

**Міністерство освіти і науки України**

**Національний технічний університет  
"Харківський політехнічний інститут"**

**ПРАКТИКУМ З ОСНОВ БІОХІМІЇ ТА БІОФІЗИКИ**

Харків 2004

**Міністерство освіти і науки України**

**ПРАКТИКУМ З ОСНОВ БІОХІМІЇ ТА БІОФІЗИКИ**

для організації лабораторних, практичних занять і самостійної роботи  
з дисципліни "Основи біохімії та біофізики"

для студентів напрямків підготовки „Біотехнологія” та „Прилади”  
денної форми навчання

Затверджено  
редакційно - видавничою  
радою університету,  
протокол № 4 від 19.12.2003

Харків НТУ "ХПІ" 2004

Практикум з основ біохімії та біофізики для організації лабораторних, практичних занять і самостійної роботи з дисципліни "Основи біохімії та біофізики" для студентів напрямків підготовки „Біотехнологія” та „Прилади” денної форми навчання/ Уклад. М.В.Ведь, Т.П.Ярошок, М.Д.Сахненко, Т.Ю.Орехова, В.І.Булавін. – Харків: НТУ „ХПІ”, 2004. – 112 с.

Укладачі: М.В. Ведь  
Т.П. Ярошок  
М.Д. Сахненко  
Т.Ю. Орехова  
В.І. Булавін

Рецензент Г.К.Андрєєв  
Кафедра органічної хімії

## ЗМІСТ

Вступ.....	5
<b>1. Колоїдні системи.....</b>	<b>6</b>
1.1. Класифікація колоїдних систем.....	6
1.2. Будова колоїдних частинок.....	7
1.3. Отримання колоїдних систем та їх властивості.....	9
1.4. Стійкість колоїдних розчинів. Коагуляція. Пептизація.....	10
1.5. Дослідна частина.....	14
1.6. Питання та вправи для контролю.....	16
<b>2. Буферні системи.....</b>	<b>19</b>
2.1. Кількісні характеристики буферних систем.....	19
2.2. Дослідна частина.....	24
2.3. Питання та вправи для контролю.....	27
<b>3. Вуглеводи.....</b>	<b>29</b>
3.1. Будова та властивості вуглеводів.....	29
3.2. Дослідна частина.....	34
3.3. Питання та вправи для контролю.....	36
<b>4. Амінокислоти та білки.....</b>	<b>39</b>
4.1. Будова та основні хімічні властивості.....	39
4.2. Якісні реакції амінокислот та білків.....	44
4.3. Осадження та розділення білків.....	47
4.4. Електрофорез білків на папері.....	50
4.5. Дослідна частина роботи.....	51
4.6. Питання та вправи для контролю.....	57
<b>5. Нуклеотиди та нуклеїнові кислоти.....</b>	<b>60</b>
5.1. Структура та біологічна роль.....	60
5.2. Дослідна частина роботи.....	64
5.3. Питання та вправи для контролю.....	65

<b>6. Ліпіди.....</b>	<b>66</b>
6.1. Будова та властивості.....	66
6.2. Дослідна частина роботи.....	70
6.3. Питання та вправи для контролю.....	71
<b>7. Ферменти.....</b>	<b>72</b>
7.1. Загальні властивості ферментів.....	72
7.2. Дослідна частина роботи.....	76
7.3. Питання та вправи для контролю.....	79
<b>8. Вітаміни.....</b>	<b>80</b>
8.1. Водорозчинні вітаміни.....	80
8.2. Методи якісного визначення водорозчинних вітамінів.....	85
8.3. Жиророзчинні вітаміни.....	87
8.4. Дослідна частина роботи.....	90
8.5. Питання та вправи для контролю.....	93
<b>9. Окисно-відновні біологічні процеси.....</b>	<b>94</b>
9.1. Потенціали біологічних систем.....	94
9.2. Типи біологічних редокс-систем.....	96
9.3. Шляхи перетворення енергії в біологічних системах.....	100
9.4. Питання та вправи для контролю.....	101
Список літератури.....	105
Додаток.....	106



## ВСТУП

Сучасна біохімія – це розгалужена сфера діяльності для спеціалістів багатьох фахових напрямків, таких як медицина, генетика і біофізика, мікробіологія та вірусологія, приладобудування і фізична хімія, електрохімія та інформаційні технології, хімічна кінетика і координаційна хімія, екологія і фармакологія та ін. Саме завдяки залученню численних фахівців ця багатогранна галузь бурхливо розвивається, накопичує великий обсяг теоретичних і практичних знань, їй притаманні суттєві кроки у напрямках з'ясування засобів збереження і передачі генетичної інформації, принципів побудови нейрокомп'ютерів і штучних нейронних мереж та багатьох інших. За цих обставин значно розширюється коло спеціалістів, зацікавлених в опануванні необхідним обсягом знань з біохімії, та підвищуються вимоги до методичного рівня відповідних підручників, посібників і науково-методичної літератури.

В навчальних планах окремих дисциплін і, зокрема біохімії, значну увагу приділено організації лабораторних і практичних занять та самостійної роботи студентів. Але у поточний час науково-методична література, орієнтована на самостійну роботу в аудиторії, майже відсутня, тоді як нагальною потребою сьогодення є трансформація навчального процесу в напрямку підсилення індивідуальної роботи студентів та створення умов для дистанційного навчання.

Відомо, що практична робота студентів має особливе значення, оскільки дозволяє засвоїти учбовий матеріал не тільки завдяки спілкуванню з викладачем, а й безпосередньо при виконанні експериментальних досліджень. Саме тому лабораторним і практичним заняттям передують теоретичний матеріал, опанування яким сприяє ефективному оволодінню методиками розв'язання різноманітних задач, а завершальним етапом є низка контрольних запитань і вправ для самостійного розв'язання і закріплення матеріалу.

Практикум складається з 7 розділів, тематика яких відповідає чинній навчальній програмі. Виконання лабораторних завдань передбачає застосування як аналітичних засобів визначення якісного або кількісного складу речовин та створення умов для перебігу характеристичних реакцій, так і інструментальних методів аналізу. У розділі "Додатки" наведено необхідний довідковий матеріал.

# 1. КОЛОЇДНІ СИСТЕМИ

## 1.1. Класифікація колоїдних систем

Всі дисперсні системи є гетерогенними і складаються принаймні з двох фаз: безперервної, яку називають *дисперсійним середовищем*, і роздібленої – *дисперсної*. До *колоїдних* відносять високодисперсні гетерогенні системи та розчини високомолекулярних сполук. Особливістю колоїдного стану речовини є велика площа поверхні розділу фаз, що викликає сильну взаємодію частинок дисперсної фази з дисперсійним середовищем. Це призводить до того, що частинки дисперсної фази оточуються молекулами та іонами дисперсійного середовища (розчинника) та набувають значного заряду. За інтенсивністю взаємодії дисперсної фази та дисперсійного середовища колоїдні системи поділяють на *ліофобні* та *ліофільні*. В ліофільних системах ця взаємодія набагато сильніша, ніж у ліофобних.

Дисперсні системи класифікують залежно від агрегатного стану дисперсної фази та дисперсійного середовища (табл. 1.1).

Таблиця 1.1 – Класифікація дисперсних систем за агрегатним станом

Дисперсна фаза	Дисперсійне середовище	Умове позначення	Тип системи	Приклади
Тверда	Тверде	Т – Т	Тверді колоїдні розчини	Мінерали, кольорове скло, рубін
Рідка	Тверде	Р – Т	Капілярні системи, гелі	Ґрунти, перлини
Газ	Тверде	Г – Т	Поруваті та капілярні системи	Пемза, активоване вугілля
Тверда	Рідке	Т – Р	Золі, суспензії	Золі металів, пульпи, суспензії, мул
Рідка	Рідке	Р – Р	Емульсії	Молоко, майонез
Газ	Рідке	Г – Р	Піна, газові емульсії	Мильна піна, протипожежна піна
Тверда	Газ	Т – Г	Аерозоль	Тютюновий дим, пил
Рідка	Газ	Р – Г	Тумани	Хмари, фармакологічні аерозолі

За розмірами частинок дисперсної фази дисперсні системи поділяють на:

- **ультрамікрогетерогенні**, розмір частинок яких складає 0,001– 0,1 мкм (золі);
- **мікрогетерогенні** з розміром частинок 0,1-10 мкм;
- **грубодисперсні**, розмір частинок яких більше за 10 мкм (суспензії).

У ліофобних колоїдних системах дисперсною фазою є тверді частинки, тому вони є гетерогенними системами, ліофільні ж колоїди – однофазні системи, яким притаманно багато властивостей істинних розчинів.

Серед ліофільних золь найбільше біологічне значення мають високомолекулярні природні речовини: білки, крохмаль, глікоген та ін.

## 1.2. Будова колоїдних частинок

Розглянемо будову колоїдних частинок на прикладі золь аргентум йодиду, що утворюється при додаванні до розчину KI надлишку розчину  $\text{AgNO}_3$ . Тверда фаза – **ядро** колоїдної частинки – кристал аргентум йодиду  $(\text{AgI})_m$  (рис. 1.1), на поверхні якого адсорбовані здебільшого іони одного типу, близькі за хімічною природою до природи ядра.

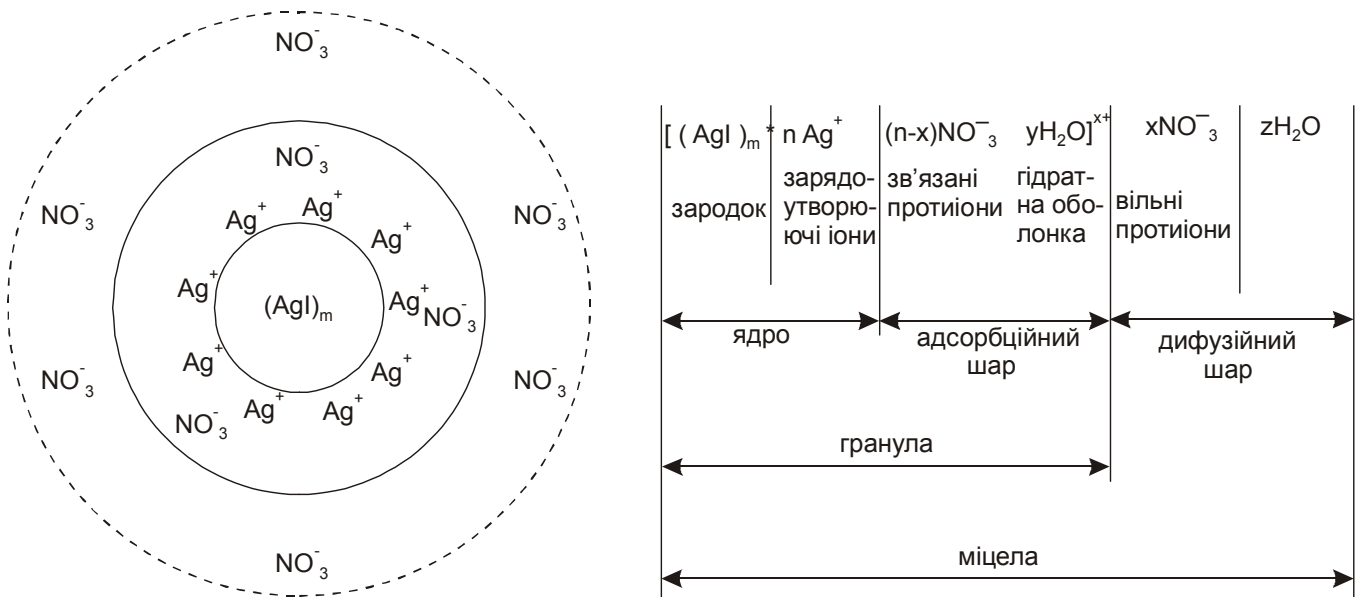
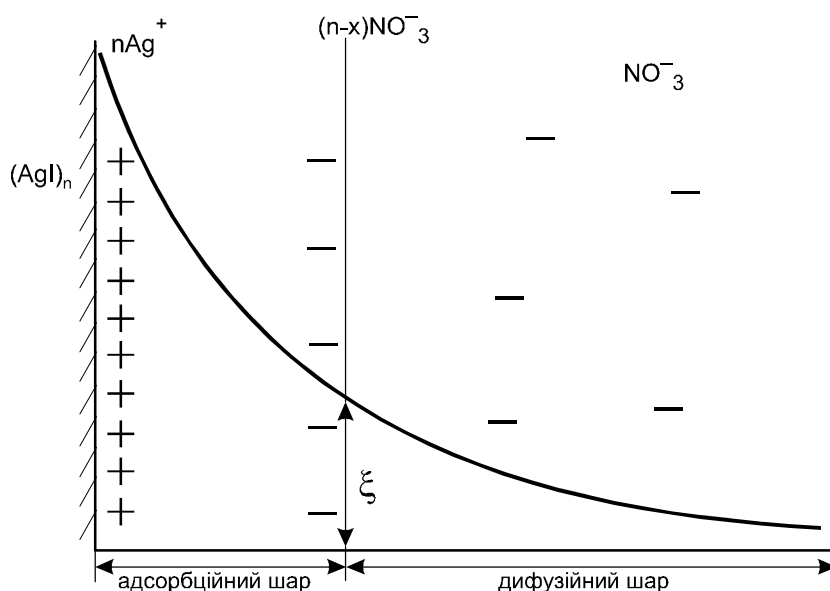


Рисунок 1.1 – Будова міцели аргентум йодиду

Ці іони є **потенціалвизначальними** та можуть входити до складу ядра. Оскільки аргентум нітрат взятий у надлишку, то поверхня ядра адсорбує  $n \text{Ag}^+$ -

іонів. До ядра з потенціалвизначальними іонами з електроліту притягуються **протиіони**  $\text{NO}_3^-$ , формуючи адсорбційний шар. Протиіони гідратовані, тому до складу колоїдної частинки входить вода ( $y\text{H}_2\text{O}$ ), що утворює її гідратну оболонку.



**Рисунок 1.2. – Розподіл потенціалів у міцелі аргентум йодиду**

Потенціалвизначальні іони, частина протиіонів ( $n-x$ ), які називають зв'язаними, і молекули води ( $y$ ) утворюють разом з ядром комплекс, що носить назву **гранули** або **колоїдної частинки**. Гранула є зарядженою частинкою, знак заряду якої збігається зі знаком заряду потенціалвизначальних іонів, в розчині вона переміщується, як одне ціле. Інша частина гідратованих протиіонів ( $x$ ) знаходиться за межами гранули та утворює дифузний шар. Весь комплекс, що включає гранулу та еквівалентну їй за зарядом частину дисперсійного середовища, називають **міцелюю**. Міцела електронейтральна і є структурною одиницею колоїдної системи. Форма запису будови міцели аргентум йодиду



Величини коефіцієнтів  $m$ ,  $n$ ,  $x$  можуть змінюватись у широких межах залежно від концентрації розчинів, що утворюють колоїдну систему, температури та інших чинників. Слід зауважити, що явище міцелотворення характерно тільки для ліофобних колоїдних систем.

У рівноважних умовах на межі „гранула – протиіони дифузійного шару” утворюється подвійний електричний шар. Кількісною характеристикою його є різниця потенціалів, яка залежить від значення середнього заряду колоїдних частинок та називається  $\xi$ -потенціалом (дзета-потенціал) системи (рис. 1.2).

Наявність у колоїдних частинок однойменних зарядів і гідратної оболонки призводить до їх взаємного відштовхування, що перешкоджає злипанню частинок дисперсної фази і надає системі колоїдну (*агрегативну*) *стійкість*. Тому електроліт, до складу якого входять іони, що адсорбуються на поверхні ядра (зарядоутворюючі або потенціал-визначальні), називають електролітом-*стабілізатором*. Чим більше заряди колоїдних частинок і  $\xi$ -потенціал системи, тим більше її агрегативна стійкість.

### 1.3. Отримання колоїдних систем та їх властивості

Для утворення колоїдної системи необхідні такі умови:

- нерозчинність або мала розчинність речовини у дисперсійному середовищі;
- розміри частинок речовини, що відповідають колоїдним;
- присутність стабілізатора.

Стабілізаторами можуть бути як реагенти, з яких отриманий золь, так і домішки або спеціально введені речовини, іони або молекули яких можуть адсорбуватися на поверхні колоїдних частинок та надавати їм стійкості.

Методи отримання колоїдних систем поділяють на дві групи: *диспергування* та *конденсацію*. Диспергування базується на подрібненні грубих частинок до розмірів колоїдних. Сутність конденсації полягає в поєднанні окремих молекул або іонів речовини в агрегати колоїдних систем. Серед конденсаційних методів розрізняють гідроліз, обмін, відновлення – за типом хімічної реакції, що приводить до утворення нерозчинних речовин. Всі ці реакції треба проводити у розведених розчинах.

Колоїдні системи відрізняються від істинних за оптичними, кінетичними, електричними властивостями.

У зв'язку з високим ступенем дисперсності колоїдних систем їх гетерогенність не можна виявити за допомогою мікроскопа, і тому в світлі, що проходить, вони здаються цілком прозорими. Однак світлові промені розсіюються

колоїдними частинками в усіх напрямках, тому при боковому освітленні на шляху проходження пучка світла на темному фоні спостерігають світловий слід. Якщо між джерелом світла та колоїдним розчином розташувати опуклу лінзу так, щоб на неї падав пучок паралельних променів, то при боковому освітленні утвориться конус, що світиться (конус Тиндаля). Це явище отримало назву ефекту Тиндаля-Фарадея.

Для колоїдних частинок характерний броунівський рух, однак швидкість переміщення частинок у колоїдних розчинах менша, ніж в істинних, і визначається їхніми розмірами і властивостями дисперсійного середовища

$$D = \frac{RT}{N} \frac{1}{6\pi\eta r}, \quad (1.1)$$

де  $R$  – універсальна газова стала;

$T$  – термодинамічна температура;

$D$  – коефіцієнт дифузії частинки радіусом  $r$ ;

$N$  – число Авогадро;

$\eta$  – коефіцієнт в'язкості дисперсійного середовища.

Поведінка колоїдних систем у електричному полі зумовлена наявністю зарядів у диспергованих частинок і дисперсійного середовища. Рух частинок дисперсної фази до одного з електродів при накладенні електричного поля називають **електрофорезом**, а рух дисперсійного середовища – **електроосмосом**. При електрофорезі гранули переміщуються до електрода, знак заряду якого протилежний заряду гранули, а дифузійний шар мігрує до другого електрода, тому за допомогою електрофорезу можна визначити знак заряду колоїдних частинок. Явища електрофорезу та електроосмосу знаходять широке застосування в техніці (для очищення розчинів та води) та медицині, наприклад при лікуванні хвороб внутрішніх органів та травм.

#### 1.4. Стійкість колоїдних розчинів. Коагуляція. Пептизація

Розрізняють два типи стійкості колоїдно-дисперсних систем: **седиментаційну** (або **кінетичну**) та **агрегативну**. Седиментаційна характеризує стійкість колоїдних частинок до осідання під дією сил тяжіння. Агрегативна стійкість – це здатність золя зберігати розмір частинок та їх індивідуальність з ча-

сом. Кінетична стійкість будь-якої дисперсної системи залежить від співвідношення інтенсивності теплового руху і сили земного тяжіння частинок, яка визначається їх масою. Для кількісної оцінки кінетичної стійкості дисперсних систем застосовують критерій  $d(\ln n)/dh$ , що характеризує відносну зміну концентрації частинок ( $n$ ) по висоті ( $h$ )

$$-\frac{d(\ln n)}{dh} = \frac{Nmg(\rho - \rho_0)}{RT\rho}, \quad (1.2)$$

де  $m$  – маса частинки;

$g$  – прискорення сили тяжіння;

$\rho$  і  $\rho_0$  – густина дисперсної фази та дисперсійного середовища відповідно.

З рівняння (1.2) виходить, що кінетична стійкість системи зростає зі зменшенням різниці густини дисперсної фази і дисперсійного середовища, а також розмірів і маси частинок. Розподіл частинок по висоті в стаціонарному стані називають *седиментаційною рівновагою* системи.

Агрегативна стійкість золь зумовлена наявністю однойменних зарядів і гідратних оболонок у колоїдних частинок. На межі „колоїдна частинка – середовище” встановлюється два типи рівноваг:

- протиіони в колоїдній частинці  $\Leftrightarrow$  протиіони в середовищі,
- вода в колоїдній частинці  $\Leftrightarrow$  вода в середовищі.

Якщо в середовищі збільшується концентрація іонів, однакових за знаком заряду з протиіонами, то зростає їх число в складі гранули колоїдної частинки, а її заряд, величина  $\xi$ -потенціалу і, отже, число молекул води в гідратній оболонці, зменшуються. Таким чином, порушується стійкість колоїдної системи. За певних умов число протиіонів у колоїдній частинці може стати таким, що їх заряд повністю нейтралізує заряд потенціал-визначальних іонів, і колоїдна частинка виявиться електронейтральною. Такий стан колоїдної частинки називають *ізоелектричним*. Гідратна оболонка колоїдної частинки в ізоелектричному стані повністю зруйнована, і частинки при зіткненнях можуть злипатись та укрупнюватись. Процес укрупнення колоїдних частинок і викликаної цим втрати агрегативної стійкості золь називають *коагуляцією*. Продуктами коагуляції є золь з укрупненими частинками, осад (коагулянт) або гель (коагель). Найбільше значення  $\xi$ -потенціалу, при якому процес коагуляції перебігає з помітною швидкістю, називають критичним. Критичний  $\xi$ -потенціал знаходиться

в межах 25 – 30 мВ: якщо  $\xi > 30$  мВ, золі є стійкими, а при  $\xi < 30$  мВ вони коагулюють. Коагуляція призводить до втрати кінетичної стійкості системи, відзеркаленням якої є осідання укрупнених частинок (утворення осаду) – *седиментація*.

