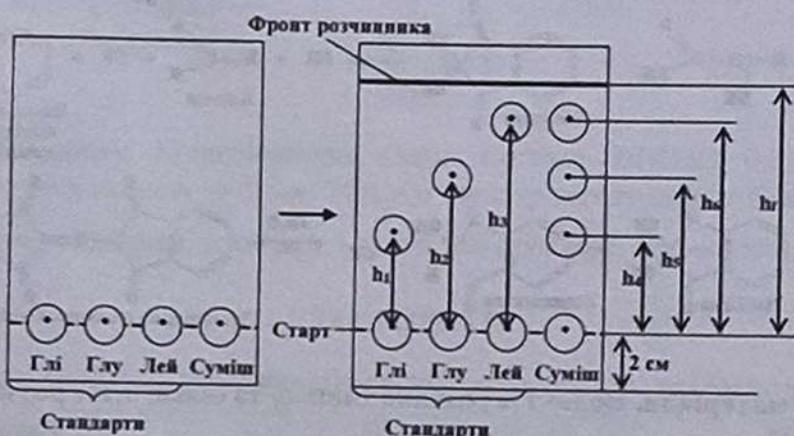
Визначте, які амінокислоти дають позитивну ксантопротеїнову реакцію:

- фенілаланін
- метіонін
- триптофан
- аргінін
- аспарагін

Вкажіть амінокислоту, що дає позитивну реакцію Фоля:

- триптофан
- гистидин
- тирозин
- треонін
- цистеїн

5. Розташуйте пластину в хроматографічній камері, щоб лінія старту знаходилась вище розчинника, і нахиліть її убік. Залиште хроматографічну пластинку у камері з розчинником, доки він за рахунок капілярних сил не просунеться на таку відстань, щоб між фронтом розчинника та кінцем пластинки залишився приблизно 1 см.
6. Достаньте пластинку з камери і негайно накресліть лінію олівцем у тому місці, якого досягнув фронт розчинника. Висушіть пластинку у витяжній шафі.
7. Виявіть результати розділення суміші амінокислот шляхом прогрівання пластинки. Для цього розмістіть її над полум'ям пальника. У ході реакції нінгідрін реагує з амінокислотами, в результаті чого на пластинці з'являються плями, що відповідають місцю, якого досягли амінокислоти у ході хроматографічного розділення.
8. Дайте пластинці охолонути, після чого олівцем відмітьте центр кожної плями і лінійкою виміряйте відстань між ним та лінією старту ($h_1, h_2, h_3 \dots$). Визначте відстань між фронтом розчинника та лінією старту (h_f).



9. Вирахуйте значення R_f за формулою:

$$R_f = h/h_f, \text{ де}$$

h – відстань, яку пройшла амінокислота ($h_1, h_2, h_3, h_4, h_5, h_6$);
 h_f – відстань, яку пройшов фронт розчинника $\approx 11,3 \text{ см}$

↗ Запишіть свої спостереження у таблицю:

$$h_f = 11,3 \text{ см}$$

	Амінокислоти	h	R_f
Амінокислоти-стандарти	1 - Глі	$h_1 = 0,9$	$Rf_1 = 0,03539$
	2 - Глу	$h_2 = 0,3$	$Rf_2 = 0,02654$
	3 - Лей	$h_3 = 2,1$	$Rf_3 = 0,1858$
Амінокислоти в суміші	4 - Глү	$h_4 = 0,8$	$Rf_4 = 0,02654$
	5 - Лей	$h_5 = 2$	$Rf_5 = 0,1769$
	6 -	$h_6 =$	$Rf_6 =$

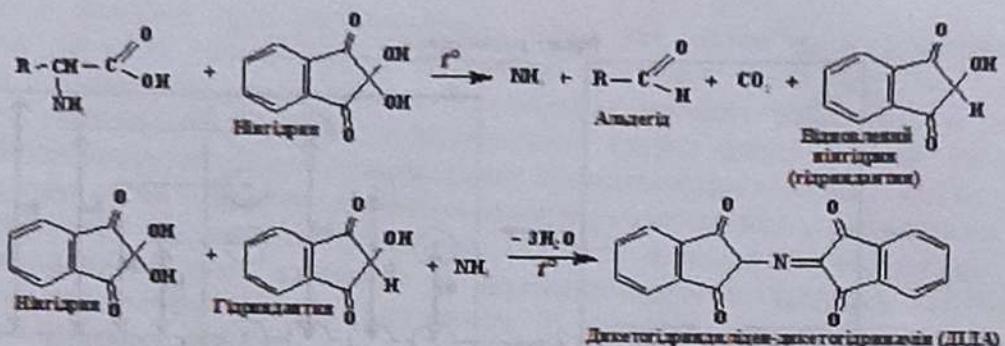
Порівнюючи R_f для амінокислот суміші (Rf_4, Rf_5, Rf_6) з R_f амінокислот-стандартів (Rf_1, Rf_2, Rf_3), знайдіть плями з такою ж величиною R_f та ідентифікуйте амінокислоти, присутні у суміші: зробіть висновок.

↗ Висновок В ході проведення та аналізу хроматографії, було отримано результати, що показали, що амінокислота гітамін виявляється з глютаміновою кислотою разом. Зазначаємо, що гітамін та глютамінова кислота є таємніми плямами рівної відстані, було зроблено фахівцем, що г.т-ти плями набагато розвинутіше за глютамін. Аналізуючи дані, розглянемо пляму гітаміну та сірий плямі г.т-ти.

5.2. ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВИЯВЛЕННЯ АМІНОКИСЛОТ У РОЗЧИНАХ

5.2.1. Нінгідринова реакція (α^-)

Усі амінокислоти у діапазоні pH 4-8 реагують з нінгідрином (трикетогідринденгідратом), що є потужним окиснювачем, з утворенням забарвленої комплексної сполуки — дикетогідрину. У результаті цієї реакції амінокислота декарбоксилюється (втрачає карбоксильну групу з вивільненням CO_2), а також дезамінується (втрачає аміногрупу з вивільненням аміаку), перетворюючись на альдегід. Усі первинні аміни та аміак реагують подібним чином з вивільненням вуглекислого газу. Імінокислоти (пролін) та гідроксипролін також реагують з нінгідрином, проте вони утворюють жовту комплексну сполуку замість фіолетової. Крім амінокислот, у нінгідринову реакцію можуть також вступати білки і пептиди.



Реактиви та матеріали. Водні 1% розчини гліцину та білка; 0,1% розчин нінгідрину.

Обладнання. Скляні палички, пробірки, крапельниці, водяна баня, штатив для пробірок.

ХІД РОБОТИ:

Внесіть у пробірки реактиви відповідно до алгоритму, наведеному у таблиці:

Пробірка 1	Пробірка 2
1 мл 1% розчину гліцину	1 мл 1% розчину білка
0,5 мл 0,1% розчину нінгідрину	

Витримайте пробірки на водяній бані (70°C), ретельно перемішуючи упродовж 5 хв.
 Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:

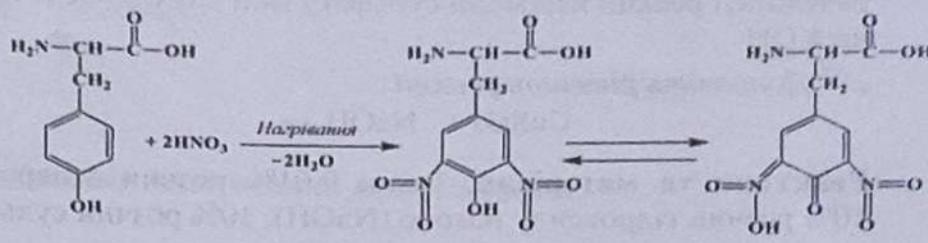
<i>Зникла зміна колору на темно-фіолетовий</i>	<i>Не зникла зміна колору</i>
--	-------------------------------

Висновок Розчин гліцину зникав змінів колору на темно-фіолетовий, оскільки нінгідрин ~~зникав~~ відновлюється і відновлюється та не відновлює нінгідрин утворює комплекс характерного темно-фіолетового колору.
 Проба з білком не дала такої реакції, оскільки білки містять аміногрупи.

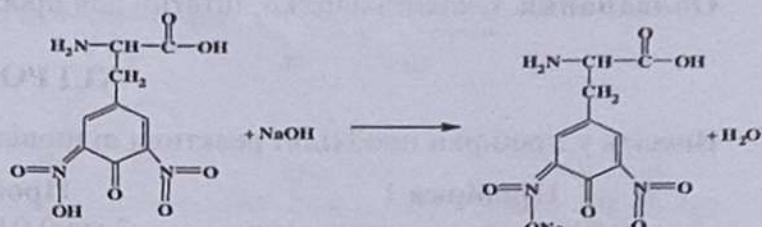
5.2.2. Ксантопротеїнова реакція

■ Ксантопротеїнова реакція використовується для специфічного визначення ароматичних амінокислот.

Бензольне кільце ароматичних амінокислот (наприклад, тирозину) під дією азотної кислоти зазнає нітрування. Утворюється забарвлене в жовтий колір нітросполук.



Хіоїдна форма динітротирозину вступає в реакцію з гідроксидом натрію з утворенням **натрієвої солі динітротирозину**, яка має **помаранчеве забарвлення**.



Реактиви та матеріали. Концентрована азотна кислота (HNO_3K); 0,01% водний розчин тирозину; 1% розчини гліцину та білка; 10% розчин гідроксиду натрію (NaOH).

Обладнання. Скляні палички, пробірки, штатив для пробірок, мікропіpetки, пальник.

ХІД РОБОТИ:

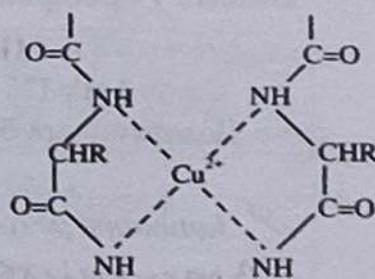
Внесіть у пробірки необхідні реактиви відповідно до алгоритму, наведеному у таблиці:

Пробірка 1	Пробірка 2	Пробірка 3
3 мл 0,01% розчину тирозину	3 мл 1% розчину гліцину	3 мл 1% розчину білка
1 мл розчину HNO_3K		
Нагрівайте до закипання у проповідь півхвилини (30 с)		
<i>Запишіть результати спостережень:</i>		
<i>Після колбочку (щотуттю)</i>	<i>Відсутність колбочку</i>	<i>Після колбочку (щоглис)</i>
Після охолодження під струменем водопровідної води повільно додайте 10% розчин NaOH (блізько 1 мл)		
<i>Запишіть результати спостережень:</i>		
<i>Після відливання помаранчевого колбочку</i>	<i>Відсутність відливання</i>	<i>Після відливання помаранчевого колбочку</i>

Висновок Пробірка №1 та №3 дали **жовте забарвлення**, оскільки **ксантопротеїна** проходить реакція амінокислоти з ароматичною індикатором, що зазнає нітрування та дає характерний жовтий колір розчину. Гліцин не дає реакції, бо у його розчині **відсутнє** пептидна частина.

5.2.3. Біуретова реакція

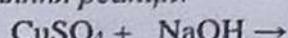
■ Біуретова реакція – якісна реакція на пептидний зв'язок у молекулах білків. Пептиди, які мають не менше двох пептидних зв'язків ($-\text{CO}-\text{NH}-$), у лужному середовищі за наявності сульфату міді (II) утворюють комплекси з атомами міді, що забарвлені у фіолетовий колір. Уперше дана реакція була проведена з біуретом, тому вона й має назву біуретова. Біурет ($\text{H}_2\text{NCONHCONH}_2$) не є пептидом, хоча і містить два пептидні зв'язки (його можна одержати під час нагрівання сечовини до



температури 180°C). Аміди амінокислот, такі як аспарагін, можуть утворювати подібний комплекс з міддю, оскільки вони мають амідні зв'язки –CO – NH₂.

Гідроксид міді (ІІ)/Cu(OH)₂ для проведення біуретової реакції отримують, як правило, в результаті реакції взаємодії сульфату міді (ІІ)/CuSO₄ із гідроксидом натрію (чи калію)/ NaOH чи KOH:

∅ Доповніть рівняння реакції:



Реактиви та матеріали. Водні 0,01% розчин аспарагіну та гліцину; 1% розчин білка, 10% розчин гідроксиду натрію (NaOH); 10% розчин сульфату міді (CuSO₄).

Обладнання. Скляні палички, штатив для пробірок, мікропіпетки, крапельниця.

ХІД РОБОТИ:

Внесіть у пробірки необхідні реактиви відповідно до алгоритму, наведеному у таблиці:

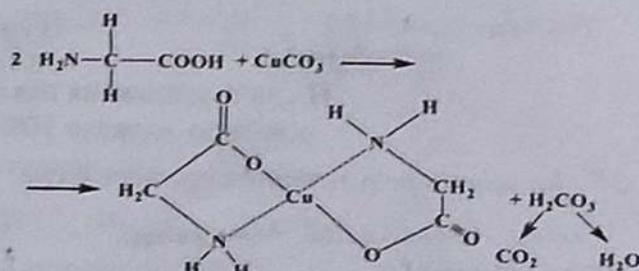
Пробірка 1	Пробірка 2	Пробірка 3
3 мл 0,01% розчину аспарагіну	3 мл 0,01% розчину гліцину	3 мл 1% розчину білка
	3 мл 10% розчину NaOH Одну-две краплини 10% розчину CuSO ₄ , перемішайте	
∅ Запишіть результати спостережень для кожної пробірки: <i>Відсутність зміни колору</i>	<i>Відсутність зміни колору</i>	<i>Зміна колору на пурпуровий</i>

Висновок Освільши біуретова реація – реація на пептиди, то пробірка № 3 з білком дала характерний пурпурний колор, оскільки білко утворив комплекс з іоном міді, нечіє.

5.2.4. Реакція з карбонатом міді (ІІ) (Δ⁻)

α-амінокислоти реагують з карбонатом міді (ІІ) за нагрівання з утворенням комплексної сполуки міді, яка має синє забарвлення.

На схемі наведено рівняння реакції гліцину з карбонатом міді (ІІ)/ CuCO₃.



Реактиви та матеріали. Водні 1% розчини гліцину та білка; сухий карбонат міді.

Обладнання. Пробірки, штатив для пробірок, мікропіпетки, пальник.

ХІД РОБОТИ:

Внесіть у пробірки реактиви відповідно до алгоритму, наведеному у таблиці:

Пробірка 1	Пробірка 2
1 мл 1% розчину гліцину	1 мл 1% розчину білка
Додайте у пробірки невелику кількість (на кінчику шпателя) сухого карбонату міді (ІІ)	
Нагрійте суміш у полум'ї пальника до закипання	

∅ Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:
Відсутність зміни колору

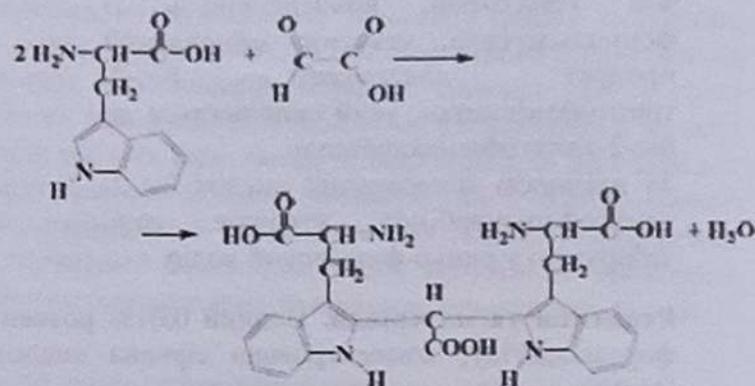
Зміна колору на синій

Відсутність зміни колору

Висновок Проба гідразину дала синій колір, оскільки реагент з карбонатом міді(II) - реагентом на Cu^{+2} -антиспалматори; тому гідразин утворив комплекс з іоном міді. пробірка 1 не дала характерної реагування.

5.2.5. Реакція Адамкевича на триптофан

Текст Триптофан у кислому середовищі вступає в реакцію з глукосиловою кислотою (альдегідами), утворюючи забарвлені в червоно-фіолетовий колір продукти конденсації:



Реактиви та матеріали. Водні 0,01% розчини триптофану і гліцину; концентрована сірчана кислота ($\text{H}_2\text{SO}_4\text{k}$); льодяна оцтова кислота (її концентрація наближена до 100 %).

Обладнання. Пробірки, штатив для пробірок, мікропіpetки, пальник.

ХІД РОБОТИ:

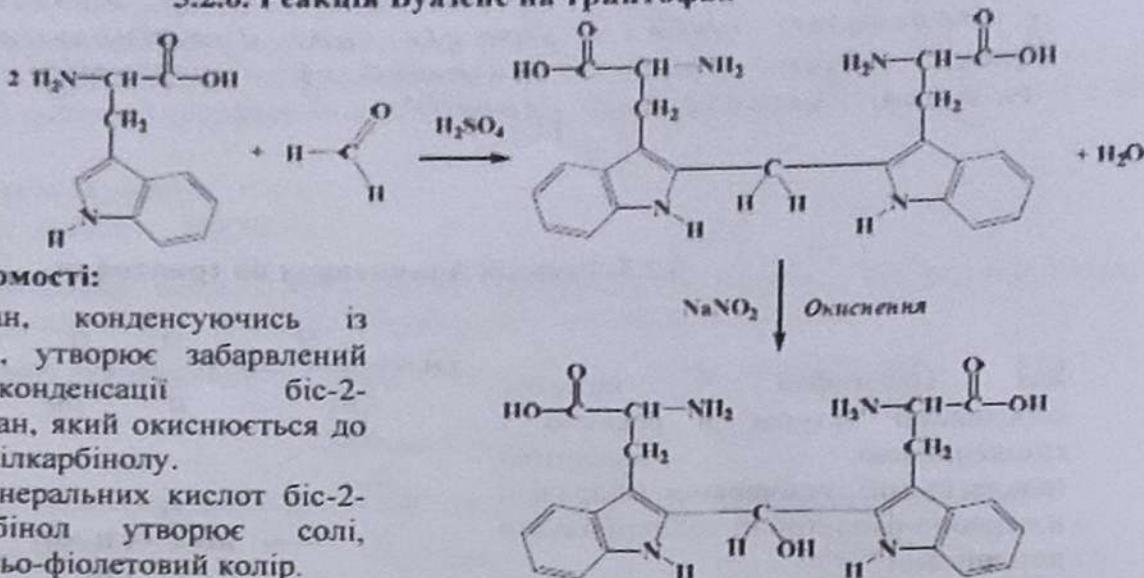
Внесіть у пробірки реактиви відповідно до алгоритму, наведеному у таблиці:

Пробірка 1	Пробірка 2
0,5 мл 0,01% розчину гліцину	0,5 мл 0,01% розчину триптофану
0,5 мл льодяної оцтової кислоти, яка завжди містить невелику кількість глукосилової кислоти	
Отриману суміш спочатку нагрійте у полум'ї пальника, а потім після охолодження по стінці пробірки обережно, по краплинам, щоб рідини не змішувалися, додайте 1 мл $\text{H}_2\text{SO}_4\text{k}$	
Залиште пробірки на 10 хв за кімнатної температури Вміст не перемішуйте!!!	
<i>✓ Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:</i>	
<i>Відсігніся зміни колору та наявні конденсації</i>	<i>Поява світлового ілюце конденсаційного триптофану</i>

Висновок Оксільки реагент Адамкевича - реагент на триптофан, то відбулася взаємодія ароматичної частини триптофану з глукосиловою кислотою, якою є гідроксилінг і під час конденсації, утворив комплексний спиртовий комплекс.

Гліцин є продуктом редукції, бо в гліцину відсутнє ароматична частина

5.2.6. Реакція Вуазене на триптофан



Теоретичні відомості:

Триптофан, конденсуючись із формальдегідом, утворює забарвлений продукт конденсації біс-2-триптофанілметан, який окиснюється до біс-2-триптофанілкарбінолу. За наявності мінеральних кислот біс-2-триптофанілкарбінол утворює солі, забарвлені у синьо-фіолетовий колір.

Реактиви та матеріали. Водний 0,01% розчин триптофану і гліцину; водний 2,5% розчин формальдегіду; концентрована сірчана кислота ($\text{H}_2\text{SO}_4\text{k}$); 0,5% розчин нітрату натрію (NaNO_2).

Обладнання. Пробірки, штатив для пробірок, мікропіpetки, крапельниці, ванночка з льодом.

ХІД РОБОТИ:

Внесіть у пробірки реактиви відповідно до алгоритму, наведеному у таблиці:

Пробірка 1

2 мл 0,01% розчину гліцину

Додайте одну краплину розчину формальдегіду
Суміш перемішайте.

Помістіть пробірки у ванночку з льодом

Додайте порціями по краплинам 6 мл $\text{H}_2\text{SO}_4\text{k}$

Суміш знову перемішайте і дайте відстоятися 10 хв

Додайте десять краплин 0,5% розчину NaNO_2

Пробірка 2

2 мл 0,01% розчину триптофану

Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:

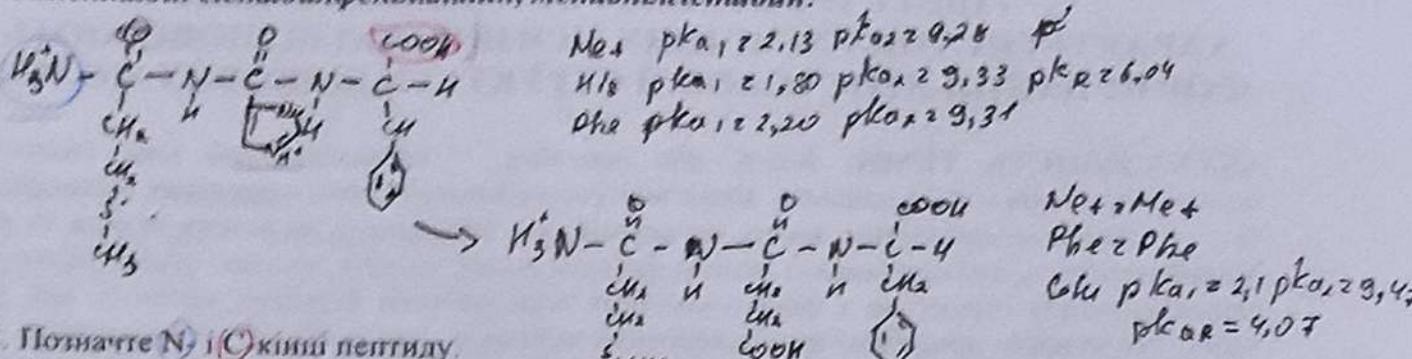
Відсутність зміни колору

Розчин змінив свій колір на бірюзовий
та після додавання NaNO_2 знову
з'явилася характерна синьо-фіолетова (біс-2-триптофанілкарбінол)

Висновок Зміна колору 1 розчину триптофану зумовлена поступовою конденсацією триптофану та окисненням триптофану з утворенням солі біс-2-триптофанілкарбінолу, що ми і спостерігали ході дослідження.

Пробірка 1 не змінила колору, оскільки реагент Вуазене не реагував на конденсацію триптофану і реагентом було оброблено пробу, яку виконано сам! тому заєсмінна в пробірці реакції у гліцину

○ Напишіть структурну формулу трипептиду, за повного гідролізу якого утворюються амінокислоти: гістидин, метіонін, фенілаланін, а за часткового гідролізу - дипептиди: гістидилфенілаланін, метіонілгістидин:



А. Позначте N і C кінці пептиду.

Б. Вкажіть регулярно повторювану послідовність атомів, що утворює пептидний кістяк кожної білкової молекули, незалежно від її амінокислотної композиції $\text{H}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}$

В. Визначте напрямок руху пептиду в електричному полі (рух до анода, або до катода, або залишається на старті) за: ~~категорія~~

pH 4.0: рух до : заряд +1

pH 7.0: змінюється від старту: заряд 0

Г. Як зміниться заряд пептиду та напрямок руху в електричному полі, якщо амінокислоту Гіс замінити на Глу?

pH 4.0: заряд стає нейтральним = 0; без руху

pH 7.0: заряд змінюється на 1 = -1; рух до анода

З Розв'яжіть наступні задачі:

1) Яка приблизна молекулярна маса протеїну, який містить 682 амінокислотні залишки в одному польцептидному ланцюзі?

75 kDa

2) Блок X має молекулярну масу 68420. Визначте кількість амінокислотних залишків у молекулі цього білка.

≈ 622 амінокислотних залишків

3) Гемоглобін містить 0,34% заліза. Розрахуйте молекулярну масу гемоглобіну, враховуючи, що молекула гемоглобіну містить 4 атоми заліза.

$$\begin{aligned} \text{Мр} &= 56.84 \cdot 4 \cdot 0.34\% = 0.7594 \text{ г/моль} \\ \text{Мр} &= 55.84 \cdot 4 \cdot 0.34\% = 0.7594 \text{ Да} \end{aligned} \quad \begin{aligned} \frac{\text{Мр(Fe)}}{\text{Мр(гем)}} &= \frac{100\%}{0.34\%} = \frac{\text{Мр(гем)}}{0.34\%} \\ \text{Мр(гем)} &= 65.8 \text{ kDa} \end{aligned}$$

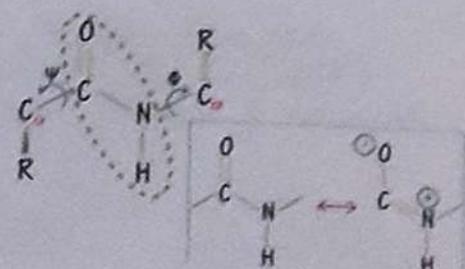
○ Опишіть властивості пептидного зв'язку:

Відсутність обертання у площині пептидного зв'язку, зумовлено поблизу розташуванням характеризуючим до певного зв'язку.

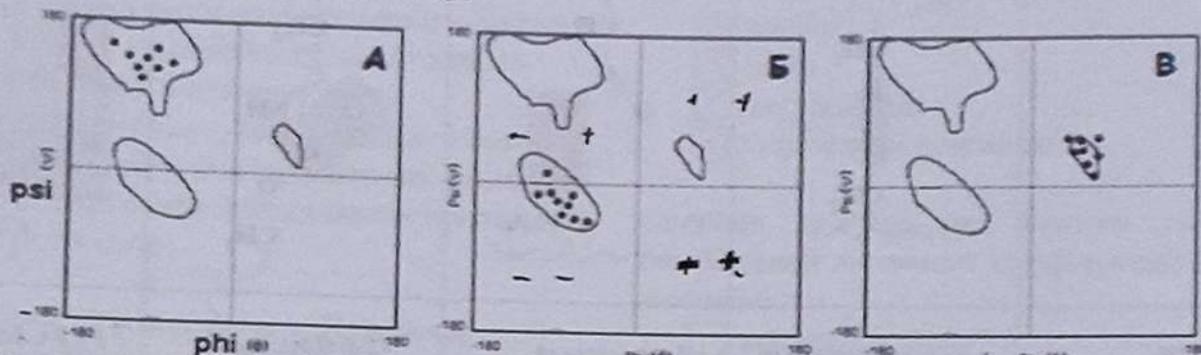
Транс-конфігурація залишків.