Коагуляцію ліофобних золей викликають різні чинники, серед яких найбільш розповсюджені: додавання електролітів у твердому або концентрованому вигляді; додавання дегідратуючих речовин (спиртів, ацетону); випарювання розчинника; підвищення температури; пропускання постійного електричного струму (електрокоагуляція). При цьому утворюються мілкокристалічні речовини.

Коагулюючу дію виявляють лише ті іони електроліту, знак заряду яких протилежний знаку заряду колоїдних частинок дисперсної системи (*правило Гарді*). Ці іони називають *іонами-коагуляторами*, а електроліт, до складу якого вони входять, – електролітом-коагулятором. Мінімальну концентрацію електроліту, що викликає в системі коагуляцію, називають *порогом коагуляції*, або критичною концентрацією  $c_{кр}$

$$c_{кр} = V_e c / (V + V_e) = n / (V + V_e), \quad (1.3)$$

де  $V$  – об'єм колоїдного розчину;

$V_e$  – об'єм розчину електроліту-коагулятора, додавання якого викликає у всьому об'ємі колоїдної системи швидку коагуляцію;

$c$  і  $n$  – концентрація (моль/м<sup>3</sup>) і кількість речовини (моль) іонів-коагуляторів в електроліті-коагуляторі відповідно.

Поріг коагуляції залежить від умов коагуляції та заряду іона-коагулятора ( $z$ ):

$$c_{кр} = k T^5 / z^6, \quad (1.4)$$

де  $k$  – коефіцієнт, що залежить від фізичних властивостей фаз системи.

Тобто, чим більший заряд має іон-коагулятор, тим нижче поріг коагуляції, а при однакових зарядах іонів-коагуляторів менший поріг коагуляції притаманний іону більшого розміру.

При додаванні великої кількості електроліту виникає явище перезарядки колоїдних частинок, і більшість колоїдних систем знов набувають стійкості та не коагулюють.

Для осадження ліофільних систем потрібні великі кількості електролітів або дегідратуючих речовин; коагуляцію у цьому випадку називають **висоленням**. При висоленні, випарюванні розчинника або під час довгого зберігання ліофільні золі переходять до особливого драглеподібного стану, який називають **гелем**. При цьому міцели не руйнуються, а лише зв'язуються між собою, утворюючи просторову комірку, всередині якої залишається вода. Золі переходять до гелей за певних умов: відповідній температурі, концентрації речовини, ступеню її гідратації. Процес переходу золю до гелю називають **драглетворенням або желатинуванням**. Утворення гелю за рахунок поглинання розчинника сухою речовиною, яке супроводжується зростанням об'єму останнього, називають **набуханням**.

Процес, зворотний коагуляції, називають **пептизацією**. Викликати пептизацію можна промиванням коагулянта розчинником, а також дією пептизаторів (електролітів, неелектролітів, поверхнево-активних речовин, високомолекулярних сполук), причому пептизувати можна тільки свіжоприготовані осад. Під час пептизації частинки осаду набувають однойменних зарядів внаслідок адсорбції тих чи інших іонів з електроліту, зростає  $\xi$ -потенціал системи, і осад переходить до стану золю. Речовини, що сприяють пептизації осадів, називають **пептизаторами**. Наприклад, пептизацію осаду  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  можна ініціювати додаванням невеликої кількості розчину соляної кислоти, недостатньої для його розчинення, або ферум (III) хлориду, в якому кислота утворюється внаслідок гідролізу. У розчині з'являються зарядоутворюючі іони  $\text{Fe}^{3+}$  або  $\text{FeO}^+$ , які адсорбуються на поверхні частинок  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ , і таким чином осад пептизується.

Колоїдні системи широко розповсюджені у природі. Дисперсними є всі рідини у живих організмах. У крові, лімфі, спинно-мозковій рідині знаходяться у колоїдному стані фосфати, жири, ліпіди. До найбільш важливих гелей біологічного походження, утворених білками, фосфатидами та полісахаридами, відносяться ядро, оболонка клітин, мембрани, рослинні та тваринні волокна, скловидне тіло глазу. Процеси в клітинах, живих мембранах, нервових волокнах відбуваються за законами колоїдної хімії. Коагуляція колоїдних систем кальцій фосфату та холестерину в крові призводять до утворення осадів на внутрішній поверхні кровоносних судів. Зсіліть крові, злипання еритроцитів є процесами, аналогічними до коагуляції. Напроти, в основі процесу розчинення тромбів лежить явище пептизації.

## 1.5. Дослідна частина

### *Реактиви:*

- 25 %-й розчин ферум (III) хлориду;
- розчини натрій хлориду, натрій сульфату та натрій гідрофосфату концентрацією 1 моль/л;
- розчини хлоридної кислоти та натрій гідроксиду концентрацією 0,1 моль/л;
- 0,5 %-ві розчини желатини та крохмалю;
- розчини сульфатної кислоти концентрацією 1 моль/л та натрій тіосульфату концентрацією 0,5 моль/л;
- концентрована хлоридна кислота та насичений розчин натрій силікату.

### **Дослід 1.** Утворення золю ферум (III) гідроксиду

У хімічний стакан налейте 40 мл дистильованої води та додайте з бюретки 2 мл розчину ферум (III) хлориду. Відзначте забарвлення отриманого розчину. Нагрійте розчин у пробірці до кипіння. Що спостерігається? Відзначте колір золю, що утворився. Як впливає температура на глибину перебігу процесу?

Складіть в молекулярній та іонній формах рівняння реакції гідролізу ферум (III) хлориду, що перебігає за даних умов з утворенням ферум (III) гідроксиду. Складіть формулу міцели золю  $\text{Fe}(\text{OH})_3$ . Яким є заряд гранули?

### **Дослід 2.** Коагуляція золю ферум (III) гідроксиду електролітами

Налійте у три пробірки по 5 – 6 мл отриманого в досліді 1 золю ферум (III) гідроксиду. По краплях додайте з бюретоки електроліти з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л відповідно до табл.1.2.

**Таблиця 1.2 – Результати дослідів**

№ пробірки	Електроліт-коагулянт	Час до появи осаду	Висновки
1	NaCl		
2	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		
3	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>		

Полічте число краплин електроліту-коагулятора, необхідних для зміни вигляду колоїдної системи (появи муті або осаду). Як впливає заряд коагулюючого іона на швидкість коагуляції? Який електроліт має найменший поріг коагуляції?

### **Дослід 3.** Визначення інтервалу рН стійкості золю ферум (III) гідроксиду

Налийте в дві пробірки по 3...5 мл золю, отриманого у досліді 1, та додайте розчин універсального індикатора. До однієї порції додайте по краплях розчин хлоридної кислоти, а до другої – розчин натрій гідроксиду тієї ж концентрації. Визначте рН, при якому золь розчиняється. А при якому рН він коагулює? Оцініть значення рН ізоелектричної точки.

### **Дослід 4.** Визначення знака заряду золю ферум (III) гідроксиду

У хімічний стакан налейте 3 – 5 мл золю ферум (III) гідроксиду та занурте полоску фільтрувального паперу. Через 15 – 30 хв подивіться, чи піднімаються разом з водою колоїдні частинки. Яким є їх заряд?

У водному середовищі капіляри целюлози заряджуються негативно, а вода, що знаходиться в них – позитивно. Таким чином, якщо колоїдні частинки мають позитивний заряд, вони не піднімаються по волокнах целюлози, а осаджуються на папері біля поверхні розчину. Негативно заряджені частинки піднімаються по капілярах паперу разом з водою.

За іншою методикою краплю розчину наносять на фільтрувальний папір і спостерігають її розповсюдження по поверхні. Якщо колоїдні частинки заряджені негативно, вони пересуваються разом з водою і виникає велике пофарбоване п'ятно. Позитивно заряджені частинки накопичуються в центрі паперу, де і виникає пофарбована зона, а вода розпливається набагато далі.

### **Дослід 5.** Перезарядка частинок золю ферум (III) гідроксиду

2 мл золю ферум (III) гідроксиду, частинки якого заряджені позитивно, влийте у розчин натрій гідроксиду. За цих умов відбудуватиметься перезарядка колоїдних частинок. Визначте знак їх заряду гранул за методикою, описаною в досліді 4.

Напишіть формули міцел вихідного та перезарядженого золю.

### **Дослід 6.** Захисна дія ліофільних колоїдів

У дві пробірки налейте по 5 – 10 мл золю ферум (III) гідроксиду та додайте в одну пробірку 1 – 2 мл розчину желатину, а в другу – стільки ж розчину крохмалю. Розчини перемішайте. Кожну отриману суміш розлийте на три про-

бірки та повторіть дослід 2. Результати експеримента зведіть в таблицю. Зіставте захисну дію крохмалю та желатину.

### Дослід 7. Взаємна коагуляція золей

Отримайте золь силікатної кислоти, для чого налейте у пробірку 4...5 крапель концентрованої хлоридної кислоти та додайте 1...2 краплі розчину натрій силікату. Складіть формулу міцели, припустивши, що потенціалвизначальними є іони  $\text{HSiO}_3^-$ , що утворюються при гідролізі натрій силікату. Як заряджені колоїдні частинки золю? Додайте до нього золь ферум (III) гідроксиду. Спостерігайте та поясніть явища, що відбуваються в реакційній суміші.

### Дослід 8. Отримання золю сірки

У пробірку налейте 3 мл сульфатної кислоти і додати такий же об'єм розчину  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ . Відзначте зміну забарвлення розчину після утворення золю сірки. Складіть рівняння даної окисно-відновної реакції. Яка речовина є стабілізатором отриманого золю? Через деякий час спостерігайте коагуляцію та седиментацію отриманого золю. Розділіть осад на дві пробірки. Додайте в одну з них розчин сульфатної кислоти, а в другу – розчин натрій тіосульфату, спостерігайте явище пептизації. Якими ознаками воно характеризується?

## 1.6. Питання та вправи для контролю

1. Золь  $\text{AgI}$  отриманий змішуванням 20 мл розчину  $\text{KI}$  з молярною концентрацією еквівалента 0,1 моль/л і 28 мл розчину  $\text{AgNO}_3$  з молярною концентрацією еквівалента 0,005 моль/л. Скласти формулу міцели отриманого золю і визначити напрямок руху гранул під час електрофорезу.

2. Свіжоосаджений  $\text{Al}(\text{OH})_3$  пептизується незначною кількістю  $\text{HCl}$ , недостатньою для розчинення осаду. Скласти формулу міцели алюміній гідроксиду, якщо відомо, що під час електрофорезу гранула переміщується до катода.

3. Золь  $\text{BaSO}_4$  отриманий при змішуванні рівних об'ємів барій нітрату та сульфатної кислоти. Скласти формулу міцели барій сульфату і встановити, чи однаковими були вихідні концентрації електролітів, якщо під час електрофорезу гранула переміщується до анода.

4. До розчину натрій хлориду об'ємом 20 мл з масовою часткою розчиненої речовини 0,029 % додали розчин аргентум нітрату об'ємом 200 мл з молярною концентрацією еквівалента 0,001 моль/л. Для коагуляції отриманого золю використали електро-

літи: NaBr, BaCl<sub>2</sub>, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, AlCl<sub>3</sub>. Який з цих електролітів має найменший поріг коагуляції?

5. Який об'єм розчину барій хлориду з молярною концентрацією еквівалента  $c(1/2\text{BaCl}_2) = 2 \cdot 10^{-3}$  моль/л необхідно додати до розчину алюміній сульфату об'ємом 0,03 л з молярною концентрацією еквівалента  $c(1/6\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3) = 6 \cdot 10^{-4}$  моль/л, щоб отримати позитивні частинки золю барій сульфату. Складіть формулу міцели.

6. Поріг коагуляції розчину калій нітрату для золю алюміній гідроксиду, гранули якого мають позитивний заряд, дорівнює 60 ммоль/л. Визначте поріг коагуляції K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] для цього золю.

7. Три пробірки містять по 0,01 л золю аргентум хлориду. Для коагуляції золю у першу пробірку додали розчину натрій нітрату об'ємом 0,002 л з молярною концентрацією еквівалента  $c(\text{NaNO}_3) = 1$  моль/л, в другу – кальцій нітрату об'ємом 0,012 л з молярною концентрацією еквівалента  $c(1/2\text{Ca}(\text{NO}_3)_2) = 0,01$  моль/л, в третю – алюміній нітрату об'ємом 0,007 л з молярною концентрацією еквівалента  $c(1/3\text{Al}(\text{NO}_3)_3) = 0,001$  моль/л. Визначте знак заряду колоїдних частинок та пороги коагуляції електролітів.

8. При додаванні надлишку речовини B (табл. 1.3) до розведеного розчину речовини A можливе утворення гідрозолу речовини C. Складіть формулу міцели, вкажіть знак заряду колоїдних частинок золю та напрямок їх переміщення в електричному полі. Який з коагуляторів є найбільш економічним (має найменший поріг коагуляції)? Які ще є можливості для відділення речовини від рідини?

**Таблиця 1.3 – Варіанти завдань**

№	A	B	C	Коагулятор
1	2	3	4	5
1	NaI	AgNO <sub>3</sub>	AgI	NaF, Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
2	MgCl <sub>2</sub>	NaOH	Mg(OH) <sub>2</sub>	KCl, Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , AlCl <sub>3</sub>
3	NH <sub>4</sub> CNS	AgNO <sub>3</sub>	AgCNS	KNO <sub>3</sub> , Na <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
4	CaCl <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	CaSO <sub>4</sub>	ZnCl <sub>2</sub> , AlCl <sub>3</sub> , CH <sub>3</sub> COONa
5	BaCl <sub>2</sub>	CaSO <sub>4</sub>	BaSO <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> Cl, AlCl <sub>3</sub> , Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>
6	NH <sub>4</sub> OH	BeCl <sub>2</sub>	Be(OH) <sub>2</sub>	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , ZnCl <sub>2</sub> , KNO <sub>3</sub>
7	Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	HCl	H <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	CrCl <sub>3</sub> , Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> Cl
8	AlCl <sub>3</sub>	NaOH	Al(OH) <sub>3</sub>	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , KNO <sub>3</sub> , CaCl <sub>2</sub>
9	CrCl <sub>3</sub>	NH <sub>4</sub> OH	Cr(OH) <sub>3</sub>	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , KCl, BaCl <sub>2</sub>
10	NaOH	ZnCl <sub>2</sub>	Zn(OH) <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub> COONa, K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , SrCl <sub>2</sub>
11	ZnCl <sub>2</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S	ZnS	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaCl, Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>

Продовження табл.1.3

1	2	3	4	5
12	MnCl <sub>2</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S	MnS	BaBr <sub>2</sub> , K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaCl
13	FeCl <sub>3</sub>	NaOH	Fe(OH) <sub>3</sub>	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , Fe(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> , MgCl <sub>2</sub>
14	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ba(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	BaSO <sub>4</sub>	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> , AlCl <sub>3</sub> , ZnSO <sub>4</sub>
15	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S	CoCl <sub>2</sub>	CoS	CaCl <sub>2</sub> , K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaCl
16	NiCl <sub>2</sub>	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S	NiS	NH <sub>4</sub> Cl, Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , SrCl <sub>2</sub>
17	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S	SnCl <sub>2</sub>	SnS	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , Ca(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , KCl
18	CdCl <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> S	CdS	(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , NaCl, CaBr <sub>2</sub>
19	AgNO <sub>3</sub>	HCl	AgCl	Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> , K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
20	KI	AgNO <sub>3</sub>	AgI	NaF, Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
21	FeCl <sub>3</sub>	K <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ]	Fe <sub>4</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sub>3</sub>	Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> , K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
22	Hg <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Hg <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	KNO <sub>3</sub> , NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> , Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>
23	K <sub>2</sub> CrO <sub>4</sub>	AgNO <sub>3</sub>	Ag <sub>2</sub> CrO <sub>4</sub>	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , CH <sub>3</sub> COONa
24	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	HCl	PbCl <sub>2</sub>	Al(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> , ZnCl <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> COOK
25	KI	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	PbI <sub>2</sub>	Ca(OH) <sub>2</sub> , NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , AlBr <sub>3</sub>
26	Hg <sub>2</sub> (NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	KI	Hg <sub>2</sub> I <sub>2</sub>	Cr(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> , Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> COONa

## 2. БУФЕРНІ СИСТЕМИ

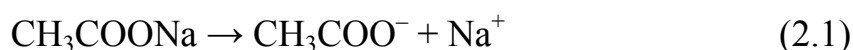
### 2.1. Кількісні характеристики буферних систем

Величина рН середовища відіграє дуже важливу роль у хімічних і біохімічних процесах та обов'язково враховується при проведенні досліджень і розробці нових технологій у медицині, мікробіології, приладобудуванні, сільському господарстві, ґрунтознавстві тощо. рН різних рідин та тканин в організмі людини варіюється у доволі широких межах (табл.2.1).

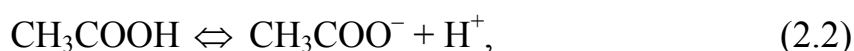
Активність ферментів, що каталізують усі метаболічні процеси в живому організмі, залежить від рН середовища, а оптимальні значення рН дії кожного ферменту відповідають дуже вузькому інтервалу (табл.2.2). Отже життєдіяльність організмів відбувається лише за умови незначних коливань величин рН, які і зумовлюють нормальний перебіг складних біохімічних процесів.

Такі значення рН підтримуються спеціальними системами – буферами. Буферним розчином або просто *буфером* називають розчин, рН якого залишається з відомою точністю сталою величиною при додаванні *невеликої* кількості кислоти або основи. Класичні буферні системи складаються зі слабого електроліту (кислота або основа) та його солі, що є сильним електролітом.

Розглянемо механізм дії буферної системи на прикладах ацетатної та аміачної буферних сумішей. До складу *ацетатного буферу* входить ацетатна кислота та її сіль – натрій ацетат – сильний електроліт, який практично повністю дисоціює



Ацетатна кислота є слабким електролітом, ступінь дисоціації якого при наявності вільних ацетат іонів зменшується



тому в буферному розчині ацетатна кислота існує переважно у молекулярній формі. Якщо до такого розчину додати сильну кислоту, наприклад хлоридну, гідроген-іони будуть утворювати з вільними ацетат-іонами слабку ацетатну кислоту, внаслідок чого величина рН середовища практично не змінюється. При додаванні до даного буферу розчину натрій гідроксиду останній взаємодіє з ки-

слотою з утворенням солі і води, а рН середовища знов залишається сталою величиною



**Таблиця 2.1 – Значення рН різних систем, рідин та тканин**

Система	Значення рН
<b><i>Рідини та тканини організму</i></b>	
Сироватка крові	7,35 – 7,45
Спинномозкова рідина	7,35 – 7,45
Водяниста волога ока	7,4
Слина	6,35 – 6,85
Чистий шлунковий сік	0,9
Сік підшлункової залози	7,5 – 8,0
Вміст тонкого кишечника	7,0 – 8,0
Жовч у протоках	7,4 – 8,5
Жовч у міхурі	5,4 – 6,9
Сеча	4,8 – 7,5
Кал	7,0 – 7,5
Сльозова рідина	7,4
Молоко	6,6 – 6,9
Шкіра (внутрішньоклітинна рідина, різні шари)	6,2 – 7,5
Печінка (внутрішньоклітинна рідина):	
купферові клітини	6,4 – 6,5
клітини по периферії часточок	7,1 – 7,4
клітини у центрі часточок	6,7 – 6,9
<b><i>Інші системи</i></b>	
Дистильована вода в контакті з повітрям	5,5
Водопровідна вода	7,5
Морська вода	8,0
Торф'яна вода	4,0
Оцет	3,0
Апельсиновий сік	2,6 – 4,4
Сік грейпфрута	3,2
Томатний сік	4,3
Білок яйця (свіжий)	8,0
Кава чорна	5,4
<b><i>Фрукти та овочі</i></b>	
Щавель	3,7
Редька	5,3
Картопля рожева	5,9
Бруква столова	6,3
Морква „каротель”	6,7
Огірок	6,9
Яблуко (антонівка, ранет)	2,5 – 4,6

**Таблиця 2.2 – Оптимальні значення рН ферментів**

Фермент	Інтервал рН	Фермент	Інтервал рН
Пепсин	1,5 – 2,5	Каталаза	6,8 – 7,0
Катепсин В	4,5 – 5,0	Уреаза	7,0 – 7,2
Амілаза (з солоду)	4,9 – 5,2	Ліпаза панкреатична	7,0 – 8,5
Сахараза кишечна	5,6 – 6,2	Трипсин	7,5 – 8,5
Амілаза слини	6,8 – 7,0	Аргіназа	9,5 – 10,0

В загальному випадку величину рН буферної системи, що складається зі слабкої кислоти (НА) та її солі (МА), розраховують за рівнянням Гендерсона-Хасельбалча

$$\text{pH} = \text{p}K_{\text{HA}} + \lg \frac{c_{\text{MA}}}{c_{\text{HA}}} \quad (2.4)$$

з урахуванням  $\text{p}K_{\text{HA}} = -\lg K_{\text{HA}}$ ,

де  $c_{\text{MA}}$  і  $c_{\text{HA}}$  – молярні концентрації солі і кислоти відповідно, моль/л;

$K_{\text{HA}}$  – константа дисоціації слабкої кислоти.

Додавання кислоти або лугу до буферної суміші порушує співвідношення сіль/кислота, яка визначає величину водневого показника. Отже, з (2.4) виходить, що для забезпечення сталого значення рН середовища необхідно підвищувати концентрації компонентів буферної суміші та наближати їх співвідношення до 1, а також використовувати слабкі електроліти з меншими величинами констант дисоціації.

*Аміачний буфер* – суміш амоній гідроксиду (слабка основа) та амоній хлориду (сильний електроліт), що повністю дисоціює



а ступінь дисоціації амоній гідроксиду зменшується в присутності вільних іонів  $\text{NH}_4^+$



При додаванні до аміачного буферу сильної кислоти гідроген-іони останньої будуть взаємодіяти з  $\text{NH}_4\text{OH}$  з утворенням солі і води, а при додаванні лу-

гу іони  $\text{OH}^-$  будуть зв'язуватися з вільними  $\text{NH}_4^+$ , внаслідок чого в обох випадках рН середовища практично не змінюється.

Величина рН буферної системи, утвореної слабкою основою (МОН) та її сіллю (МА), визначається як

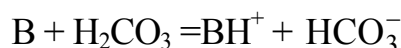
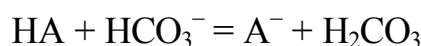
$$\text{pH} = 14 - (\text{p}K_{\text{МОН}} + \lg \frac{c_{\text{МА}}}{c_{\text{МОН}}}) \quad (2.7)$$

з урахуванням  $\text{p}K_{\text{МОН}} = -\lg K_{\text{МОН}}$ ,

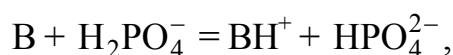
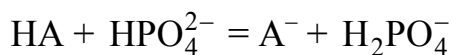
де  $c_{\text{МОН}}$  – молярна концентрація основи, моль/л;

$K_{\text{МОН}}$  – константа дисоціації основи.

Значення рН більшості внутрішньоклітинних рідин варіюється в інтервалі 6,8 – 7,8. Величина рН плазми крові підтримується на рівні 7,4 в основному буферними системами  $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$  і  $\text{HPO}_4^{2-}/\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , компоненти яких реагують з кислотами (НА) і основами (В) наступним чином



та



а також різними плазматичними білками. Останні є поліамінокислотами (слабкими амфолітами), що взаємодіють як з кислотами, так і лугами, і тому виявляють буферні властивості. Сильно спрощуючи реальну ситуацію, цю систему можна подати як пару М-білок/Н-білок, де М – катіон металу, причому більшість катіонів плазми складають іони  $\text{Na}^+$ , в значно меншій кількості присутні іони  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{Mg}^{2+}$ .

Буфер, утворений гідрокарбонатом і карбонатною кислотою, відіграє головну роль у регуляції транспорту кисню і карбон (IV) оксиду в крові. В еритроцитах буферними є система  $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$  і гемоглобін, які підтримують  $\text{pH} = 7,25$ , що забезпечується також завдяки селективній проникності мембрани еритроцитів для  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{OH}^-$  та  $\text{Cl}^-$  і в меншому ступені – для інших іонів.

Ефективність роботи буферної системи кількісно характеризують буферною ємністю  $\beta$ , вперше введеною Слайком у 1922 р. **Буферна ємність** визначається як кількість кислоти або лугу, які треба ввести до розчину об'ємом 1 л, щоб змінити величину рН на одиницю

$$\beta = \pm \frac{dn}{dpH}, \quad (2.8)$$

де  $dn$  – зміна кількості речовини лугу або сильної кислоти. Знак "плюс" відповідає додаванню лугу, а "мінус" – кислоти, оскільки у першому випадку величина рН зростає, а у другому – знижується.

Буферна ємність кислот та основ залежить від константи їх дисоціації  $K_d$

$$\beta = 2,3 \frac{K_d c c_{H^+}}{(K_d + c_{H^+})^2}, \quad (2.9)$$

де  $c$  і  $c_{H^+}$  – концентрації кислоти та гідроген-іонів відповідно.

**Таблиця 2.3 – рН деяких буферних систем**

Буфер		Інтервал рН
Склад	Назва	
CH <sub>3</sub> COONa/CH <sub>3</sub> COOH	Ацетатний	3,8 – 5,8
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> /KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Фосфатний	6,8 – 8,2
NH <sub>4</sub> Cl/NH <sub>4</sub> OH	Аміачний	8,2 – 10,2
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> /NaHCO <sub>3</sub>	Карбонатний	9,3 – 11,3

На практиці буферну ємність розчину розраховують за результатами вимірювань із співвідношення

$$\beta = \frac{c_e V_e}{V |pH_0 - pH_1|}, \quad (2.10)$$

де  $c_e$  – молярна концентрація еквівалента сильного електроліту (кислоти або лугу), моль/л;

$V$  і  $V_e$  – об'єми буферного розчину і доданого сильного електроліту відповідно, л;

$pH_0$  та  $pH_1$  – початкове та кінцеве значення рН розчину.

Теоретичні значення буферної ємності буферних систем за кислотою і лугом визначають за рівнянням

$$\beta = 2,303 c \frac{a}{(a+1)^2}, \quad (2.11)$$

де  $a$  – співвідношення компонентів суміші, яке для кислотної буферної системи визначається як

$$a = \frac{c_{\text{МА}}}{c_{\text{НА}}},$$

а для основної –

$$a = \frac{c_{\text{МА}}}{c_{\text{МОН}}},$$

де  $c$  – сумарна концентрація суміші, що визначається як

$$c = c_{\text{МА}} + c_{\text{НА}} \text{ та } c = c_{\text{МА}} + c_{\text{МОН}} \text{ відповідно.}$$

## 2.2 Дослідна частина

### Реактиви:

- 10 %-й розчини ацетатної кислоти, натрій ацетату, амоній гідроксиду та амоній хлориду концентраціями по 0,1 моль/л;
- розчини хлоридної кислоти та натрій гідроксиду концентраціями по 0,25 моль/л;
- розчини боратної кислоти та натрій тетраборату, хлоридної кислоти та калій хлориду концентраціями по 0,05 моль/л.

### Дослід 1. Визначення буферних властивостей розчинів електролітів

У чотири ретельно вимиті пробірки налейте по 3 мл розчинів, запропонованих у табл. 2.4, додайте до них по 2–3 краплі універсального індикатора. Спостерігайте забарвлення розчинів та визначте величину рН кожного з них.

Таблиця 2.4 – Результати дослідів

Варіант 1				Варіант 2			
Розчин	рН	ΔрН	$V_{\text{NaOH}}$ , мл	Розчин	рН	ΔрН	$V_{\text{HCl}}$ , мл
H <sub>2</sub> O				H <sub>2</sub> O			
CH <sub>3</sub> COOH				NH <sub>4</sub> OH			
CH <sub>3</sub> COONa				NH <sub>4</sub> Cl			
CH <sub>3</sub> COOH, CH <sub>3</sub> COONa				NH <sub>4</sub> OH, NH <sub>4</sub> Cl			

У пробірку з водою по краплях додавайте розчин кислоти або лугу відповідно до завдання табл.2.4 та визначте, скільки крапель витрачено на зсув величини рН, наприклад на одиницю. Об'єм цього розчину ( $V$ ) розраховують, припустивши, що об'єм однієї краплі дорівнює 0,03 мл.

Аналогічні досліди виконайте з іншими розчинами та поясніть причину розбіжностей в їх поведінці.

Напишіть рівняння відповідних реакцій та за принципом Ле-Шательє поясніть зсув іонної рівноваги в розчинах. Аналізуючи результати дослідів, зробіть висновки щодо буферних властивостей розчинів.

## Дослід 2. Вплив розведення на буферні властивості розчинів

2.1. В мірному циліндрі приготуйте 6 мл аміачної буферної суміші, узявши компоненти в співвідношенні 1:1. Додайте в циліндр 6 мл дистильованої води. Якої концентрації набули компоненти суміші після розведення? Налийте по 3 мл розведеної суміші у 2 пробірки, додайте до кожної по 2...3 краплі універсального індикатора, визначте рН суміші та порівняйте цю величину з результатом попереднього дослідів. Додавайте до першої пробірки по краплях розчин хлоридної кислоти до зміни рН на одиницю, а другу залиште для порівняння.

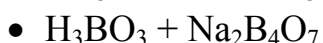
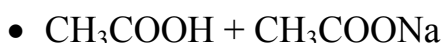
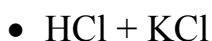
2.2. До суміші, що залишилась у циліндрі, додайте ще 6 мл дистильованої води. Якої концентрації після цього розведення набули компоненти суміші? Повторіть досліди за п.2.1 з отриманим розчином.

2.3. Аналогічно до 2.1 і 2.2 проаналізуйте вплив розведення на властивості ацетатної буферної суміші при додаванні розчину NaOH.

Запропонуйте форму таблиці для оформлення результатів дослідів.

## Дослід 3. Вплив константи дисоціації електроліту на буферні властивості

Налийте у три пробірки по 3 мл сумішей з однаковим співвідношенням компонентів:



$$K_d(\text{CH}_3\text{COOH})=1,7 \cdot 10^{-5}$$

$$K_d(\text{H}_3\text{BO}_3)=1 \cdot 10^{-10}$$

Визначте рН сумішей із застосуванням універсального індикатора. Додавайте по краплях в кожну з пробірок розчин NaOH до зміни рН на 1.

Запропонуйте форму таблиці для оформлення результатів дослідів. Порівняйте поведінку сумішей та зробіть висновки щодо впливу константи дисоціації слабкої кислоти на буферні властивості систем.

#### Дослід 4. Вплив співвідношення компонентів на буферну ємність розчину

Приготуйте у склянках по 20 мл буферних розчинів (ацетатного або аміачного) з наведеним у табл. 2.5 співвідношенням компонентів (А) та виміряйте рН сумішей з використанням рН-метра. Додайте у кожену склянку по 10 крапель електроліту згідно з табл.2.5, після чого знов проконтролюйте рН.

Визначте буферну ємність розчину ( $\beta$ ) з рівняння (2.9).

**Таблиця 2.5 – Результати дослідів**

Буферний розчин	А	рН <sub>0</sub>	HCl ( <i>c</i> = 0,25 моль/л)			NaOH ( <i>c</i> = 0,25 моль/л)		
			V, мл	рН <sub>1</sub>	$\beta$	V, мл	рН <sub>1</sub>	$\beta$
CH <sub>3</sub> COOH/ CH <sub>3</sub> COONa	$\frac{1}{10}$							
CH <sub>3</sub> COOH/ CH <sub>3</sub> COONa	$\frac{1}{5}$							
CH <sub>3</sub> COOH/ CH <sub>3</sub> COONa	$\frac{1}{1}$							
CH <sub>3</sub> COOH/ CH <sub>3</sub> COONa	$\frac{5}{1}$							
CH <sub>3</sub> COOH/ CH <sub>3</sub> COONa	$\frac{10}{1}$							
NH <sub>4</sub> OH/ NH <sub>4</sub> Cl	$\frac{1}{10}$							
NH <sub>4</sub> OH/ NH <sub>4</sub> Cl	$\frac{1}{5}$							
NH <sub>4</sub> OH/ NH <sub>4</sub> Cl	$\frac{1}{1}$							
NH <sub>4</sub> OH/ NH <sub>4</sub> Cl	$\frac{5}{1}$							
NH <sub>4</sub> OH/ NH <sub>4</sub> Cl	$\frac{10}{1}$							

Визначте теоретичні значення рН буферних розчинів із застосуванням виразів (2.4, 2.7) та їх буферної ємності за кислотою або лугом, користуючись співвідношенням (2.10). Проаналізуйте графічну залежність буферної ємності системи від співвідношення її компонентів та зробіть відповідні висновки.

### 2.3. Питання та вправи для контролю

1. Серед наведених систем виберіть ті, що мають буферні властивості:

- $\text{HNO}_3, \text{NH}_4\text{NO}_3$
- $\text{H}_2\text{CO}_3, \text{KHCO}_3$
- $\text{H}_2\text{CO}_3, (\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$
- $\text{NH}_4\text{OH}, \text{NH}_4\text{HSO}_3$

Відповідь обґрунтуйте.

2. Визначте рН буферного розчину, що утворений змішуванням розчинів:

- амоній хлориду  $c(\text{NH}_4\text{Cl}) = 0,1$  моль/л об'ємом 300 мл і амоній гідроксиду  $c(\text{NH}_4\text{OH}) = 0,2$  моль/л об'ємом 150 мл;
- натрій ацетату  $c(\text{CH}_3\text{COONa}) = 0,2$  моль/л об'ємом 250 мл і ацетатної кислоти  $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,1$  моль/л об'ємом 150 мл.

Як зміниться рН кожного з розчинів при додаванні до них розчину натрій гідроксиду з  $c(\text{NaOH}) = 0,1$  моль/л об'ємом 6 мл?

3. До крові об'ємом 100 мл для зміни рН з 7,36 до 7,00 необхідно додати розчин хлоридної кислоти з  $c(\text{HCl}) = 0,05$  моль/л об'ємом 36 мл. Якою є буферна ємність крові за кислотою?

4. До крові об'ємом 100 мл додали розчин натрій гідроксиду з  $c(\text{NaOH}) = 0,1$  моль/л об'ємом 14 мл, при цьому рН змінилося з 7,36 до 9,36. Якою є буферна ємність крові за лугом?

5. Який з двох ацетатних буферів, що мають рН 4,2 та 5,2 відповідно, більш стійкий до додавання кислоти, а який – луґу?

6. Фосфатні буферні системи складаються з розчинів  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  і  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  однакової молярної концентрації 0,02 моль/л, що взяті у об'ємах:

- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - 10$  мл і  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - 20$  мл;
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - 20$  мл і  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - 30$  мл;
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 - 40$  мл і  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 - 40$  мл.

Який з розчинів має більше значення буферної ємності?

7. Виходячи з даних табл. 2.6, визначте:

- величину рН буферної суміші, компоненти якої узяті об'ємами по 100 мл;
- буферну ємність суміші у початковому стані та після додавання речовини В

об'ємом 10 мл і концентрацією  $c_B$ ;

- порівняйте стійкість буферу до кислоти та лугу.

**Таблиця 2.6 – Варіанти завдань**

№	Буфер	$c$ , МОЛЬ/Л	В	$c_B$ , МОЛЬ/Л	№	Буфер	$c$ , МОЛЬ/Л	В	$c_B$ , МОЛЬ/Л
1	$\frac{CH_3COOH}{CH_3COONa}$	$\frac{1,0}{1,0}$	NaOH	0,8	13	$\frac{NH_4OH}{NH_4Cl}$	$\frac{0,8}{1,0}$	HCl	0,6
2	$\frac{CH_3COOH}{CH_3COOK}$	$\frac{0,5}{0,5}$	KOH	0,4	14	$\frac{HCOOH}{HCOONa}$	$\frac{1,0}{1,0}$	NaOH	0,7
3	$\frac{NH_4OH}{NH_4Cl}$	$\frac{1,0}{1,0}$	HCl	0,8	15	$\frac{CH_3COOH}{CH_3COOK}$	$\frac{0,5}{0,5}$	KOH	0,3
4	$\frac{NH_4OH}{NH_4Br}$	$\frac{0,5}{0,5}$	NaOH	0,3	16	$\frac{Na_2HPO_4}{KH_2PO_4}$	$\frac{0,07}{0,07}$	HCl	0,02
5	$\frac{NH_4OH}{NH_4NO_3}$	$\frac{1,0}{1,0}$	HNO <sub>3</sub>	0,5	17	$\frac{HCOOH}{HCOOK}$	$\frac{0,8}{0,8}$	KOH	0,4
6	$\frac{Na_2HPO_4}{KH_2PO_4}$	$\frac{0,07}{0,07}$	KOH	0,01	18	$\frac{CH_3COOH}{CH_3COOLi}$	$\frac{0,8}{0,8}$	LiOH	0,6
7	$\frac{CH_3COOH}{CH_3COONa}$	$\frac{0,9}{0,45}$	NaOH	0,2	19	$\frac{NaHCO_3}{Na_2CO_3}$	$\frac{1,0}{1,0}$	HCl	0,4
8	$\frac{NH_4OH}{NH_4Cl}$	$\frac{0,8}{0,6}$	HCl	0,1	20	$\frac{NH_4OH}{NH_4NO_3}$	$\frac{0,9}{0,5}$	HNO <sub>3</sub>	0,2
9	$\frac{NaHCO_3}{Na_2CO_3}$	$\frac{0,8}{0,8}$	NaOH	0,3	21	$\frac{CH_3COOH}{CH_3COONa}$	$\frac{0,75}{1,5}$	HBr	0,1
10	$\frac{CH_3COOH}{CH_3COOK}$	$\frac{1,5}{1,0}$	HCl	0,7	22	$\frac{NH_4OH}{NH_4Br}$	$\frac{2,0}{2,0}$	NaOH	0,5
11	$\frac{NH_4OH}{NH_4Br}$	$\frac{1,0}{1,5}$	HBr	0,4	23	$\frac{Na_2HPO_4}{KH_2PO_4}$	$\frac{0,07}{0,07}$	KOH	0,03
12	$\frac{CH_3COOH}{CH_3COOLi}$	$\frac{0,8}{1,6}$	LiOH	0,5	24	$\frac{NaHCO_3}{Na_2CO_3}$	$\frac{1,2}{1,0}$	HCl	0,4

### 3. ВУГЛЕВОДИ

#### 3.1. Будова та властивості вуглеводів

**Вуглеводи** – найбільш поширені в природі біоорганічні речовини – складають основну масу рослин (біля 75...85 % у перерахунку на суху масу) та більшу частину раціону людини і є основним джерелом енергії, забезпечуючи приблизно 2/3 енергетичних витрат людини на добу. Протягом дня людина в середньому споживає 110...130 г білків, близько 80...100 г жирів і 450...500 г вуглеводів. Звичайно, відхилення від середніх величин залежить від умов праці та побуту, віку, клімату тощо.

Велику роль вуглеводи відіграють у діяльності деяких життєво важливих органів. Так, функції головного мозку приблизно на 80...85 % забезпечуються енергією за рахунок окиснення глюкози. Високомолекулярний полісахарид глікоген і глюкоза присутні в скелетних і гладких м'язах, печінці, нирках, серці, легенях та деяких інших органах. Вуглеводи (пентози) входять до складу нуклеотидів, коферментів і нуклеїнових кислот (приблизно 40 % молярної маси). Від особливостей структури вуглеводів залежать фізико-хімічні й біологічні особливості ДНК та РНК. Пентози є компонентами АТФ, УТФ, ГТФ, в яких резервується енергія обміну речовин, що використовується для забезпечення функцій організму та різних біохімічних процесів, зокрема процесів біосинтезу.

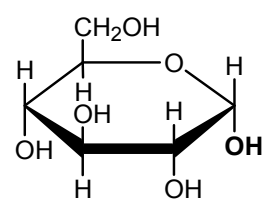
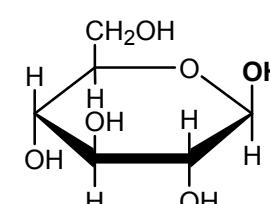
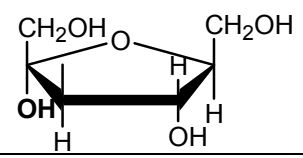
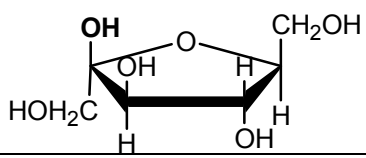
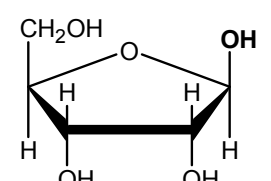
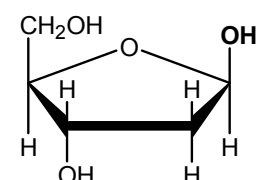
Основні біологічні **функції вуглеводів**:

- **енергетична** – при їх окисненні вивільнюється енергія;
- **метаболічна** – з вуглеводів в організмі можуть синтезуватися сполуки інших класів, зокрема ліпіди і деякі амінокислоти;
- **структурна** – вуглеводи входять до складу структурно-функціональних компонентів клітини – *глікопротеїнів* та *гліколіпідів*;
- **гідроосмотична** – зв'язують (наприклад, гіалуронова кислота) міжклітинну воду і катіони, регулюють міжклітинний осмотичний тиск;
- **кофакторна** – виконують роль кофакторів ферментів;
- **опорна** – входять до складу кісткової тканини.