Через цю поблизу природу зв'язку характери-

зуються міцністю та стабільністю



- Пригадайте, про що свідчить діаграма Рамачандрана.
- Уважно розгляньте наведені діаграми Рамачандрана для трьох коротких пептидів. Передбачте їх вторинну структуру.



A) β -складка
(Антіпаралельна)

B) α -спіраль
(протизігрущча)

C) α -спіраль
(нівозащучча)

Охарактеризуйте різні структурної організації білка та типи зв'язків, що їх стабілізують. Ключові тезиси внесіть до таблиці:

	Визначення	Схематичне зображення	Зв'язки, що стабілізують
Первинна	Лінійна послідовність амінокислот у поліпептидному ланцюзі.	$\text{H}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\overset{\text{R}}{\underset{\text{H}}{\text{N}}}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\overset{\text{R}}{\underset{\text{H}}{\text{N}}}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{H}}{\text{C}}}-\overset{\text{R}}{\underset{\text{H}}{\text{N}}}-\dots$	Пептидні
Вторинна	α -спіраль	Поліпептидний ланцюз зафіксований в спіралі.	Водяні
	β -складка	Поліпептидний ланцюз складковий в листі (складка)	Водяні
Третинна	Гравісірна конформація β -складок та α -спіралей	Схематичне зображення β -складок та α -спіралей	Водяні Іонні Гідрофобні Дисульфідні
Четвертина	Взаємодія третинних структур	Схематичне зображення взаємодії третинних структур	Водяні Іонні Гідрофобні

Охарактеризуйте хімічні зв'язки, що залучені до стабілізації просторової структури білків:

Назва	Дисульфідний	Гіпоксид	Водневий	Гідрофобний
Природа взаємодії	Ковалентна	Іонічна	Воднева	Гідрофобна
Приклади АК	Чистий Чистий	Аспартат + Лізин	Глутамін + Серин	Фенілаланин + Лейцин

Поміркуйте про місце розташування амінокислотних залишків з гідрофобним та полярним радикалами у молекулі глобулярного білка.

Гідрофобні амінокислоти, розташовані в центрі глобули, формуючи гідрофобне ядро, належать амінокислотам з поперечними радикалами, якиму передбачено розташування.

Передбачте місце розташування у структурі глобулярного білка наступних амінокислотних залишків: Leu, Arg, Ser, Lys, Phe (обґрунтуйте свої міркування).

Місце розташування Аргіну, Серину, Лізину, буде біляше до периферії або попериферії, оскільки ці амінокислоти мають поперекі нестабільні. Тому на периферії глобули та будуть засновані з диполеми води, серин та Аргінін засновані та лізин — іонно. Місце розташування Лейцину та Фенілаланину — в ядрі, формуючи гідрофобне ядро.

ІО ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ:

Оберіть вірне визначення первинної структури білка:

- конфігурація поліпептидного ланцюга
- спосіб укладання поліпептидного ланцюга в певному об'ємі
- порядок чергування амінокислотних залишків у поліпептидному ланцюзі
- спосіб взаємодії декількох протомерів у просторі

Визначте зв'язки, які стабілізують α -спіраль:

- водневі
- гідрофобні взаємодії
- пептидні
- іонні

Оберіть вірне твердження. Висота одного витка α -спіралі білкової молекули становить:

- 0,18 нм
- 0,36 нм
- 0,54 нм
- 0,72 нм
- 1,00 нм

Оберіть, скільки залишків амінокислот припадає на один виток α -спіралі:

- 1,2
- 3,6
- 5,4
- 7,2
- 10,5

Назовіть фактор, який порушує спіральну структуру білків:

- наявність залишків аланіна
- наявність залишків проліна
- наявність залишків гліцина
- гідрофобні взаємодії

Оберіть супер(над)вторинні структури (мотиви) білкової молекули:

- альфа-спіраль
- бета-лінза
- лейцинова застібка
- бета-петля
- всі вищезазначені

Зазначте типи зв'язків, що стабілізують третинну структуру білків:

- водневі
- іонні
- дисульфідні
- гідрофобні взаємодії

Оберіть зв'язки, які беруть участь у стабілізації нативної конформації білкової молекули:

- координаційні
- водневі
- іонні
- пептидні
- дисульфідні

Оберіть вірне твердження. Гемоглобін A_2 дорослої людини складається з:

- $2\alpha 2\beta$ ланцюгів
- $2\alpha 2\delta$ ланцюгів
- $2\beta 2\epsilon$ ланцюгів
- $2\alpha 2\gamma$ ланцюгів
- $2\beta 2\gamma$ ланцюгів

Оберіть вірне твердження. Фетальний гемоглобін складається з:

- $2\alpha 2\beta$ ланцюгів
- $2\alpha 2\gamma$ ланцюгів
- $2\alpha 2\delta$ ланцюгів
- $2\beta 2\gamma$ ланцюгів
- $2\beta 2\epsilon$ ланцюгів

Визначте, які білки здатні стабілізувати конформацію білка, забезпечуючи їх фолдинг:

- гістони
- протеосоми
- протеази
- шаперони

Оберіть, який з рівнів організації білкової молекули не забезпечується фолдингом:

- первинна структура
- альфа-спіраль
- бета-складчастий шар
- третинна структура
- четвертинна структура

Визначте, які білки належать до простих:

- альбуміни
 гемопротеїни
 гістони
 глікопротеїни
 глобуліни
 ліпопротеїни
 нуклеопротеїни
 протаміни

Визначте, які білки належать до складних: (білок + інші білки)

- альбуміни
 гемопротеїни
 гістони
 глікопротеїни
 глобуліни
 ліпопротеїни
 нуклеопротеїни
 протаміни

Оберіть умову, за якої відбувається оборотна денатурація білка:

- тривале нагрівання
 дія сильних кислот
 короткоспільні спирту
 додавання солей важких металів

Визначте, як називається процес відновлення просторової структури і біологічної активності білка:

- денатурація
 ренатурація
 дисиміляція
 реплікація
 репарація

Визначте, які типи зв'язків не руйнуються за денатурації білка:

- дисульфідні
 водневі
 пептидні
 іонні
 гідрофобні взаємодії

Зазначте методи, якими можна розділити суміш білків з різною молекулярною масою:

- гель-фільтрація
 діаліз
 ультрацентрифугування
 висоловання
 афінна хроматографія

Визначте, на чому засновано метод електрофорезу:

- на зв'язуванні молекул речовини з функціональними групами носія
 на різній швидкості переміщення речовин в електричному полі
 на здатності молекул речовини зв'язуватися з електродом
 на дифузії речовин через напівпроникну мембрانу в постійному електричному полі

Визначте, які амінокислоти не можна розділити методом іонообмінної хроматографії:

- глутамат і лізин
 глутамат і лейцин
 лейцин і лізин
 лейцин і валін
 валін і глутамат

Оберіть метод, який використовують для очищення білків від солей:

- іонообмінна хроматографія
 діаліз
 паперова хроматографія
 електрофорез
 висоловання

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 6

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БІЛКА У РОЗЧИНАХ

6.1. Приготування стандартних розчинів білка з заданою концентрацією

Реактиви та матеріали. Розчин альбуміну (1 мг/мл); вода дистильована.

Обладнання. Пробірки, скляні палички, штатив для пробірок, мікропіпетки.

ХІД РОБОТИ:

- 1) Внесіть у заздалегідь підписані пробірки (1-6) розчин альбуміну та дистильованої води відповідно до алгоритму, наведеному у таблиці:

№ пробірки	1	2	3	4	5	6
Розчин альбуміну (1 мг/мл), мл	-	1	2	3	4	5
Дистильована вода, мл	5	4	3	2	1	-
Кінцева концентрація, мг/мл	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1

- 2) Ретельно перемішайте отримані розчини і використовуйте їх під час побудови калібрувального графіка в подальших експериментах.

6.2. Визначення концентрації білка в розчині за методом Бредфорда

Метод визначення концентрації білка за Бредфордом базується на здатності білків зв'язуватися з кумасі діамантовим синім G-250 (КДС).

Реактиви та матеріали. Робочий розчин Бредфорда надається готовим до використання Стандартні розчини альбуміну з концентрацією білка від 0,2 до 1 мг/мл; розчин білка з невідомою концентрацією.

Обладнання. Імунологічний планшет, мікропіпетки, спектрофотометр мікропланшеточний ($\lambda = 595$ нм).

ХІД РОБОТИ:

I) Побудова калібрувального графіка. Внести у лунки мікропланшету:

1. 20 мкл стандартного розчину альбуміну відповідної концентрації, або дослідного зразка з невідомою концентрацією білка;
2. 230 мкл робочого розчину Бредфорда.

Ретельно перемішайте і залиште за кімнатної температури на 5-10 хв.

Зміряйте екстинцію проб за довжини хвилі 595 нм з використанням мікропланшетного спектрофотометру. Результати запишіть до таблиці:

	1 E за $\lambda =$ 595 нм	2 E за $\lambda =$ 595 нм
A	0,536	0,579
B	0,472	0,751
C	0,902	1,000
D	1,341	0,882
E	1,087	1,034
F	1,018	0,977
G	0,869	0,979

0 мг/мл Δ 0,5575

0,2 мг/мл Δ 0,4615

0,4 мг/мл Δ 0,351

0,6 мг/мл Δ 1,115

0,8 мг/мл Δ 1,0605

1 мг/мл Δ 0,9975

дослідний зразок з невідомою концентрацією білка

Δ 0,924

Побудуйте калібрувальний графік і визначте

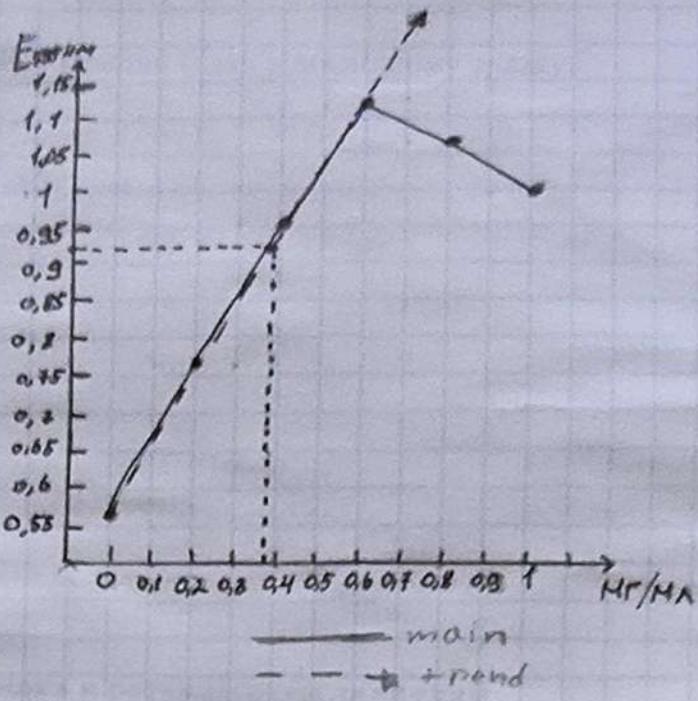
*Проведіть відповідні розрахунки
(для розчину з невідомою концентрацією
білка):*

E_{595} досл. зразка 0,924

$$C, \text{ мг/мл} = 0,383 \text{ мг/мл}$$

$$y = kx + b$$

$$k = 0,9475 \quad b = 0,572$$



6.3. Визначення концентрації білка в ультрафіолетовій області

■ Пряний метод визначення концентрації білка полягає у вимірюванні світлопоглинання розчину білка в ультрафіолетовій області за 200-220 нм (у цій області поглинають пептидні групи білка) і за 280 нм (зона поглинання ароматичних радикалів амінокислот, в основному триптофану і тирозину). Розрахунок можна проводити за калібрувальним графіком, або ж скористатися формулою, емпірично одержаною Калькаром:

$$X = 1,45 E_{280} - 0,74 E_{260},$$

де X – концентрація білка в розчині, мг/мл.

Також можна скористатися номограмою для визначення білка за величиною оптичної щільності при 260 і 280 нм.

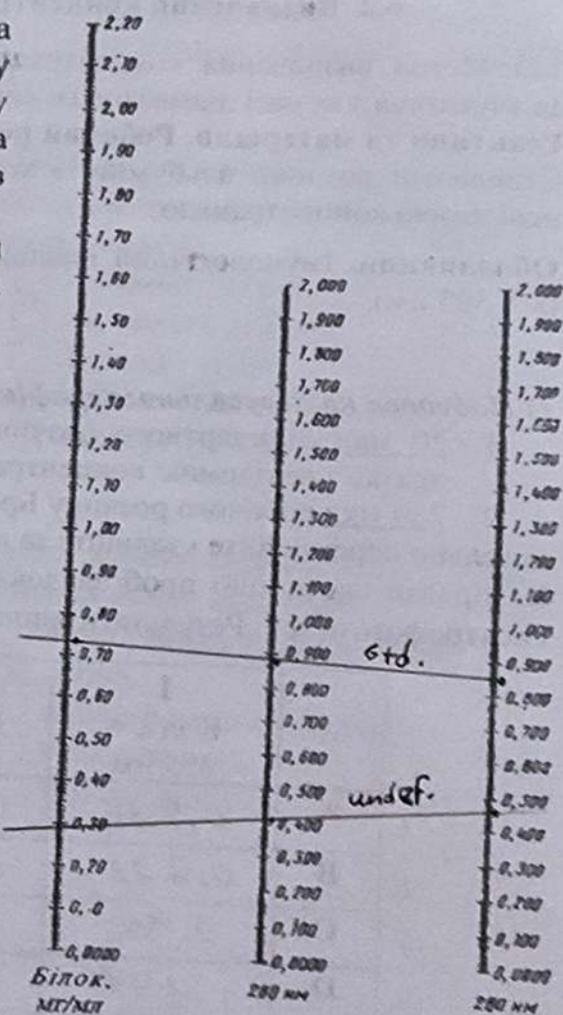
Реактиви та матеріали. Стандартний розчин альбуміну з концентрацією білка 1 мг/мл, розчин білка з невідомою концентрацією.

Обладнання. Пробірки, штатив для пробірок, мікропіпетки, спектрофотометр ($\lambda = 260$ і 280 нм).

ХІД РОБОТИ:

Виміряйте оптичну щільність стандартного розчину з пробірки № 6 (1 мг/мл) і розчину з невідомою концентрацією білка та проведіть розрахунки концентрації, використовуючи формулу Калькара і номограму.

$$X = (1,45 \cdot 0,8761 - 0,74 \cdot 0,857) = 0,6360$$



Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:

	Оптична щільність проб		Розрахована концентрація	
	260 нм	280 нм	За формулою Калькара, мг/мл	За номограмою, мг/мл
Стандартний розчин білка з концентрацією 1мг/мл	0,857	0,876	0,6360	≈ 0,730
Розчин білка з невідомою концентрацією	0,465	0,447	0,2605	≈ 0,290

Висновок Проблема залежність на використання концентрації білка, якого розчину методами, може покращити переваги та недоліки кожного з методів. Для методів Калькара та номограми, то можна використати, що методи дозволяють підвищенню точності та комфорту в аналізі, проте в кінцевому випадку обидва методи дали використання похибку, по цих гривід та 36,4% Калькар / 27% номограма), та саме результати міг бути засвоєнім широким прийняттям контролю розчину та, або широким, проведенням зафіксованим засвідченням експерта. Тоді до чинств можна надісти, що використання незручності проведення вимірювання експерта, у порівнянні з методом Бредфорда.

Метод Бредфорда виявився набільш простим з використанням засвідчення. Проте у зафіксованих даних виявилось засвідчення, що не було згодою до узага, оскільки ~~не~~ засвідчення точкою покровом засвідченням цільового розчину білка, а також цей виявився у зоні верхніх значень концентрації (0,8 - 1 мг/мл), відповідною значенням точок (0 - 0,6 мг/мл), тобто використання за цільовий білок утворила в діапазоні 0 - 0,6 мг/мл, тоді було вирішено не проводити верхній діапазон, оскільки з того результатів був близьким.

Важче недоліком метода Бредфорда є його ресурсомісткість та порівняння з попередніми методами, оскільки в методі Бредфорда застосувані реагенти, які необхідні звичайну методу, в той час як попередньому методу ці реагенти не є необхідними.

Дані отримані в ході експерименту: Калькар - 0,2605 мг/мл; Номограма - 0,290 мг/мл; метод Бредфорда - 0,3715 мг/мл.

Карді і не має достаткової інформації для того, щоб вказати метод, який найближче наблизився до істинного значення.

18
(захис)

❖ Дайте визначення терміну:

ІЗОЕЛЕКТРИЧНА ТОЧКА БІЛКІВ - значення pI до якого білок
зостає стату "ультербону" і набуває \pm загалом нейтрального заряду
та нейтральна частина його не рухається в електричному полі.

❖ Поміркуйте, залишки яких амінокислот повинні переважати у складі пепсину
шлункового соку, якщо відомо, що його ізоелектрична точка (pI) дорівнює 1,0.

На мою думку, що переважають більш амфотеричні з R -широю амінокислоти
груп, такі як аспарагінова к-та, глутамінова к-та, які мають низьку ізо-точку.

❖ Гістони - це протеїни, що міцно взаємодіють з молекулами ДНК та допомагають
стабілізувати структуру ядерного хроматину. Вони мають дуже високе значення pI -
приблизно 10,8. Поміркуйте, які амінокислотні залишки повинні бути присутні у складі
гістонів у відносно великих кількостях. Як ці залишки забезпечують взаємодію гістонів з
молекулою ДНК?

На мою думку, що переважають з R -широю pI , такі як:
лізин, аргінін. Оскільки вони мають позитивний заряд
при низькому pI , що забезпечує їхню взаємодію з ДНК.

❖ Обґрунтуйте, від чого залежить розчинність білків.

❖ Порівняйте розчинність наведених нижче пар пептидів за заданих pH . Обведіть
(підкресліть) той, що є більш розчинним за даних умов:

- 1) $(\text{Gly})_{20}$ чи $(\text{Glu})_{20}$ за pH 7,0
- 2) $(\text{Lys-Ala})_3$ чи $(\text{Phe-Met})_3$ за pH 7,0
- 3) $(\text{Ala-Ser-Gly})_5$ чи $(\text{Asn-Ser-His})_5$ за pH 6,0
- 4) $(\text{Ala-Asp-Gly})_5$ чи $(\text{Asn-Ser-His})_5$ за pH 3,0

❖ Обґрунтуйте механізм формування гідратної
оболонки навколо молекул білка та поясніть роль
води у стабілізації 3d структури білкових молекул.

❖ Опишіть ключові принципи методу
висоловання:

Консервувати сироватку за білок з логою,
зменшити гідратну оболонку, що
поганить агрегацію білків, без
запаху іх нативних функцій.



❖ Поясніть, чому підбір оптимальних умов висоловання білка з суміші ґрунтуються на
інформації про його ізоелектричну точку.

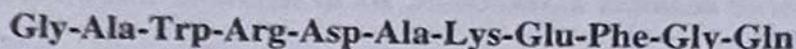
Дайте визначення термінам:

ДЕНАТУРАЦІЯ - Втрата білком його тривимірної структури, через порушення колагенівих зв'язків чи амінокислотами.

РЕНАТУРАЦІЯ - Рівноважне відновлення тривимірної структури білком, якщо він не зазнав порушення колагенівих зв'язків чи амінокислотами.

ГІДРОЛІЗ БІЛКІВ - Розщеплення колагенівих зв'язків чи амінокислотами, під дією ферментів / хімічних агентів.

Передбачте склад амінокислотних фрагментів, що утворяться під час гідролізу пептиду



за дії:

- 1) трипсину: Gly-Ala-Trp-Arg Hsp-Ala-Lys Gly-Phe-Gly-Gln
- 2) хімотрипсину: Gly-Ala-Trp Arg-Asp-Ala-Lys-Gly-Phe Gly-Gln
- 3) S. aureus протеази V8: Gly-Ala-Trp-Arg-Asp-Ala-Lys-Gly Phe-Gly-Gln

Назва класу	Простетична група	Біологічне значення та приклад
Глікопroteїни	Вуглеводи	Рецептори фукози, структури, фукозі... (родопсін, Н-глюкозамін)
Ліпопroteїни	Ліпіди	Транспорт ліпідів Ліпопroteїн В із/Н із
Фосфопroteїни	Фосфатні групи	Регулює активність - активація ферментів (фосфорильовані УЗК-іонізація)
Гемопroteїни	Гем (запіzo)	Транспорт кисню/діоксиду гемоглобін
Флавопroteїни	Флавіноліндигідроферат.	Довід H^+ за аніоном H^+ (кофактор FAD) ETA (суцінітадегідрат)
Металопroteїни	Іон металу	Ферменти різких структур <u>пероксидаза</u> Супероксиддізмутаза

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ:

Визначте, які дипептиди за нейтрального рН мають від'ємний заряд:

- Asp-Phe
- Gln-Trp
- Glu-Thr
- Ile-Asp
- Asn-Pro

Оберіть трипептиди, які мають позитивний заряд за значення рН 7,0:

- His-Met-Val
- Thr-Phe-Lys
- Arg-Ser-Pro
- Ile-Tyr-Ala
- Cys-Gly-Arg

Оберіть амінокислоти, які входять до складу колагенових фібрил:

- гідроксилізин
- цистеїн
- лізин
- гліцин
- триптофан

Оберіть вірне визначення терміну «домен»:

- ділянки поліпептидного ланцюга з локальною впорядкованою конформацією
- ділянки поліпептидного ланцюга, що з'єднують α -спіралі та β -структури
- певні комбінації α -спіралей, β -структур і петель
- дискретна, незалежно згорнута компактна одиниця тривимірної структури білкової молекули

Визначте, як називається небілкова частина складного білка:

- апопротеїн
- холопротеїн
- протеїн
- простетична група

Визначте, як називається білкова частина складного білка:

- апопротеїн
- холопротеїн
- протеїн
- простетична група

Визначте, до якого класу білків належить міоглобін:

- глікопротеїнів
- ліпопротеїнів
- металопротеїнів
- нуклеопротеїнів
- хромопротеїнів

Визначте, до якого класу належать білки, що містять у своєму складі вуглеводний компонент:

- ліпопротеїнів
- хромопротеїнів
- глікопротеїнів
- альбумінів
- нуклеопротеїнів

Оберіть вірне твердження.

Хромопротеїни – це складні білки, простетичною групою яких є:

- вуглеводи
- ліпіди
- забарвлена простетична група
- нуклеїнові кислоти

Оберіть вірне твердження. Денатурація білків призводить до:

- руйнування первинної структури
- розриву пептидних зв'язків
- руйнування третинної структури
- руйнування водневих зв'язків
- завжди до незворотних змін в молекулі

Зазначте умови, за яких зазвичай відбувається втрата нативної конформації білка:

- струшування розчину білка
- додавання до розчину білка сильних кислот
- нагрівання розчину білка до 80 °C
- осадження білка з розчину сульфатом амонію

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 7

ДОСЛІДЖЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ БІЛКІВ

7.1. Визначення ізоелектричної точки желатину за ступенем помутніння розчину

 Визначення ізоелектричної точки (pI) білків ґрунтуються на здатності білків осаджуватися з розчину за pH , що відповідає їх pI . За pH вище pI білок має сумарний негативний заряд, за pH нижче pI – сумарний позитивний заряд. У ізоелектричній точці білок не має заряду і легко осаджується під дією агентів, що викликають дегідратацію білкової молекули.

Реактиви та матеріали. 1% розчин желатину; 0,1 розчин оцтової кислоти; 0,1 М розчин ацетату натрію; 96% етиловий спирт; дистильована вода.

Обладнання. Скляні палички, пробірки, мікропіпетки, штатив для пробірок.

ХІД РОБОТИ:

1). У три пробірки додайте відповідні об'єми (мл) дистильованої води, розчинів оцтової кислоти, ацетату натрію та желатину, як наведено у таблиці нижче. Перемішайте вміст кожної пробірки скляною паличкою.

№ пробірки	Вода мл	CH_3COOH (0,1 М) мл	CH_3COONa (0,1 М) мл	1% розчин желатину мл	pH середовища	Мутність
1	2,5	2,3	0,2	2,0	3,6	слабке (менше 1/2 засипки)
2	2,5	1	1,5	2,0	4,8	середнє
3	2,5	0,25	2,25	2,0	5,6	висока

2. Потім до вмістуожної пробірки повільно (по стінці пробірки) додайте 2 мл етилового спирту.

3. Через 30 хв проаналізуйте ступінь помутніння кожного розчину.

4. Занесіть результати спостереження до таблиці, наведеної вище, використовуйте знаки “+ / -” для опису.

4. Визначте ізоелектричну точку желатину. Для цього знайдіть пробірку з максимальним ступенем помутніння розчину. Максимальний ступінь осадження буде спостерігатися в пробірці, яка має pH , близький до ізоелектричної точки желатину. У висновку поясніть, чому.

Висновок Ізоелектрична точка желатину $pI \approx 5,6$, є поясніть, що желатин синтезований з поліпептидів, яких, зокрема, серед тих їх pI близькі до pI желатину. Постереженням того, що желатин має ізоелектричну точку при $pH = 5,6$ буде у загальному случаю отримання розчину, що відчуває про розпадливі осади.

7.2. Вивчення особливостей осадження білків за дії різних чинників

7.2.1. Осадження білків нагріванням

■ Якнайкращим способом осадження білків є кип'ятіння їх у середовищі, яке має pH, що дорівнює ізоелектричній точці білка. Внесення до розчину білка нейтральних солей (сульфату амонію, хлориду натрію тощо) полегшує та прискорює осадження під час кип'ятіння внаслідок дегідратації білкових молекул.

Реактиви та матеріали. 1% розчин яєчного білка; 3% розчин оцтової кислоти, насыщений розчин хлориду натрію; 10% розчин гідроксиду натрію.

Обладнання. Пробірки, скляні палички, штатив для пробірок, піпетки, водяна баня.

ХІД РОБОТИ:

Для порівняння залежності осадження білків від концентрації водневих іонів у **п'ять пробірок** додайте по 2,5 мл 1% розчину яєчного білка. Зожною з пробірок проведіть маніпуляції, згідно з нижче описаним алгоритмом.

1. Нейтральний розчин білка (перевірте pH за допомогою індикаторного паперу) в **першій пробірці** нагрійте до кипіння.

2. Додайте у **другу пробірку** 0,5 мл 3% розчину оцтової кислоти до появи слабокислої реакції (перевірте pH за допомогою індикаторного паперу). Нагрійте до кипіння. Дайте розчину відстоїтися 5 хв.

3. Додайте у **третю пробірку** 1,5 мл 3% розчину оцтової кислоти для створення кислої реакції середовища (перевірте pH за допомогою індикаторного паперу). Нагрійте до кипіння.

4. Додайте у **четверту пробірку** 2,5 мл 3% розчину оцтової кислоти та 1 мл насыщеного розчину хлориду натрію (перевірте pH за допомогою індикаторного паперу) та нагрійте до кипіння.

5. Додайте у **п'яту пробірку** 1 мл 10% розчину гідроксиду натрію для створення лужного середовища (перевірте pH за допомогою індикаторного паперу). Нагрійте до кипіння.

✓ Запишіть результати спостережень до таблиці і зробіть висновок про вплив pH на процес осадження білка в розчині.

№ пробірки	pH	Заряд білка	Спостереження
1	6.5	0	Помутніння розчину
2	5.0	+/-	Після нагрівання помутніння зникає
3	4.5	+/-	Після нагрівання помутніння зникає
4	4.2	0	Помутніння розчину
5	11.2	+/-	Помутніння зникає

Висновок У пробірці під номером 4 було досягнуто зупину осадження білка, як наслідок він випав в осад, в пробірці під номером 1 залишила помутніння, що може пояснювати те, що іонізація (іонізація) білка була в ізоел. точці.

В інших пробірках білок буде або прогноцованій ($\text{pH} < 7$), або депротонованій ($\text{pH} > 7$)

7.2.2. Осадження білків мінеральними і органічними кислотами, органічними розчинниками та розчинами важких металів

■ Мінеральні та деякі органічні кислоти осаджують білки в результаті денатурації та дегідратації білкових молекул, а також внаслідок утворення нерозчинних комплексних солей позитивно заряджених білкових часток із негативно зарядженим кислотними залишками. Солі важких металів (міді, ртуті, цинку, срібла, свинцю) осаджують білки в результаті утворення комплексних сполук із тіловими групами білків.

Реактиви та матеріали. 1% розчин яечного білка; концентрована азотна кислота; 10% розчин трихлороцтової кислоти; 20% розчин сульфосаліцилової кислоти; 96% розчин етилового спирту, насыщений розчин хлориду натрію; 1% розчин сульфату міді; 1% розчин ацетату свинцю.

Обладнання. Пробірки, скляні палички, штатив для пробірок, піpetки.

ХІД РОБОТИ:

A. Осадження білків мінеральними кислотами

1. Додайте у пробірку 2 мл розчину концентрованої азотної кислоти.

2. Потім по стінці пробірки обережно, щоб рідини не перемішувалися, додайте 2 мл 1% розчину яечного білка. На межі поділу двох рідин спостерігається утворення осаду у вигляді кільця преципітації (проба Гелера).

3. Ретельно перемішайте вміст пробірки.

✓ Запишіть свої спостереження після характерного жовтого кільця на межі поділу двох рідин

B. Осадження білків органічними кислотами

У дві пробірки додайте:

Пробірка 1

5 мл 1% розчину яечного білка

1 мл 10% розчину трихлороцтової кислоти

Пробірка 2

1 мл 20% розчину сульфосаліцилової кислоти

✓ Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:

після осаду у середній стисності; після осаду у великій стисності;

B. Осадження білків органічними розчинниками

У пробірку внесіть 1,5 мл 1% розчину яечного білка. Додайте у пробірку 1,5 мл 96% розчину етилового спирту. Потім додайте 0,5 мл насыщеного розчину хлориду натрію.

✓ Запишіть свої спостереження. Помітте, що характеризує виникнення осаду.

Г. Осадження білків іонами важких металів

У дві пробірки додайте:

Пробірка 1

3 мл 1% розчину яєчного білка

2-3 краплини 1% розчину сульфату міді

2-3 краплини 1% розчину ацетату свинцю

✓ Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:

Випадок № 1: білого осаду, у
середіні яєчного білка

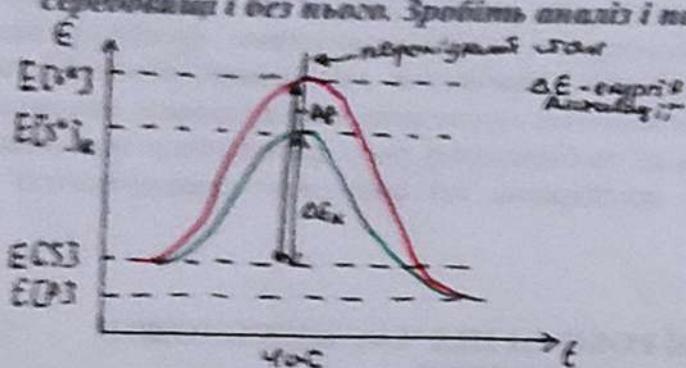
Випадок № 2: білого осаду, у
середині яєчного білка

Висновок: В результаті реагування білка з ацетатом свинцю відбувається осадження яєчного білка.

- ✓ Вкажіть основні властивості ферментів, що характеризують їх як катализатори:
- Специфічність до субстрату;
 - Приспівкове реагування (якщо зміниється субстрат, активність зменшується);
 - Керованість під час ходу реакції;
 - Контроль до складу проміжків;
 - Регулюваність функціонування (рН, +, Содов.)

- ✓ Вкажіть властивості ферментів, які відрізняють їх від хімічних катализаторів:
- Біологічна природа;
 - Важка спеціалізація;
 - Регулювання функціонування (ініціатор, активатор)

✓ Зображеній графік зміни енергії активації хімічної реакції за наявності ферменту у середовищі і без нього. Зробіть аналіз і поясніть, чому відбуваються зміни.



Можливо до графіка додати енергію активації субстрату без катализатора E_0 , або $E_0 = E_0^1 - \Delta E_{акт}$, де $\Delta E_{акт}$ - зміна енергії активації внаслідок дії катализатора. Важливий момент: катализатор знижує енергію активації, а не саму енергію активації. Це означає, що катализатор може знижувати енергію активації, але не може знижувати енергію субстрату. Катализатор може знижувати енергію активації, але не може знижувати енергію субстрату. Катализатор може знижувати енергію активації, але не може знижувати енергію субстрату.

✓ Порівняйте будову ферментів:

Прості ферменти (навести приклади)	Складні ферменти (навести приклади)
Гемопротеїн, гемоглобін, ферменти, що сполучаються з апопротеїном і не потребують допоміжних кофакторів засвоєнням.	Четвертий складник; каталаза; ферменти, що працюють з апопротеїном та простетичною групою (небічні групи для подальшого функціонування ферменту)

✓ Порівняйте різні за природою кофактори:

Кофакмент (коензим)	Простетична група
Органічні сполуки лібідного природи, що з'єднуються з апопротеїном, несолячеснічні згущувачі; можуть бути розчинені в апопротеїні чи залишати реакцію.	Органічні сполуки лібідного природи, що з'єднуються з апопротеїном, несолячеснічні згущувачі; не розчиняються в апопротеїні чи залишають реакцію.

○ Дайте визначення терміну "АКТИВНИЙ ЦЕНТР":

Діється ферменту, що здатний із субстратом під час ферментативної реакції; необхідно для перетворення субстрату в ката. процесі.

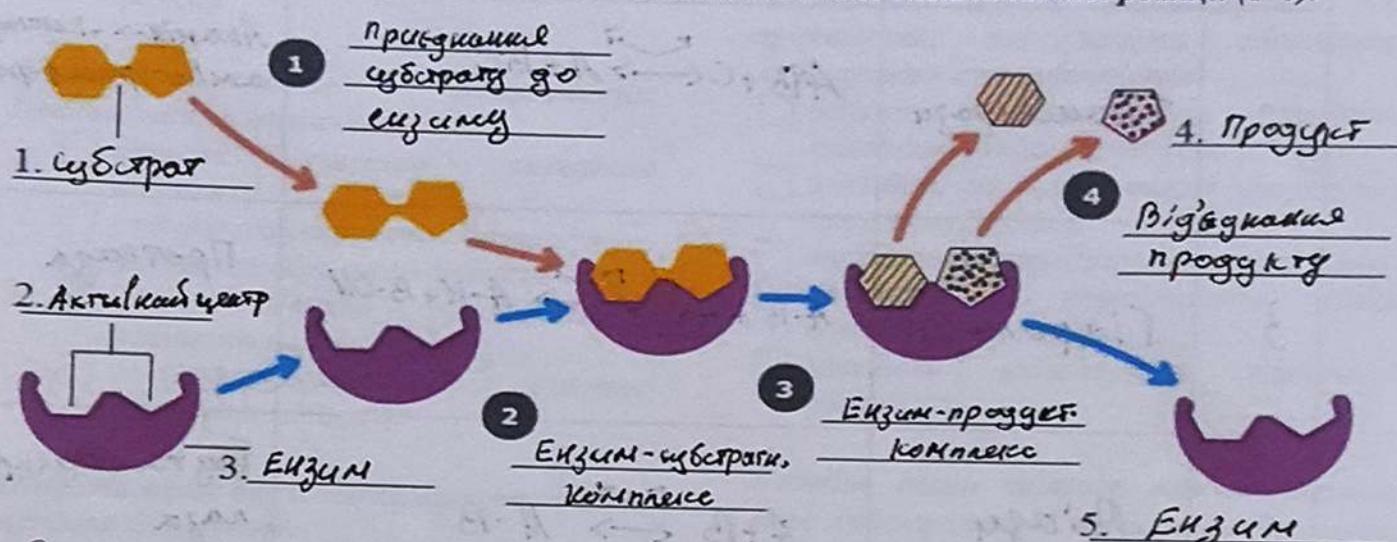
Кatalітична ділянка: діється, що відповідає за перетворення певного субстрату;

Контактна ділянка: діється, що відповідає за специфічне з'єднання субстрату;

○ Дайте визначення терміну "АЛОСТЕРИЧНИЙ ЦЕНТР":

Діється ферменту, що відповідає за з'єднання із регуляторами, які нечленами, які регулюють активість та концентрацію передбачу ферментативної реакції.

○ Доповніть схему коротким описом основних етапів ензиматичної реакції (1-4):



○ Заповніть таблицю «Молекулярні механізми дії ферментів»:

Теорія «Ключ-замок»	Теорія «Індукованої відповідності»
<p>Фермент є високоспеціфічним;</p> <p>відповідає субстрату як "замок" - "ключ", де фермент виступає "замком", а субстрат - "ключем", що зумовлює високу специфічність з'єднання.</p>	<p>Відповідно до цієї теорії, фермент є статичним, тобто його активний центр є під субстратом. Тобто теорія "ключ-замок" висуває на статичного АЗ, на відміну від теорії "індукованої відповідності", яка висуває на динамічний АЗ.</p>

○ Опишіть основні типи специфічності дії ферментів:

Тип	Опис	Приклади
Абсолютна	Фермент каталізує лише один субстрат. 1 ферм = 1 субс.	Аргіназа Уреаза
Відносна	Фермент каталізує групу схожих субстратів (структурно)	Ліпаза
Оптична (стерео)	Відозначає абсолютну специфічність, тобто фермент каталізує один із тарсоміомерів субстрату	L-артишоково-желудова рұмара

Заповніть таблицю «Класифікація ферментів за типом реакції, яку вони каталізують»:

Номер класу	Назва класу	Графічне зображення схеми реакції (або опис реакції)	Приклади ферментів
1	Окисироредуктази	$A\text{-Rid} + \text{Вокис} \xrightleftharpoons[\text{Enz}]{\pi^{\text{Би2}}} \text{Аокис} + \text{Влігу}$	Малатдегідрогеназа Дофамінбіотрокіназа
2	Трансферази	$A\text{-B} + C \xrightleftharpoons[\text{Enz}]{\pi^{\text{Би2}}} A + B\text{-C}$	Аспарін-α-кетоглутаро-амтиотрансфераза
3	Гідролази	$A\text{-B} + \text{H}_2\text{O} \xrightleftharpoons[\text{Enz}]{\pi^{\text{Би2}}} A\text{-H} + \text{B-OH}$	Протеаза
4	Пігази	$A\text{-B} \xrightleftharpoons[\text{Enz}]{\pi^{\text{Би2}}} A + B$ не синтез а розщеплення ✓	Глутаматдекарбокси- газа
5	Ізомерази	$A \xrightleftharpoons[\text{Enz}]{\pi^{\text{Би2}}} Izo-A$	Фосфоглюко- ізомераза
6	Лігази (мітогази) (синтетази)	$A + B + ATP \xrightarrow{\text{Enz}} A-B + ADP$ $A + B + G_N \rightarrow A+B$	DНК-лігаза Глутами-аміногуда
7	Тромепози	$A\text{-X} + B \xrightleftharpoons[\text{Enz}]{\pi^{\text{Би2}}} A + X + II\text{-B}_{\text{здн}}$	Na^+/K^+ -ATРаза цитохром-с оксидаза

Дайте визначення терміну "ІЗОФЕРМЕНТИ":

Ферменти, що катализують одну і туже реакцію, але різняться першим структурним білоком.

І) ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМІ:

Оберіть вірне твердження. Ферменти – це:

- речовини, які витрачаються в ході реакції
- речовини, які змінюють енергію хімічної системи
- білкові каталізатори
- речовини, які мають низьку специфічність
- речовини, які змінюють напрямок реакції

Оберіть вірне твердження. Простетична група – це:

- білкова частина складного ферменту
- стабілізатор структури ферменту
- активатор складного ферменту
- міцно зв'язана з ферментом небілкова частина
- частина ферменту, що утворює каталітичний центр

Оберіть вірне визначення алостеричного центра ферменту:

- ділянка молекули, що іонізує субстрат
- ділянка молекули, що забезпечує приєднання субстрату
- ділянка молекули, з якою зв'язуються низкомолекулярні речовини, які відрізняються за будовою від субстратів
- небілкова частину ферменту

Оберіть вірне визначення активного центра ферменту:

- ділянка ферменту, що забезпечує приєднання субстрату і його перетворення
- місце приєднання коферментів до апоферменту
- частина молекули ферменту, яка легко відщеплюється від апоферменту
- місце приєднання алостеричного регулятора

Зазначте місце розташування амінокислот, що формують активний центр ферменту:

- у різних ділянках поліпептидного ланцюга
- у середині поліпептидного ланцюга
- на C-кінці поліпептидного ланцюга
- на N-кінці поліпептидного ланцюга

Визначте, що є характерним для ферментів, які мають абсолютну субстратну специфічність:

- здатність до перетворення субстратів з одинаковим типом хімічного зв'язку
- здатність до перетворення структурно схожих субстратів
- здатність до перетворення стереоомерів
- здатність до перетворення тільки одного субстрату
- здатність каталізувати однотипні реакції

Назвіть типи зв'язків, які виникають між субстратом і активним центром ферменту:

- гідрофобні
- іонні
- водневі
- ковалентні

Визначте, як ферменти впливають на енергію активації:

- збільшують
- зменшують
- не впливають

Визначте, до якого класу належить фермент із індексом КФ 3.2.1.1:

- гідролази
- ізомерази
- ліази
- лігази
- оксидоредуктази
- трансферази
- транслокази

Визначте, до якого класу належать ферменти, які катализують розщеплення хімічного зв'язку з приєднанням молекули води:

- гідролази
- ізомерази
- ліази
- лігази
- оксидоредуктази
- трансферази
- транслокази

Оберіть клас ферментів, які беруть участь у розриві $-C-C-$ зв'язків без участі води:

- гідролази
- ізомерази
- ліази
- лігази
- оксидоредуктази
- трансферази
- транслокази

Виконайте «ланцюгове» завдання:

1) окисно-відновні реакції каталізують ферменти класу....:

- трансферази
- оксидоредуктази
- лігази
- гідролази

2) ферменти, які належать до підкласу цього класу, катализують реакції відщеплення атомів водню від субстрату – це:

- оксидази
- гідроксилази
- дегідрогенази
- пероксидази

3) коферментом для цих ферментів є:

- біотин
- S-аденозилметіонін
- кофермент А
- НАД⁺

4) кофермент є похідним вітаміну:

- РР
- Н
- В₂
- В₅

Встановіть відповідність між класом ферментів і реакціями, які вони катализують:

- гідролази – 3
- ізомерази – 6
- ліази – 4

- лігази – 1
- оксидоредуктази – 2
- трансферази – 5

- 1) аланін + тРНК + АТФ → Ала-тРНК + АМФ + ФФ_Н
- 2) гліцеральдегід-3-фосфат + НАД⁺ + Н₃РО₄ → НАДН + Н⁺ + 1,3-дифосфогліцерат
- 3) мальтоза + H₂O → глюкоза + глюкоза
- 4) гістидин → гістамін
- 5) аланін + α-кетоглутарат → піруват + глутамат
- 6) глюкозо-6-фосфат → фруктозо-6-фосфат

Встановіть відповідність між класом ферментів і реакціями, які вони катализують:

- гідролази – 5
- ізомерази – 4
- ліази – 2

- лігази – 1
- оксидоредуктази – 3
- трансферази – 6

- 1) глутамат + NH₃ + АТФ → глутамін + АДФ + Ф_Н
- 2) аспартат + α-кетоглутарат → оксалоацетат + глутамат
- 3) сукцинат + ФАД → фумарат + ФАДН₂
- 4) глюкозо-6-фосфат → глюкозо-1-фосфат
- 5) сахароза + H₂O → глюкоза + фруктоза
- 6) фруктозо-1,6-дифосфат → гліцеральдегід-3-фосфат + дигідроксиацетонфосфат

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 8

ВИВЧЕННЯ ДІЇ ФЕРМЕНТІВ

8.1. Вивчення дії амілази

■ Амілаза є ферментом, який катализує гідроліз α -1-4-глікозидного зв'язку глюкогену та амілози крохмалю до проміжних продуктів — декстринів. Крохмаль утворює з йодом сполуки синього кольору, амілодекстрин — фіолетового, еритродекстрин — червоно-бурого, ахродекстрин — жовтого.

Реактиви та матеріали. 0,2% розчин крохмалю; 0,1% розчин йоду в 0,2% розчині йодиду калію, **розчин слинни** — рот два-три рази ополіскують водою, після чого відмірюють циліндром 30 мл дистильованої води й полощуть нею рот кілька разів протягом 3-5 хв. Зібрану рідину використовують як джерело ферменту.

Обладнання. Скляні палички, пробірки, мікропіпетки, штатив для пробірок, крапельниці.

ХІД РОБОТИ:

У дві пробірки додайте:

Пробірка 1

Пробірка 2

5 мл 0,2% розчину крохмалю

0,5 мл розчину слинни, яка містить амілазу

0,5 мл дистильованої води

Ретельно перемішайте і залиште стояти за кімнатної температури

Через 15 хв в обидві пробірки додайте по п'ять краплин розчину йоду

Ретельно перемішайте і залиште стояти за кімнатної температури протягом 1 год

✓ Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:

Розчин забарвився в характерний
шаро-чорний колір

Відсутність характерного коліору

Висновок: Пробірка 2 не змінила коліору оскільки фермент амілаза
розділює структуру однією з розчинів (амілоза), що руйнує глюкомікел.
комплекс який утворює характерний колір при зустрічі з йодом.

+ 8.2. Вивчення дії каталази

■ Кatalаза прискорює реакцію розщеплення пероксиду водню: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$.

У цій реакції одна молекула пероксиду водню окиснюється та є донором електронів, а друга - відновлюється та є акцептором електронів.

Реактиви та матеріали. Препарат каталази; свіжоприготований 3% розчин пероксиду водню (H_2O_2).

Обладнання. Пробірки, скляні палички, мікропіпетки, штатив для пробірок, крапельниці.

ХІД РОБОТИ:

У дві пробірки додайте:

Пробірка 1

Пробірка 2

5 мл 3% розчину пероксиду водню

1 мл препарату каталази

Ретельно перемішайте і залиште на кілька хвилин за кімнатної температури

✓ Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:

З розчину починає вигідатися
О₂(бульбашки)

Відсутність змін

Висновок: Останнім катализатором є фермент, що розщеплює лише глюкозу та О₂,
то пробірка №1 мала активне виділення О₂, а пробірка №2
не мала активного виділення О₂.

8.3. Вивчення дії тирозинази

Тирозиназа каталізує перетворення тирозину в меланін (пігмент чорного кольору) через забарвлені в червоний колір проміжні продукти – 3,4-дигідроксифенілаланін (ДОФА), який внаслідок окиснення та циклізації перетворюється на 2,3-дигідро-5,6-діокси-р-індолілкарбонову кислоту (І). Сполука (І), окиснюючись, перетворюється на 2,3-дигідро-5,6-дікето-β-індолілкарбонову кислоту (ІІ) – пігмент червоного кольору.

Реактиви та матеріали. Препарат тирозинази; насичений розчин тирозину.

Обладнання. Пробірки; штатив; скляні палички; піpetки; термостат сухоповітряний з механічною циркуляцією повітря (надалі термостат).

ХІД РОБОТИ:

У дві пробірки додайте:

Пробірка 1 (контроль)

1 мл препарату тирозинази

Пробірку прокип'ятіть 3 хв і охолодіть

0,5 мл насиченого розчину тирозину

Помістіть пробірки у термостат за температури 40°C на 15 хв

Кожні 5 хв пробірки струшуйте і фіксуйте зміни кольору

✓ Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:

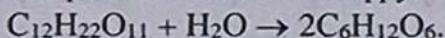
Розчин не змінив кольору

Погемічний розчин

Висновок Оскільки в пробірці №1 тирозиназа залишила дешатеруваніше (можливо дезаргіту), то відповідно ми не спостерігаємо перетворення тирозину в меланін, напротилежно активна тирозиназа в пробірці №2 буде характеризувати

8.4. Вивчення дії сахарази

Сахараза каталізує гідроліз сахарози до глукози та фруктози:



Моносахариди, які утворюються, визначають реакцією Фелінга (див. лабораторну роботу №3). Сахароза не містить вільної альдегідної групи й тому не має відновних властивостей.

Реактиви та матеріали. Препарат сахарази; 2% розчин сахарози; реактив Фелінга (див. лабораторну роботу №3.2).

Обладнання. Пробірки, піpetки, термостат, пальник.

ХІД РОБОТИ:

У дві пробірки додайте:

Пробірка 1 (контроль)

1 мл препарату сахарази (ферменту)

Пробірку прокип'ятіть 3 хв у полум'ї пальника і
охолодіть

3 мл розчину сахарози

Помістіть пробірки у термостат за температури 38°C на 15 хв

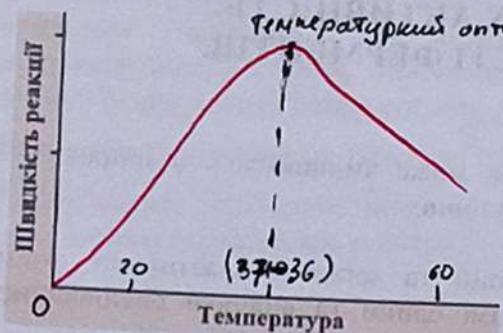
Додайте 2 мл реактива Фелінга, перемішайте і нагрійте до кипіння

✓ Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:

Відсутність зміни кольору Зникає кольору розчину на
помаранчевому

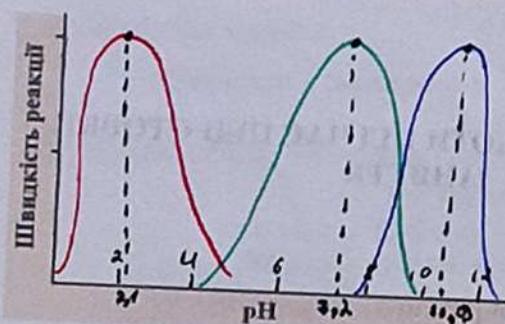
Висновок Пробірка №1 мала зміни кольору розчину, оскільки
сахароза під дією сахарази розщеплюється на глукозу та
фруктозу і реактив Фелінга дає реакцію, що свідчить про
глукозою і фруктозою.

8 Опишіть вплив температури, pH, концентрації ферменту та субстрату на активність ферментів. Зобразіть графіки залежності швидкості реакції від інтенсивності конкретного чинника. Опишіть залежність:



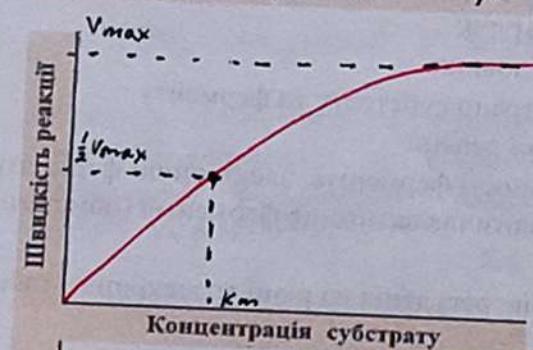
Вплив температури

При збільшенні температури, ми здомінгло енергетичні (бродильні) рухи, і тим самим підвищувамо швидкість реакції, проте ми доходимо до горизонту з якої, ріст температури денатурує фермент, тим самим зменшуєши його активність (комін фермент має свій оптимум)



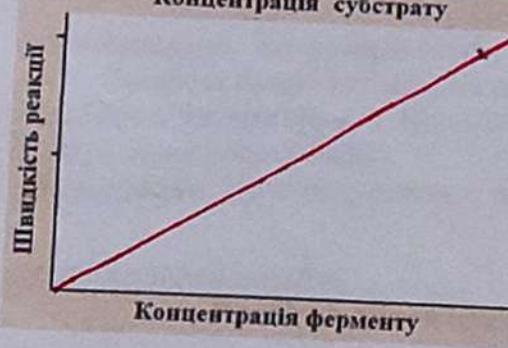
Вплив pH

Порядок з іонізацією функціональних груп в АЧ за рахунок присоєдання/депротонування, що призводить до отримання кайдоніономічної конформації АЧ (до каталізу). Розширення Рід pH-оптимальну може привести до дестабілізації АЧ, з подальшою неактивністю до каталізу (за рахунок повного прогнивання/денатурування, до блокування мірою)



Вплив концентрації субстрату

При зростанні субстрату буде зростання швидкості реакції, проте у ферменту є лімітуюча швидкість переворотки, зімовлені цієї точки, подальше збільшення з субстратом не приведе до зростання швидкості переворотки.