Вуглеводи поділяють на групи залежно від кількості моносахаридів, що входять до їх складу (табл.3.1):

- **моносахариди** – це поліоксіальдегіди або поліоксикетони загальною формулою  $(\text{CH}_2\text{O})_n$ , які можуть існувати як в альдегідній (альдози) або кетонній (кетози), так і в циклічній (напівацетальній) формах; до них відносять *пентози* ( $n = 5$ ) – рибоза, дезоксирибоза, арабіноза та *гексози* ( $n = 6$ ) – глюкоза, фруктоза;
- **дисахариди** (лактоза, сахароза, мальтоза) складаються з двох однакових або різних моносахаридів;
- **олігосахариди**- містять до 10 моносахаридів;
- **полісахариди** (целюлоза, крохмаль) – включають більш 10 мономерів.

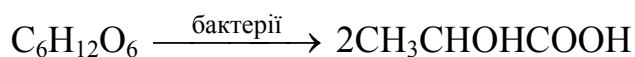
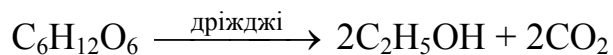
Таблиця 3.1 – Будова деяких вуглеводів

Назва	Будова молекули (циклічні форми)	
	$\alpha$ -форма	$\beta$ -форма
<b>Моносахариди:</b>		
<b>Гексози</b>		
Глюкоза* $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$		
Фруктоза $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$		
<b>Пентози</b>		
Рибоза $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$		—
Дезоксирибоза $\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_4$		—

<b>Дисахариди:</b>	
Сахароза $C_{12}H_{22}O_{11}$	
Мальтоза $C_{12}H_{22}O_{11}$	
Лактоза $C_{12}H_{22}O_{11}$	
<b>Полісахариди:</b>	
Крохмаль $(C_6H_{10}O_5)_n$	
Целюлоза $(C_6H_{10}O_5)_n$	

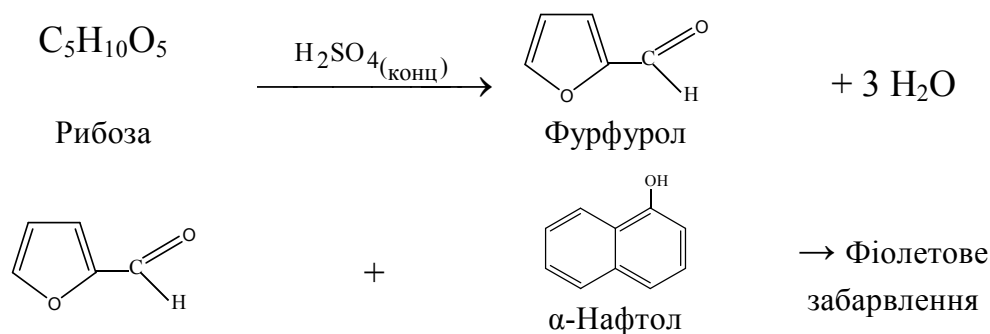
\* В формулах виділено вільний напівацетальний гідроксил (**ОН-**)

Моносахариди в реакціях проявляють властивості як альдегідів (кетонів), так і багатоатомних спиртів, тобто вони здатні відновлюватися та окиснюватися, утворювати прості (зі спиртами) та складні (з кислотами) етери. Для глюкози характерні реакції молочнокислого та спиртового бродіння:



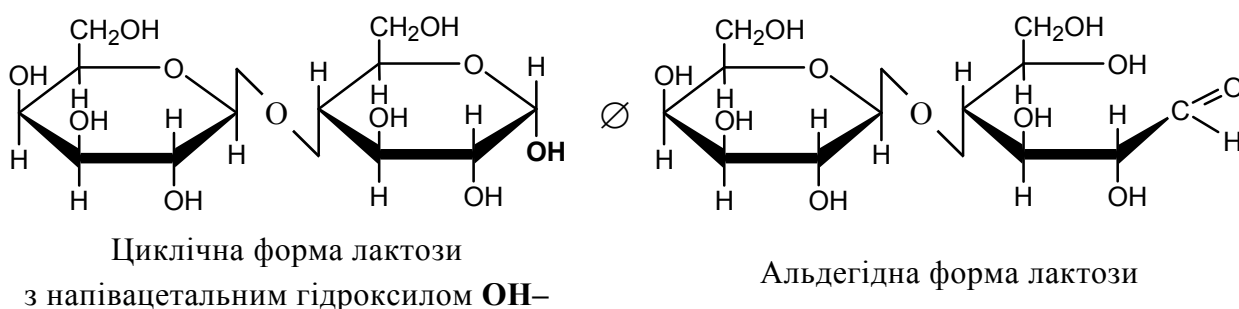
Усі природні моносахариди містять асиметричні атоми карбону і є оптично активними. Відновні та оптичні властивості широко використовують для їх якісного та кількісного визначення.

Дуже чутливою для виявлення вуглеводів є **реакція Моліша**: вуглеводи та їх похідні в присутності сульфатної кислоти утворюють фурфурол, який дає з  $\alpha$ -нафтолом продукт конденсації червоного або червоно-фіолетового кольору:

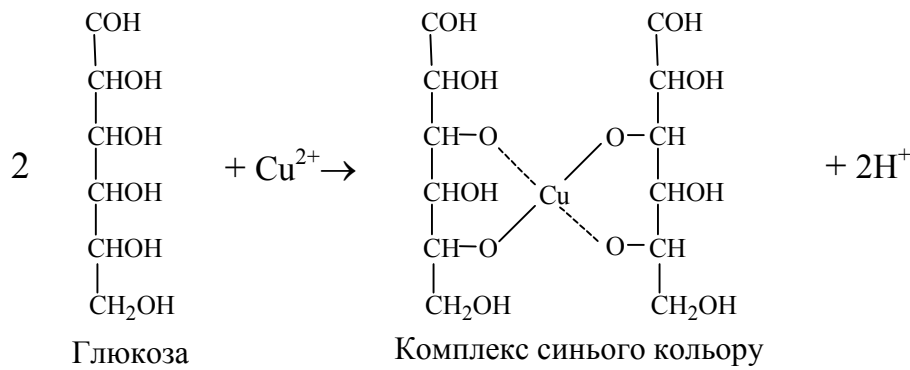


При обробці пентоз концентрованою хлоридною кислотою також утворюється фурфурол, який виявляють за допомогою спеціальних кольорових реакцій: при взаємодії з *орцином* (симетричним діокситолуолом) – зелене забарвлення (**реакція Біаля**), під дією *флюороглюцину* (1, 3, 5-триоксibenзолу) – червоне.

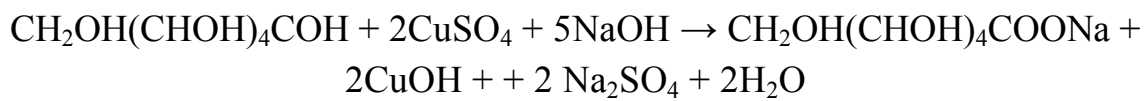
Усі моносахариди, а також більшість дисахаридів (мальтоза, лактоза) і трисахариди, які мають карбонільну (альдегідну або кетонну) групу та вільний напівацетальний гідроксил ( $\text{OH-}$ ), здатні відновлювати сполуки металів (іони аргентуму, купруму, вісмуту, феруму тощо) у лужному середовищі (**реакція Троммера**). Це пов'язано з існуванням таутомерних форм відповідних речовин, наприклад:



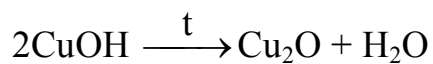
Реакція з солями купруму (II) відбувається послідовно через утворення комплексних сполук синього кольору, причому у координації беруть участь атоми кисню спиртових груп вуглеводів



При нагріванні розчину перебігає окисно-відновна реакція

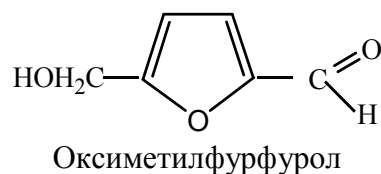


Купрум (I) гідроксид при подальшому нагріванні втрачає молекулу води і переходить у купрум (I) оксид червоного кольору:

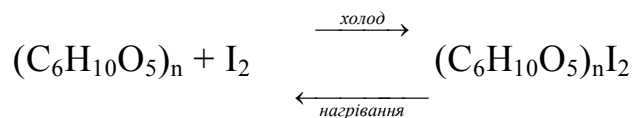


Дисахарид сахароза і полісахарид крохмаль реакцій відновлення не дають, оскільки обидві альдегідні групи їх зв'язані.

Фруктоза та інші кетози як у вільному стані, так і відщеплені від більш складних сполук (наприклад, сахарози), дають вишнево-червоне забарвлення при нагріванні з хлоридною кислотою і резорцином (*проба Селіванова*), причому колір зумовлений реакцією резорцину з оксиметилфурфуролом, що утворюється:



Полісахариди, наприклад крохмаль, легко виявляють по утворенню комплексної адсорбційної сполуки синього кольору при взаємодії з йодом



## 3.2. Дослідна частина роботи

### Матеріали досліджень

- **Розчини вуглеводів:** глюкози (1 %), сахарози (3 %), крохмалю (1 %), лактози (3 %), рибози або арабінози (5 %);
- **Реактиви:**
  - концентрована сульфатна кислота, 1 %-й спиртовий розчин  $\alpha$ -нафтолу;
  - 5 %-й розчин натрій гідроксиду, 5 %-й розчин купрум сульфату;
  - реактив Барфуда (купрум ацетат у розчині ацетатної кислоти льодової);
  - 4 %-й розчин бензидину в ацетатній кислоті;
  - 2 %-й розчин кобальт хлориду;
  - 25 %-й розчин хлоридної кислоти, резорцин;
  - розчин Люголя (розчин йоду в калій йодиді);

### Дослід 1. Реакція з $\alpha$ -нафтолом (Моліша)

#### Хід роботи

У три пробірки налийте по 1 мл перелічених розчинів вуглеводів, додайте по 2...3 краплі розчину  $\alpha$ -нафтолу та обережно по стінці налийте по 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. Що спостерігають на межі між кислотою та розчином вуглеводу?

### Дослід 2. Реакція Троммера

#### Хід роботи

#### 2.1. Окиснення вуглеводів

У пробірки налийте по 1 мл розчинів перелічених вуглеводів та додайте по 1 мл натрій гідроксиду і по 2...3 краплі розчину купрум сульфату. Якого кольору набувають розчини у пробірках? Які комплекси дають таке забарвлення?

Розчини в пробірках обережно нагрійте до кипіння та спостерігайте зміну їх стану. Які сполуки послідовно утворюються в пробірках?

Складіть рівняння реакцій, що перебігають за участю вуглеводів.

При виконанні досліду необхідно пам'ятати, що розчин купрум сульфату не слід давати в надлишку, тому що при нагріванні може утворитися купрум (II) оксид чорного кольору, який маскуватиме позитивну реакцію.

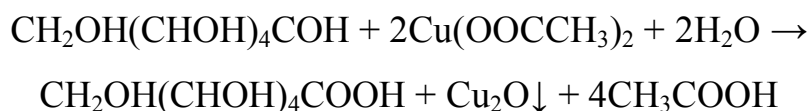
## **2.2. Відновлення вуглеводів**

В пробірку налейте 2...3 мл розчину глюкози й додайте 1...2 мл розчину сульфатної кислоти з  $\omega(\text{H}_2\text{SO}_4) = 10\%$  і шматочок цинку. Складіть рівняння хімічних реакцій, що відбуватимуться, та занотуйте спостереження.

Після закінчення реакції відділіть отриманий розчин від осаду та забруднень й повторіть з фільтратом дослід 2.1. В чому полягає відмінність отриманих результатів?

## **Дослід 3. Реакція Барфуда**

Принцип методу аналогічний до описаного в попередньому досліді, але його проводять в нейтральному або слабкокислому середовищі. Реакція Барфуда позитивна лише з моносахаридами, що пов'язано з їх більш вираженими відновними властивостями:



### **Хід роботи**

У дві пробірки налейте по 1 мл розчинів глюкози та лактози, додайте по 1 мл реактиву Барфуда та кип'ятіть протягом 5 хв на водяній бані. В котрій з пробірок спостерігається позитивна реакція? З чим це пов'язано? Чи дає ця реакція можливість відрізнити дисахариди від моносахаридів?

## **Дослід 4. Реакція на пентози**

Усі пентози під час кип'ятіння в кислому середовищі дегідрують з утворенням фурфуролу, який і дає червоне забарвлення з бензидином або зелене з орцином.

### **Хід роботи**

У пробірку налейте 0,5 мл розчину бензидину й додайте 1...2 краплі розчину арабінози або рибози. Пробірку гріти на водяній бані протягом 5 хв. Як змінюється забарвлення розчину? Що вказує на наявність пентози у розчині?

### **Дослід 5. Реакція на сахарозу**

При додаванні кобальт (II) нітрату або кобальт (II) хлориду у лужному середовищі до розчину сахарози утворюється комплексна сполука фіолетового кольору, за будовою подібна до комплексів вуглеводів з іонами купруму (II).

### **Хід роботи**

У дві пробірки налейте по 2 мл розчинів сахарози і глюкози, по 1 мл натрій гідроксиду та декілька крапель розчину кобальт нітрату. Як змінюється забарвлення розчинів у пробірках? Чи належить ця реакція до специфічних і є позитивною тільки з сахарозою?

### **Дослід 6. Реакція на фруктозу (реакція Селіванова)**

#### **Хід роботи**

У пробірки налейте досліджувані розчини вуглеводів, додайте в кожную по 1 мл хлоридної кислоти і кілька кристалів резорцину, нагрійте. Якого кольору набувають розчини у кожній пробірці? До якого типу можна віднести проведену реакцію?

### **Дослід 7. Реакція на полісахариди**

#### **Хід роботи**

У пробірки налейте по 0,5 мл досліджуваних розчинів, додайте до кожної по 1...2 краплі розчину Люголя. В якій пробірці змінюється забарвлення розчину? Чому це відбувається?

*Складіть рівняння реакцій, що відбуваються у кожному досліді. Запропонуйте форму таблиці для занотування результатів експериментів. Зробіть висновки з проведених дослідів.*

### 3.3. Питання та вправи для контролю

1. Які функціональні групи входять до складу альдогексоз? Чим вони відрізняються від кетогексоз?
2. Як відрізнити розчин глюкози від розчину гліцерину або будь-якого багатоатомного спирту?
3. За допомогою яких реакцій можна визначити наявність сахарози у розчині?
4. Наведіть якісну реакцію на полісахариди.
5. Складіть рівняння реакцій гідролізу сахарози, крохмалю, целюлози та вкажіть умови їх перебігу.
6. Чим різняться глюкоза і фруктоза? Якими реакціями можна визначити їх наявність у розчині?
7. Складіть рівняння окисно-відновних реакцій, характерних для глюкози. Чи будуть пербігати такі реакції за участю фруктози? Чому?
8. Які форми існування моносахаридів у розчинах вам відомі? Наведіть приклади їх взаємних перетворень.
9. Складіть рівняння реакцій перетворень за варіантами, наведеними у табл.3.2.

Таблиця 3.2 – Варіанти завдань

№	Послідовні перетворення
1	$\text{CO}_2 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \xrightarrow{\text{дріжджі}} ? \rightarrow \text{CO}_2 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$
2	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow ? \rightarrow \text{CH}_3\text{COH} \rightarrow ? \rightarrow \text{CH}_3\text{COONa}$
3	$(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n \rightarrow ? \rightarrow \text{Cu}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$
4	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_4 \rightarrow \text{CO}_2 \rightarrow ? \rightarrow (\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$
5	$\text{CO}_2 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow (\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n \rightarrow ? \rightarrow \text{CH}_2\text{OH}-(\text{CHOH})_4-\text{COOH}$
6	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \rightarrow ? \rightarrow \text{CH}_2\text{OH}-(\text{CHOH})_4-\text{COOH} \rightarrow \text{CO}_2 \rightarrow \text{O}_2$
7	$(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n \rightarrow ? \rightarrow \text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \rightarrow \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$
8	$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5 \rightarrow \text{Ag} \rightarrow \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow (\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$
9	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \xrightarrow{\text{бактерії}} ? \rightarrow \text{CO}_2 \rightarrow \text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O}$
10	$(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n \rightarrow ? \rightarrow \text{CH}_3\text{CHOHCOOH} \rightarrow \text{CO}_2 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$
11	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11} \rightarrow ? \rightarrow \text{CuOH} \rightarrow \text{H}_2\text{O} \rightarrow ?$
12	$\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{14}\text{O}_6 \rightarrow \text{H}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$

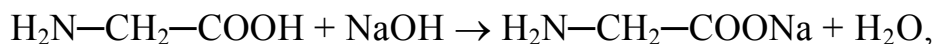
10. Складіть формулу трисахариду, що містить послідовно:

- $\alpha$ -глюкозу,  $\alpha$ -фруктозу,  $\alpha$ -глюкозу;
- $\alpha$ -фруктозу,  $\beta$ -глюкозу,  $\beta$ -фруктозу;
- $\beta$ -фруктозу,  $\alpha$ -глюкозу,  $\beta$ -глюкозу;
- $\beta$ -глюкозу,  $\beta$ -глюкозу,  $\alpha$ -глюкозу;
- $\alpha$ -фруктозу,  $\beta$ -фруктозу,  $\alpha$ -глюкозу;
- $\beta$ -фруктозу,  $\beta$ -глюкозу,  $\beta$ -глюкозу;
- $\beta$ -фруктозу,  $\beta$ -глюкозу,  $\beta$ -фруктозу.

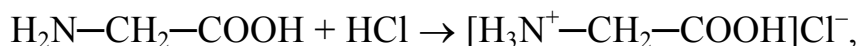
## 4. АМІНОКИСЛОТИ ТА БІЛКИ

### 4.1. Будова та основні хімічні властивості

**Амінокислоти** – органічні сполуки, що одночасно містять в молекулі карбоксильну ( $-\text{COOH}$ ) та аміно- ( $\text{H}_2\text{N}-$ ) групи. Наявність цих груп надає амінокислотам як кислотні

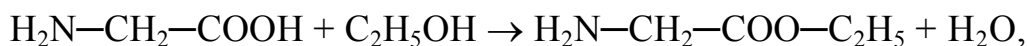


так і основні властивості

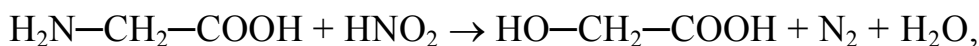


тобто вони є амфотерними сполуками.

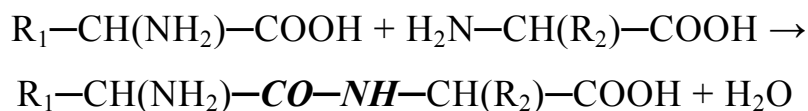
Для амінокислот характерні реакції утворення складних ефірів



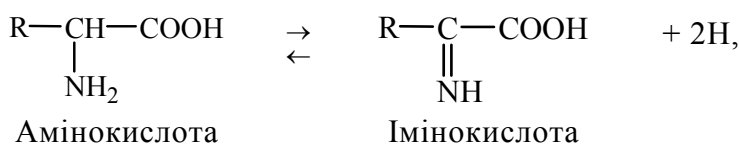
гідроксікислот



а також реакції поліконденсації з утворенням **пептидних зв'язків** за участю груп  $-\text{COOH}$  та  $-\text{NH}_2$ :



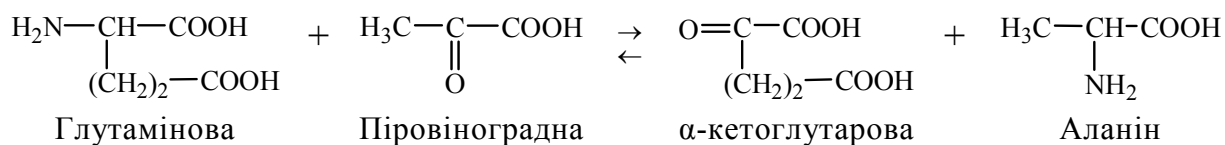
Метаболізм амінокислот ґрунтується на реакціях **дезамінування** та **трансамінування**. Дезамінування перебігає в дві послідовні стадії, першою з яких є дегідрогенізація за участю ферментів (оксидаз амінокислот)



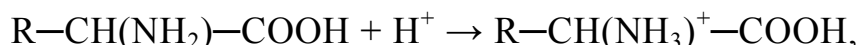
а наступною – безферментативний гідроліз утвореної імінокислоти



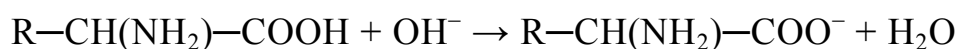
Трансамінування полягає у перенесенні аміногрупи та обміні її на кетогрупу та відбувається за присутності ферментів амінотрансфераз



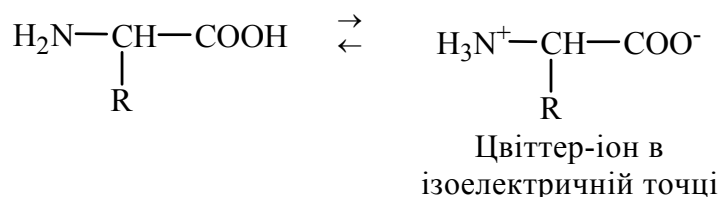
У розчинах амінокислоти можуть існувати у формі аніонів, катіонів та цвіттер- або біполярних іонів залежно від рН: наприклад, у кислому середовищі домінують катіонні форми амінокислот



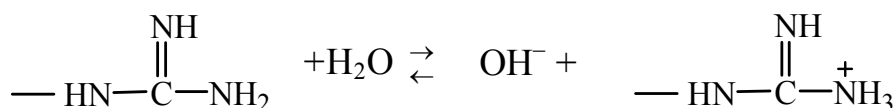
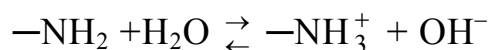
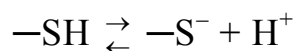
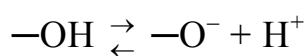
а у лужному – аніонні



Значення рН розчину, за яким амінокислота перебуває у вигляді **цвіттер-іона**, і є електронейтральною, тобто не переміщується у зовнішньому електричному полі, відповідає **ізоелектричній точці pI** (ІЕТ) амінокислоти (табл.4.1).