Вплив концентрації ферменту

При збільшенні С ферменту підсилюється збільшення швидкості реакції. Так, підсилюється осадження інтенсивності ферменту збільшується інтенсивність продукту (переворотного ферменту), що слугує одним із засобів за експресії відповідаючої швидкості реакції.

Суперсим
+

Оптимальні умови дії хімотрипсину: pH=7,8, t=37°C. При зміні pH до 5 активність ферменту значно знижується. Поясніть, чому:

Основається за pH = 7,8 хімотрипсин має оптимальну конфігурацію АЧ. При зміні pH цвого посяживши до 5 більшість своїх амінокислотних АЧ, що можуть присоєднатися, що призводить до зміни конфігурації АЧ, що блокує призводить до зміни конфігурації ферменту.

Пригадайте основні положення закону Ван Гоффа. Обґрунтуйте, чому активність ферментів за низьких значень температури (близько 0°C) зазвичай дорівнює «0»

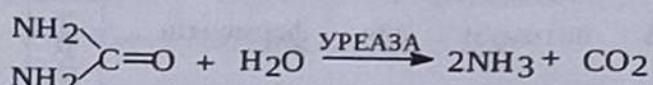
Оскільки субстрат не має достатньо енергії для переходження до продукту (білку) за $t \rightarrow 0$. Також закон Ван Гоффа регулюється індукцією переведення реакції в перший температурний діапазон.

значення від $10^{\circ}\text{C} \rightarrow$ його у другому

Більшість ферментів організму проявляють максимальну активність за $t=37^{\circ}\text{C}$. За підвищення температури до 50°C активність ферментів значно знижується. Чому?

Оскільки надлишкова енергія починяє дестабілізувати фермент, тобто фермент починає денатуруватися (частково в кінці мікрі)

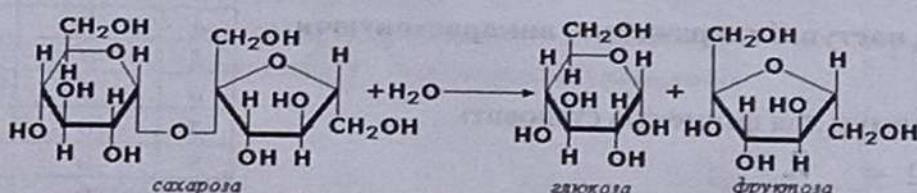
Опишіть зміни активності уреази, яка катализує ферментативне розщеплення сечовини



у разі наступних змін умов ферментативної реакції:

- A) збільшення концентрації сечовини – Збільшення кількості реагентів до досягнення V_{\max}
- Б) збільшення концентрації уреази – Збільшення кількості реагентів, до їх перебору
- В) збільшення температури на 10°C вище $t_{\text{опт}}$ – Зниження кількості реагентів (незначно)
- Г) збільшення pH на 1 одиницю вище $\text{pH}_{\text{опт}}$ – Зниження кількості реагентів (после депротонування)

Опишіть зміни активності сахарази, яка катализує ферментативне розщеплення сахарози



у разі наступних змін умов ферментативної реакції:

- А) зниження концентрації сахарози – Зниження кількості реагентів (зменш. кількості продукту)
- Б) зниження концентрації сахарази – Зниження кількості реагентів
- В) зниження температури на 10°C нижче $t_{\text{опт}}$ – Зниження кількості реагентів (зменш. енергії субстр.)
- Г) зниження pH на 1 одиницю нижче $\text{pH}_{\text{опт}}$ – Зниження кількості реагентів (протонування)

Дайте визначення одиницям вимірювання активності ферментів:

КАТАЛ – одиниця кількості, якою поєднується індукція переворення 1 моле субстрату за 1 секунду, катализатором.

ЮНІТ – одиниця кількості, якою поєднується індукція переворення 1 мікромоле субстрату за 1 хвилину, катализатором.

ПИТОМА АКТИВНІСТЬ – активність ферменту на одиницю маси білка. Відповідно ЮНІТ = $\frac{1}{\text{мікрокг}}$

■ Побудуйте криві залежності відносної активності ферментів (%) від температури ($^{\circ}\text{C}$), використовуючи комп'ютерну програму Excel та табличні значення (наведені в таблиці праворуч).

Доповійте наступні твердження, використовуючи графіки:

- Якщо температура змінюватиметься від 25 до 40°C , то активність Ферменту 1 зросте (зросте/знизиться) на 35 %.
- Активність Ферменту 2 зростає з 10 до 100% при зміні температури від 10 до 40.
- Активність Ферменту 3 знижується з 100 до 3 % при зміні температури від 70 до 85°C .
- Температурний оптимум для ферментів становить:

$$\text{Фермент 1} = \underline{40^{\circ}\text{C}};$$

$$\text{Фермент 2} = \underline{40^{\circ}\text{C}};$$

$$\text{Фермент 3} = \underline{70^{\circ}\text{C}}$$

$t, ^{\circ}\text{C}$	Фермент 1 (відн. акт)	Фермент 2 (відн. акт)	Фермент 3 (відн. акт)
0	5	0	0
5	13	0	0
10	26	10	0
15	38	22	0
20	50	38	0
25	65	54	0
30	84	79	0
35	97	97	5
40	100	100	12
45	30	80	23
50	0	20	37
55	0	0	58
60	0	0	80
65	0	0	98
70	0	0	100
75	0	0	90
80	0	0	22
85	0	0	3
90	0	0	0

І14

■ Побудуйте криві залежності активності ферментів (ммоль/(мг·хв)) від pH середовища, використовуючи комп'ютерну програму Excel та табличні значення (наведені в таблиці праворуч).

Доповійте наступні твердження, використовуючи графіки:

- pH оптимум для ферментів становить:

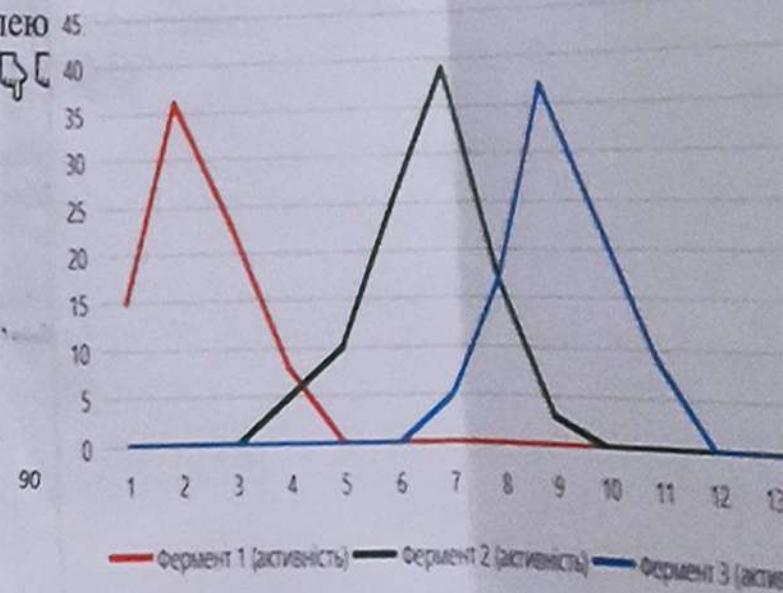
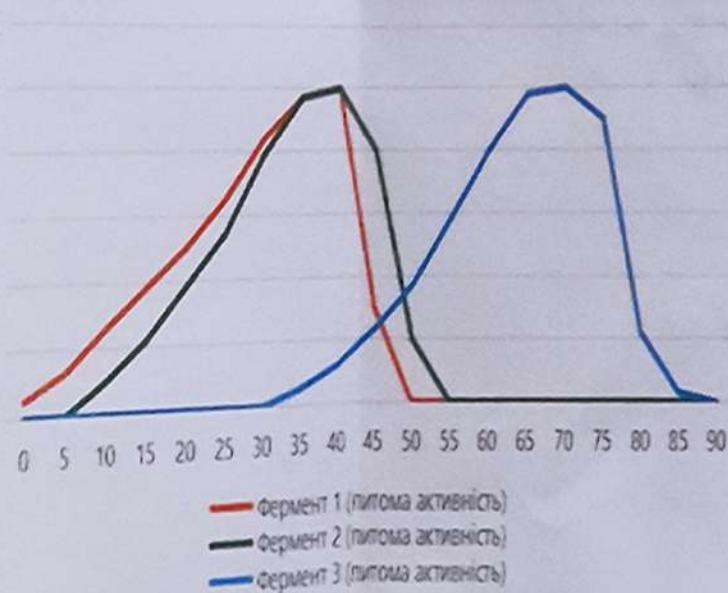
$$\text{Фермент 1} = \underline{2};$$

$$\text{Фермент 2} = \underline{7};$$

$$\text{Фермент 3} = \underline{9}$$

- Який з ферментів найкраще буде працювати в нейтральному середовищі Фермент 2, лужному середовищі Фермент 3, кислому середовищі Фермент 1.

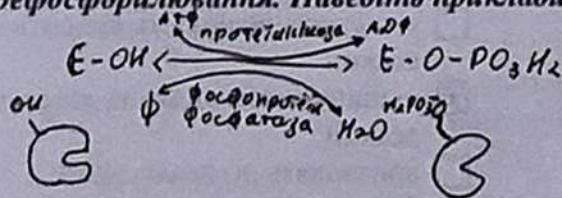
pH	Фермент 1 (актив)	Фермент 2 (актив)	Фермент 3 (актив)
1	15	0	0
2	36	0	0
3	23	0	0
4	8	5	0
5	0	10	0
6	0	25	0
7	0	39	5
8	0	17	17
9	0	3	37
10	0	0	23
11	0	0	9
12	0	0	0
13	0	0	0
14	0	0	0



❖ Вкажіть основні шляхи регуляції активності ферментів. Наведіть скрочену характеристику кожного механізму:

Механізм регуляції	Коротка характеристика	Приклади ферментів
Алостерична регуляція	Зв'яздання ефекторів з АЧ/Апостеричним центром, тим самим підвищуючи /знижуючи активність ферменту	Сукцинат дегидрогеназа (Мальтоза к-га)
Регуляція на рівні транскрипції або трансляції	Регулює експресію гена, виготовлено за сигналів РНК полімерази. Активне /інактивне гено	Лактоза (лактатогенетичний лактоза)
Посттрансляційна регуляція	Зворотна ковалентна модифікація: Приведення /відведення хімічних груп до ферменту, що активує / інактивує його.	Учайджелінська істаза
	Частковий протеоліз: Обмежене /відведення антикіназних замінок, з пептидного ланцюга	Тріпсин (трипсиноген)
	Дисоціація неактивного олігомерного ферменту на субодиниці: Розподілення неактивного ферментного комплексу на окремі активні протомери	Протейніназа А (алетіноген в АМФ)

❖ Зобразіть схему регуляції активності ферментів шляхом фосфорилювання-дефосфорилювання. Наведіть приклади таких ферментів.



Пояснення При приведенні замінки фосфорієї кислоти до ферменту, змінюється конформація його активного центра, що призводить до активування /інактивування ферменту.

В ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМІ:

Зазначте температуру, за якої більшість ферментів виявляє свою максимальну активність:

- 10-20 °C
- 35-40 °C
- 50-70 °C
- 80-100 °C

Оберіть значення рН, яке є оптимальним для дії більшості ферментів:

- pH 1,0-3,0
- близьке до нейтрального
- pH 7,0
- pH 8,0-10,0

Зазначте, у чому полягає вплив рН на перебіг ферментативної реакції:

- $[H^+]$ змінюює напрямок реакції
- $[H^+]$ визначає ступінь іонізації аміногруп
- екстремальні значення рН викликають денатурацію ферменту
- $[H^+]$ визначає ступінь іонізації карбоксильних груп
- $[H^+]$ змінюює ступінь іонізації субстрату

Зазначте властивості ферментів, зумовлені їхньою білковою природою:

- термолабільність
- pH залежність
- незмінність у ході реакції
- змінюють активність під дією активаторів та інгібторів
- специфічність

Порівняйте взаємодію ферменту з субстратом і алостеричним ефектором, встановивши відповідності:

- субстрат – Г
 - алостеричний ефектор – Б
- A. зв'язування викликає конформаційні зміни ферменту
- B. зв'язується з регуляторним центром
- C. завжди є низкомолекулярною сполукою
- D. зазнає структурних змін у ході катализу

Вкажіть, який тип модифікації НЕ належить до механізмів регуляції активності ферменту:

- денатурація апоферменту
- обмежений протеоліз
- приєднання хімічних угруповань
- алостеричний ефект

Зазначте, що відбувається з ферментом за дії низької температури:

- денатурація
- необоротна інактивація
- оборотна інактивація

Оберіть особливості, властиві алостеричним ферментам:

- є лімітуючими ферментами метаболічних шляхів
- є мономерними білками
- мають просторово розділений активний і регуляторний центри
- за взаємодії з лігандами не виявляють кооперативний ефект
- не виявляють регуляторних властивостей за дисоціації молекули на протомери

Як називається ділянка ферменту, яка стереохімічно комплементарна субстрату:

- алостеричний центр
- регуляторний центр
- активний центр
- адсорбційний центр

Оберіть вірну характеристику, властиву активаторам ферментів:

- знижують швидкість каталітичної реакції
- підвищують швидкість каталітичної реакції
- призводять до денатурації ферментів
- підвищують оборотність ферментативної реакції
- не впливають на перебіг ферментативної реакції

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 9

ВИВЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ФЕРМЕНТІВ

9.1. Вплив температури на швидкість ферментативної реакції

■ У термолабільноті ферментів можна впевнитися на прикладі дії амілази сині. Фермент амілаза здійснює гідроліз крохмалю через проміжні продукти розпаду (декстрини) до мальтози. Нерозщеплений крохмаль із йодом дає сине забарвлення, а декстрини, залежно від величини своїх частинок, дають із йодом фіолетове, червоно-буру, помаранчеве забарвлення чи взагалі не забарвлюються. (Мальтоза) кінцевий продукт розпаду крохмалю, не забарвлюється розчином йоду. Таким чином, по забарвленню розчину йоду можна робити висновки щодо ступеня гідролізу крохмалю. Швидкість розщеплення крохмалю під дією амілази залежить від температури й визначається за інтенсивністю забарвлення розчину крохмалю або продуктів його перетворення з йодом.

Реактиви та матеріали. Розчин крохмалю (1%); **розчин сині** – отримують 1 мл сині води дистильованою водою до 10 мл (розведення 1:10); 0,1% розчин йоду в 0,2% розчині йодиду калію (Света); лід.

Обладнання. Штатив із пробірками, піпетки, водяна баня, термостат, скляні палички та скляні пластинки.

ХІД РОБОТИ:

У чотири пробірки додайте та ретельно перемішайте:

№ пробірки	1% розчин крохмалю, мл	розчин сині (1:10), мл	Умови реакції
------------	------------------------	------------------------	---------------

1 1 1 термостат (40°C)

Ступінь гідролізу крохмалю оцінюють за зміною забарвлення розчину у реакції з йодом.

2 1 1 льодяна баня (4°C)

Для цього на скляну пластинку наносять дві краплини розчину йоду та змішують їх із двома краплинами суміші, які беруть із кожної пробірки через 4, 6, 8, 10 та 12 хв

3 1 1 кип'яча водяна баня (100°C)

збільшилося інтенсивність забарвлення

4 1 1 кімнатна температура (20°C)

зменшилося інтенсивність забарвлення

Інтенсивність і колір забарвлення у динаміці експерименту

збільшилося інтенсивність забарвлення розчину йоду

зменшилося інтенсивність забарвлення розчину йоду

зменшилося інтенсивність забарвлення розчину йоду

Висновок пробірка 2 мала інтенсивнішу зміну колору, оскільки за температурою фермент повинен активіті, а естераза синтезувала не достатково для реагування. Пробірки 1 та 4 мали зміну колору, головно змішаного з фенолом, оскільки пробірка 3 була підвергнута подільному до антидією пробірки 3, зумовлені за пісочкою температурою, що зумовлювало демонстрацію ферменту.

9.2. Визначення специфічності дії ферментів (на прикладі амілази та сахарази)

Амілаза слинні прискорює гідроліз тільки полісахаридів, не діючи на дисахариди (зокрема, на сахарозу). Сахараза розщеплює тільки сахарозу й не розщеплює крохмаль та інші дисахариди. Сахароза не має вільної альдегідної групи, тому не дає реакції Троммера (детальніше про реакцію Троммера див. лабораторну роботу № 3.2). Реакція Троммера може бути позитивною лише в тому випадку, якщо сахароза розщепиться на свої складові частини – глюкозу і фруктозу (детальніше про властивості сахарози див. лабораторну роботу № 4.2). **Реактиви та матеріали.** Розчин слизі – отримують 1 мл слизі і доводять дистильованою водою до 10 мл (розведення 1:10); 0,5% розчин крохмалю; 0,5% розчин сахарози; 0,1% розчин йоду в 0,2% розчині йодиду калію; реактив Фелінга; 5% розчин гідроксиду натрію; 5% розчин сульфату міді та препарат сахарази.

Обладнання. Штатив із пробірками, піпетки, водяна баня, термостат, скляні палички.

ХІД РОБОТИ:

У чотири пробірки додайте:

	Пробірка 1	Пробірка 2	Пробірка 3	Пробірка 4
розчин крохмалю, мл	3	3	-	-
розчин сахарози, мл	-	-	3	3
розчин слизі (амілази), мл	1	-	1	-
препарат сахарази, мл	-	1	-	1

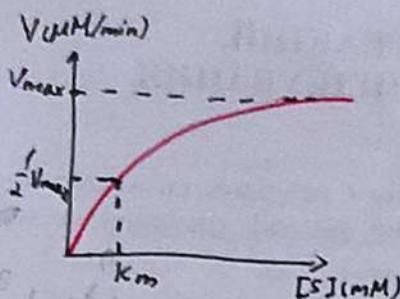
Перемішайте і поставте у термостат (38°C) на 5 хв

	Проведіть:		
	реакцію Фелінга (див. лабораторну роботу № 3.2)	реакцію Троммера	
Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:	Поява рівноголового забарвлення	Відсутність реакції	Поява второго осаду

Висновок Поява рівноголового колору в пробірці 1 вказує на те, що розщеплені крохмалю (осадили злинилося з його інжектом), що підтверджується амілазою, пробірка 2 дала таке забарвлення, що вказує на те, що сахароза не розщеплена крохмаль (шрима). Пробірка 3 не дала реакції на амілазу (желтові амілази не є ферментами, що розщеплюють сахарозу. Калійну сіль пробірки 4, що дала дії початкових реакцій (Троммера/Фелінга).

Пробірка 3 Троммер + Фелінг \rightarrow Ін. Фелінг
 0,5% 94 0,5% 94 Громпер (3 мл речовини + $(\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\%)$
 Пробірка 4 Троммер + Фелінг ↓ + 5 кр. Сіль (15%)
 Помаранчевий
 Водяна баня

Зобразіть графік Міхаеліса-Ментен. Поясніть симболове значення константи Міхаеліса.



Константа Міхаеліса –
пірамідальна (швидкості) підстрагу,
за якого досягається половина
максимальної швидкості.
Учим самим ми отримували
швидкості підстрагу до ферменту.
Оскільки чим менша Km тим більша
швидкість, то треба менше S підстрагу.

Використовуючи кінетичні параметри ферментативної реакції гідролізу синтетичного пептиду A-G-W – за дії ферменту карбоксипептидази A, обрахуйте максимальну швидкість даного ферменту (відомо, що за даних умов фермент підпорядковується основним положенням кінетики Міхаеліса-Ментен).

$[S] = 0,5 \text{ ммоль/л}$; $V_0 = 150 \text{ ммоль/хв}$; $K_m = 3 \text{ ммоль/л}$:

$$V_{\max} = \frac{(K_m + [S]) \cdot V_0}{[S]} \Rightarrow \frac{(0,5 + 3) \cdot 150}{0,5} = 1050 \text{ ммоль/хв}$$

Побудуйте графік Міхаеліса-Ментен з використанням комп'ютерної програми Excel, базуючись на результатах аналізу кінетики ферментативної реакції за оптимальних умов для ферменту X

А) за допомогою графіка оцініть значення

$$V_{\max} = 14 \text{ ммоль/хв}$$

$$K_m = 8 \text{ ммоль/л}$$

Б) Використовуючи різні способи лінеаризації даних, перебудуйте вихідні дані в координатах:

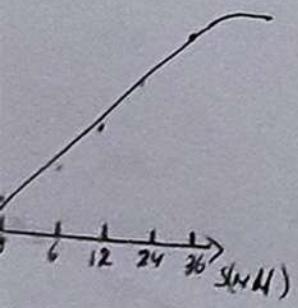
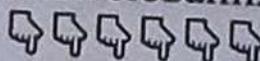
- 1) Лайнуївера-Берка; $V_{\max} = 14,28 \text{ ммоль/хв}$; $K_m = 8,05 \text{ ммоль/л}$
- 2) Іді-Хофсті; $V_{\max} = 14,56 \text{ ммоль/хв}$; $K_m = 8,38 \text{ ммоль/л}$
- 3) Вулфа-Хейнса. $V_{\max} = 14,855 \text{ ммоль/хв}$; $K_m = 8,81 \text{ ммоль/л}$

ані криві, вкажіть способи нових кінетичних констант.

кінетичних параметрів V_{\max} використанням обернених

S, мМ	V_0 , ммоль/хв
3	3,9
6	6
12	8,4
24	10,8
36	12

Місце для вклейовання



Міхаеліса-Ментен

Побудуйте графіки Лайнуївера-Берка з використанням комп'ютерної програми Excel, базуючись на результатах аналізу кінетики ферментативної реакції для ферменту X за оптимальних умов та за умов присутності інгібітора A або B в середовищі інкубації.

1) За допомогою графіків оцініть значення кінетичних констант.

A) за оптимальних умов:

$$V_{max} = 14,28 \text{ ммол/хв}$$

$$K_m = 8,05 \text{ ммол/л}$$

B) за умов присутності інгібітора A:

$$V_{max} = 8,53 \text{ ммол/хв}$$

$$K_m = 7,77 \text{ ммол/л}$$

B) за умов присутності інгібітора B:

$$V_{max} = 14,79 \text{ ммол/хв}$$

$$K_m = 31,39 \text{ ммол/л}$$

2) Визначте природу інгібіторів A і B:

Інгібітор A - неконкурентний /

Інгібітор B - конкурентний

S, мМ	V ₀ , ммоль/хв	+ Інгібітор А V ₀ , ммоль/хв	+ Інгібітор Б V ₀ , ммоль/хв
3	3,90	2,40	1,29
6	6,00	3,60	2,40
12	8,4		
24	10,		
36	12,		

Місц

-
у

Побудуйте графіки Лайнуївера-Берка з використанням комп'ютерної програми Excel, базуючись на результатах аналізу кінетики ферментативної реакції для ферменту X за оптимальних умов та за умов присутності інгібітора A або B в середовищі інкубації.

1) За допомогою графіків відшукайте значення кінетичних констант.

A) за оптимальних умов:

$$V_{max} = 10,1 \text{ ммол/хв}$$

$$K_m = 0,05$$

B) за умов присутності інгібітора A:

$$V_{max} = 10 \text{ ммол/хв}$$

$$K_m = 0,1504$$

B) за умов присутності інгібітора B:

$$V_{max} = 3,34 \text{ ммол/хв}$$

$$K_m = 0,01666$$

S, мкМ	V ₀ , ммоль/хв	+ Інгібітор А V ₀ , ммоль/хв	+ Інгібітор Б V ₀ , ммоль/хв
40	4,4444	2,1053	2,3529
60	5,4545	2,8571	2,6087
90	6,4286	3,7800	2,8125
120	7,0588	4,4444	2,9268
200	8,0000	5,7143	3,0769
300	8,		
400	8,		

Mic

2) Визначте природу інгібіторів A і B:

Інгібітор A - конкурентний /

Інгібітор B - дезконкурентний

В ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ:

Оберіть вірне твердження. Константа Міхаеліса чисельно дорівнює:

- концентрації субстрату, за якої швидкість реакції складає половину від максимальної
- концентрації субстрату, за якої швидкість реакції є максимальною
- концентрації субстрату, за якої швидкість реакції є мінімальною
- половині максимальної швидкості реакції

Встановіть, що описує рівняння Міхаеліса-Ментен на графіку залежності швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату:

- реакцію нульового порядку
- реакцію змішаного порядку
- реакцію першого порядку
- усю криву

Оберіть тип інгібування, що спостерігається за дії інгібтора, який має структурну подібність до субстрату:

- неконкурентне
- конкурентне
- алостеричне
- неспецифічне

Визначить, які з перерахованих впливів є оборотним (A) або необоротним (B) способом регуляції ферментативної активності:

- хімічна модифікація - A
- обмежений протеоліз - B
- конкурентне інгібування - A
- алостерична регуляція - A

Визначте, як вплине зміна концентрації субстрату на активність ферменту:

- активність ферменту не змінюється
- активність ферменту постійно підвищується зі збільшенням концентрації субстрату

- зі збільшенням концентрації субстрату активність ферменту підвищується до певної межі

Зазначте, як зміниться активність амілази, якщо:

- А - до інкубаційного середовища додати сульфат свинцю
 Б - в присутності сульфату свинцю збільшили концентрацію крохмалю

- збільшиться - _____
- зменшиться - A, B
- спочатку зменшиться, а потім відновиться до початкового значення - _____
- не зміниться - _____

Визначте, який тип інгібування не спостерігається за фізіологічних умов:

- необоротне інгібування, викликане денатурацією ферменту
- конкурентне інгібування
- неконкурентне інгібування
- ретроінгібування

Визначте, які агенти можуть належати до необоротних інгібіторів ферментів:

- гормони
- солі важких металів у високих концентраціях
- солі лужноземельних металів
- надлишок субстрату

Вкажіть, як називається інгібування ферменту за типом зворотного зв'язку:

- конкурентне інгібування
- неконкурентне інгібування
- ретроінгібування
- змішане інгібування

Зазначте, у чому полягає механізм дії алостеричних інгібіторів:

- викликають денатурацію апоферменту
- блокують активний центр
- порушують просторову конформацію активного центру ферменту

Порівняти конкурентний (A) і неконкурентний (B) види інгібування:

- інгібітор приєднується в активному центрі
- інгібітор не має структурної схожості з субстратом
- інгібітор зв'язується найчастіше поза активним центром ферменту
- K_m збільшується, V_{max} не змінюється
- K_m не змінюється, V_{max} зменшується
- знімається надлишком субстрату

- A
- B
- B
- A
- B
- A

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 10

10.1. Визначення активності ферментів (на прикладі визначення амілазної активності сини за методом Вольгемута)

Метод Вольгемута ґрунтуються на визначенні мінімальної кількості ферменту, яка здатна за певних умов повністю гідролізувати 1 мл 0,1% розчину крохмалю. Амілазна активність сини визначається кількістю 0,1% розчину крохмалю (у мл), яку може гідролізувати 1 мл нерозведені сини за температури ~38°C протягом 30 хв. У нормі амілазна активність становить 16–32.

Реактиви та матеріали. Слина, дистильована вода, 0,1% розчин крохмалю, 0,1% розчин йоду в 0,2% розчині йодиду калію.

Обладнання. Штатив із пробірками, піпетки, крапельниці, термостат, скляні палички.

ХІД РОБОТИ:

1). **Приготування розведення сини.** У сім пробірок налийте по 1 мл дистильованої води. У першу додайте 1 мл сини, перемішайте і 1 мл суміші перенесіть у другу пробірку. Вміст цієї пробірки знову перемішайте, 1 мл суміші перенесіть у третю пробірку й так - до сьомої. З останньої пробірки відберіть 1 мл суміші та вилийте. Таким чином, у кожній наступній пробірці вміст ферменту вдвічі менший, ніж у попередній. Показники розведення сини у пробірках наведено у таблиці:

№ пробірки	1	2	3	4	5	6	7
Ступінь розведення	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64

2) **Проведення аналізу.** В усі пробірки додайте по 2 мл розчину крохмалю, ретельно перемішайте і поставте у термостат за температури 38°C на 30 хв. Після інкубації пробірки охолодіть під водопровідною водою для припинення дії ферменту, додайте по дві краплинки розчину йоду, ретельно перемішайте і спостерігайте за зміною забарвлення.

✓ Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:

1. Розчин має бліскучий колір, оскільки амілаза розщеплює крохмаль
2. Помутніння у порівненні з попереднім
3. Колір схожий на попередній пробір
4. Помутніння розчину у порівненні з попереднім (поява фіолетового осаду)
5. Задимлене помутніння розчину (блідо-коричневий), збільшення кількості фіол. осаду
6. Колір не змінився в порівненні з попередньою пробою, кількості осаду
7. Схожий колір на попередній пробір, сміливість осаду стала

2) **Розрахунок амілазної активності.** Відмітьте, за якого розведення відбувся повний гідроліз крохмалю з мінімальним вмістом ферменту (пробірка з жовтуватим забарвленням рідини). Наприклад, жовтуватий колір з'явився в п'ятій пробірці, де слина розведена в 16 разів, що означає – така кількість сини може гідролізувати 2 мл 0,1% розчину крохмалю. Для обрахунку користуємося пропорцією: 1/16 (розведена слина) гідролізує 2 мл 0,1% крохмалю, тоді як 1 (нерозведена слина) гідролізує x мл 0,1% крохмалю, звідки:

$$x = \frac{2 \times 1}{16} = \frac{2}{16} = 2 \times 16 = 32$$

Отже, 1 мл нерозведені сини може гідролізувати 32 мл 0,1% розчину крохмалю, тобто амілазна активність сини дорівнює 32.

✓ Проведіть власні розрахунки:

$$x = \frac{2 \cdot 1}{\frac{1}{4}} = \frac{2}{\frac{1}{4}} = 2 \cdot 4 = 8$$

Висновок В ході експерименту було підтверджено, що з зменшенням концентрації ферменту, зменшується швидкість реакції. Це підтверджує відомі закони: розчину, чим менше ферменту тим гемічне задорнення розчину.

10.2. Вивчення регуляції активності ферментів (на прикладі дії активаторів та інгібіторів на активність амілази сlinи)

■ Активатором амілази є хлорид натрію (NaCl), а інгібітором – сульфат міді (CuSO_4). Вплив цих речовин на активність амілази визначають за ступенем гідролізу крохмалю під впливом ферменту за наявності NaCl і CuSO_4 .

Реактиви та матеріали. Розчин сlinи; дистильована вода; 0,5% розчин крохмалю; 0,1% розчин йоду в 0,2% розчині йодиду калію; 1% розчин NaCl ; 1% розчин CuSO_4 .

Обладнання. Штатив із пробірками, піпетки, крапельниці, термостат, скляні палички.

ХІД РОБОТИ:

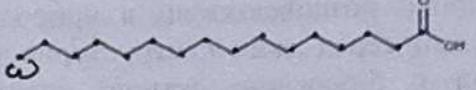
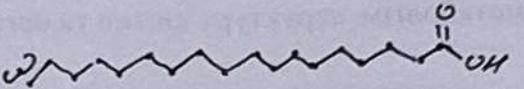
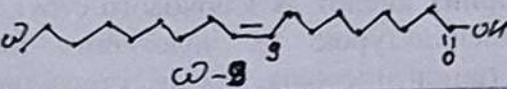
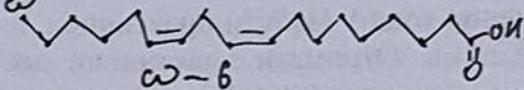
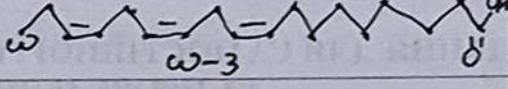
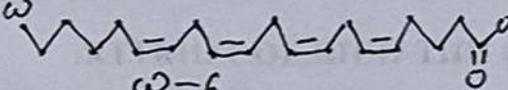
В три пробірки додайте необхідні реактиви та виконайте наступні процедури згідно з алгоритмом, наведеним в таблиці:

	Пробірка 1	Пробірка 2	Пробірка 3
дистильована вода, мл	2,5	2	2
розчину хлориду натрію, мл	-	0,5	-
розчину сульфату міді, мл	-	-	0,5
розчин сlinи, мл	2,5	2,5	2,5
розчин крохмалю, мл	2,5	2,5	2,5
	Перемішайте і поставте у термостат за температури 38°C . Через 10 хв додайте по п'ять краплин розчину йоду		
✓ Запишіть результати спостережень для кожної пробірки:	Відсутність характерного осаду	Відсутність характерного осаду	Поява темно-сікого осаду

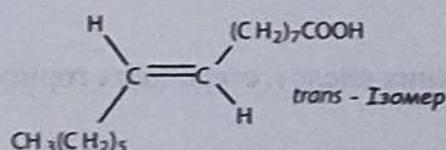
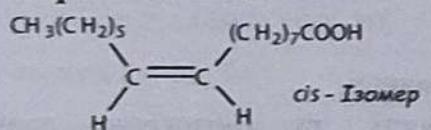
Висновок Пробірка 3 дала темно-сікий осад, осадивши сіль йодату ферменту та не дає білого катализованої реакції розщеплення крохмалю.

Пробірка 1 та 2 характеризувалася відсутністю осаду, осадівши в пробірці 1 фермент відсутній катализує реакцію, а в пробірці 2 фермент активованний NaCl ; тим самим катализує розщеплення.

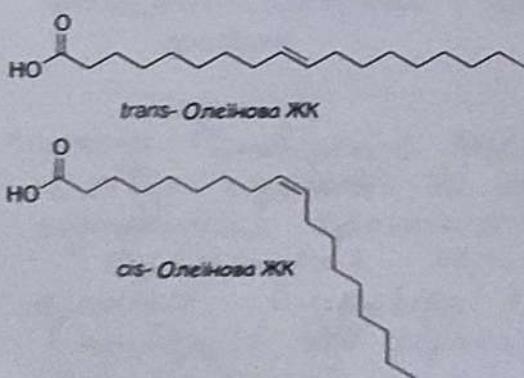
∅ Заповніть таблицю:

Тип ЖК	Визначення	Структура (вкажіть ω-клас)	Назва (скорочений запис)
Насичені	Альфатичні карбонолі кислоти і складів їхних (нг 12 го 24 атомів С, які характеризуються (ї) нещільною з'єднаннями)		Пальмітинова к-та (C16:0)
			Стеаринова к-та (C18:0)
Мононенасичені	Карбонолі кислоти, які мають один кратний з'єднання		Олеїнова к-та (C18:1Δ ⁹)
Ненасичені	Карбонолі кислоти, які мають кілька кратних з'єднань і одноненасичені з;		Лінолева к-та (C18:2Δ ^{9,12})
			Ліноленова к-та (C18:3Δ ^{9,12,15})
			Арахідонова к-та (C20:4Δ ^{5,8,11,14})

∅ Порівняйте структуру та фізико-хімічні властивості цис- та транс-ізомерів жирних кислот:



Цис-ізомер – ізомер, що має R-залишки на одній стороні молекули. Високий подібного з'єднаня ніг 123°, що не дає можливості, стискої упакуванні молекул. (Возникло для функції мембрани) На зліті біків конфігурації; зупиняє з'єднану +° подважки.

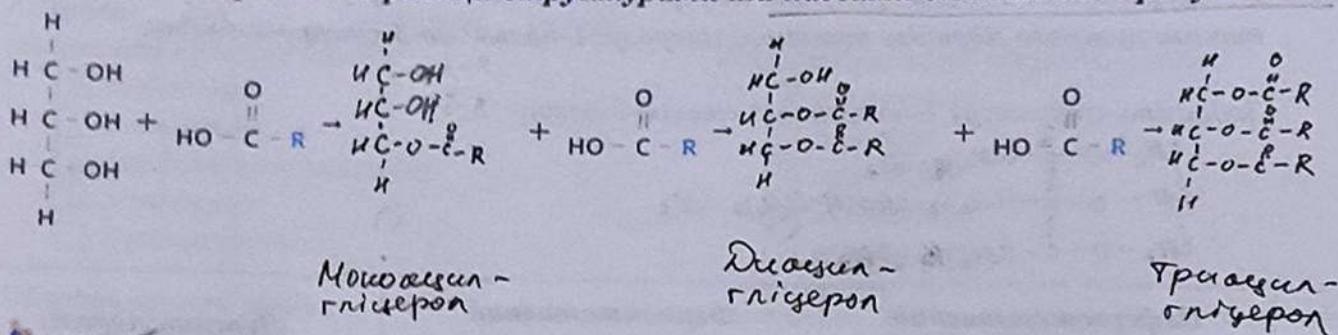


Транс-ізомер – ізомер, що має R-залишки по різких сторонах молекули. Високий подібності до насичених к-к, що зупиняє ріст структур, стискої упакування, з'єднану +° та високі пористість з сух-ізоляторами.

Поміркуйте, чому жирні кислоти, які містять однакову кількість атомів вуглецю (C_{18}), мають різні значення температури плавлення: стеаринова кислота $+69,6^{\circ}C$; оліїнова кислота $+13,4^{\circ}C$, лінолева кислота $-5^{\circ}C$, ліноленова кислота $-11^{\circ}C$. Які особливості структури цих 18-вуглецевих жирних кислот корелують із температурою плавлення? Поясніть молекулярні причини зміни температури плавлення.
Конфігурація ланцюга НК, кількість кратних зв'язків. (Гратка з Δ та $=6^{\circ}C$ тепл.)

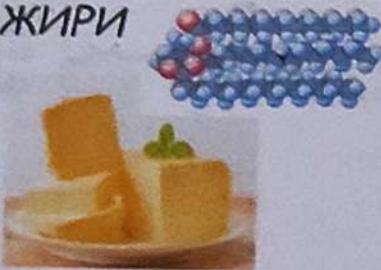
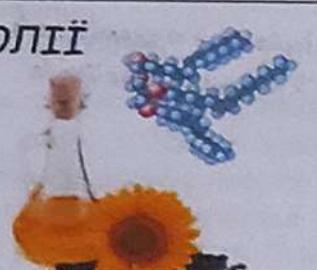
Дайте визначення поняттям «замінні» та «незамінні» жирні кислоти. Вкажіть приклади незамінних жирних кислот та поясніть їх біологічну роль.
незамінні НК, що не виступають в організмі, в с.ш.-37-5. структури фаскуле, субстрати для синтезу небудьких молекул.

Доповніть рівняння реакцій структурами та назвами відповідних продуктів:

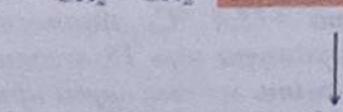


Поміркуйте, як слід розташувати речовини у порядку зростання їхньої розчинності у воді: триацилгліцерол, діацилгліцерол і моноацилгліцерол, якщо всі вони містять тільки пальмітинову кислоту. Три- > ді- > моноацилгліцерол

Заповніть таблицю «Порівняльна характеристика жирів та олій»:

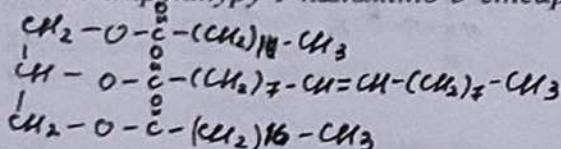
	ЖИРИ 	ОЛІЇ 
Джерело	Жарене походи.	Рослиннє походи.
Будова та склад	Дії переважної ланцюгової НК Класичної НК	Ланцюгової складу В склад входять кислини НК.
Температура плавлення	$\approx 70^{\circ}C$	$\approx 60^{\circ}C$
Стан за кімнатної $10^{\circ}C$	Твердий	Рідкий
Біологічна роль	Енергетичний резерв, механічний захист, теплоізоляція.	Велика кількість незамінних НК. Потребники окислюванні витривалість. Вітаміни.

ГІДРОГЕНІЗАЦІЯ – це процес насыщення ненасичених жирних кислот воднем. Використовується для збільшення стійкості жиру до окиснення та підвищення температури його плавлення (для його «загущення»). Наприклад, кокосову та соняшникову олію гідрогенізують для виробництва морозива, маргарину, саломасів, спредів тощо.



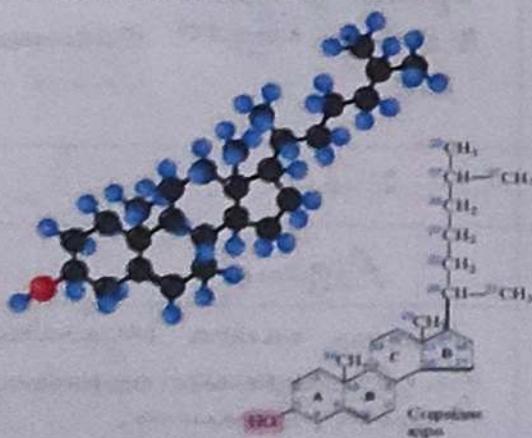
Порівняйте кінцеві продукти неферментативного та ферментативного гідролізу, а також лужного гідролізу триацилгліцеролу: 1-пальміто-3-стеаро-2-олеїну:

Зобразіть структуру 1-пальміто-3-стеаро-2-олеїну:



Неферментативний гідроліз	Ферментативний гідроліз	Лужний гідроліз
CH_2-OH $\text{CH}-\text{OH} + \text{NaO}-\overset{\text{C}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$ $\text{CH}_2-\text{OH} \text{ ок-}\overset{\text{C}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CH}_3$ Гліцерол + пальмітоглюкоз + стеариніт олеїна	CH_2-OH $\text{CH}-\text{OH} + \text{NaO}-\overset{\text{C}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}_3$ CH_2-OH $+ (\text{CH}_2)_7-\text{CH}_3 + \text{CH}_2-\text{O}-\overset{\text{C}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CH}_3$ 2-ОЛКОЇГЛІЦЕРІН + ПАЛЬМІТОГЛЮКОС + СТЕАРИНОВА КИСЛОТА	CH_2-OH $\text{CH}-\text{OH} + \text{NaO}-\overset{\text{C}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_3$ $\text{CH}_2-\text{OH} \text{ NaO}-\overset{\text{C}}{\underset{\text{O}}{\text{C}}}-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CH}_3$ ГЛІЦЕРОЛ + НАГРІЙ ПАЛЬМІТОГЛЮКОС + НАГРІЙ ОЛЕІНОВА + НАГРІЙ СТЕАРІНОВА

Опишіть структуру холестеролу та назвіть його похідні, що мають важливе біологічне значення:



Стероїдне ядро з однією або більше діоксигенами. Жирні кислоти, стероїди, горіхи є похідними холестеролу. Стероїди горіхи є регуляторами, різних метаболічних шляхів, такі як: естrogen та тестостерон, регулятори метаболічних процесів, чиє регулюють статеві ознаки (в осіні) та статеві особливості, про те мають і інші функції не пов'язані зі статевими регуляторами.

І) ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМІ:

Оберіть, які функції виконують ліпіди в організмі людини:

- структурну
- імунну
- енергетичну
- електроізолюючу
- теплоізолюючу

Оберіть, які із наведених сполук належать до класу ліпідів:

- гангліозид
- етаноламін
- фосфатидилетаноламін
- холестерол
- холецистокінін

Оберіть прості ліпіди:

- гліцериди
- цереброзиди
- ефіри холестеролу
- воски
- кардіоліпіни

Оберіть складні ліпіди:

- гліколіпіди
- воски
- плазмалогени
- терпени
- гліцериди
- сфінгомієліни

Визначте, які ліпіди є неомилюваними:

- ейкозаноїди
- плазмалогени
- сфінгомієлін
- фосфатидилхолін
- холестерол

Оберіть жирні кислоти, які є замінними для людини:

- пальмітоолеїнова
- арахідонова
- стеаринова
- лінолева
- олеїнова
- ліноленова
- пальмітінова
- арахінова

Оберіть жирні кислоти, які є незамінними для людини:

- арахідонова
- лінолева
- ліноленова
- олеїнова
- пальмітоолеїнова
- стеаринова

Оберіть насичені жирні кислоти:

- стеаринова
- лінолева
- арахінова
- каприлова
- арахідонова

Визначте, які з перерахованих жирних кислот належать до ненасичених:

- ейкозанова
- октадеканова
- арахідонова
- тетрадеканова
- стеаринова
- пальмітоолеїнова

Визначте, які твердження є вірними:

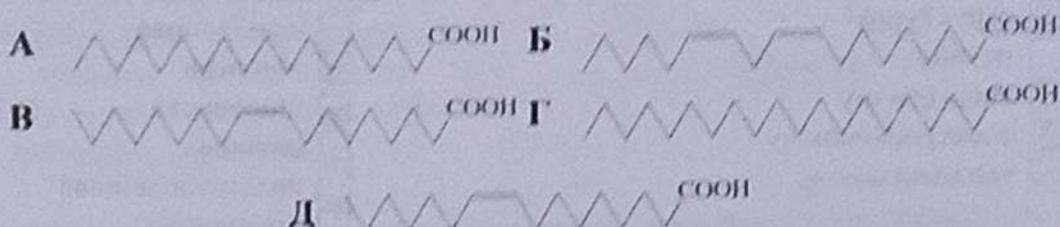
- жирні кислоти, як і глюкоза, є важливим джерелом енергії
- жирні кислоти в організмі людини мають парну кількість С-атомів у своїй структурі
- жирні кислоти з подвійними зв'язками, які не синтезуються в організмі людини, належать до незамінних факторів харчування (есенціальні жирні кислоти)
- жирні кислоти входять до складу більшості ліпідів в організмі людини
- склад жирних кислот в організмі людини є постійним і не залежить від типу тканини, складу йже тощо

Визначте, як позначається лінолева кислота згідно номенклатури IUPAC:

- 18:1ω9
- 18:2ω6
- 18:3ω3
- 18:0
- 20:4ω6

Встановіть відповідність між жирною кислотою (літера) та її структурною формулою (цифра):

- 1 - стеаринова - A; 2 - олеїнова - B; 3 - пальмітолеїнова - D;
4 - лінолева - C; 5 - арахінова - E



Зазначте характеристики, властиві нейтральним ліпідам:

- мають рідку консистенцію
- мають тверду консистенцію
- мають низьку температуру плавлення (15°C)
- містять лише наасичені жирні кислоти
- містять лише ненасичені жирні кислоти
- складаються переважно з олеїнової кислоти
- містять велику кількість арахідової кислоти

Оберіть вірні характеристики триацилгліцеролів:

- входять до складу біологічних мембрани
- є основною складовою частиною адреноцитів
- гідролізуються у лужному середовищі з утворенням міл
- є амфіпатичними сполуками
- містять виключно наасичені вищі жирні кислоти

Оберіть вірні твердження. Біологічна роль триацилгліцеролів в організмі людини зводиться до:

- участі в побудові клітинних мембран
- електроізоляції
- теплоізоляції
- резервування енергії
- участі в регуляції обміну речовин і фізіологічних функцій

Визначте, які з перерахованих сполук належать до похідних холестеролу:

- вітамін D
- гліцерол
- жирні кислоти
- жовчні кислоти
- простагландини

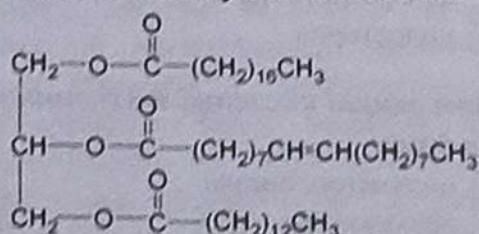
Зазначте, які з запропонованих сполук можливо використати для екстракції ліпідів з тканин:

- хлороформ
- етанол
- фізіологічний розчин
- діетиловий ефір
- вода

Оберіть продукти гідролізу нейтральних жирів:

- фосфорна кислота і гліцерол
- гліцерол і молочна кислота
- гліцерол і суміш вищих жирних кислот
- одноатомні спирти і жирні кислоти
- гліколіпіди і суміш жирних кислот

Визначте назву наведеного ліпіду:



- 1-пальмітоїл-2-стеароїл-3-олеїн
- 1-стеароїл-2-олеоїл-3-міристин
- 1-пальмітолеоїл-1-стеароїл-3-міристин
- 1-пальмітоїл-2-олеоїл-3-стеарин
- 1-стеароїл-2-лінолеїл-3-міристин

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 11

ДОСЛІДЖЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЖИРІВ

11.1. Визначення кислотного числа жиру

■ Кислотністю жиру, або **кислотним числом (КЧ), називається кількість міліграмів гідроксиду калію, яка необхідна для нейтралізації вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру.** Кислотне число показує ступінь розщеплення жиру, тобто характеризує **вміст у ньому вільних жирних кислот**. За кількістю вільних жирних кислот, які містяться в жирах, можна судити про ступінь їх свіжості, тому що в природних жирах міститься їх мало. Під час зберігання і нагрівання жиру кількість вільних жирних кислот зростає. Подальше окиснення останніх призводить до порушення смакових характеристик жиру, а за більш глибокого процесу - до непридатності використання жиру в харчових цілях.

Реактиви та матеріали. Спирт (етанол), нейтралізований за фенолфталейном; 0,1 н розчин гідроксиду калію (КОН); 0,1% розчин фенолфталейну; жир (рослинна олія).

Обладнання. Колби об'ємом 50 мл, піpetки, бюретки.

ХІД РОБОТИ:

В колбу на 50 мл внесіть 1 мл рослинної олії, налийте 5 мл готового розчину етанолу, нейтралізованого за фенолфталейном, ретельно перемішайте до повного розчинення вільних жирних кислот і титруйте 0,1 н розчином гідроксиду калію до **появи рожевого забарвлення** розчину, яке не зникає протягом 0,5 – 1 хв.

Кількість мг КОН, яка була витрачена на титрування вільних жирних кислот, що містяться в 1 г жиру, становить:

$$КЧ = \frac{A \times f \times Q}{a}, \text{де}$$

A – об'єм 0,1 н розчину КОН, витрачений на титрування дослідного розчину; $4,6 \approx 0,4 \text{ мл}$

f – коефіцієнт поправки на титр 0,1 н розчину КОН;

Q – кількість КОН (5,61 г), еквівалентна 1 мл 0,1 н розчину КОН;

a – наважка жиру, г. ($1 \text{ мл} \rightarrow 0,92 \text{ г}$) $\Rightarrow 0,92 \cdot \Gamma \quad \Gamma = \frac{m}{V} \quad m = \rho \cdot V$

з вимірювальними мерами

Виконайте розрахунок кислотного числа та опишіть отриманий результат у висновку:

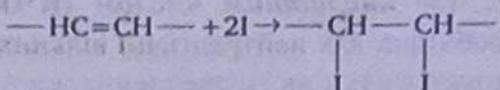
$$КЧ = \frac{0,4 \cdot 1 \cdot 5,61}{0,92} \approx 2,4391$$

0,16 корма

Висновок Кислотне число **каже на змінку кількості вільних жирних кислот у розчині, що може сказати про кількість вільних жирників.** Суть методу полягає у кислотах природи Вільних жирів, через які кількість карбоксильних груп, яка може бути відхищувана при дії лужу, з якою є кількість вінзенського лужу для досягнення юної соліватувається, можна сказати кількості про кількість вільних жирів у розчині.

11.2. Визначення йодного числа жиру

 Йодне число є кількісною характеристикою ненасиченості жиру. Йодним числом (ЙЧ) називають кількість г йоду, яка може прореагувати з 100 г жиру. Визначення ЙЧ засновано на реакції приєднання йоду за місцем подвійного зв'язку:



Надлишок йоду відтирюють розчином тіосульфату натрію.

Реактиви та матеріали. Жир (рослинна олія); спиртовий розчин йоду (0,1 М); 1% розчин крохмалю; 0,1 н розчин тіосульфату натрію ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$).

Обладнання. Дві конічні колби об'ємом 50 мл, піпетки, бюретки.

ХІД РОБОТИ:

- У дві колби ємністю 50 мл внесіть 0,2 мл води (контрольна проба) і 0,2 г жиру (дослідна проба), додайте по 10 мл спиртового розчину йоду, перемішайте і залиште на 15 хв.
- Проби титруйте 0,1 н розчином тіосульфату натрію спочатку до появи жовтуватого забарвлення, і потім, додавши 1 мл 1% розчину крохмалю, титруйте до зникнення синього забарвлення.