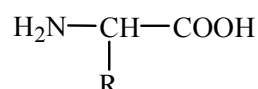


До складу радикала R– можуть входити й інші функціональні групи, які дисоціюють за такими механізмами:



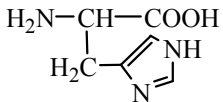
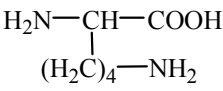
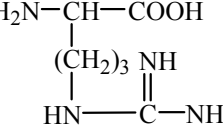
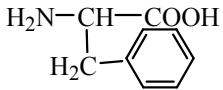
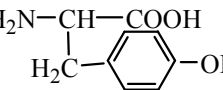
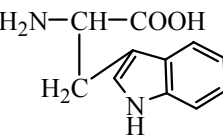
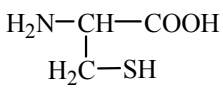
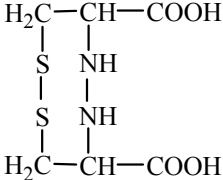
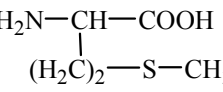
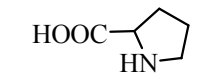
Кількісно таку дисоціацію характеризують константою дисоціації  $K_R$ .

Таблиця 4.1 – Ізоелектричні точки амінокислот



Амінокислота	Символи		Будова	pK <sub>1</sub> α-COO <sup>-</sup>	pK <sub>2</sub> α-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	pK <sub>R</sub> R-	pI
	Укр.	Лат.					
1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Аліфатичні амінокислоти</b>							
Гліцин	Глі	<i>Gly, G</i>	$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}$	2,34	9,6	–	5,97
Аланін	Ала	<i>Ala, A</i>	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{H}_3\text{C} \end{array}$	2,35	9,69	–	6,02
Валін	Вал	<i>Val, V</i>	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \end{array}$	2,32	9,62	–	5,97
Лейцин	Лей	<i>Leu, L</i>	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}(\text{CH}_3)_2 \end{array}$	2,32	9,62	–	5,97
Ізолейцин	Іле	<i>Ile, I</i>	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{C}_2\text{H}_5-\text{CH}-\text{CH}_3 \end{array}$	2,36	9,68	–	6,02
<b>Гідроксоамінокислоти</b>							
Серин	Сер	<i>Ser, S</i>	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{HOH}_2\text{C} \end{array}$	2,21	9,15	–	5,68
Треонін	Тре	<i>Thr, T</i>	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{HO}-\text{CH}-\text{CH}_3 \end{array}$	2,69	9,1	–	5,6
<b>Двоосновні амінокислоти</b>							
Аспарагінова	Асп	<i>Asp, D</i>	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2-\text{COOH} \end{array}$	<b>2,09*</b>	9,82	<b>3,86</b>	<b>2,98</b>
Глутамінова	Глу	<i>Glu, E</i>	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ (\text{CH}_2)_2-\text{COOH} \end{array}$	<b>2,19</b>	9,67	<b>4,25</b>	<b>3,22</b>
<b>Аміди двоосновних амінокислот</b>							
Аспарагін	Асн	<i>Asn, N</i>	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ \text{CH}_2-\text{CONH}_2 \end{array}$	2,02	8,8	–	5,41
Глутамін	Глн	<i>Gln, Q</i>	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\   \\ (\text{CH}_2)_2-\text{CONH}_2 \end{array}$	2,17	9,13	–	5,7

Продовження табл. 4.1

Амінокислоти з катіоноутворюючими (нітрогенвмісними) групами в радикалі –R							
1	2	3	4	5	6	7	8
Гістидин	Гіс	<i>His, H</i>		1,82	<b>9,17</b>	<b>6,0</b>	<b>7,59</b>
Лізин	Ліз	<i>Lys, K</i>		2,18	<b>8,95</b>	<b>10,53</b>	<b>9,74</b>
Аргінін	Арг	<i>Arg, R</i>		2,17	<b>9,04</b>	<b>12,48</b>	<b>10,76</b>
Ароматичні амінокислоти							
Фенілаланін	Фен	<i>Phe, F</i>		1,83	9,13	–	5,48
Тирозин	Тир	<i>Tyr, Y</i>		<b>2,2</b>	<b>9,11</b>	10,07	<b>5,66</b>
Триптофан	Три	<i>Trp, W</i>		2,38	9,39	–	5,89
Сульфурвмісні амінокислоти							
Цистеїн	Цис	<i>Cys, C</i>		<b>1,71</b>	<b>8,9</b>	8,5	<b>5,07</b>
Цистин	–						5,06
Метіонін	Мет	<i>Met, M</i>		2,28	9,21		5,74
Імінокислота							
Пролін	Про	<i>Pro, P</i>		2,28	9,21		6,03

\* Виділено константи дисоціації функціональних груп, використаних при розрахунках ІЕТ амінокислоти

Значення ІЕТ амінокислоти залежить від констант дисоціації карбоксильної та аміногрупи (або інших функціональних груп) і може бути розраховано, як

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2},$$

де  $pK_1 = pK_{\text{COOH}}$ ;  $pK_2 = 14 - pK_{\text{NH}_2}$  або  $pK_2 = 14 - pK_{\text{R}}$ ,

$K_{\text{COOH}}$ ,  $K_{\text{NH}_2}$  і  $pK_{\text{R}}$  – показники дисоціації відповідних груп.

**Білки** – біополімери, утворені  $\alpha$ -амінокислотами, тобто вони є поліпептидами. У білках виявлено 20 різних амінокислот, які за хімічною природою поділяють на ациклічні та циклічні, за фізико-хімічними властивостями – на полярні й неполярні, а за біологічним значенням – на **замінні** й **незамінні**. Незамінні амінокислоти не синтезуються в організмі й повинні надходити з харчовими продуктами (аргінін, гістидин, лізин, триптофан, фенілаланін, метіонін, треонін, лейцин, ізолейцин, валін, тирозин).

Білки є важливою складовою клітин будь-якого живого організму, їм належить важлива роль у процесах життєдіяльності. Їх поділяють на **протеїни** – прості білки, що при гідролізі утворюють тільки амінокислоти, та **протеїди** – складні речовини, що крім амінокислотних залишків містять вуглеводи, нуклеотиди тощо.

Основні фізико-хімічні властивості білків: буферні та колоїдні, гідрофільність, здатність до гідратації, амфотерність тощо. Внаслідок взаємодії з водою білки переходять у розчин, утворюючи гомогенні системи. Існує два основних фактори стабілізації білків у розчинах: заряд і гідратна оболонка, яка формується за рахунок орієнтації диполів води навколо гідрофільних залишків амінокислот. Встановлено, що група  $-\text{OH}^-$ , що входить до складу цих залишків, утримує 2 молекули води;  $-\text{COOH}$  – 3 молекули; пептидний зв'язок – 4.

Заряд білкової молекули виникає в результаті іонізації (дисоціації) функціональних груп бічних радикалів амінокислотних залишків і залежить від природи і складу розчину. Значення рН середовища, за яким у молекули білка відсутній електричний заряд, називають **ізоелектричною точкою білка (ІЕТ або pI)**.

Основними **біологічними функціями білків**, пов'язаними з їх властивостями, є:

- **каталітична активність** у біохімічних перетвоєннях притаманна **ферментам** або **ензімам**;
- **регуляторна** – білки регулюють експресію генів, ріст та розвиток організму, а **гормони** впливають на фундаментальні механізми регуляції метаболізму;
- **захисна функція** – імуноглобуліни (антитіла) специфічно зв'язуються з носіями чужорідної генної інформації (антигенами) та нейтралізують їх, білок тромбін забезпечує зсілість крові;
- **транспортні** білки забезпечують транспортування органічних і неорганічних речовин внутрішніми транспортними шляхами організму (гемоглобін, сироватковий альбумін) та перенесення через плазматичні мембрани клітин;
- **структурні** білки формують біологічні мембрани, цитоскелет, ядерний та міжклітковий матрикс;
- **скорочувальні** білки (актин, міозин) відповідають за скорочення м'язів;
- **метаболічна** – при катаболізмі білків утворюються пептиди та вільні амінокислоти, що є матеріалом для синтезу багатьох біоорганічних речовин.

**Діагностичне значення.** У здорової людини вміст білків у крові становить 60...80 г/л. Зміну вмісту білків у сироватці крові спостерігають у разі гальмування процесів їх синтезу, порушень водного балансу, посиленого розпаду та втрат білків, при раковій кахексії та хронічних патологічних процесах.

Гіпопротеїнемію (<60 г/л) спостерігають при нефротичному синдромі, синдромі мальабсорбції (ентерит, хронічний панкреатит), захворюваннях шкіри (опіки, екзема), масивних крововтратах, затримці солей і води (хронічні захворювання нирок), під час голодування. Гіперпротеїнемію (>80 г/л) спостерігають при хронічних запальних процесах (ревматоїдний артрит, дифузні захворювання сполучної тканини – колагенози, бронхоектаз, цироз печінки), а також при станах та захворюваннях, які супроводжуються дегідратацією (діарея, цукровий діабет). Здорові люди практично не виділяють білки із сечею, тому їх поява (протеїнурія) свідчить про захворювання нирок або сечових шляхів.

#### 4.2. Якісні реакції амінокислот та білків

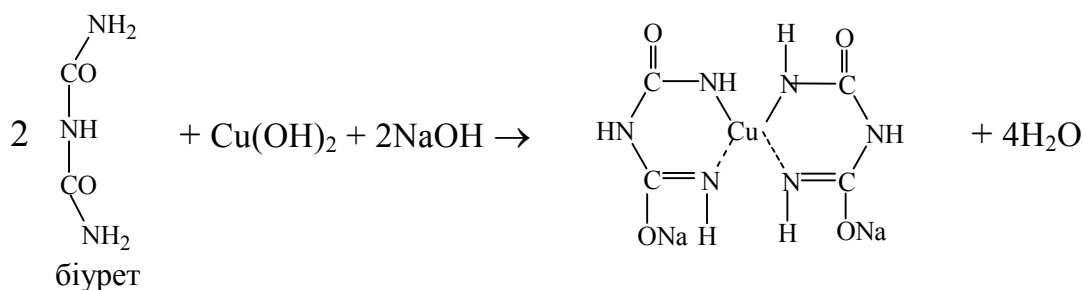
Амінокислоти можуть вступати в специфічні реакції, характерні для радикалів (*R*) (ксантопротеїнову, Міллона, Фоля тощо). Такі реакції спостерігають і для білків, що містять відповідні амінокислоти, тому вони є якісними. Кольорові реакції на білки є якісними на пептидний зв'язок та функціона-

льні групи амінокислот, що входять до складу білків, і використовуються у лабораторній практиці для ідентифікації та кількісного визначення білків та окремих амінокислот. Існує два типи кольорових реакцій:

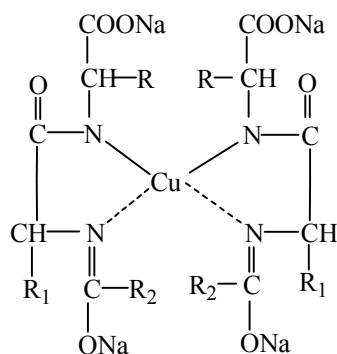
- **універсальні** – біуретова (на пептидний зв'язок) та нінгідрінова (на всі амінокислоти);
- **специфічні** – тільки на окремі амінокислоти як у молекулах білків, так і в розчинах окремих амінокислот.

### Біуретова реакція (реакція Піотровського)

Білки й інші речовини, що мають пептидні зв'язки, утворюють у лужно-середовищі за присутності солей купруму забарвлені комплекси червоно-фіолетового або синьо-фіолетового кольору, тобто дають біуретову реакцію, яка дістала свою назву від речовини „біурету”, що є похідною від сечовини, та містить пептидний зв'язок  $-\text{CO}-\text{NH}-$



Біуретова реакція характерна тільки для сполук з не менш, ніж двома пептидними зв'язками. Фіолетова комплексна сіль поліпептидів має будову:



Окремі амінокислоти (аспарагін, серин, треонін, гістидин) не дають цієї реакції, однак за високої їх концентрації в розчині біуретова реакція може виявити ці амінокислоти, оскільки вони мають групи  $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ .

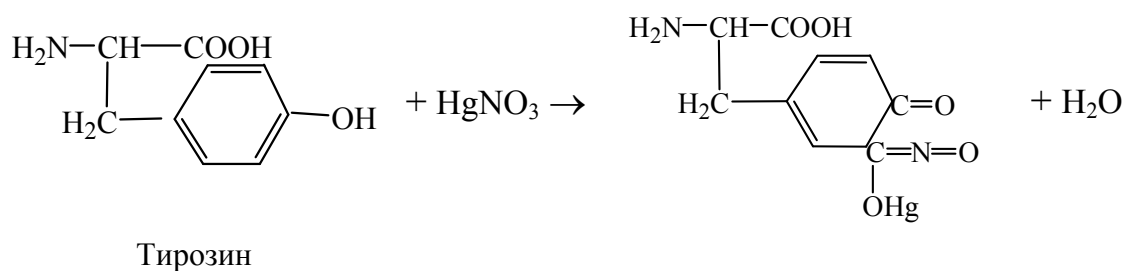
Забарвлення комплексу залежить від довжини пептидного ланцюга: ди-

пептиди дають синій комплекс, трипептиди – фіолетовий, а пептиди з довжиною ланцюга від чотирьох амінокислотних залишків і більше – червоний.

Цю реакцію використовують у клінічній практиці для виявлення наявності білків у біологічних рідинах.

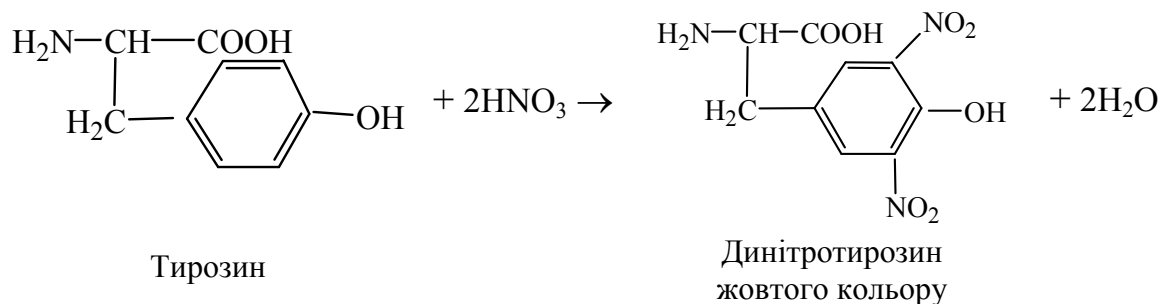
### Реакція Міллона

Реакція Міллона є якісною реакцією на білки, що містять амінокислоту тирозин, до складу якої входить гідроксо-група. Група –ОН, взаємодіючи з реактивом Міллона, що містить суміш нітратних солей гідраргіриму, при нагріванні дає сполуку гідраргіриму цеглисто-червоного кольору. Якісна реакція характерна для більшості білків завдяки присутності в їх складі тирозину, однак желатин, протаміни та деякі інші білки не містять залишків тирозину



### Ксантопротеїнова реакція

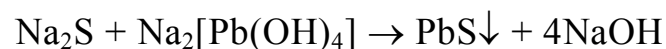
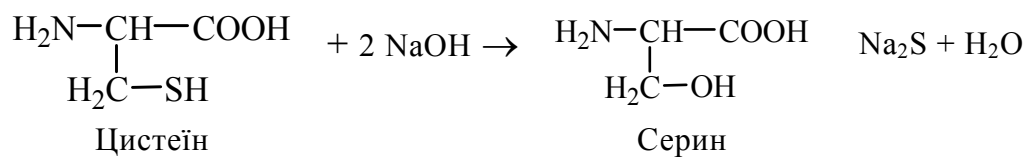
Ксантопротеїнова реакція характерна для ароматичних амінокислот, у яких під дією нітратної кислоти бензольне кільце нітрується з утворенням нітросполук жовтого кольору, які при додаванні розчину лугу забарвлюються у жовтогарячий колір.



### Реакція на амінокислоти, що містять Сульфур (реакція Фоля)

До складу більшості білків входять сульфурвмісні амінокислоти. Реакція Фоля виявляє в білках амінокислоти цистеїн і цистин, що містять слабкозв'язаний сульфур, а метіонін не дає такої реакції, оскільки в ній сульфур зв'язаний дуже міцно. Механізм реакції полягає в тому, що при кип'ятінні білка з основами останні руйнують цистин і цистеїн, відщеплюючи від них сульфідіони. Іони плюмбуму утворюють з останніми чорний або бурий (залежно від концентрації білка і сульфурвмісних амінокислот) осад плюмбум сульфід.

Взаємодія білка з реактивом Фоля відбувається за такою схемою:



### Реакція на білки, що містять фосфор або фосфатну кислоту

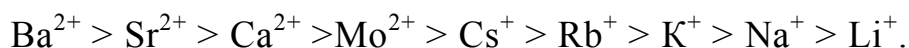
Фосфатну кислоту виявляють за специфічною реакцією з молібдатним реактивом, внаслідок якої утворюється осад амоній фосформолібдата лимонно-жовтого кольору



### 4.3. Осадження та розділення білків

Білки при розчиненні утворюють колоїдні системи. Розчинність білків зумовлена їх амінокислотним складом, особливостями структурної організації, властивостями розчинників та складом розчину. Зменшення розчинності призводить до коагуляції та осадження білків. Розрізняють **зворотне** і **незворотне** (денатурацію) **осадження** білків. **Зворотне осадження** проводять високими концентраціями солей електролітів (висолювання), спиртом, ацетоном (за низької температури і короткочасної дії). Нейтральні солі здатні як підвищувати розчинність білків у воді за рахунок взаємодії їх іонів з полярними групами білків, так і зменшувати її. Осадження зумовлене втратою гідратної

оболонки молекулою білка та нейтралізацією її заряду, тобто в ізоелектричній точці білки є найменш стійкими. Ступінь осадження білків солями лужних і лужноземельних металів залежить від радіуса іонів та їх здатності утворювати гідратні оболонки. Ліотропні ряди аніонів і катіонів (ряди Гофмейстера) в більш лужному порівняно з ізоелектричною точкою білка середовищі мають вигляд



Білки сироватки крові можна розділити розчином амоній сульфату: глобуліни осаджують 50 %-им розчином, альбуміни – 100 %-им.

Під час денатурації відбувається руйнування нативної (природної) просторової структури білкової молекули, що призводить до зменшення або повної втрати їх розчинності, зміни хімічних властивостей білків, втрати біологічної активності. Денатурація не супроводжується руйнуванням первинної структури білка, але є незворотним процесом. Денатурацію викликають катіони важких металів, органічні кислоти (трихлорацетатна – ТХАК, сульфосаліцилова), танін, концентровані мінеральні кислоти, нагрівання, ультрафіолетове світло, іонізуюче випромінювання.

Солі важких металів (гідраргіруму, плюмбуму, аргентуму, купруму тощо) легко осаджують білки з розчинів, утворюючи з ними міцні солеподібні й комплексні сполуки. Для осадження білків солями важких металів, на відміну від висолювання, достатньо низьких концентрацій цих солей. При додаванні до білків надлишку плюмбум ацетату або купрум сульфату утворюються розчинні комплексні сполуки, тому для дослідження реакцій осадження такі розчини слід додавати краплинно. В надлишку цих солей відбувається надмірна адсорбція іонів важкого металу, що призводить до перезарядки білкового комплексу, внаслідок чого позитивно заряджені частинки білка переходять до розчину. Такі самі явища спостерігають і при додаванні розчину натрій хлориду високої концентрації до сполук важких металів з білком; водночас у первинному розчиннику (воді) або в розведених розчинах солей осаджені білки розчинити не вдається. Отже, реакції осадження білків солями важких металів слід розглядати як необоротні процеси денатурації білка.