Йодне число (г) розраховують за формулою:

$$\text{ЙЧ} = (B - A) \times f \times Q \times \frac{100}{a \times 1000}, \text{де}$$

(B - A) – різниця даних титрування контрольної (B) і дослідної (A) проб 0,1 н розчином тіосульфату натрію, мл;

f – коефіцієнт поправки на титр 0,1 н розчину тіосульфату натрію;

Q – кількість I_2 (12,69 мг), яка еквівалентна 1 мл 0,1 н розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$;

100 – перерахунок на 100 г жиру;

1000 – коефіцієнт переведу мг йоду в г;

a – наважка жиру, г. $0,2 \text{ ml} \sim 30,184 \text{ g}$

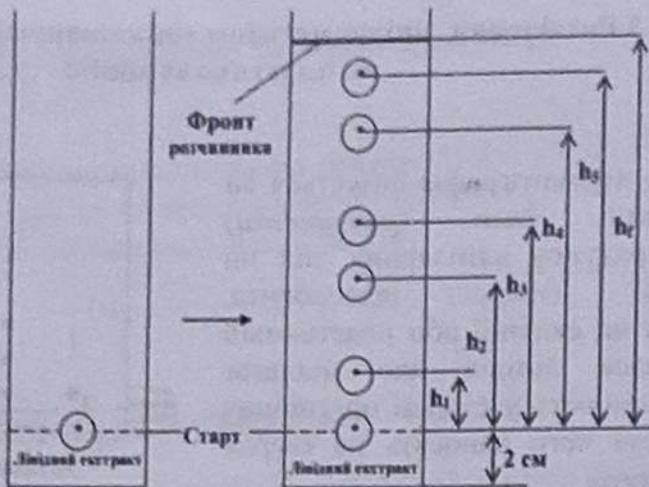
 Виконайте розрахунок йодного числа та опишіть отриманий результат у висновку:

$$\text{ЙЧ} = 1,57 \cdot 1,032 \frac{100}{0,2 \cdot 1000} = 9,9616$$

100 грама



Висновок. Йодне число вказує на факт того, що в розчині наявні жирні кислоти ненасиченої природи. Стільки жодного в тому, що не прореагованої із йодом. Йодом прореагується, додавання крохмалю є необхідним, щоб можна було видалити залишки йоду в розчині. Власне знається показник тих непрореагованого йоду (тобто, що привели з $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) не може становити кількісний показник, кількісності жиру.



Для кожного ліпідного компоненту обчисліть коефіцієнт розподілу R_f за формулою:

$$R_f = \frac{h}{h_f}, \text{де}$$

9,7 106

h – відстань, яку пройшов компонент ліпідного екстракту (h_1, h_2, h_3, h_4, h_5);
 h_f – відстань, яку пройшов фронт розчинника *(10,9)*

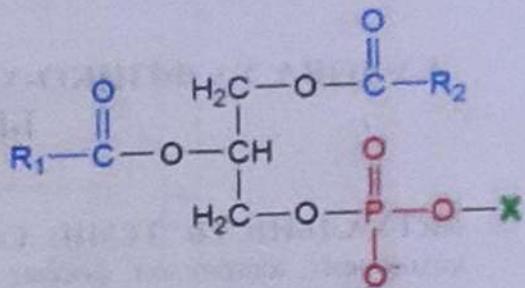
✓ Запишіть отримані дані в таблицю, наведену нижче.

$$h_f = 10,9 \text{ см}$$

Порядковий номер компонента ліпідного екстракту (відлік від лінії старту)	Зразок ліпідного естракту №1		Зразок ліпідного естракту №2	
	h	R_f	h	R_f
1	$h_1 = 8,7$	$Rf_1 = 0,79$	$h_1 =$	$Rf_1 =$
2	$h_2 = 10,6$	$Rf_2 = 0,97$	$h_2 =$	$Rf_2 =$
3	$h_3 =$	$Rf_3 =$	$h_3 =$	$Rf_3 =$
4	$h_4 =$	$Rf_4 =$	$h_4 =$	$Rf_4 =$
5	$h_5 =$	$Rf_5 =$	$h_5 =$	$Rf_5 =$

Висновок Відповідно до проаналізованих даних, можу сказати, що у зразку ліпідного естракту холестерин на цю буде мастильне R_f , інше значення не відноситься до чогось змішаного.

Гліцерофосфоліпіди (фосфогліцериди) – це мембрани ліпіди, у молекулах яких дві жирні кислоти з'єднані складноефірними зв'язками з першим і другим атомами вуглецю гліцеролу, а до третього атома вуглецю за допомогою фосфодіефірного зв'язку приєднана високополярна або заряджена група.



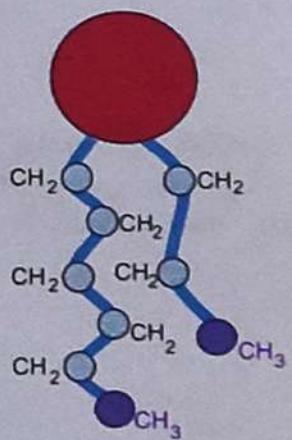
✓ Заповніть таблицю «Структура та назва гліцерофосфоліпідів на підставі природи замісника -Х»:

Назва ліпіду	Назва замісника (Х)	Структурна формула замісника (Х)
Фосфатидна кислота	–	R – H
Фосфатидштетаноламін	Етаноламін	R – CH ₂ CH ₂ NH ₃ ⁺
Фосфатидихолін	Холін	R – CH ₂ CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃
Фосфатидилсерин	Серин	R – CH ₂ C(O ⁻)NH ₃ ⁺
Фосфатидилгліцерол	Гліцерол	R – CH ₂ CH(OH)CH ₂ CO ⁻
Фосфатидилінозитол-4,5-біфосфат (ФІФ2)	Інозітол-4,5-біфосфат	R – C ₄ H ₉ OPO ₃ ²⁻

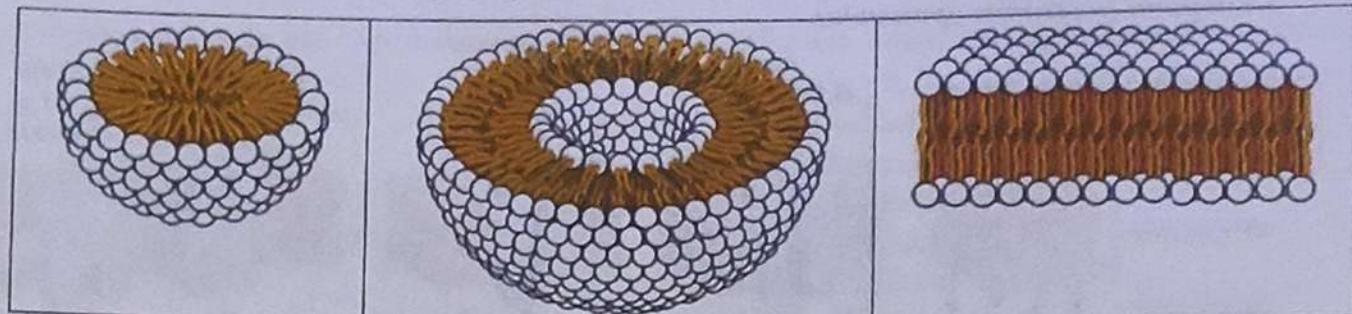
Поміркуйте, які структури у складі кожного з перелічених вище ліпідів відіграють роль гідрофобних і гідрофільних компонентів. **Не-гідрофоб заміщено фосф. кисл-гідрофоб**

Поміркуйте, як будуть поводитися молекули гліцерофосфоліпідів у водному середовищі.

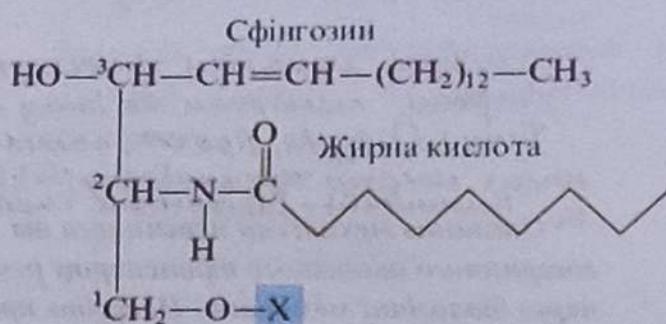
Збиратися в кулми, гідрофільного кінця до водного середовища, гідрофобного кінця в середину кулми.



▶ Проаналізуйте структурну організацію міцел, ліпосом та бішару:



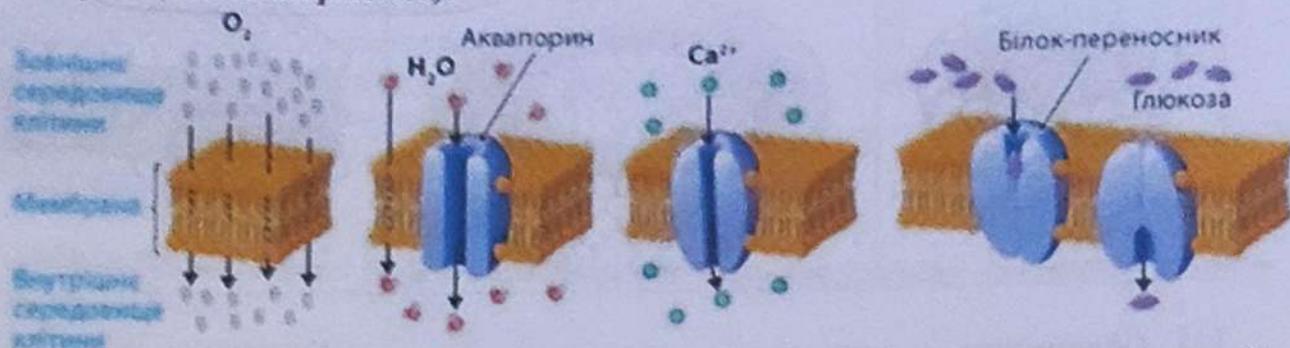
Сфінголіпіди – клас ліпідів, які є структурними компонентами мембрани клітин тварин і людини. За хімічною будовою сфінголіпіди – складні ефіри аліфатичного ненасиченого спирту сфінгозину, у структурі молекули якого присутні аміногрупа, дві гідроксильні групи, а також подвійний зв'язок (біля C₄) у транс-конфігурації.



↗ Заповніть таблицю «Структура та назва сфінголіпідів на підставі природи замісника -Х»:

Назва ліпіду	Назва замісника (Х)	Структурна формула замісника (Х)
Церамід	–	R – H
Сфінгомієлін	Фосфохолін	$\text{R}-\overset{\text{O}}{\underset{\text{O}^-}{\text{P}}}(\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)_3)_3$
Цереброзиди (наприклад, глукозилцереброзид)	Глюкоза	
Глобозиди (наприклад, лактозилцерамід)	Ди- / Три- / Тетрасахарид	
Гангліозиди	Комплекс олігосахарид	

Опишіть механізми та основні типи пасивного транспорту речовин через біологічні мембрани (наведіть приклади).



Основний механізм транспорту — це пересування молекул з одичної сторони мембрани на іншу, різниця сили чого транспорт.

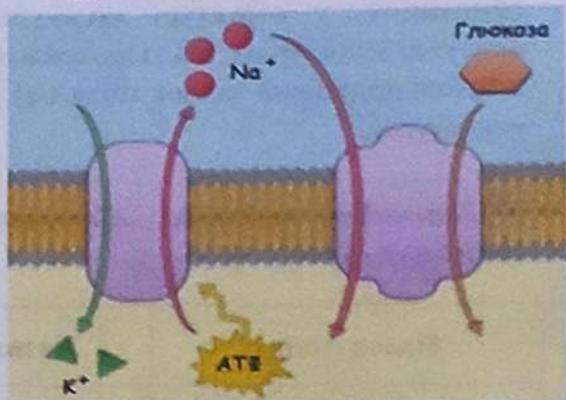
Типи: Дифузія, Проста, колегмена дифузія. Дифузія — проникання малих молекул через мембрани (O_2). Проста-переносома портів насилів для транспорту. Колегмена — використання блок-переносників.

Опишіть механізми первинного та вторинного активного транспорту речовин через біологічні мембрани. Наведіть приклади.

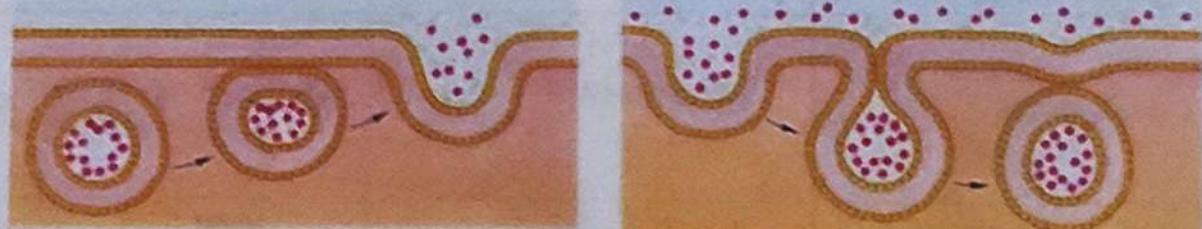
Первинний транспорт —

Транспорт проти градієнту концентрації, з використанням АТФ.

Вторинний транспорт — транспорт за градієнтом концентрації.



Поясніть різницю між видами цитозу, зокрема, екзо- та ендоцитозом; фаго- та піноцитозом. Обґрунтуйте біологічне значення кожного з них. Наведіть приклади.



Екзо-/Ендочитоз — це вид цитозу, залежно від якого напрямлення, Ендочитоз направлений від клітини-на浊ні; Ендочитоз направлений ззовні до клітини.

Фаго-/Піноцитоз — вид цитозу залежно від типу субстрату, який поглинається. Піноцитоз — поглинання рідкого (рідкого), субстрату / Фагоцитоз — поглинання твердого (твірного) субстрату.

Замініть погляд в голову, що Екзо-/Ендочитоз відповідає за виведення продуктів обміну викинанням матеріалів з клітини.

А замініть погляд в голову, що Екзо-/Фагоцитоз, відповідає за поглинання різних субстратів, включених серед обміну, тобто є їх Фагоцитоз, що виникає при інфекції, коли фагоцит погливає та в подальшому, віддає їх речовинам.

В. ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ:

Оберіть сполуки, які є представниками гліцерофосфоліпідів:

- лецитин
- кефалін
- церамід
- фосфатидилсерин
- гангліозид

Встановіть відповідність певних структурних компонентів фосфоліпідів:

- A. Неполярна частина фосфоліпіду
- B. Полярна частина фосфоліпіду

- фосфорна кислота - б
- діацилгліцерол - а
- холін - б
- етаноламін - б
- інозитол - б

Визначте, до якої групи ліпідів належить фосфатидилхолін:

- сфінгофосфоліпідів
- гліцерофосфоліпідів
- стероїдів
- глікосфінголіпідів
- стеролів

Визначте, які з перерахованих ліпідів належать до групи сфінголіпідів:

- лецитин
- сфінгомієлін
- гангліозид
- ланолін
- плазмалоген

Оберіть компонент сфінгомієліну, який надає йому гідрофільних властивостей:

- жирна кислота
- залишок фосфохоліну
- ненасичений спирт сфінгозин
- церамід

Оберіть ліпід, до складу якого входить фосфохолін, залишок жирної кислоти і ненасичений спирт сфінгозин:

- кефалін
- лецитин
- плазмаголен
- кардіоліпін
- сфінгомієлін

Вкажіть ліпіди, які утворюються за взаємодією холіну з фосфатидною кислотою:

- лецитини
- сфінгомієліни
- сфінгофосфоліпіди
- кардіоліпіни
- плазмалогени

Визначте, які з наведених нижче ліпідів беруть участь в передачі гормонального сигналу в клітину і є посередниками внутрішньоклітинних вторинних посередників:

- фосфатидилхоліни
- фосфатидилінозитиди
- фосфатидилетаноламіни
- фосфатидальсерини
- кардіоліпіни

Оберіть ліпіди, компонентом яких є церамід:

- триацилгліцероли
- сфінгомієліни
- фосфоінозитиди
- полігліцерофосфатиди
- цереброзиди

Зазначте функції біологічних мембрани:

- захисна
- розділення внутрішньоклітинного простору на компартменти
- транспорт речовин
- участь у сприйнятті та передачі зовнішніх сигналів
- участь у хімічному перетворенні різноманітних речовин

Визначте ліпіди, які беруть участь у побудові плазматичних мембрани і органел клітин:

- триацилгліцероли
- нейтральні гліколіпіди
- стерини
- гангліозиди
- фосфатидилхоліни
- фосфоінозитиди
- сульфатиди
- цереброзиди

Встановіть відповідність між ліпідними компонентами та їхньою локалізацією у плазматичній мембрані:

- гангліозиди – A
- цереброзиди – A
- сфінгомієлін – A
- фосфатидилетаноламін – B
- фосфатидилінозитол – B
- фосфатидилсерин – B
- фосфатидилхолін – A
- холестерол – A/B

- A. зовнішній шар
- B. внутрішній шар

Оберіть клітини, яким властива гомогенна плазматична мембрана:

- гепатоцит
- епітеліоцит
- еритроцит
- лімфоцит
- макрофаг

Оберіть клітини, яким властива гетерогенна плазматична мембрана:

- лімфоцит
- макрофаг
- ентероцит
- гепатоцит
- епітеліоцит

Визначте фактори, що обумовлюють текучість біологічних мембрани:

- довжина вуглеводних радикалів вищих жирних кислот
- наявність нейтральних ліпідів
- природа вуглеводного компоненту
- розмір білкових молекул

- ступінь ненасиченості вищих жирних кислот

Оберіть вірні твердження. Ліпідний склад клітинної мембрани...:

- одинаковий у всіх клітинах
- залежить від зміни температури клітинної мембрани
- стабільний протягом часу життя клітини
- змінюється з віком організму
- залежить від сезонності

Оберіть характеристику, властиву інтегральним білкам:

- занурені у ліпідний бішар плазматичної мембрани
- знаходяться на зовнішній поверхні плазматичної мембрани
- знаходяться на внутрішній поверхні плазматичної мембрани

Оберіть характеристики, притаманні пасивному виду транспорту:

- здійснюється за градієнтом концентрації речовини, що транспортується
- здійснюється проти градієнта концентрації
- є енергозалежним
- є енергонезалежним

Оберіть механізм, за яким відбувається процес одночасного й одностороннього перенесення двох речовин через біологічну мембрану:

- антипорт
- симпорт
- уніпорт

Визначте, за рахунок якої енергії (E) здійснюється активний транспорт іонів через плазматичну мембрану:

- E гідролізу макроергічних зв'язків АТФ
- E теплового руху молекул
- E зовнішнього електричного поля
- E зовнішнього магнітного поля

Обережно перемішайте вміст пробірок. Будьте обачні: у результаті змішування реагентів може виділятися значна кількість тепла.

Залиште пробірки у термостаті за температури $20^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$ на 25 хв у темряві.

Виміряйте оптичну щільність дослідної проби ($E_{\text{тест}}$) і контрольної проби ($E_{\text{контроль}}$) за довжини хвилі 530 нм проти холостої проби (Бланк).

Важливо! Кінцеве забарвлення стабільне протягом 25 хв у темряві.

Запишіть результати вимірювань:

$E_{\text{контроль}} \underline{0,339}$

$E_{\text{тест}} \underline{0,118}$

РОЗРАХУНОК РЕЗУЛЬТАТІВ $0,301 \leftarrow \text{бланк}$

$$\text{Концентрація ліпідів, г/л} = \frac{E_{\text{тест}}}{E_{\text{контроль}}} \times 8, \text{де}$$

$E_{\text{контроль}}$ і $E_{\text{тест}}$ – оптичні щільноти контрольної і дослідної проби, відповідно;
8 – концентрація ліпідів у стандартному розчині (8 г/л).

✓ Виконайте розрахунок концентрації ліпідів у досліджуваному зразку сироватки крові та опишіть отриманий результат у висновку:

$$\frac{0,118}{0,339} \cdot 8 = 2,78 \text{ г/л}$$

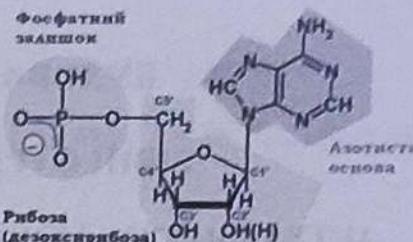
Висновок Результати експерименту показали, що результат залежить від кількості ліпідів у пробах (стадії заболявання). Це може стосуватися як те, що в об'єктах можна помітити патологію в синтезі ліпідів або патологію в споживанні, або недостатнє вживання ліпідів із зобов'язкового середовища. Це може виродитися у підвищений рівень патології та хвороб! В першу чергу пояснюється з біосинтезом /синтезом/ ліпідів, що може зуміти виродитися у патологічних процесах (мігруюча болючка), пояснює це синтез горючих похідних холестеролу, якою може викликати на розвиток організму, або патологічність це дестабілізація ліпідурального фасцію (фасцію), таким чином буде розвинута гіпоплазія ліпідурального фасцію (фасцію), рітамінів та підвищена кількість патології.

Дайте визначення термінам:

Азотиста основа — азотмісна сполука, яка є частиною об'єкту для ДНК та РНК.

НУКЛЕОЗИД — сполука з азотистою основою та п'ятичленним гетероциклическим рибозовим спиртом, без фосфорної кислоти.

НУКЛЕОТИД — сполука в якої включено з'єднані з азотом фосфоровою кислотою



Заповніть таблицю «Назви азотистих основ (АО) та відповідних їм нуклеозидів і нуклеотидів»:

	Структура АО	Назва АО	Назва нуклеозида	Назва нуклеотида	Абревіатура
Пуринові		Аденін	Аденозин дезоксіаденозин	Аденілат дезоксіаденілат	АМФ (gAMP) АДФ (gADP) АТФ (gATP)
		Гуанін	Гуанозин дезоксигуанозин	Гуанілат дезоксигуанілат	ГМФ (gGMP) ГДФ (gGDP) ГТФ (gGTP)
Пirimidinovі		Цитозин	Цитозин дезоксцитидин	Цитидилат дезоксицитиділат	ЦМФ (gCMP) ЦДФ (gCDP) ЦТФ (gCTP)
		Тимін	Тимідин дезокситимідин	Тимідилат	ТМР ТДФ ТТФ
		Урасил	Уридин	Уриділат	УМФ УДФ УТФ

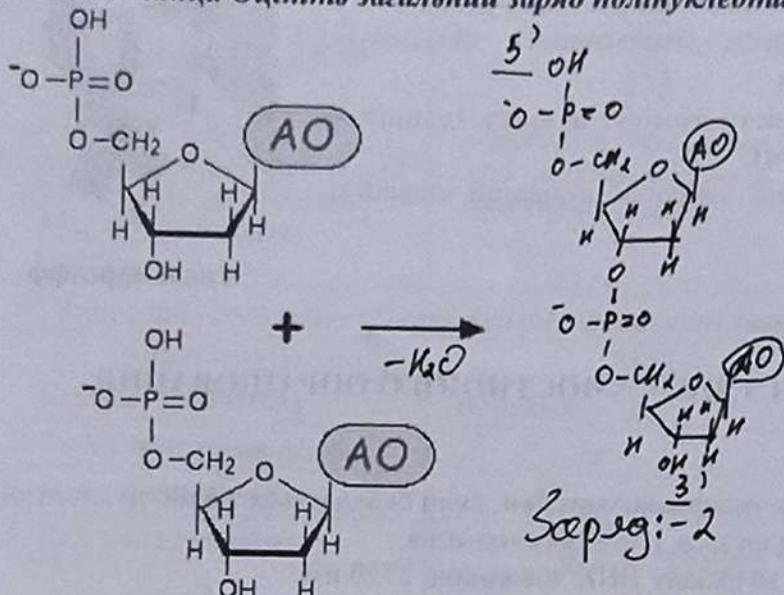
3. Чистота структура є специфічною для азотистої гетероциклическої сполуки, яка є основою для активатора трансвакуумного шлаку.

На конкретних прикладах описані структури вільних біологічно активних нуклеотидів. Обґрунтуйте їх біохімічні функції.

1. макроергічні сполуки (АТФ, ЦТФ, УТФ, ЦТФ) наявність трифосфатних замінів.
2. коферменти (НАД, НАДФ, ФМН, ФАД) наявність Аденозину, який з'єднується з речивими замінівами (нікотинамід та піримідин).
3. вторинні месенджери (циклічні нуклеотиди) — 3',5'-ЦАМФ; 3',5'-ЦГМФ

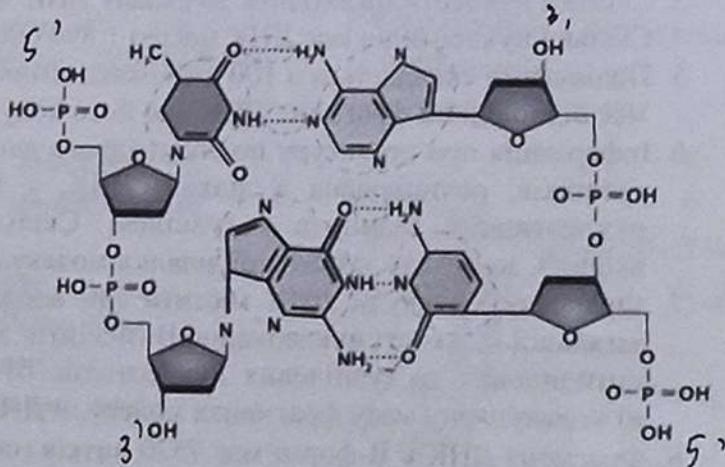
1. Кофермент ацетиляции звичайно замінить фосфорну кислоту, що дає можливість запасати енергію, при цьому звичайно використовують магній, який звичайно використовується для приведення H^+ , що дає йм коферменту активітет.
2. Замінки нікотинаміду, як правило, які використовують для приведення H^+ , що дає йм коферменту активітет.

✓ Доповніть реакцію конденсації між двома нуклеотидами. На прикладі утвореного продукту поясніть феномен «полярності полінуклеотидних ланцюгів». Визначте його 3'- та 5'-кінці. Оцініть загальний заряд полінуклеотиду.



Основна сутність феномену «полярності» це наявність несподіваної ОН групи та величезної фосфоричної кислоти у нуклеотиду, що дає змісів, що не відповідає звичайному заряду у фосфокислотного залишку.
т. ізмін; кислотність
ек 5' та 3', зважаючи
вказує на карбоні до якого
приєднана група.

Розшифрування структури нуклеїнових кислот та встановлення їхнього значення для передачі та реалізації генетичної інформації відкрили нові горизонти у розумінні сутності життя і були відзначенні Нобелівською премією з фізіології і медицини у 1962 році. Її отримали британський фізик Ф. Крік, американський біохімік Дж. Уотсон, британський фізик М. Уілкінс.



■ Використовуючи наведений вище рисунок, обґрунтуйте роль водневого зв'язку у стабілізації вторинної структури нуклеїнових кислот на прикладі ДНК і РНК.

Водневі зв'язки - класичні у існуванні вторинної структури. Особливі ДНК та РНК за принципом комплементарності, утворюють пари зв'язків між лігодінамічними АО, які утримують лігодінамічні ланцюги. За умови, водневих зв'язків існують існуючих рівнів міжструктурні відхилення кількох не є можливими.

✓ Дайте визначення терміну:

КОМПЛЕМЕНТАРНІСТЬ просторова та хімічна взаємодія відповідних АО, які виникають у чітко прогностованій залежності певних АО між собою.

■ Поясніть біологічний сенс феномену комплементарності. Які азотисті основи формують комплементарні пари?

Біологічний комплементарністі полягає у формуванні стійких структур, які мають тунельність, у формуванні яких структур, стабільні зв'язанні нуклеотидів.

Аденін та тимін, гуанин та цитозин. Також Аденін та Урацил.

III Правила Чаргаффа – система встановлених правил, які описують кількісні спiввiдношення мiж рiзними типами азотистих основ у складi ДНК. Правила були сформульованi в результатi роботи наукової групи, очолюваної бiохiмiком Е. Чаргаффом, у 1949-1951 роках.

- Вмiст adeninu riвний вмiсту timiну, a вmiст guaninu – вmiсту cytosinu. A=T, G=C.
- Сумарна кiлькiсть puriniv dorivnjuє сумарнiй kiлькiстi pirimidiniv: A+G=T+C.



Ервiн Чаргaff

8 ТИПОВI ЗАДАЧI З ДЛЯ САМОСТiЙНОГО ОПРАЦЮВАННЯ

- Визначте довжину РНК вiрусу тютюнової мозаїки, який складається з 6500 нуклеотидiв.
- Визначте масу гена, який складається з 5890 нуклеотидiв.
- Скiльки нуклеотидiв входить до складу ДНК довжиною 2720 nm?
- Скiльки нуклеотидiв має ДНК масою 1 890 600 a.o.m.? $a.o.m = D$
- Полiпептид складається з 100 амiнокислотних залишкiв. Яку довжину i молекулярну масу вiдповiдний фрагмент ДНК, що його кодує?
- Інформацiя про структуру полiпептидного ланцюга, що складається з 200 амiнокислотних залишкiв, розташована в дiлянцi ДНК, у ходi реплiкацiї якої використовується 60 нуклеотидних залишкiв з гуанином. Скiльки нуклеотидних залишкiв кожного типу входить до складу зазначененої дiлянки молекули ДНК?
- Фрагмент молекули ДНК мiстить 240 adenilovих нуклеотидiв, що становить 16% вiд загальної кiлькiстi нуклеотидiв. Визначити: a) кiлькiсть у даному фрагментi timidilovих, cytidilovих та guanilovих нуклеотидiв; b) процентний вmiст зазначених нуклеотидiв; в) молекулярну масу фрагmenta молекули ДНК.
- Фрагмент ДНК в В-формi має 7520 виткiв (повних обертiв). Скiльки нуклеотидiв входить до складу фрагmentu?
- Молекула ДНК мiстить 105 guanilovих нуклеотидiв, що становить 10% вiд загальної кiлькiстi. Визначiть кiлькiсть iнших нуклеотидiв, довжину i масу цiєї молекули ДНК.
- Довжина дiлянки молекули ДНК становить 136 nm, вmiст adenilovих нуклеотидiв в молекулi складає 38%. Визначте молекулярну масу молекули, чисельний вmiст iнших нуклеотидiв та число водневих зв'язкiв в дiлянцi ДНК.

$$1. 0,34 \cdot 6500 = 2210 \text{ nm} \quad 2. 330 \cdot 5890 = 1943,7 \text{ kD} \quad 3. \frac{2720}{0,34} = 8000 \text{ нуклеотидів}$$

$$4. \frac{1890600}{330} = 5729,09 \text{ нуклеотидів} \quad 5. \frac{100 \cdot 3}{3} = 300 \text{ нуклеот.}$$

$$6. 600 \text{ в ДНК} \quad 7. a) 240 \text{ Timid.}, b) 16\% Timid., f) 1500 \cdot 330 = 510 \text{ Guan.}, 510 \text{ Cytid.}, 34\% Guan. = 178,5 \text{ nm}, 34\% Cytid. = 495 \text{ kD} \quad 8. 157920 \text{ нуклеот.}, 1140 \text{ кр.}, 10,5 \text{ кр.}, 1 \text{ пар. зв'язків}.$$

$$9. 105 \text{ Timid.} = 10\%, 1050 \text{ зор. кільк.}, 1050 \text{ зор. кільк.} \quad 10. 136 \text{ nm} \rightarrow 800 \text{ нуклеот.} \rightarrow 304 \text{ Adenin.} (38\%), 304 \text{ Timid.} (138\%)$$

$$420 \text{ Guan.} = 40\%, 178,5 \text{ nm} \quad 896 \text{ kD} \leftarrow 264 \text{ kD} \leftarrow 96 \text{ Guan.} (12\%), 96 \text{ Cytid.} (12\%)$$

$$420 \text{ Cytid.} = 40\%, 346,5 \text{ kD}$$

✓ Заповніть таблицю «Біологічна роль різних типів РНК»:

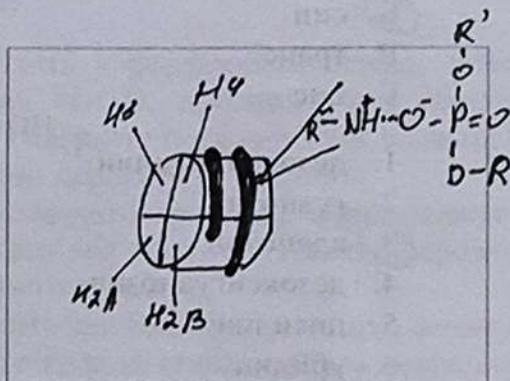
мРНК (іРНК)	тРНК	рРНК

✓ Заповніть таблицю «Порівняльна характеристика ДНК та РНК»:

Властивість	ДНК	РНК
1. Кількість ланцюгів	переважно 2	переважно 1
2. Склад азотистих основ	A T C G	A U C G
3. Природа пентози	Дезоксиребоза	Рибоза
4. Клітинна локалізація	ядерна, мітохондр.	Розсіяна
5. Біологічна роль	Зберігання та передача ген. інформ.	Реалізація генетичної інформації

✓ Опишіть організацію нуклеосом, властивості гістонових білків. Нарисуйте схему молекулярної організації нуклеосоми.

Нуклеосома організована з кору:
8 гістонових білків та ДНК, яке обертається
навколо кору (≈ 146 баз пар окруж.) ;
Високий вміст + зарядж. амінокислот діє
на ДНК "заспирлювання" ДНК



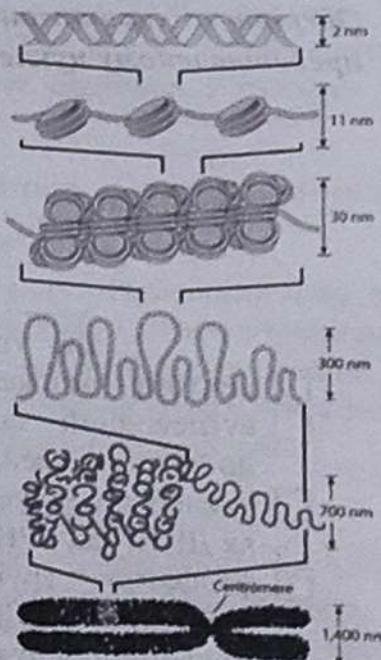
✓ Опишіть структурну організацію ядерного хроматину.

✓ Дайте визначення термінам:

ЕУХРОМАТИН - форма хроматину, яка
має певну структуру упаковки з портвейні
з іншим видами. В цій формі локалізований
первинно, гени експресії якої використані

ГЕТЕРОХРОМАТИН - форма хроматину, яка
має більшу структуру упаковку. В цій
формі характеризується пакуванням в
вигляді гачків чи складного використання.

ХРОМОСОМА - індивідуальний рівень організації
ДНК, яка складена з хроматину та
гістонових білків.



І ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ

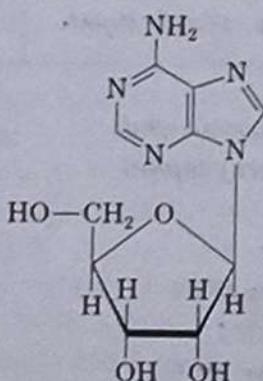
Встановіть відповідність між перерахованими сполуками (цифри) і групами, до яких вони належать (літери):

1. гуанозин
2. аденин
3. аденоzinидифосfat
4. дезокситимідинмонофосfat
5. урацил
6. цитидин

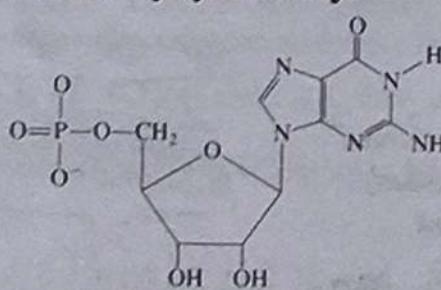
- A. азотисті основи - 5, 2, 6
 B. нуклеозиди - 1, 6
 C. нуклеотиди - 2, 4

Визначте тип конформації наведеного нуклеозиду (літери) і встановіть його називу (цифри):

- A. анти
 B. син
 C. транс
 D. цис
 E. дезоксигуанозин
 F. гуанозин
 G. аденоzin
 H. дезоксигуанозин
 I. цитидин
 J. уридин



Оберіть характеристики, властиві представленному нуклеотиду:



- пентоза – дезоксирибоза
- вуглеводний залишок приєднаний до азотистої основи через N₃ пурину
- нуклеотид може бути компонентом як ДНК, так і РНК
- фосфатна група приєднана в положенні 3' D-пентози
- конформація нуклеотиду – анти

Оберіть з переліку нуклеотидні коферменти:

- піридоксальфосфат
- флавімонауклеотид
- кофермент А
- метилцитозин
- 5'-дезоксиаденозилкобаламін

Визначіть тип зв'язку, який поєднує фосфорні залишки у складі нуклеозиддита трифосфатів:

- гліказидний
- складноефірний
- фосфоангідридний
- фосфодіефірний
- фосфоефірний

Оберіть вірне твердження. Стабілізація надспіральних структур ДНК переважно забезпечується:

- іонними зв'язками
- водневими зв'язками
- гідрофобними взаємодіями
- ковалентними зв'язками
- ван-дер-ваальсовими взаємодіями

Оберіть вірну кількість пар основ, яка припадає на один виток спіралі В-форми ДНК:

- 10
- 12
- 9
- 11

Зазначте тип взаємодій, які забезпечують зв'язування гістонів з ДНК:

- гідрофобні взаємодії
- електростатичні зв'язки
- ван-дер-ваальсові взаємодії
- водневі зв'язки
- ковалентні зв'язки

Оберіть вірне твердження. Поділ тРНК на класи базується на структурі:

- ТΨЦ-петлі
- акцепторного стебла
- антикодонового стебла
- варіабельної гілки
- Д-петлі

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 13

ВИЗНАЧЕННЯ ЯКІСНОГО СКЛАДУ НУКЛЕЙНОВИХ КИСЛОТ

Мета роботи: Опанування навичками отримання гідролізату нуклеопротеїнів дріжджів та оцінки якісного складу нуклеїнових кислот.

13.1. Отримання нуклеопротеїнів дріжджів

Теоретичні відомості:

■ Рибонуклеопротеїни (РНП) та дезоксирибонуклеопротеїни (ДНП) можна виділити з тваринних тканин (чи дріжджів), використовуючи луги. Дезоксирибонуклеопротеїни можна осадити з розчинів додаванням спирту.

Реактиви та матеріали. Пекарські дріжджі, 0,4 % та 0,02 М розчини NaOH; 96% етанол; дистильована вода.

Обладнання. Фарфорова ступка з товкачиком, скляні палички, циліндр, хімічні склянки, центрифужні та звичайні скляні пробірки, штатив для пробірок, колби, лійки, центрифуга, мікропіпетки, водяна баня, фотометричне обладнання, здатне вимірювати оптичну щільність розчинів при довжинах хвиль 230, 260, 280 та 320 нм та довжині оптичного шляху 10 мм.

ХІД РОБОТИ:

1. 10 г сухих пекарських дріжджів ретельно розігріть у фарфоровій ступці, додайте (поступово, невеликими порціями) 30 мл 0,4% розчину NaOH, продовжуючи розтирати суміш ще протягом 10 хв. Суспензію перенесіть у колбу і нагрійте її на кип'ячій водяній бані упродовж 15 хв, періодично перемішуючи. Нуклеопротеїни переходят у розчин.

2. Після охолодження перенесіть суспензію в центрифужні пробірки. Урівноважте їх і центрифугуйте 10 хв за 2000 g. Нуклеопротеїни залишаються в супернатанті. Нерозчинні компоненти (осад) в подальших експериментах не використовують.

3. Супернатант з центрифужних-пробірок перенесіть до чистого циліндра, виміряйте його об'єм та злийтте акуратно у хімічну склянку. Додайте туди ж етанол, об'єм якого втричі перевищує об'єм супернатantu (наприклад, 20 мл супернатantu + 60 мл етанолу). Залиште суміш на 15 хв. Для відокремлення осаду від центрифугуйте його за 2000 g протягом 10 хв. Супернатант злийтте, а до отриманого осаду додайте 1 мл 0,02 М NaOH та розчиніть його шляхом ресуспендування (піпетування). Перенесіть вміст всіх пробірок у склянку колбу, накройте герметизуючою плівкою.

!!! Отриманий препарат нуклеопротеїнів – нуклеїнат натрію – використовують для подальших експериментів.

4. Пригответе 250-кратне розведення одержаного розчину нуклеопротеїнів (25 мл дистильованої води + 100 мкл нуклеїнату натрію помістіть у склянку і ретельно перемішайте скляною паличкою). Визначте оптичну щільність розчину нуклеопротеїнів за довжин хвиль: 230, 260, 280 та 320 нм (проти дистильованої води). Використовуючи отримані результати, зробіть висновок про чистоту та якісний склад розчину нуклеопротеїнів дріжджів.

230 нм 0,04;

260 нм 0,03;

280 нм 0,024;

320 нм 0,015;

✓ Ваш висновок щодо якості одержаного розчину:
Відповідно до замірених показників, видно, що проба мала забруднення білчами, про що свідчить відношення 260/280 = 1,25 превищило 1,8 - 2,0 в ідеальних умовах.

$$\left(\frac{A_{260}}{A_{280}} \right) = 1,25$$

$$\left(\frac{A_{260} - A_{320}}{A_{280} - A_{320}} \right) = 1,66^{125}$$

$$\left(\frac{A_{260}}{A_{230}} \right) = 0,76$$

13.2. Виявлення фосфорної кислоти у складі нуклеїнових кислот

Фосфорна кислота здатна утворювати з молібденовою кислотою комплексну сполуку, яка легко відновлюється різними відновниками з утворенням забарвленої в синій колір молібденової сині.

Реактиви та матеріали. Розчин нуклеопротеїнів дріжджів (згідно з 13.1); 0,42% розчин молібдату амонію, приготованого на 1 н H_2SO_4 ; 10 % розчин аскорбінова кислота (ex tempore).

Обладнання. Пробірки з відповідним штативом, піпетки, водяний терmostat.

ХІД РОБОТИ:

1. Перед початком роботи приготуйте молібденовий реактив. Для цього змішайте розчини 10% аскорбінової кислоти та 0,42% молібдату амонію в 1 н H_2SO_4 у співвідношенні 1:6 (на 1 мл 10% аскорбінової кислоти - 6 мл 0,42% молібдату амонію в 1 н H_2SO_4 , суміш ретельно перемішайте).

2. У хімічну пробірку до 0,9 мл розчину нуклеопротеїнів додайте 2,1 мл молібденового реактиву. За необхідності суміш можна витримати за 37°C протягом 15 хв. Рідина змінює забарвлення.

✓ Запишіть свої спостереження Розчин набув синевої забарвлення

Реакція з молібдатом амонію - реакція на іонізацію фосфорної кислоти у смесі ДНК/РНК. Цією результатом у випадку синевої забарвлення розчину є поганою фільтрацією, що у разі зміни була фосфоризація, тобто утворила амоній фосфомолібдатний комплекс. що з цією змінами був підтверджений аскорбінової кислотою і не набуло розчину зміни забарвлення

13.3. Виявлення пентоз у складі нуклеотидів

Дезоксирибонуклеїнову кислоту ідентифікують за її реакцією з дифеніламіном, який з дезоксирибозою дає синє забарвлення. Рибонуклеїнова кислота (рибоза у її складі), на відміну від ДНК, дає з цим реактивом зелене забарвлення.

Реактиви та матеріали. Розчин нуклеопротеїнів дріжджів (згідно з 13.1); дифеніламіновий реактив (1 г дифеніламіну, перекристалізованого з 70% етилового спирту, розчиняють в 100 мл льодяної оцтової кислоти і додають 2,75 мл H_2SO_4).

Обладнання. Пробірки, штатив для пробірок, мікропіпетки, водяна баня.

ХІД РОБОТИ:

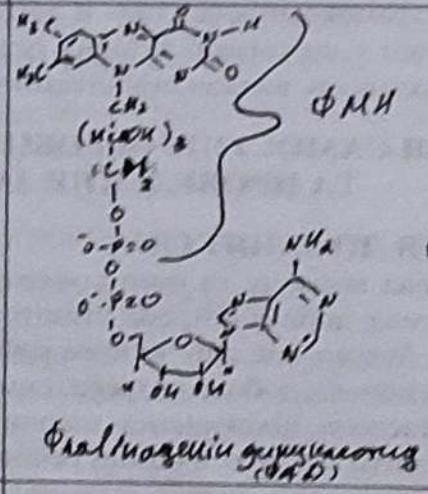
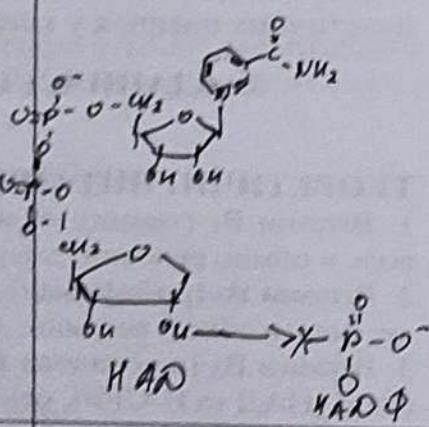
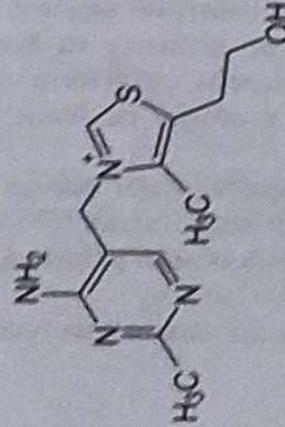
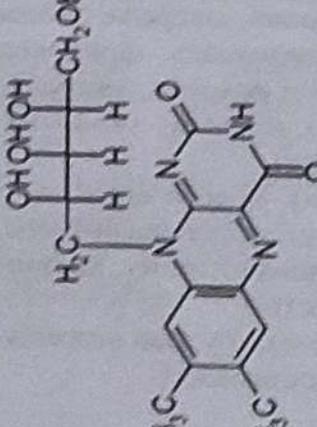
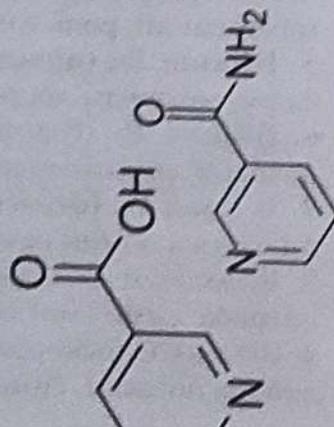
1. До 1 мл розчину нуклеопротеїнів додайте 2 мл дифеніламінового реактиву.

2. Нагрійте суміш у кип'ячій водяній бані протягом 5-7 хв.

*✓ Запишіть свої спостереження Зелене забарвлення
Розчин набув зеленого забарвлення (блакоч до безбарвного)*

Висновок Реакція з дифеніламіном - селективна реакція на дезоксирибозу. В когді реагент дезоксирибоза в смесі з рибозою виникає з дифеніламіном, що забарвлює розчин в синій колір. Реакція з рибозою проходить тільки за додатка інцизуруючих умов ($>100^{\circ}C$).

Відсутні результат у випадку слабко забарвленого розчину дає підстави відмінити, що у розчині нема/зуміє мало дезоксирибозових частин (ДНК).

	Вітамін В ₁ (тіамін)	Вітамін В ₂ (рибофлавін)	Вітамін В ₃ (нікотинова кислота, нікотинамід)
Добова потреба, джерела	2 - 3 мг хліб, м'ясо, морепродукти, личинки, дріжджі, рис	2 - 3 мг молочні продукти, яйця, м'ясо, пшенична, м'ясо	20 - 30 мг м'ясо, риба, бобові, горіхи
Ознаки піно- та авітамінозних станів	хронічні нейріти, хвороба бері-бері, ... найдренесцентний синдром Вернке-Коранда	хелоз, глюкоз, Алюпевід, Сонагет, Дормагет, Н'єзода, слабкість	Пекарська Сонагет Гінгінг Боніт
Біологічна роль	Проміжній перешкідник α-лієгідінової групи і реасорбція осмотичного зберегення макромолекул кетогенесу	кофермент окисно-відновлюючих процесів ЕТЛ мітохондрій/ЕПС,	кофермент окисно-відновлюючих процесів глюкоз/збу, усилу ТКС, ЕТЛ мітохондрій/ЕПС, змінзу стерогені/ВМК, зерганозі/стапону
Структура біологічно активної форми (коферменту)	Тіамін ^{піро} діфосfat	 ФМН	 FAD
Хімічна структура вітаміну			

	Вітамін В ₅ (пантотенова кислота)	Вітамін В ₆ (піридоксин)	Вітамін В ₇ (біотин)
Добова потреба, джерела	7 - 12 мг М'ясо, лісце, цукорицеві продукти, бобові, овочі	2 - 3 мг Печінка, борошно, зерноті, пшениця, кираси, м'ясо	10 - 20 мкг Чечій, м'ясо, горіхи, сир, цукор, продукти, гриби.
Ознаки гіп- та авітамінозних станів	Дорослий Депігментація шкіри Порушенні роботи ЦНС Депігментація волосся Затримка росту та інфлюстрація пісінок	Дорослий Епіліпситогідний ураження Нервової системи шкіри Зниження ваги Зниження імунітету спадкоєсть периферійна нейропатія Пелагроподібній дерматит Дорослі	Лускатий дерматит Випадіння волосся Найджик поліз Прогресуючий пароліч шкіри, втрата волосся, біль у м'язах
Біологічна роль	Кофермент А, кофермент еластичного фіброзу крізь біосинтез токсичніків НК ...	Декарбоксилювання амінокислот Грануломітування амінокислот ...	Кофермент тащі, що карбоксилює біосинтез ВНК, глюкокорікоз, біосинтез едра пуринових нуклеотидів.
Структура біологічно активної форми (коферменту)			
Хімічна структура вітаміну			

Хімічна структура вітаміну	Структура біологічно активної форми (коферменту)	Біологічна роль	Ознаки гіпо- та авітамінозних станів	Добова потреба, джерела	Вітамін В ₉ (фолієва кислота)	Вітамін В ₁₂ (цианокобаламін)	Вітамін С (аскорбінова кислота)	
		Перенесення однодонаторських груп Біосинтез тиміну, холіну, серотоніну ... Метаболізм амінокислот, білків та нуклеїнових кислот Фактор росту	Задишення системи нуклеїнових кислот Макроцитарна мегалобластична анемія Підвищена гомоцієтична відкладка в крові	Геморагічний процесус (гемато- з, інсульт, ішемія, вінкінг) Порушення системи нуклеїнових кислот Порушення роботи ЦНС Великий розрив між макроцитами та мікроцитами	Геморагічний процесус (гемато- з, інсульт, ішемія, вінкінг) Порушення системи нуклеїнових кислот Порушення роботи ЦНС Великий розрив між макроцитами та мікроцитами	3 - 10 мкг	Геморагічний процесус (гемато- з, інсульт, ішемія, вінкінг) Порушення системи нуклеїнових кислот Порушення роботи ЦНС Великий розрив між макроцитами та мікроцитами	50 - 70 мг
		Кофермент редокс-реакцій Стимулювання (біосинтез ісатехокамінів) Антисоседіність Регулятор зігодинне циркуляції	Скорбут; ікролитоз; десятків шкірні кровоподібні порушення роботи нервів жирових кісток	X. Мелера - Варасу	200 мкг - 500 мкг	Зелені листові овочі, бобові, цвітучі овочі, збагачені зеленою	Геморагічний процесус (гемато- з, інсульт, ішемія, вінкінг)	Чигреки, цвітучі овочі, шкірні кровоподібні порушення роботи нервів жирових кісток

І) ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМІ

Оберіть з переліку водорозчинні вітаміни:

- токоферол
- філохіон
- піридоксин
- фолієва кислота
- кобаламін
- біотин

Оберіть твердження, які вірно характеризують водорозчинні вітаміни:

- до водорозчинних вітамінів належать вітаміни групи В: біотин, ретинол тощо
- джерелом є тільки тваринна їжа
- вітаміни у великій кількості присутні в пшеничних і рисових висівках та дріжджах
- добре розчиняються у воді
- є складовими компонентами коферментів

Визначте вітамін, недостатність якого в організмі супроводжується підвищеним вмісту гомоцистеїну у крові:

- РР
- В₁₂
- В_c
- Н
- В₁

Встановіть відповідність між вітамінами та коферментами, до складу яких вони входять:

1. В₁
2. В₂
3. В₆
4. В₃
5. В₅

- ФМН - 2
- тіамінпірофосфат - 1
- кофермент А - 5
- НАД - 4
- піридоксальфосфат - 3

Визначте, дефіцит якого вітаміну може привести до порушення синтезу ГАМК і дофаміну:

- В₁
- В₂
- В₆
- В₁₂
- Н

Оберіть вітамін, нестача якого спричиняє розвиток хвороби, що характеризується кровоточивістю ясен, ламкістю кровоносних судин, порушенням функцій м'язів та процесів мінералізації зубів:

- Н
- В₁
- РР
- С
- В₁₂

Оберіть твердження, які вірно характеризують вітамін В₁₂:

- структура вітаміну включає піримідинове та тіазолове кільце, які з'єднані метиловим містком
- вітамін, який містить метал кобальт
- добова потреба – 2-3 мг
- вітамін є вихідною сполукою за утворення двох коферментів: метилкобаламіну в цитоплазмі та дезоксиаденозилкобаламіну в мітохондріях
- основна ознака дефіциту вітаміну – злюкісна анемія

Знайдіть відповідність вітамінів (літери) та харчових продуктів, що є їх джерелом (цифри):

1. широко розповсюджений в продуктах рослинного походження (оболонка зерен хлібних злаків, рис, бобові тощо)
 2. міститься в продуктах тваринного походження – печінка, нирки, яйця, молоко, дріжджі; рослинах – шпинат, пшениця
 3. тварини і рослини не здатні синтезувати цей вітамін. Цей вітамін синтезується бактеріями, актиноміцетами та синьо-зеленими водоростями. Тканини, що містять багато цього вітаміну – м'язи, нирки
 4. джерелом вітаміну є свіжі фрукти, овочі, зелень
- аскорбінова кислота – 4
 - тіамін – 1
 - рибофлавін – 2
 - кобаламін – 3

З ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОСТІЙНОЇ РОБОТИ

- Скільки потрібно спожити людині пивних дріжджів, щоб забезпечити добову потребу в вітаміні В1, якщо вміст вітаміну в них складає 5 мг%?
- Добова норма вітаміну В6 складає приблизно 1,5 мг, а вітаміну В1 – 1 мг на добу; вітаміну В2 – 1,7 мг. В 100 г яловичної печінки вміст цих вітамінів складає 0,7 мг, 0,3 мг та 2,2 мг, відповідно. Визначити, скільки відсотків від добової норми вищезазначених вітамінів буде надходити в організм, якщо споживати 50 г яловичної печінки щодня?
- У 100 г м'яса великої рогатої худоби міститься 0,17 мг% рибофлавіну. Розрахувати, скільки м'яса повинна спожити людина, щоб забезпечити добову потребу у вітаміні В2.
- Розрахуйте, яку кількість чорної смородини необхідно вжити людині для отримання добової норми вітаміну С. Відомо, що в чорній смородині міститься 450 мг% цього вітаміну.