Більшість білків можна повністю осадити з водного розчину мінераль-

ними й органічними кислотами. Денатурація білка кислотами зумовлена дегідратацією білкових частинок і утворенням комплексних солей з кислотами. В надлишку всіх мінеральних кислот, крім нітратної, утворений осад розчиняється. Реакція з нітратною кислотою лежить в основі якісного і кількісного визначення білка в сечі.

Майже всі білки при нагріванні осаджуються, тому їх можна виявити, прокип'ятивши у нейтральному або слабко кислому середовищі. Температура осадження залежить від природи білка і знаходиться в інтервалі від 50...55 °C до навіть нетривалого кип'ятіння. Денатурація білка при нагрівання зумовлена зміною внутрішньої структури молекул білка і втратою ними своїх природних (нативних) властивостей.

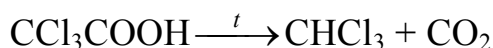
Осадження білків при нагріванні значною мірою залежить від реакції середовища та наявності солей. Так, у сильнокислому або сильнолужному розчині коагуляцію білка можна викликати додаванням до розчину достатньої кількості нейтральної солі. Стійкість білків у сильнокислому розчині пояснюють перезарядкою міцел, а стабільність білкового колоїду в лужному середовищі зумовлена негативним зарядом частинок.

Коагуляція білків найвища в ізоелектричній точці (ІЕТ), яка для більшості білків перебуває в слабкокислому середовищі (рН приблизно 5,0). Виняток становлять гістони й протаміни, ІЕТ яких знаходиться у лужному середовищі (рН приблизно 8,0).

Явище денатурації широко використовують у практиці: денатуровані білки краще піддаються дії протеолітичних ферментів, під час денатурації відбувається інактивація ферментів, гормонів, вірусів.

При отруєнні солями важких металів для лікування використовують молоко, казеїноген якого зв'язує ці сполуки. Під дією хлоридної кислоти шлункового соку перебігає денатурація білків їжі, внаслідок чого вони втрачають тканинну й видову специфічність і швидше гідролізують. У клінічній лабораторії білки сироватки крові осаджують органічними кислотами. Широке практичне застосування в клінічних дослідженнях здобули сульфосаліцилова та трихлорацетатна (ТХАК) кислоти, які є високочутливими і специфічними реактивами на білки. Сульфосаліцилову кислоту часто використовують у клінічній практиці для виявлення малого вмісту білка в сечі, а також у різних біологічних рідинах (чутливість реакції – 1:50000). На відміну від сульфосаліцилової, ТХАК оса-

джує білки, але не діє на продукти їх розпаду. ТХАК (з масовою часткою 2,5...5 %) часто використовують для повного видалення білків із біологічних рідин (наприклад, із сироватки крові). Властивість ТХАК осаджувати білки особливо важлива при визначенні окремо нітрогену білка й нітрогену низькомолекулярних продуктів (амінокислот, сечовини так званого "залишкового нітрогену" (небілкового)). Для подальшого аналізу фільтрату після осадження білків ТХАК видаляють шляхом кип'ятіння, оскільки вона розкладається на легкі сполуки – карбон (IV) оксид і хлороформ



#### 4.4. Електрофорез білків на папері

Біологічні тканини містять набір специфічних білків, які є гетерогенними за складом, будовою та функціями. Білки сироватки крові складаються з *альбумінів* і *глобулінів*, а глобуліни поділяються на фракції, основними з яких є  $\alpha$ - ( $\alpha_1$ - і  $\alpha_2$ -),  $\beta$ - ( $\beta_1$ - і  $\beta_2$ -) і  $\gamma$ -глобуліни. Для розділення білків на окремі фракції використовують різні методи, зокрема електрофорез.

*Електрофорез* – це напрямлений рух дисперсних частинок у дисперсійному середовищі під впливом зовнішнього електричного поля. Методи *зонального електрофорезу* або *електрофорезу у підтримуючих середовищах* дають можливість розділяти суміші низько- і високомолекулярних сполук, зокрема біополімерів, у широкому діапазоні їх концентрацій. Метод оснований на наявності у кожного білка вільного електричного заряду і здатності переміщуватись у електричному полі з різною швидкістю. Величина електричного заряду, що є індивідуальною характеристикою білка, залежить від рН середовища та іонної сили розчину. В інтервалі рН = 8,5...8,6 усі білки сироватки крові мають негативний заряд і в електричному полі рухаються до анода. Тому для дослідів використовують буферні розчини, наприклад фосфатні з рН = 8,6 іонною силою 0,1...0,05.

Принцип методу: на стрічку фільтрувального паперу, змочену буферним розчином і закріплену між анодом і катодом, наносять суміш білків і підключають джерело струму. Молекули білка мігрують по стрічці у бік протилежного за зарядом електрода зі швидкістю, пропорційною величині їх вільного заряду і градієнту електричного поля.

При *електрофорезі на папері* як інертний носій використовують фільтрувальний папір, який для збільшення розв'язувальної сили насичують крохмальним гелем. Основними параметрами електрофорезу є напруга електричного поля, сила струму та час проведення досліджень. З підвищенням напруги зростає швидкість руху молекул і зменшується час експерименту, але може відбуватись зближення білкових фракцій, що негативно впливає на якість *фореграм*.

## 4.5. Дослідна частина роботи

### 4.5.1. Якісні реакції на амінокислоти та білки

#### Матеріали дослідження

- *розчини білків*: 1 %-і розчини яєчного білка, желатини, казеїну.
- *Реактиви*:
  - 10 %-й розчин натрій гідроксиду, 1 %-й розчин купрум сульфату;
  - реактив Міллона;
  - 20 %-й розчин нітратної кислоти, 20 %-й розчин натрій гідроксиду;
  - 30 %-й розчин натрій гідроксиду, 5 %-й розчин плюмбум ацетату;
  - 30 %-й розчин натрій гідроксиду; молібдатний реактив;
  - 7 %-й розчин купрум сульфату, 5 %-й розчин плюмбум ацетату, 5 %-й розчин ферум (III) хлориду;
  - 10 %-й розчин сульфосаліцилової кислоти, 5 %-й розчин ТХАК, 20 %-й розчин нітратної кислоти;
  - 1 %-й та 10 %-й розчини ацетатної кислоти, 10 %-й розчин натрій гідроксиду.

### Дослід 1. Біуретова реакція

#### Хід роботи

У три пробірки налейте по 1 мл розчинів білка, казеїну та желатини, до кожної з них додайте по 1 мл розчину натрій гідроксиду і по 5 крапель розчину купрум сульфату. Яким стає забарвлення розчинів?

Поясніть отримані результати. Зробіть висновок.

## **Дослід 2. Реакція Міллона**

### **Хід роботи**

У три пробірки налейте по 2 мл розчинів білка, казеїну та желатини, до кожної з них додайте декілька крапель реактиву Міллона і кип'ятити.

Поясніть отримані результати та зробіть висновки.

## **Дослід 3. Ксантопротеїнова реакція**

### **Хід роботи**

У три пробірки налейте по 1 мл розчинів білка, казеїну та желатини, до кожної з них додайте по 0,5 мл розчину нітратної кислоти та кип'ятіть протягом 30 с.

Поясніть отримані результати та зробіть висновки.

## **Дослід 4. Реакція на амінокислоти, що містять сульфур (реакція Фоля)**

### **Хід роботи**

У три пробірки налейте по 1 мл розчинів білка, казеїну та желатини, 4...5 крапель розчину натрій гідроксиду та обережно нагрійте протягом 2 хв. Після охолодження додайте 1 краплю розчину плюмбум ацетату.

Поясніть отримані результати та зробіть висновки.

## **Дослід 5. Реакція на білки, що містять фосфатну кислоту**

### **Хід роботи**

У три пробірки налейте по 1 мл розчинів білка, казеїну та желатини, 4...5 крапель розчину натрій гідроксиду та обережно грійте протягом 2 хв. Після охолодження додайте 2мл молібдатного реактиву і кип'ятіть 2...3 хв.

Поясніть отримані результати та зробіть висновки.

Внесіть результати дослідів до табл. 4.2.

**Таблиця 4.2 – Результати дослідів**

№	Назва реакції	Матеріал дослідження	Реактив	Забарвлення розчину	Тип амінокислоти
1.	Біуретова				
2.	Міллона				
3.	Ксантопротеїнова				
4.	Фоля				
5.	Молібдатна				

#### 4.5.2. Кількісний аналіз білків

Метод визначення вмісту білків оснований на біуретовій реакції та залежності інтенсивності забарвлення розчину від концентрації білків. Інтенсивність забарвлення визначається фотометричним методом за допомогою фотоелектроколориметра (ФЕК).

**Матеріал дослідження:** розчини білка з масовою часткою 0,25, 0,5 і 1,0 % та розчин невідомої концентрації; біуретов реактив.

**Обладнання:** штативи з пробірками; бюретки для розчинів білка та біуретова реактива; ФЕК; кювети на 10 мм.

##### Хід роботи

- У три сухі пробірки налейте по 1 мл розчинів білка з масовими частками 0,25; 0,5; 1 %, які використовують для побудови калібрувальної залежності. У четверту пробірку налейте 1 мл досліджуваного розчину білка невідомої концентрації.
- В кожен пробірку додайте по 4 мл біуретова реактива. Розчини в пробірках ретельно перемішайте та залиште на 20 хв за кімнатної температури для розвитку забарвлення.
- Визначте екстинкцію (оптичну густину та коефіцієнт пропускання) отриманих розчинів на ФЕК в кюветах на 10 мм з зеленим (540 нм) або червоним (750 нм) світлофільтром. Як контрольний використовуйте розчин біуретова реактива.
- Побудуйте калібрувальний графік: по осі абсцис відкладіть відомі концентрації стандартних розчинів білка, по осі ординат – відповідні значення оптичної густини або коефіцієнту пропускання.
- Визначте вміст білка у досліджуваному розчині за калібрувальним графіком, використовуючи значення оптичної густини або коефіцієнту пропускання цього розчину.

#### 4.5.3. Осадження білків

##### Дослід 7. Осадження білків солями важких металів

##### Хід роботи

- У три пробірки налейте по 1 мл розчину білка і осадіть його, додаючи по краплях у першу пробірку розчин купрум сульфату, у другу – плюмбум

ацетату, у третю – ферум (III) хлориду. Що спостерігається у кожній пробірці? Скільки крапель кожного розчину витрачено на утворення осаду?

- Додайте ще 15...20 крапель розчину купрум сульфату в першу пробірку. Що спостерігається?

Поясніть отриманий результат. Зробіть висновок.

## Дослід 8. Осадження білків кислотами

### Хід роботи

**1. Осадження мінеральними кислотами.** У пробірку налийте 1 мл розчину нітратної кислоти. Нахилиючи пробірку під кутом 45 °, обережно по стінці пробірки, щоб рідини не змішувались, влийте рівний об'єм розчину білка до утворення тонкого кільця.

**2. Осадження органічними кислотами.** У дві пробірки влийте по 1 мл білка, у першу додайте 6...8 крапель розчину сульфосаліцилової кислоти, у другу – 8...10 крапель розчину ТХАК. Чи утворюється в пробірках осад білка? Поясніть отримані результати. Зробіть висновок.

## Дослід 9. Осадження білка органічними розчинниками

**Матеріал дослідження:** 1 %-й розчин білка, ацетон, насичений розчин натрій хлориду.

### Хід роботи

У пробірку влийте 0,5 мл розчину білка і додайте 1 мл ацетону. Що спостерігається? Додайте до пробірки по краплях насичений розчин натрій хлориду до випадіння осаду білка. Внесіть результати дослідів до табл. 4.3.

**Таблиця 4.3 – Результати дослідів**

Назва осаджувачів	Принцип методу	Характер та колір осаду
1. Солі важких металів: <ul style="list-style-type: none"><li>• купрум сульфат</li><li>• плюмбум ацетат</li><li>• ферум (III) хлорид</li></ul>		
2. Мінеральна кислота: <ul style="list-style-type: none"><li>• нітратна</li></ul>		
3. Органічні кислоти: <ul style="list-style-type: none"><li>• сульфосаліцилова</li><li>• ТХАК</li></ul>		
4. Органічний розчинник: <ul style="list-style-type: none"><li>• ацетон</li></ul>		

Поясніть отримані результати. Зробіть висновок.

### Дослід 10. Визначення ізоелектричної точки казеїну

В ІЕТ білки найменш стійкі та легко коагулюють і випадають в осад. Тому для визначення ІЕТ необхідно знайти рН розчину, при якому спостерігається найсуттєвіше помутніння розчину білка.

**Матеріал дослідження:** 0,4 %-й розчин казеїну в натрій ацетаті ( $c = 0,2$  моль/л), розчин ацетатної кислоти ( $c = 0,2$  моль/л); дистильована вода.

#### Хід роботи

- ◆ Для приготування буферних розчинів з відомими значеннями рН налейте послідовно в 6 сухих пробірок реактиви відповідно до табл. 4.4.

Таблиця 4.4 – Результати дослідів

№ пробірки	Об'єми розчинів, мл			рН суміші	Ступінь помутніння
	CH <sub>3</sub> COOH, 0,2 моль/л	H <sub>2</sub> O	Розчин казеїну в CH <sub>3</sub> COONa		
1	4,8	1,2	0,6	3,8	
2	2,4	3,6	0,6	4,1	
3	1,2	4,8	0,6	4,4	
4	0,6	5,4	0,6	4,7	
5	0,3	5,7	0,6	5,0	
6	0,2	5,8	0,6	5,3	

- ◆ Розчини ретельно перемішайте та спостерігайте через 10...15 хв помутніння і утворення осаду. Відсутність помутніння занотуйте знаком «-», появу муті – знаком «+», значне помутніння – декількома знаками «+». В якій пробірці рН відповідає ІЕТ казеїну ?

Поясніть результати дослідів та зробіть висновки.

### Дослід 11. Вплив нагрівання та рН на осадження білка

#### Хід роботи

- ◆ У п'ять пронумерованих пробірок влийте по 1 мл розчину білка.
- ◆ Вміст першої пробірки нагрійте на газовому пальнику. Що спостерігається?
- ◆ У другу пробірку додайте 2...3 краплі 1 %-го розчину ацетатної кислоти і

нагрійте. Як змінюється стан розчину в пробірці?

- ◆ У третю пробірку додайте 3...4 краплі 10 %-го розчину ацетатної кислоти і нагрійте. Чи відбуваються зміни стану речовини у розчині навіть при кип'ятінні?
- ◆ У четверту пробірку додайте 2...3 краплі 10 %-го розчину ацетатної кислоти й 1 краплю насиченого розчину натрій хлориду. Занотуйте спостереження.
- ◆ У п'яту пробірку додайте 3...4 краплі 10 %-го розчину натрій гідроксиду і нагрійте. Чи відбуваються зміни стану речовини у розчині навіть при кип'ятінні?

Внесіть результати дослідів до табл. 4.5.

**Таблиця 4.5 – Результати дослідів**

№	Характер середовища	Зміна стану розчину	Форма існування молекули білка
1	Нейтральне		
2	Слабкокислое (1% $\text{CH}_3\text{COOH}$ )		
3	Кислое (10% $\text{CH}_3\text{COOH}$ )		
4	Кислое (10% $\text{CH}_3\text{COOH}+\text{NaCl}$ )		
5	Лужне (10% $\text{NaOH}$ )		

Поясніть результати та зробіть висновки.

## Дослід 12. Електрофорез білків на папері

Сироватку рівномірно наносять на папір на відстані 5...9 см від катодного блоку у вигляді лінії поперек стрічки. Процес проводять протягом 6 год при градієнті напруги 3...8 В/см паперової стрічки. Режим електрофорезу: 0,45...0,5 мкА/см ширини стрічки, напруга 190...210 В.

Електрофореграми для забарвлення поміщають у барвник (0,5 г бромфенолового синього і 10 г каломелю розчиняють в 1 л етанової кислоти з  $\omega(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,5\%$ ) на 10...15 хв, а потім відмивають протягом 30 хв розчином етанової кислоти. Бромфеноловий синій забарвлює всі білки у темно-зелений колір. Електрофореграму висушують на повітрі, а потім у сушильній шафі при температурі 105...110 °С.

Після забарвлення на електрофореграмі з'являються 4 плями, які відповідають альбумінам і  $\alpha$ -,  $\beta$ - і  $\gamma$ -глобулінам. Причому найшвидше до анода просуваються альбуміни, потім  $\alpha$ -, а за ними –  $\beta$ - і  $\gamma$ -глобуліни. Часто  $\gamma$ -глобуліни залишаються на місці, або навіть зсуваються до катода внаслідок безперервного руху компонентів буферного розчину в електричному полі.

Для визначення співвідношення між фракціями білків стрічку розрізають по межах зафарбованих ділянок. Кожну фракцію додають до окремої пробірки та заливають розчином лугу  $\omega(\text{NaOH}) = 0,01$  моль/л. Через 30 хв елюати колориметрують, на фоні контрольного розчину з екстракту незафарбованої ділянки фореграми. Значення екстинкцій кожної фракції складають і їх суму приймають за 100 %, після чого розраховують частку кожної фракції у складі білка.

#### 4.6. Питання та вправи для контролю

1. Молекули білка, що знаходяться в буферній суміші з 80 мл 0,24 %-го розчину натрій гідрофосфату та 120 мл 2,84 %-го розчину натрій дигідрофосфату, при електрофорезі рухаються до катода. В якій області рН знаходиться ізoeлектрична точка білка, якщо  $pK$  дигідрофосфат-іона становить 6,8?

2. Суміш гліцину, глутамінової кислоти та лізину розділяють електрофорезом на папері при рН = 6. Яка з наведених сполук зсувається до катода, яка – до анода, а яка не рухається?

3. Визначте ізoeлектричну точку білка, константа дисоціації кислотної групи якого в 1600 разів більше відповідної величини константи дисоціації для основної групи.

4. Ізoeлектрична точка желатину становить 6,2. Знайдіть співвідношення констант дисоціації кислотної та основної груп білка.

5. Ізoeлектрична точка козеїну становить 4,6. Знайдіть співвідношення констант дисоціації кислотної та основної груп білка.

6. До 1 л розчину гліцину з молярною концентрацією 1 моль/л в ізoeлектричній точці додали 0,3 моль хлоридної кислоти. Яким є значення рН отриманого розчину?

7. Напишіть реакції взаємодії лейцину з: а) натрій гідроксидом, б) етанолом, в) формальдегідом, г) аміаком, д) гідрогенхлоридом.

8. Поліпептид фалоїдин – отруйна складова мухомора. Напишіть його структурну формулу, виходячи зі скороченої, в якій стрілки спрямовані від амінокислот, що беруть участь в утворенні пептидного зв'язку карбоксильною групою (зв'язок між триптофаном та цистеїном виникає за рахунок пірольного кільця й групи  $\text{HS}^-$ )

Тре → три → 4-оксіпро → ала → цис → ілей → ала

9. Напишіть структурні формули поліпептидів:
- аланіл-лейцил-серил-тирозин;
  - гістидил-валіл-аргінін;
  - валіл-лізил-гістидил-аргінін
10. Визначте ізоелектричну точку білка, константа диссоціації основної групи якого в 2400 разів більше відповідної величини константи диссоціації кислотної групи.
11. Ізоелектрична точка альбуміну становить 5,8. Знайдіть співвідношення констант диссоціації кислотної та основної груп білка.
12. Складіть схему диссоціації амінокислот у кислому та лужному середовищі. Напишіть у вигляді біполярних іонів формули: аланіну, серину, фенілаланіну, треоніну.
13. Напишіть реакції взаємодії лизину з: а) натрій гідроксидом, б) етанолом, в) формальдегідом, г) аміаком, д) гідрогенхлоридом.
14. Ізоелектрична точка білка дорівнює 6,8. Як буде мігрувати цей білок в зовнішньому електричному полі при значеннях рН = 5,8 і 7,8? Чи буде однаковою електрофоретична швидкість?
15. Напишіть структурну формулу поліпептиду лиз-гли-ала-глу. Вкажіть напрямки його руху при електрофорезі на папері при рН = 1,9; 3,0; 6,5; 10.
16. Напишіть реакції взаємодії треоніну з: а) натрій гідроксидом, б) етанолом, в) формальдегідом, г) аміаком, д) гідрогенхлоридом.
17. В якому напрямку буде переміщуватись при електрофорезі молекула білка при рН = 8, якщо константа диссоціації основної групи білка в 1800 разів менша відповідної величини кислотної групи.
18. Напишіть реакції взаємодії валіна з: а) натрій гідроксидом, б) етанолом, в) формальдегідом, г) аміаком, д) гідрогенхлоридом.
19. В якому напрямку буде рухатися при електрофорезі молекула білка при рН = 4, якщо константа диссоціації кислотної групи білка в 2700 разів менша відповідної величини основної групи.
20. Ізоелектрична точка білка дорівнює 6,2. В якому напрямку (до катода або анода) буде мігрувати цей білок в зовнішньому електричному полі при значеннях рН = 5,4 і 7,4? Чи однаковою буде електрофоретична швидкість?
21. Ізоелектрична точка білка дорівнює 6,4. До якого з електродів буде мігрувати цей білок в зовнішньому електричному полі при значеннях рН = 5,1 і 8,1? Чи буде однаковою електрофоретична швидкість?
22. Визначте ізоелектричну точку тетрапептиду, який складається з аланіну, серину, фенілаланіну, треоніну.