1. Кориса з 2,5 мг

$\frac{1}{1}$
50 гр. грібчинів

Корма	100 г
B6 = 1,5 мг	0,7 мг
B1 = 1 мг	0,3 мг
B2 = 1,7 мг	2,2 мг
B6 = 23,50%	($\frac{0,35}{1,5} \cdot 100$)
B1 = 15%	
B2 = 64,7%	

3. 100 г з 0,17 мг% B2 = 1,7 мг
 кориса
 $\frac{1,7 \text{ мг}}{0,17 \text{ мг}} \cdot 100 = 100 \text{ г}$

4. C з 60 мг
 100 г з 450 мг
 $\frac{60}{450} = 13,3 \text{ г}$

14.1. ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВОДОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ

14.1.1. Реакція окиснення тіаміну (вітаміну B₁) в тіохром

Тексадіоксферрат калко

■ Тіамін у лужному середовищі під впливом K₃Fe(CN)₆ окиснюється у тіохром, який в ізобутиловому спирті дає інтенсивну синю флуоресценцію.

Реактиви та матеріали. Розчин тіаміну (5 мг/мл); 1% розчин K₃Fe(CN)₆; 30% розчин NaOH; ізобутиловий спирт.

Обладнання. Джерело ультрафіолетового випромінювання (флуороскоп), штатив із пробірками, піпетки.

ХІД РОБОТИ:

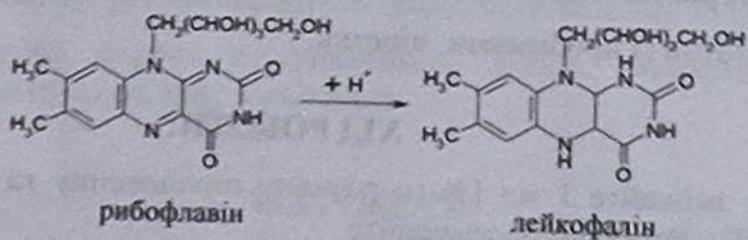
1. Змішайте у рівних пропорціях розчини 1% K₃Fe(CN)₆ і 30% NaOH.
2. До 1 мл розчину тіаміну (5 мг/мл) додайте 2 мл приготованої суміші, інтенсивно перемішайте і залиште на 3 хв.
3. Потім додайте 5 мл ізобутилового спирту і інтенсивно струшуйте протягом 2 хв.
4. Використовуючи флуороскоп, оцініть флуоресценцію ізобутилового екстракту тіохрому в ультрафіолетовому промінні.

✓ Запишіть спостереження та зробіть висновок:

Спостерігаю синю флуоресценцію. Оскільки є флуоресценція, то тіамін дає тексадіоксферрат калко утворив комплекс, що відрізняється від здатності поглинати та випромінювати УФ.

14.1.2. Реакція відновлення рибофлавіну (вітаміну B₂)

■ Вітамін B₂ (рибофлавін) в основі хімічної будови має гетероциклічну сполуку – ізоалоксазин, до якої в положенні 9 приєднаний п'ятиатомний спирт рибітол. Визначення засноване на відновленні жовтого рибофлавіну спочатку в родофлавін (проміжна сполука) червоного кольору, а потім у лейкофлавін молочного кольору.



Реактиви та матеріали. Концентрована соляна кислота (HCl₆); металічний цинк; 0,025% розчин вітаміну B₂ (сусpenзія рибофлавіну у воді).

Обладнання. Пробірки з відповідним штативом, піпетки.

ХІД РОБОТИ:

У пробірку додайте 1 мл 0,025% розчину рибофлавіну, 0,5 мл концентрованої соляної кислоти та шматочок металічного цинку. Водень, який виділяється при взаємодії цинку з кислотою, реагує з рибофлавіном, відновлюючи його до лейкофлавіну.

✓ Запишіть спостереження та зробіть висновок:

Спостерігено утворення фіолетово-синього коліору, проте блакитного коліору досліти не вдалося

14.1.3. Реакція з ацетатом міді на вітамін PP (нікотинова кислота)

над

■ Під час нагріванні вітаміну PP із розчином ацетату міді утворюється поганорозчинний осад мідної солі нікотинової кислоти синього коліору.

Реактиви та матеріали. Порошок вітаміну PP; 10% розчин оцтової кислоти; 5% розчин ацетату міді.

Обладнання. Пробірки, піпетки, пальник.

ХІД РОБОТИ:

1. У пробірку додайте приблизно 10 мг вітаміну PP та розчиніть при нагріванні в 1-2 мл 10% розчину оцтової кислоти.

2. До нагрітого до кипіння розчину додайте відразу 1-2 мл 5% розчину ацетату міді. Рідина стає мутною та набуває блакитного коліору. Через деякий час випадає синій осад.

✓ Запишіть спостереження та зробіть висновок:

Безбарвний розчин, надалі блакитного коліору, після нагрівання, з часом осад не виникає.
Експеримент показав, що нікотинова кислота утворила комплекс з міддю.

14.1.4. Реакція на піридоксин (вітамін B₆) із хлоридом заліза

■ При взаємодії піридоксину з розчином хлориду заліза утворюється комплексна сполука червоного коліору.

Реактиви та матеріали. Водний розчин вітаміну B₆(1%); 1% розчин FeCl₃.

Обладнання. Штатив із пробірками, піпетки.

ХІД РОБОТИ:

У пробірці змішайте 1 мл 1%-го розчину піридоксину та 2 краплини 1%-го розчину хлориду заліза (III). Ретельно перемішайте.

✓ Запишіть спостереження та зробіть висновок:

Утворення сірково-помаранчевого (фіолетово-помаранчевого) коліору, який з часом стає синім. Показано, що піридоксин утворив забарвлений комплекс з Fe³⁺.

14.1.5. Відновлення метиленового синього та 2,6-дихлорфеноліндофенолу аскорбіновою кислотою

Аскорбінова кислота (вітамін С) може легко вступати в окисно-відновні реакції і відновлювати метиленовий синій та 2,6-дихлорфеноліндофенол, перетворюючи їх на безбарвні сполуки.

Реактиви та матеріали. Розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолу (0,1%); 10% розчин соляної кислоти; 0,1% розчин вітаміну С; 0,01% розчин метиленового синього; 10% розчин Na_2CO_3 .

Обладнання. Штатив із пробірками, крапельниця, піпетки, термостат.

ХІД РОБОТИ:

Внесіть у пробірки реактиви відповідно до алгоритму, наведеному у таблиці:

Пробірка 1	Пробірка 2
5 краплин 0,1% розчину аскорбінової кислоти	5 краплин 0,1% розчину аскорбінової кислоти
1 краплину 10% розчину Na_2CO_3	1-2 краплини 10% розчину HCl
1 краплину 0,01% розчину метиленового синього	0,5 мл 0,1% розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу
Помістіть пробірки у термостат за температури 40°C на 10 хв	
<i>Запишіть результати спостережень дляожної пробірки:</i>	
<i>Коли в супорожній колбі, що потримують з часом, 10 хв,</i>	<i>Мігне засебарвлення</i>

Висновок *Обидві проби зазнали засебарвлення/зникнення забарвлення. Пробірка 1 зазнала повного зникнення забарвлення, що вказує на проходження реакції, проте не в повному обсязі. Пробірка 2 засіла повного проходження реакції.*

14.2. КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМИНУ С У ПРОДУКТАХ

Метод ґрунтуються на здатності аскорбінової кислоти окиснюватися до дегідроаскорбінової за взаємодії з 2,6-дихлорфеноліндофенолом, який у кислому середовищі набуває рожево-червоного забарвлення.

Реактиви та матеріали. 2% розчин соляної кислота (HCl), 0,0005 М розчин натрієвої солі 2,6-дихлорфеноліндофенолу, харчові продукти (капуста, шипшина, картопля тощо).

Обладнання. Фарфорова ступка з товкачиком, колби, мікробюретка, склянка для титрування, піпетки, лійка, ваги, кварцевий пісок.

ХІД РОБОТИ:

1. У фарфоровій ступці ретельно розітріть 1 г харчового продукту із кварцевим піском.
2. До утвореної маси додайте 9 мл 2% розчину соляної кислоти.
3. Суміш залиште на 10 хв, після чого її профільтруйте (кінцевий об'єм ~ 9 мл).
4. Відберіть 3 мл фільтрату у чисту колбу і титруйте 0,0005 М розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу до появи рожевого забарвлення, яке зберігається протягом 30 с.

Масову концентрацію аскорбінової кислоти в $\text{мг}\%$ розраховують за формулою:

$$C = \frac{0,088 \times A \times V}{V_1 \times a} \times 100$$

0,088 – коефіцієнт для переведення у масові одиниці (1 мл 0,0005 М розчину 2,6-дихлорфеноліндофенолу відповідає 0,0088 мг аскорбінової кислоти);

A – кількість 2,6-дихлорфеноліндофенолу, витрачена на титрування, мл;

V – загальна кількість екстракту, мл;

V_1 – об'єм екстракту, що було взято для титрування, мл;

a – кількість продукту (г);

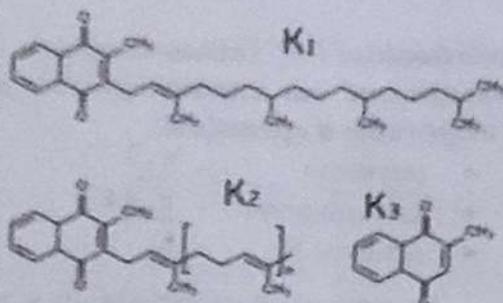
100 – перерахунок на 100 г продукту.

Розрахуйте вміст аскорбінової кислоти (вітаміну C) у досліджуваних пробах та зробіть висновок: $\frac{0,088 \times 5,5 \cdot 9}{3 \cdot 1} \cdot 100 = 145,2 \text{ mg}\% \text{ вітамін C}$, $\frac{0,088 \cdot 17,6 \cdot 9}{3 \cdot 1} \cdot 100 = 464,6 \text{ mg}\% \text{ вітамін C}$

У цій пробі вітамін C виявлено, виразка, якою конста має в свою склад більше вітаміну C, аніж звичайно.

Хімічна структура	Біологічна роль	Гіпер-, гіпо-, авітамінозні стани; добова потреба; джерела															
<p>Вітамін А</p>	<p>Чудесноте сільма (родотини)</p> <p>Утворення пуринових, піримідинових освіч.</p> <p>Вплив на ендокардіальну рістреміність</p> <p>Регулює функцію однокінцевого епітелю (плоского)</p> <p>регулює синтезу гілісокротогемінів поверхневих мембрани спінок.</p>	<p>Гіпер: токсичність, уникнення, недобравідії засобів, містохондрії, ефра</p> <p>Гіпо: геморагіз, порушення процесів росту, кілеродерні, гіперсеротоз, істероідальні, істеротомалені</p> <p>1,5-2 Мг</p> <p>птиця, трелі, морська риба, крикети, масло, морква, авокадо, обліниха, гарбуз</p>															
<p>Вітамін D</p>	<p>Підвищена консерваторіальність Ca^{2+} та Р:</p> <p>Супутність іншої хвороби</p> <p>Ca^{2+} та Р у винесенні</p> <p>Мобілізація з кісток:</p> <p>Тісанізм</p> <p>Посилення реабсорбції кальцію в кишках</p>	<p>Гіпер:</p> <p>утворення атеросклеротичних блокаж, кальцифісація лаурінів</p> <p>Гіпо: рахіт, порушення мінералізації кісток, втрати гомеостазу н'єзів, розлади зухвиль</p> <p>10-25 Мг</p> <p>Продукти молочного молока, печінка, морква, риб'ячий сир, яйця</p>															
<p>Вітамін Е</p> <table border="1"> <tr> <th></th> <th>α</th> <th>β</th> <th>γ</th> <th>δ</th> </tr> <tr> <td>R_1</td> <td>CH_3</td> <td>CH_3</td> <td>H</td> <td>H</td> </tr> <tr> <td>R_2</td> <td>CH_3</td> <td>H</td> <td>CH_3</td> <td>H</td> </tr> </table>		α	β	γ	δ	R_1	CH_3	CH_3	H	H	R_2	CH_3	H	CH_3	H	<p>Антіоксидантна</p> <p>дія</p> <p>Регулює функцію</p> <p>гемі</p> <p>Регулює ріхше-</p> <p>радикалових процесів</p> <p>у суді</p> <p>Стабілізація структури</p> <p>і руйнування мітохондрій</p>	<p>Гіпер: високий рівень</p> <p>залихи активності</p> <p>широкодіякої залози,</p> <p>Недостаток: гіпер</p> <p>Гіпо:</p> <ul style="list-style-type: none"> • міозоза дистрофія • склерозне тріпанозі • метаболічна еритроцитоз • порушення роботи • серцевого м'язу <p>5-15 мг</p> <p>Рослинні олії, салат, проростки</p> <p>злаків, горох.</p>
	α	β	γ	δ													
R_1	CH_3	CH_3	H	H													
R_2	CH_3	H	CH_3	H													

Brassin K



Регулюється процесом гемостазу ('блі-блакет/радикали)
Утворення кислого білка за участю карбоксил-глутамікої кислоти

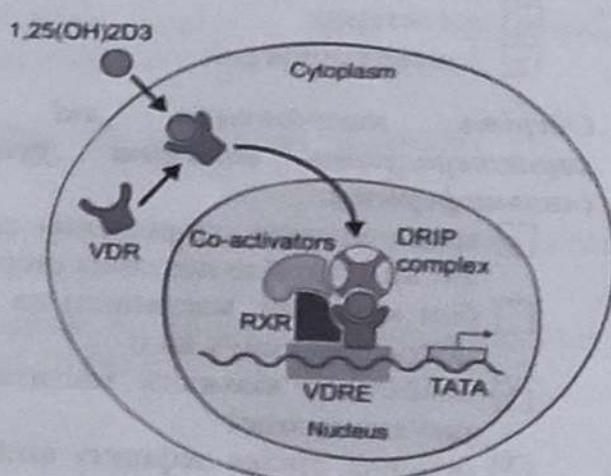
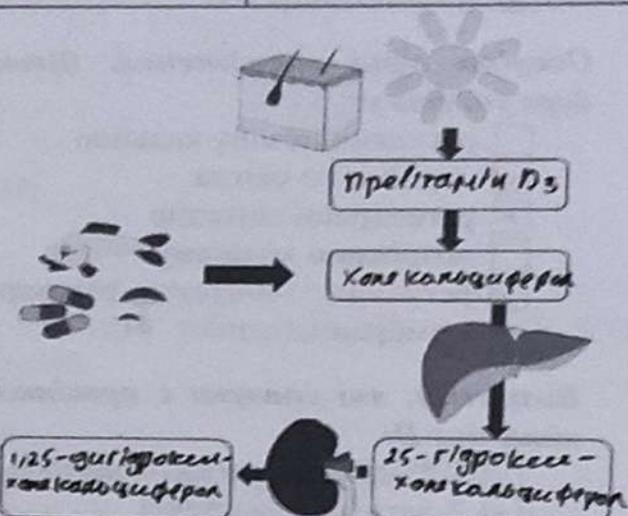
Гіпер: носова аномія
Гіпо:
ніглангула, хромотопічність, подушечне поганство гемостазу
1-2 МГ
шишот, конжота, крапулі, болючи, печінка

«Опишіть основні етапи синтезу вітаміну D та місце їх перебігу.

Утворення 7-гідроксихолестеролу В органах, висн. 3ФБ та темпа з подальшим утворенням як холекалівістеролу/Віскірі, перенесений до печінки, де відбулося Р₃₋₂₅ гідрохідроза В₃-перегородженої кільцевидної 25-гідроксихолекаліциферолу (25(OH)D₃), звідси 25(OH)D₃ нітуре до кінот, де відбулося 25гідроксихолекаліциферол-1-α-гідроксилаза утворює 1,25-гідроксихолекаліциферол (активна форма)

«Поясніть механізм реалізації гормоноподібних ефектів вітаміну D.

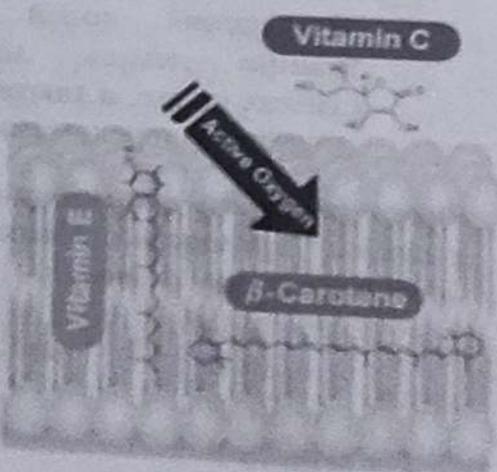
Холекаліциферол з'єднується з рецептором (рецептором D (VDR)), комплекс холекаліциферолу та VDR зважається з рецептором-X (RXR) утворюючи комплекс, що здатний зі сполученнями з ДНК, регулюючи трансцендуцію генів, що сприяє синтезу білків, які регулюють величі організмові процеси.



«Поясніть механізм антиоксидантного дії вітамінів А, Е та С.

Вітамін А проявляє антиоксидантні властивості завдяки здатності реагувати з високо окислювальними радикалами, сам вітамін А підвищує стабільність.

Вітамін Е нестіронізуючий РВО, піддається H⁺ з 1-ідроксиловою групою, стабілізує РВО. Вітамін С має подібну функцію вітаміну Е, оскільки також піддається H⁺ іону стабілізуючи РВО, або використовується як антиоксидант (Vitamin C).



І) ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ ЗНАНЬ З ТЕМИ

Оберіть жиророзчинні вітаміни:

- біотин
- кобаламін
- нікотинова кислота
- ретинол
- тіамін
- токоферол
- філохіон
- ергокальциферол

Встановіть відповідність між вітамінами та характерними ознаками їх дефіциту в організмі:

- ретинол — 4, 2
- кальциферол — 6, 1, 3
- вітамін K — 5,

1) розвиток дистрофічних змін залоз внутрішньої секреції (наприклад, надниркових залоз), порушення діяльності нервої системи (неврози, паралічі), депігментація тощо

2) дерматити, які супроводжуються посиленням діяльності сальних залоз

3) порушення кровотворення (анемія, лейкопенія)

4) порушення зору («куряча сліпота»), кератоз епітеліальних клітин

5) порушення системи згортання крові

6) розвиток рапіту

Оберіть вірні твердження. Вітамін A бере участь у:

- регуляції обміну кальцію
- сприйнятті світла
- регенерації епітелію
- дозріванні колагену
- регуляції синтезу глікопротеїнів мембрани клітин

Визначте, які сполуки є провітамінами вітаміну D:

- 1,25-діоксихолекальциферол
- 7-дегідрохолестерол
- ергокальциферол
- ергостерол
- холекальциферол

Оберіть твердження, які вірно характеризують вітаміни групи D (кальцифероли):

- група хімічно споріднених сполук, які належать до похідних стеринів
- білі кристали, маслянисті на дотик, добре розчинні у воді
- найбільша кількість міститься в риб'ячому жирі
- основна ознака дефіциту вітаміну — рапіт та остеопороз
- надлишок вітаміну призводить до відкладення солей кальцію в тканині легень, нирок, серця, стінках судин, а також остеопорозів із частими переломами кісток

Визначте, який вітамін у своєму складі містить хроманове біциклічне ядро і залишок спирту фітолу:

- вітамін A
- вітамін D
- вітамін E
- вітамін F
- вітамін K

Оберіть вітамін, необхідний для посттрансляційної модифікації Gla-білків:

- вітамін A
- вітамін D
- вітамін E
- вітамін F
- вітамін K

Оберіть вітаміни, які впливають на експресію генів, діючи через специфічні рецептори:

- вітамін A
- вітамін D
- вітамін E
- вітамін F
- вітамін K

Визначте, похідними якого вітаміну є ейкозаноїди:

- вітаміну A
- вітаміну D
- вітаміну E
- вітаміну F
- вітаміну K

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 15

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ЖИРОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ

15.1. Якісні реакції на вітамін А

15.1.1. Визначення вітаміну А за допомогою реакції Друммонда

Вітамін А (олійний розчин) з концентрованою сірчаною кислотою утворює комплекс синього кольору.

Реактиви та матеріали. Вітамін А (олійний розчин); концентрована сірчана кислота (H_2SO_4).

Обладнання. Штатив із пробірками, крапельниця.

ХІД РОБОТИ:

У пробірку до двох-трьох краплин олійного розчину вітаміну А додайте дві-три краплини концентрованої сірчаної кислоти. Вміст пробірки забарвлюється у синій колір, який через деякий час змінюється на фіолетовий та бурій.

✓ Запишіть спостереження та зробіть висновок:

Забарвлення виникло, що змінилося на фіолетовий або бурій, істотно краще, ніж під час дії сірчаної кислоти протягом 1 хв.

Оскільки розчин забарвився в фіол. колір, то в підставі можна, що вітамін А утворив комплекс з Fe^{2+} .

15.1.2. Визначення вітаміну А за реакцією із сульфатом заліза (ІІ)

Вітамін А (олійний розчин) з сульфатом заліза (ІІ) у кислому середовищі утворює сполуку темно-зеленого кольору.

Реактиви та матеріали. Вітамін А (олійний розчин); льодяна оцтова кислота, насичена сульфатом заліза (ІІ); концентрована сірчана кислота (H_2SO_4).

Обладнання. Штатив із пробірками, крапельниці.

ХІД РОБОТИ:

У пробірку до двох-трьох крапель олійного розчину вітаміну А додайте п'ять-десять крапель льодяної оцтової кислоти, насиченої сульфатом заліза (ІІ) та одну-дві краплі концентрованої сірчаної кислоти. З'являється блакитне забарвлення, яке поступово перетворюється на темно-зелене.

✓ Запишіть спостереження та зробіть висновок:

Утворення темно-зеленого колору, що пересипав до брудно-зеленого протягом 2-3 хв.
В підставі можна, що вітамін А утворив комплекс з Fe^{2+} . $FeSO_4$, насичений засилком отримано брудно-зелений колір.

15.2. Визначення вітаміну F за допомогою якісної реакції з перманганатом калію

Вітамін F при додаванні перманганату калію підлягає окисненню; утворений оксид марганцю (IV) надає пробі бурого забарвлення.

Реактиви та матеріали. Рослинна олія (оливкова) як джерело вітаміну F; 0,1% розчин перманганату калію ($KMnO_4$).

Обладнання. Штатив із пробірками, піпетка.

ХІД РОБОТИ:

У пробірку внесіть 1 мл рослинної олії і додайте 1 мл 0,1% розчину перманганату калію. Пробірку закрійте кришкою і вміст ретельно перемішайте! Очікуйте розшарування емульсії і зміну забарвлення (з рожевого на буре).

✓ Запишіть спостереження та зробіть висновок:

Утворення бурого кольору, протягом 7 хв, яке свідчить про утворення оксиду марганцю(IV)

15.3. Реакція на вітамін K із цистеїном

Вітаміни групи K (похідні нафтохіону) представлені K1 – філохіонами, та K2 – менахіонами. Вікасол – штучний водорозчинний замінник вітаміну K, який за наявності цистеїну в лужному середовищі забарвлюється в лимонно-жовтий колір.

Реактиви та матеріали. Вікасол (0,05%); розчин цистеїну (0,025%); 10 % розчин NaOH.

Обладнання. Штатив із пробірками, крапельниці.

ХІД РОБОТИ:

У пробірку до 5 краплин 0,05% розчину вікасолу додайте 5 краплин 0,025% розчину цистеїну та три-чотири краплини 10 % розчину NaOH. Вміст пробірки набуває яскравого лимонно-жовтого забарвлення.

✓ Запишіть спостереження та зробіть висновок:

Розчин набуває яскраво-жовтого кольору протягом 1-2 хв., що дозволяє про утворення комплексу вікасолу та цистеїну.

15.4. Якісна реакція на вітамін E

Вітамін E (токофероли α -, β -, γ) за природою - високомолекулярний спирт, який має значну антиоксидантну активність. α -токоферол є найбільш активною формою вітаміну E, що відіграє значну роль в регуляції метаболічних процесів. Під час взаємодії з концентрованою азотною кислотою α -токоферол окиснюється до α -токоферилхіону – сполуки темно-помаранчевого або бурого кольору.

Реактиви та матеріали. Вітамін Е (30 % олійний розчин); концентрована азотна кислота (HNO_3).

Обладнання. Штатив із пробірками, крапельниці, піпетки, водяна баня.

ХІД РОБОТИ:

У суху пробірку внесіть 0,5 мл олійного розчину вітаміну Е і обережно додайте, нашаровуючи по стінці пробірки, 1 мл HNO_3 . Пробірку нагрійте на водяній бані за $+80^\circ\text{C}$ протягом 10-15 хв. На межі розподілу рідин утворюється кільце жовтого кольору, яке змінює забарвлення на темно-помаранчевий колір.

✓ Запишіть спостереження та зробіть висновок:

Безбарвний колір з часом, через 14 хв. утворює темно-помаранчевого кільце від місця подиху.

Утворення такого кільця, дає підстави підкази, що α -токоферол окиснює до γ -токофероліону (Лігнолідного колофору).