23. Напишіть реакції взаємодії цистеїну з: а) натрій гідроксидом, б) етанолом, в) формальдегідом, г) аміаком, д) гідрогенхлоридом.

24. Скільки різних трипептидів можна синтезувати з амінокислот гліцину, аланіну, гістидину, якщо використовувати кожен амінокислоту тільки один раз. Напишіть структурну формулу одного з трипептидів. Дайте йому назву.

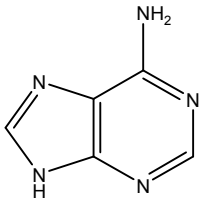
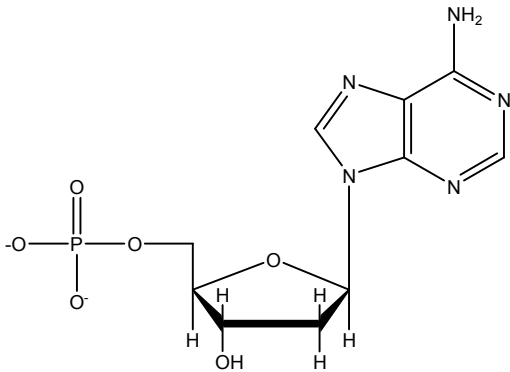
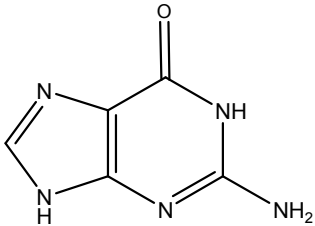
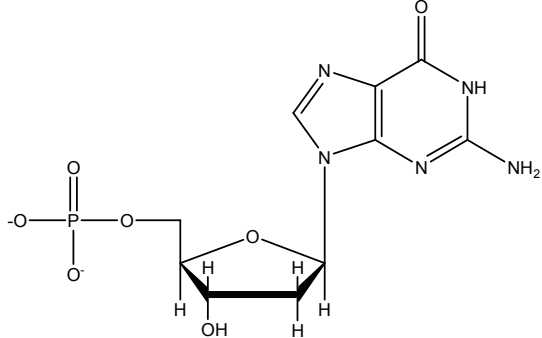
25. Трипептид глутатіон (глу-цис-глі) бере активну участь в окисно-відновних реакціях. Напишіть реакцію окиснення в структурній формі.

## 5. НУКЛЕОТИДИ ТА НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ

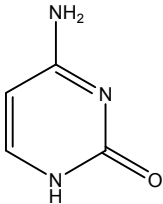
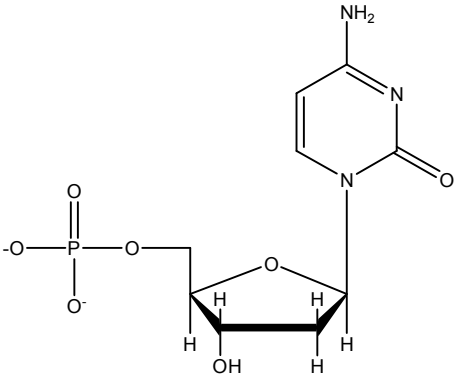
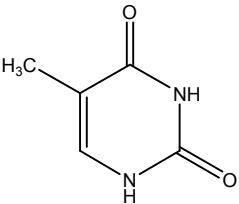
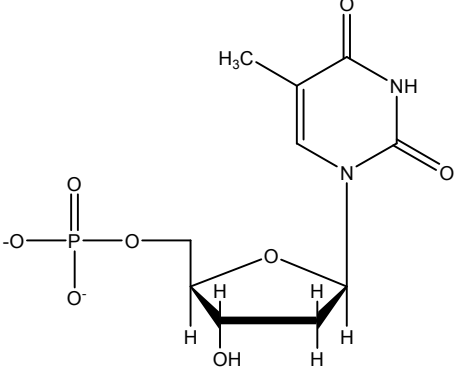
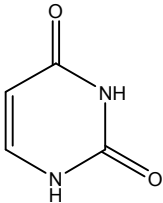
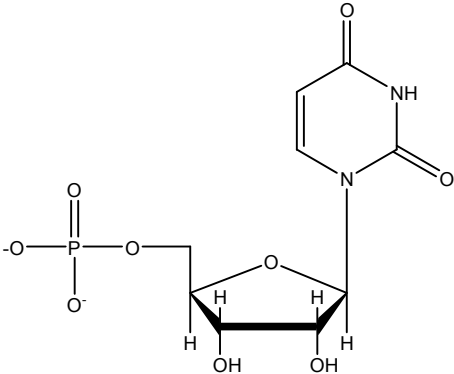
### 5.1. Структура та біологічна роль

**Мононуклеотиди** – це низькомолекулярні біоорганічні речовини, які складаються з нітрогенвмісної основи, моносахарида – рибози або дезоксирибози й залишків ортофосфатної кислоти. До нітрогенвмісних біологічно активних основ відносять гетероциклічні **пуринові** (аденін А, гуанін Г) і **піримідинові** (тимін Т, цитозин Ц, урацил У) похідні. Мононуклеотиди та їх похідні, такі як аденозинтрифосфат (АТФ), никотинаміддинуклеотид (НАД), никотинаміддинуклеотидфосфат (НАДФ) відіграють важливу роль в обміні речовин та енергетичній діяльності клітин.

Таблиця 5.1 – Нітрогенвмісні основи та мононуклеотиди

Основа	Мононуклеотид
1	2
 <p>Аденін</p>	 <p>Аденінмононуклеотидфосфат (АМФ)</p>
 <p>Гуанін</p>	 <p>Гуанінмононуклеотидфосфат (ГМФ)</p>

Продовження табл.5.1

1	2
 <p data-bbox="368 566 499 600">Цитозин</p>	 <p data-bbox="738 757 1321 790">Цитозинмононуклеотидфосфат (ЦМФ)</p>
 <p data-bbox="387 1149 483 1182">Тимін</p>	 <p data-bbox="762 1294 1297 1328">Тимінмононуклеотидфосфат (ТМФ)</p>
 <p data-bbox="379 1686 488 1720">Урацил</p>	 <p data-bbox="746 1832 1313 1865">Урацилмононуклеотидфосфат (УМФ)</p>

**Нуклеїнові кислоти** є полінуклеотидами, первинна структура яких визначається порядком з'єднання мононуклеотидів. Нуклеотиди в полінуклеотидному ланцюзі з'єднуються між собою 3'–5' або 5'–3'–фосфодиефірними зв'язками. **Рибонуклеїнова (РНК)** кислота містить у своєму складі моносахарид рибозу, а **дезоксирибонуклеїнова (ДНК)** – дезоксирибозу. Первинна структура їх також відрізняється тим, що до складу РНК крім аденіна, гуаніна та цитозина входить урацил, а у ДНК – замість нього – тимін.

Вторинна біспіральна структура РНК є полінуклеотидним ланцюгом, який утворюється за рахунок взаємодії окремих комплементарних ділянок з утворенням водневих зв'язків між нітрогенвмісними основами. РНК поділяють на рибосомні (рРНК); транспортні (тРНК); матричні (мРНК), або інформаційні (іРНК) та вірусні.

Функції РНК:

- **Рибосомні** РНК формують у рибосомах нуклеопротеїнові комплекси з білками та утворюють структури для синтезу поліпептидних ланцюгів та його регулювання.
- **Транспортні** РНК вибірково зв'язують та транспортують білкові амінокислоти в рибосоми. Для транспортування кожної амінокислоти в клітині є хоча б одна специфічна транспортна РНК (т-РНК), що складається з 75 – 85 нуклеотидів. На даний момент ретельно вивчено шістдесят відкритих т-РНК і встановлено їх первинну структуру.
- **Матричні**, або **інформаційні** РНК передають інформацію від ДНК до білок-синтезуючого апарату клітини в рибосомах.
- **Вірусні** РНК є носіями спадкової інформації вірусів.
- РНК є **біокаталізаторами** та **регуляторами активності ДНК**.

Вторинна структура молекули ДНК – біспіральна, причому первинна структура однієї спіралі комплементарна другій. Обидва ланцюги полінуклеотидів з'єднані водневими зв'язками та мають загальну вісь і строго визначене просторове розташування, а саме – основи розміщено всередині, а вуглеводневі радикали та залишки ортофосфатної кислоти – зовні. Важливе значення мають закономірності кількісного вмісту основ у ДНК та РНК, відомі як правило Чаргаффа:

1. Молярна частка пуринів  $x(A + G)$  в молекулі ДНК дорівнює моляр-

ній частці піримідинів  $x(\text{Ц} + \text{T})$ :

$$x(\text{А} + \text{Г}) = x(\text{Ц} + \text{T}) \text{ або } x(\text{А} + \text{Г}) / x(\text{Ц} + \text{T}) = 1.$$

2. Кількість  $n$  аденіну і цитозину в молекулі ДНК дорівнює кількості гуаніну і тиміну:

$$n(\text{А} + \text{Ц}) = n(\text{Г} + \text{T}) \text{ або } n(\text{А} + \text{Ц}) / n(\text{Г} + \text{T}) = 1.$$

3. Кількість залишків аденіну в молекулі ДНК дорівнює кількості залишків тиміну, а у такому самому співвідношенні знаходяться гуанін і цитозин:  $n(\text{А}) = n(\text{T})$ ,  $n(\text{Г}) = n(\text{Ц})$ .

4. Співвідношення сум молярних часток  $\frac{x(\text{Г}) + x(\text{Ц})}{x(\text{А}) + x(\text{T})}$  в ДНК та

$\frac{x(\text{Г}) + x(\text{Ц})}{x(\text{А}) + x(\text{У})}$  в РНК є специфічним для різних організмів і може служити їх

важливою молекулярно-біологічною характеристикою. Це співвідношення називають **коефіцієнтом специфічності нуклеїнових кислот**.

В організмах людини, вищих тварин і рослин, більшості грибів домінують залишки А й Т, а в багатьох мікроорганізмах – Г і Ц нуклеотиди.

Структура ДНК обумовлює її біологічну роль та пояснює молекулярні механізми спадковості, мінливості та самовідтворення організмів. Розрізняють ядерні (хромосомні) ДНК, ДНК плазмід, хлоропластів, мітохондрій та вірусів. Молекули **ядерних ДНК** (як і всіх інших видів) містять основний обсяг інформації про всі спадкові ознаки організму. Їх функція – зберігання цієї інформації, забезпечення її експресії та рекомбінації, а також репродукція при поділі клітини та передача наступним поколінням організмів. Ділянки ДНК, які містять інформацію про первинну структуру індивідуальних молекул біоорганічних полімерів (РНК та білків), називають **генами**.

Денатурацію нуклеїнових кислот викликають: нагрівання до 343...373 К, змінення рН середовища, додавання сечовини  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ .

**Нуклеопротеїди** – клас складних білків, які містять нуклеотиди. Виявлено два типи нуклеопротеїдів, що різняться між собою хімічним складом, розмірами молекул та фізико-хімічними властивостями: дезоксирибонуклеопротеїди (ДНП) і рибонуклеопротеїди (РНП). При кип'ятінні з розведеними кислотами нуклеопротеїди гідролітично розпадаються на частково гідролізований білок, нітрогенвмісні основи, моносахариди й ортофосфатну кислоту.

## **5.2. Дослідна частина роботи**

Для вивчення хімічного складу нуклеопротейдів зручно користуватися дріжджевими клітинами. Продукти гідролізу можна виявити в гідролізаті за допомогою специфічних реакцій для кожної речовини.

### **Хід роботи**

У велику пробірку (1,5x15 см) насипте 0,5 г пекарських дріжджів або 0,1 г сухих, залийте 4 мл 10 %-го розчину сульфатної кислоти. Пробірку закрийте корком з трубкою довжиною 25...30 см, що служить холодильником. Збовтайте і залиште у киплячій водяній бані на 1...1,5 год. Після цього рідину остудіть і відфільтруйте. У фільтраті виявіть продукти гідролізу нуклеопротейдів: поліпептиди, пуринові й піримідинові основи, рибозу, дезоксирибозу й ортофосфатну кислоту.

### **Дослід 1. Біуретова проба на поліпептиди**

#### **Хід роботи**

До 5 крапель гідролізату додайте 10 крапель 10 %-го розчину натрій гідроксиду, 1 %-го розчину купрум сульфату. Занотуйте колір розчину та зробіть висновки про наявність відповідної функціональної групи або речовини.

### **Дослід 2. Срібна проба на пуринові основи**

#### **Хід роботи**

10 крапель гідролізату нейтралізуйте концентрованим аміаком і додайте 5 крапель 1 %-го розчину аргентум нітрату. Чи утворюється у пробірці пухкий світло-коричневий осад солей пуринових основ (аденіну, гуаніну)?

### **Дослід 3. Проба Троммера на рибозу і дезоксирибозу**

#### **Хід роботи**

До 5 крапель гідролізату додайте 10 крапель 30 %-го розчину натрій гідроксиду і 5 крапель 7 %-го розчину купрум сульфату до появи помутніння, яке не зникає. Рідину перемішайте і верхній її шар нагрійте до кипіння. Що спостерігається в пробірці? Занотуйте спостереження та зробіть висновки про наявність відповідної функціональної групи або речовини.



## 6. ЛІПІДИ

### 6.1. Будова та властивості

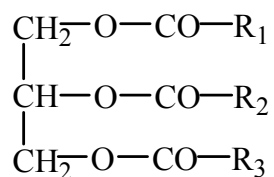
*Ліпіди* – складні ефіри багатоатомних спиртів й органічних або мінеральних кислот – різні за будовою та властивостями речовини, як правило, нерозчинні у воді, мають змінну розчинність в органічних розчинниках. За хімічним складом їх поділяють на декілька класів:

*прості ліпіди* – нейтральні жири (тригліцериди); воски; стериди; ефіри ретинолу, кальциферолу і жирних кислот;

*складні ліпіди* – фосфоліпіди; гліколіпіди; сульфоліпіди.

Похідними ліпідів є каротиноїди, терпеноїди, жиророзчинні вітаміни тощо.

*Нейтральні жири* – це суміш складних ефірів гліцерину і вищих карбонових (жирних) кислот, причому останні мають парну кількість атомів карбону і можуть бути насиченими (стеаринова, пальмітинова) і ненасиченими (олеїнова, лінолева, ліноленова, арахідонова – есенціальні жирні кислоти) (табл.6.1). Загальна структурна формула тригліцеридів

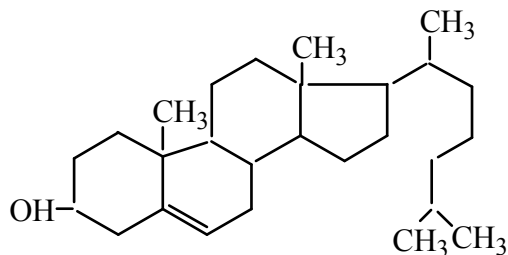


R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> – залишки вищих карбонових кислот.

Ненасичені карбонові кислоти, що входять до складу ліпідів, є біологічноактивними речовинами (їх сукупність називають вітаміном F) і відносяться до незамінних.

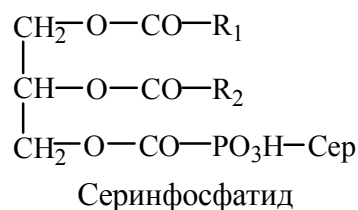
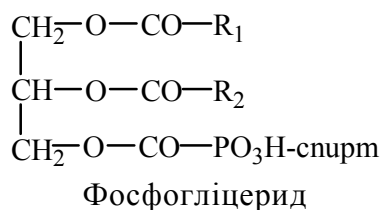
*Воски* є ефірами вищих одноатомних спиртів – монтанового (CH<sub>3</sub>—(CH<sub>2</sub>)<sub>26</sub>—CH<sub>2</sub>OH) і мирицилового (CH<sub>3</sub>—(CH<sub>2</sub>)<sub>28</sub>—CH<sub>2</sub>OH).

*Стериди* – складні ефіри, утворені поліциклічним одноатомним вторинним ненасиченим спиртом – холестерином



і вищими жирними кислотами.

**Фосфоліпіди** поділяють на фосфогліцериди (лецитини, кефаліни, серинфосфати, ацетальфосфати) і фосфати-негліцериди, до складу яких, крім спирту і жирних кислот, входять фосфатна кислота, а також нітрогенвімісні основи (холін, коламін), одноатомні спирти або амінокислоти, наприклад



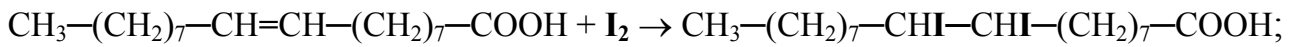
**Таблиця 6.1 – Вищі карбонові кислоти**

Назва	Формула	Знаходження в природі
<b>Насичені</b>		
Масляна	$\text{CH}_3\text{—(CH}_2\text{)}_2\text{—COOH}$	Коров'яче масло
Лауринова	$\text{CH}_3\text{—(CH}_2\text{)}_{10}\text{—COOH}$	—
Миристинова	$\text{CH}_3\text{—(CH}_2\text{)}_{12}\text{—COOH}$	—
Пальмитинова	$\text{CH}_3\text{—(CH}_2\text{)}_{14}\text{—COOH}$	Пальмове масло
Маргарінова	$\text{CH}_3\text{—(CH}_2\text{)}_{15}\text{—COOH}$	—
Стеаринова	$\text{CH}_3\text{—(CH}_2\text{)}_{16}\text{—COOH}$	Рослинні та тваринні жири
<b>Ненасичені</b>		
Олеїнова	$\text{CH}_3\text{—(CH}_2\text{)}_7\text{—CH=CH—(CH}_2\text{)}_7\text{—COOH}$	Рослинні та тваринні жири
Линолева	$\text{CH}_3\text{—(CH}_2\text{)}_4\text{—(CH=CH—CH}_2\text{)}_2\text{—(CH}_2\text{)}_6\text{—COOH}$	Льняне масло, рибацький жир
Линоленова	$\text{CH}_3\text{—CH}_2\text{—(CH=CH—CH}_2\text{)}_3\text{—(CH}_2\text{)}_6\text{—COOH}$	Льняне масло, рибацький жир
Арахідонова	$\text{CH}_3\text{—(CH}_2\text{)}_4\text{—(CH=CH—CH}_2\text{)}_4\text{—(CH}_2\text{)}_2\text{—COOH}$	Коров'яче масло, тваринні фосфати, жири печінки

Значна кількість ліпідів утворює в організмі комплекси з білками – **ліпопротеїни**, та сполуки з вуглеводами – **гліколіпіди**.

Кількісними характеристиками жирів є:

- Константа ненасиченості – **йодне число** – маса (мг) йоду, здатного прееднатися до 100 г жиру за місцем розриву подвійних зв'язків у молекулах ненасичених кислот



- **Число омилення** – кількість (мг) калій гідроксиду, витраченого на нейтралізацію кислот, утворених при гідролізі 1 г жиру.

В організмі ліпіди виконують наступні функції:

- **резервну** або **енергетичну** (тригліцериди) – при повному окисненні 1 г ліпиду вивільнюється близько 38,9 кДж (9,3 ккал) енергії, тому за рахунок жирів, що надходять із їжею, забезпечується в середньому 25...35 % енергії, необхідної людині на добу;
- **пластичну** або **структурну** (фосфоліпіди та інші ліпоїди, кардіоліпіни) – у вигляді ліпопротеїдних комплексів входять до складу біологічних клітинних мембран та субклітинних структур (ядер, мітохондрій, лізосом, ендоплазматичної сітки), активують ряд мітохондріальних ферментів (наприклад, у ядрах клітин печінки, серця і деяких інших органів міститься 15...16 % сухої маси ліпідів, у мітохондріях – 21...30 %), нерозчинні у воді ліпіди зумовлюють міцність структур, до складу яких вони входять;
- **захисну** – утворюють прокладку під шкірою та навколо внутрішніх органів і таким чином захищають їх від механічних пошкоджень, переохолодження;
- **регуляторну** – багато біологічно активних речовин (статеві гормони, кортикостероїди, простагландини тощо) мають ліпідну природу; з жирами в організм надходять вітаміни груп А, О, Е, К, Р;
- **метаболичну** – ліпіди є основним джерелом ендогенної, метаболичної води, оскільки при окисненні 100 г жиру утворюється 101,1 г води.

Добова потреба організму людини в жирах складає 80...100 г, у тому числі 25 г рослинних, 5...6 г фосфатидів і 0,3...0,6 г холестерину. Дефіцит незамінних поліненасичених жирних кислот у продуктах є однією з причин порушення обміну холестерину, розвитку атеросклеротичного процесу. Екзогенний холестерин надходить з продуктами, а ендогенний синтезується в організмі (в печінці, нирках, надниркових залозах, артеріальній стінці) в кількості 0,8...2 г за добу. Холестерин та його ефіри містяться в крові та різних тканинах тварин і людини: у головному мозку (у білій речовині – 4...5 %), жировій тканині, печі-

нці, жовчі (у жовчному камені – 90 %) тощо. Надлишок холестерину в організмі (холестериноз) є передумовою атеросклерозу, а недостатність холестерину (холестеринодефіцит) зумовлює ризик розвитку пухлинних та вірусних захворювань. Інтегральним критерієм вмісту ліпідів у крові є холестериновий коефіцієнт атерогенності (ХКА)

$$\text{ХКА} = \frac{\text{Холестерин}_{\text{загальний}} - \text{Холестерин}_{\text{ліпопротеїдів}}}{\text{Холестерин}_{\text{загальний}}}$$

У нормі ХКА становить у жінок 2,2, чоловіків – 2,5...3,5, новонароджених – 1, причому ХКА збільшується з віком, а при ішемічній хворобі серця його величина становить 4...6.

Транспорт ліпідів у водному середовищі, хоча вони є слабкорозчинними у воді, відбувається завдяки присутності амфифільних (амфипатичних) сполук (наприклад, фосфоліпідів), одна частина молекули яких є гідрофільною, а інша (залишки жирних кислот) – гідрофобною. У воді молекули фосфоліпідів спонтанно об'єднуються в упорядковані комплекси і внаслідок цього виникають ліпідні структури: подвійні шари, подібні до ліпідного компоненту цитоплазматичних мембран; моношари та міцели. У таких структурах молекули фосфоліпідів зорієнтовані гідрофільною частиною зовні, а гідрофобною – усередину. Утворені полярні сполуки є *поверхневоактивними* або *емульгаторами*. Найбільша емульгуюча активність притаманна солям жовчних кислот, які разом із жовчю потрапляють у дванадцятипалу кишку.

Основним біологічним матеріалом, який застосовується для біохімічної діагностики порушень обміну ліпідів, є кров. Ліпідними компонентами крові є холестерин та його ефіри, триацилгліцерини, фосфоліпіди, неетерифіковані жирні кислоти. Три перших класи присутні лише в складі ліпопротеїнів, які утворюють стійкі колоїдні розчини і багатьма властивостями подібні до білків. Неетерифіковані жирні кислоти головним чином адсорбовані на альбуміні. Кількість загальних ліпідів – сума всіх ліпідів, що містяться в плазмі або в сироватці крові, в нормі становить 4...8 г/л. Гіперліпідемія (гіперліпемія) – збільшення концентрації загальних ліпідів у плазмі як фізіологічне явище проявляється через 1...3 год після вживання їжі. Концентрація ліпідів у крові змінюється при низці патологічних станів: у хворих на цукровий діабет (до 10...20 г/л), нефротичному синдромі (10...50 г/л), у хворих на біліарний цироз та гострий гепатит, при ожирінні, атеро-

склерозі, ішемічній хворобі серця, панкреатиті, зловживанні алкоголем.

## **6.2. Дослідна частина роботи**

### **Дослід 1. Отримання емульсії жиру**

**Матеріал дослідження:** жовч, розчин мила, розчин білка, 1 %-й розчин натрій гідрокарбонату, рослинна олія, дистильована вода.

#### **Хід роботи**

У 5 пробірок налити по 15 крапель дистильованої води, розведеної жовчі, розчинів білка, мила і натрій гідрокарбонату. У кожен пробірку додати по 3...4 краплі рослинної олії й одночасно струсити вміст усіх пробірок. У першій спостерігають розшарування нестійкої емульсії на жир та воду, а в інших – утворення емульсії. Емульгування жиру натрій гідрокарбонатом зумовлене утворенням мила внаслідок взаємодії з присутніми в жирі вільними кислотами.

### **Дослід 2. Якісна реакція на жовчні кислоти**

Реакція базується на утворенні забарвлених продуктів при взаємодії жовчних кислот з оксиметилфурфуролом, що утворюється з фруктози внаслідок гідролізу сахарози під дією концентрованої сульфатної кислоти.

**Матеріал дослідження:** жовч, 20 %-й розчин сахарози, концентрована сульфатна кислота.

#### **Хід роботи**

У пробірку налити 10...15 крапель жовчі, 1 краплю свіжого розчину сахарози і злегка струсити. В іншу пробірку налити 10...15 крапель сульфатної кислоти. Розчин, що містить жовч, нашарувати на сульфатну кислоту. На межі розподілу утворюється осад жовчних кислот і з'являється червоно-фіолетове кільце, а при обережному струшуванні рідина набуває вишнево-червоного кольору.

### **Дослід 3. Визначення ненасичених кислот**

**Матеріал дослідження:** рослинна олія; тваринні жири; вершкове масло; хлороформ; розчин йоду молярною концентрацією 0,001 моль/л.

### Хід роботи

У пробірки внесіть по 0,5 г досліджуваних жирів та розчиніть у 3 мл хлороформу. Відтитруйте розчином йоду до появи стійкого рожевого кольору. Зафіксуйте об'єм титранту та зробіть висновки щодо вмісту ненасичених кислот у зразках жирів.

### 6.3. Питання та вправи для контролю

1. Складіть формули ліпідів відповідно до завдання табл.6.2.
  - До якого класу відноситься ця сполука? Яка її біологічна функція?
  - Подайте схему гідролізу цієї сполуки;
  - Наведіть рівняння якісних реакцій для визначення продуктів гідролізу

Таблиця 6.2 – Варіанти завдань

№ варіанту	Кислоти - компоненти ліпиду	
	Жирна	Мінеральна
1	Пальмитинова	Фосфатна
2	Олеїнова	–
3	Стеаринова	Фосфатна
4	Линолева	–
5	Арахідонова	Фосфатна
6	Миристинова	Фосфатна
7	Линоленова	–
8	Линолева, ліноленова	Фосфатна
9	Пальмитинова	–
10	Лауринова, арахідонова	Фосфатна
11	Пальмитинова, стеаринова	–
12	Лауринова	–

2. Напишіть формули складних ефірів:
  - гліцерину і пальмітинової кислоти;
  - гліцерину і стеаринової кислоти;
  - гліцерину та олеїнової кислоти;
  - лецитину;
  - ацетальфосфатиду
3. Які якісні реакції можуть дати продукти гідролізу жирів?

## 7. ФЕРМЕНТИ

### 7.1. Загальні властивості ферментів

**Ферменти** – це біологічні каталізатори білкової природи, які забезпечують прискорення і координацію численних метаболічних процесів у живих організмах. Спільні ознаки, притаманні ферментам і неорганічним каталізаторам, полягають в тому, що вони:

- прискорюють тільки термодинамічно можливі реакції;
- не витрачаються при реакції і не входять до складу кінцевих продуктів;
- не зміщують хімічної рівноваги, а тільки прискорюють її встановлення.

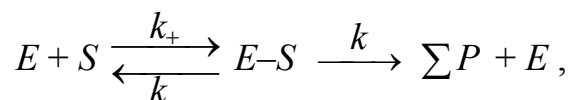
Ферменти за хімічною природою є простими і складними білками, а їх хімічна активність залежить від ступеня збереження нативної структури білка (первинної, вторинної та третинної), яка може бути втрачена під впливом денатуруючих агентів. Прості ферменти складаються тільки із залишків амінокислот, тому їх називають однокомпонентними, а складні містять також небілкову частину і є двокомпонентними. Білкову частину двокомпонентних ферментів називають **апоферментом**, небілкову – **коферментом** (біоорганічні сполуки) або **кофактором** (низькомолекулярні органічні сполуки або іони металів), а молекулу в цілому – **холоферментом**. Апофермент з кофактором утворюють іонні, водневі та, іноді, ковалентні та гідروفобні зв'язки різного ступеня міцності, тому коферменти здебільшого перебувають у вільному стані та з'єднуються з білковою частиною тільки в момент реакції. Оскільки один і той же кофермент може утворювати зв'язки з різними білками, саме апофермент визначає специфічність дії ферментів. Кофактори є донорами або акцепторами атомів і функціональних груп, які приєднують або відокремлюють від **субстрату** – речовини, яка бере участь у хімічних перетвореннях. Якщо небілкова частина ферменту міцно зв'язана з білковою і не відділяється від неї при біохімічних перетвореннях, її називають **простетичною групою**.

Розглянемо **механізм дії ферментів**:

1. Фермент ( $E$ ) розпізнає субстрат ( $S$ ) й утворює з ним фермент-субстратний комплекс ( $E-S$ ) за рахунок ковалентних, іонних, водневих або гідروفобних зв'язків, причому у цьому процесі бере участь лише частина молекули ферменту (6...12 пептидних ланцюгів), яку називають **активним центром**. У

$E-S$  комплексі змінюється структура субстрату (відбувається перерозподіл внутрішньомолекулярних зв'язків) так, що він стає реакційноздатним.

2. Руйнування  $E-S$  комплексу супроводжується утворенням продуктів реакції  $\sum P$  та вивільненням ферменту



де  $k_+$ ,  $k_-$ ,  $k$  – константи швидкості реакцій утворення й руйнування фермент-субстратного комплексу відповідно.

**Основні властивості ферментів:**

- **специфічність** – кожний фермент діє на певний субстрат (*абсолютна*) або групу субстратів, подібних за структурою (*відносна*), або стереоізомер (*стереохімічна*), що зумовлено відповідністю структури активного центру ферменту та субстрату;
- **термолабільність** – оптимальною для ферментів виявляється температура 37...45° С, що пов'язано зі збереженням структури активного центру;
- **залежність** активності ферменту від **pH** середовища пояснюється утворенням водневих, ефірних, іонних зв'язків при формуванні його активного центру, тому для кожного ферменту існує вельмі вузький інтервал pH, у межах якого його активність максимальна;
- зміна активності в присутності **активаторів** та **інгібіторів** витікає зі специфічності дії ферментів;
- вплив **співвідношення концентрацій ферменту і субстрату** на швидкість ферментативної реакції, обумовлений механізмом їх дії та явищем насичення фермента субстратом, відбиває рівняння Михаеліса-Ментена

$$v = \frac{v_{\max} c_S}{K_M + c_S}, \quad (7.1)$$

де  $v$  – швидкість розпаду фермент-субстратного комплексу;

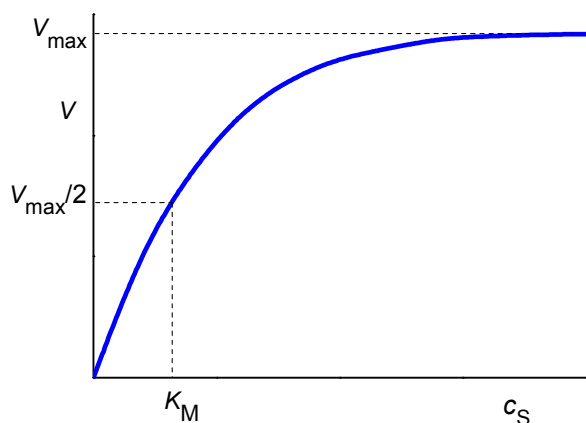
$v_{\max}$  – максимальна швидкість реакції при насиченні ферменту субстратом;

$c_S$  – концентрація субстрата;

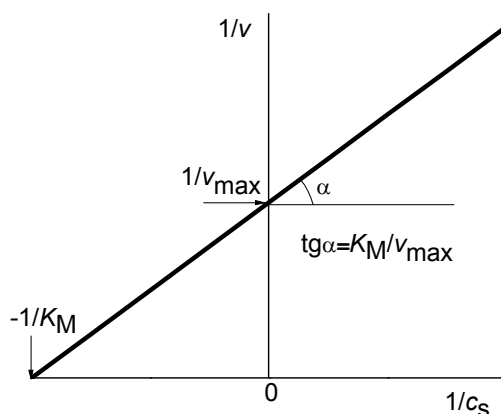
$K_M = \frac{k_- + k}{k_+}$  – константа дисоціації фермент-субстратного комплексу.

При низьких концентраціях субстрату ( $K_M \gg c_S$ )  $v = \frac{v_{\max} c_S}{K_M}$ ; при надто

високих ( $c_S \gg K_M$ ) –  $v \approx v_{\max}$ ; а, якщо  $K_M = c_S$ ,  $v = v_{\max}/2$  (рис.7.1). При  $v_{\max}$  концентрація фермент-субстратного комплексу  $c_{E-S}$  дорівнює концентрації ферменту  $c_E$  ( $c_{E-S} = c_E$ ), отже  $v_{\max} = kc_E$ . Для визначення параметрів рівняння (7.1) використовують графічну інтерпретацію концентраційної залежності швидкості ферментативних реакцій в координатах  $1/v - 1/c_S$  (рис.7.2).



**Рисунок 7.1 – Залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату**



**Рисунок 7.2 – Графічна інтерпретація концентраційної залежності швидкості ферментативних реакцій**

Характеристикою активності ферменту є **міжнародна одиниця (МО)** – кількість ферменту, що каталізує перетворення 1 мікромоль (мкмоль) субстрату (у стандартних умовах) на продукт реакції за 1 хв з розрахунку на 1 г тканини. **Питома активність** – це число одиниць ферментативної активності на 1 мг білка-фермента. Міжнародний біохімічний союз запропонував як одиницю активності **катал (кат)**. 1 кат – кількість ферменту, що каталізує перетворення 1 моля субстрату на продукт реакції за 1 с, отже  $1 \text{ кат} = 6 \cdot 10^7 \text{ МО}$ . Кількість молекул субстрату, що перетворюються на продукт однією молекулою ферменту за одиницю часу при повному насиченні ферменту субстратом, називають **числом обертів ферменту** або **молярною активністю**. Наприклад, одна молекула каталази еритроцитів здатна розщепити 44000 молекул гідроген пероксиду за 1 с.

Всі ферменти поділяють на класи за типом каталізуємих реакцій:

1. **Оксидоредуктази** прискорюють окисно-відновні реакції.
2. **Трансферази** каталізують реакції переносу окремих груп атомів з однієї молекули на іншу.
3. **Гідролази** прискорюють гідролітичне (за участю води) розщеплення мо-

лекул: ліпази – гідроліз ефірних зв'язків ліпідів, фосфатази – гідроліз фосфатних етерів, амілази, пектінази – гідроліз вуглеводів, уреазі – розпад сечовини до кінцевих продуктів ( $\text{NH}_3$  і  $\text{CO}_2$ ).

4. **Ліази** каталізують реакції негідролітичного (без участі води) розщеплення молекул шляхом розриву зв'язків C–C, C–N, C–O.
5. **Ізомерази** прискорюють структурні перебудови молекули, що приводить до утворення ізомерів.
6. **Лігази**, або **синтетази** каталізують синтез біоорганічних сполук за рахунок енергії АТФ, наприклад, карбоксилази забезпечують приєднання до молекул  $\text{CO}_2$ , тобто збільшення карбонового ланцюга.

## 7.2. Дослідна частина роботи

### Дослід 1. Дослідження гідролізу крохмалю під дією амілази слини

Амілаза каталізує гідроліз крохмалю, який проходить через стадії утворення декстринів, а потім мальтози. У присутності йоду крохмаль утворює сполуки синього кольору, декстрин – фіолетового, червоно-бурого або жовтогарячого, а мальтоза забарвлення не дає, тому її визначають пробою Троммера.

#### Матеріали дослідження та реактиви:

- 0,5 %-й розчин крохмалю,
- 0,1 %-й розчин йоду в калій йодиді,
- 10 %-й розчин натрій гідроксиду,
- 5 %-й розчин купрум сульфату,
- дистильована вода.

#### Хід роботи

1. Для одержання розведеної слини ротову порожнину злегка прополощіть водою, наберіть нову порцію дистильованої води і знов прополощіть нею рот протягом 1...2 хв, після чого зберіть рідину у пробірку і проведіть аналіз.

2. На штатив поставте 10 пробірок і налийте у кожен по 2 мл дистильованої води та додайте по 1 краплі розчину йоду.

3. В окрему пробірку налийте 5 мл розчину крохмалю, додайте 1 мл розведеної слини та перемішайте вміст пробірки скляною паличкою. Спостерігайте появу опалесценції.

4. Кожні 60 с з цієї пробірки відбирайте по 0,5 мл рідини и вливайте по черзі в заготовлені пробірки з розчином йоду. Якщо розчин у першій пробірці після додавання ферменту з субстратом змінив колір на фіолетовий або червоний, то інтервал скоротіть до 30 с. Якщо чергова проба не змінює забарвлення розчину йоду, гідроліз крохмалю вважають закінченим і реєструють час. Спостерігають зникнення опалесценції розчину в процесі гідролізу.

5. Через 10 хв після початку досліду проведіть пробу Троммера: до вмісту останньої пробірки додайте однаковий об'єм розчину натрій гідроксиду і 5...7 крапель розчину купрум сульфату та перемішайте до зникнення помутніння; верхню частину пробірки обережно нагрійте до кипіння. Що спостерігається у пробірці?

Поясніть отриманий результат, зробіть висновки.

## **Дослід 2. Дослідження термолабільності амілази слини**

1. У пробірку налейте 2 мл розведеної слини, кип'ятіть протягом 2 хв, після чого охолодіть.

2. В три пробірки налейте по 5 мл розчину крохмалю, потім у пробірку №1 додайте кип'ячену слину, а в пробірки № 2 і 3 – по 2мл некип'яченої.

3. Пробірку № 2 поставте на 10 хв у водяну баню за температури 37 °С, а № 3 – у холодну воду на такий же час.

4. Після інкубації вміст кожної пробірки розділіть порівну. До половини розчинів з кожної пробірки додайте по 3...5 крапель розчину йоду, а для проб, що залишилися, проведіть реакцію Троммера.

Оформіть результати досліду. Зробіть висновки щодо впливу температури на активність амілази.

**Таблиця 7.1 – Результати досліду**

№ пробірки	Температура інкубації, °С	Забарвлення з йодом	Проба Троммера
1	100		
2	37		
3	0		

### Дослід 3. Вплив рН середовища на активність амілази слини

Оптимум рН для амілази слини визначають при її взаємодії з крохмалем при різних значеннях рН середовища за ступенем гідролізу крохмалю.

#### Хід роботи

1. У 8 склянках приготуйте по 10 мл буферних сумішей зі значеннями рН, наведеними у табл.7.2, для чого змішайте відповідні об'єми розчинів  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  і  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

Таблиця 7.2 – Результати дослідів

рН буфера	V( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), мл	V( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), мл	рН буфера	V( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), мл	V( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), мл
5,59	0,5	9,5	6,81	5,0	5,0
5,91	1,0	9,0	6,98	6,0	4,0
6,24	2,0	8,0	7,42	9,0	1,0
6,47	3,0	7,0	8,04	9,5	0,5

2. У 8 пробірок налийте по 2 мл розчину крохмалю та додайте у кожную з них по 2 мл буферних сумішей з різними значеннями рН і по 1 мл розведеної слини.

3. Після інкубації протягом 10 хв вміст кожної пробірки розділіть порівну. До половини розчинів з кожної пробірки додайте по 3...5 крапель розчину йоду, а для проб, що залишилися, проведіть реакцію Троммера. Порівняйте забарвлення розчинів у пробірках та визначте ступінь гідролізу крохмалю.

Оформіть результати дослідів. Зробіть висновки щодо впливу рН на активність амілази та визначте оптимальне значення рН.

Таблиця 7.3 – Результати дослідів

№ проби	1	2	3	4	5	6	7	8
рН середовища	5,6	5,9	6,2	6,5	6,8	7,0	7,4	8,0
Забарвлення з йодом								
Проба Троммера								

#### Дослід 4. Вплив активаторів і інгібіторів на активність амілази слини

Оптимум рН для амілази слини визначають при її взаємодії з крохмалем при різних значеннях рН середовища за ступенем розщеплення крохмалю.

##### Хід роботи

1. Слину розведіть у 5 разів.
2. У три сухі пробірки налейте: в першу – 1 мл дистильованої води, у другу – 0,8 мл води і 0,2 мл 1 %-го розчину натрій хлориду, а у третю – 0,8 мл води і 0,2 мл 1 %-го розчину купрум сульфату. В усі пробірки додайте по 1 мл розчину слини, перемішайте і додайте по 0,5 мл розчину крохмалю, знов перемішайте.
3. Через 5 хв інкубації візьміть пробу з кожної пробірки та проведіть реакцію з розчином йоду, занесіть результати до табл.7.4. Пробу повторюйте кожні 5 хв.

Таблиця 7.4 – Результати дослідів

Фермент	Субстрат	Час дії ферменту, хв	Забарвлення з йодом у пробірках		
			№1 (H <sub>2</sub> O)	№2 (NaCl)	№3 (CuSO <sub>4</sub> )
Амілаза	Крохмаль	5			
		10			
		15			

Зробіть висновки щодо характеру впливу натрій хлориду та купрум сульфату на активність амілази.

#### 7.3. Питання та вправи для контролю

1. До якого типу хімічних сполук належать ферменти?
2. Що можна сказати про хімічну природу коферментів?
3. Подайте визначення таких понять, як каталізатор, фермент, кофермент, апофермент, холофермент, простетична група ферменту, активатор, інгібітор, субстрат.
4. Наведіть класифікацію ферментів та типи біохімічних реакцій за їх участю.
5. За рахунок чого ферменти прискорюють хімічні реакції в організмі?
6. Які чинники впливають на активність ферментів?
7. В чому полягає головна відміна ферментів від небіологічних каталізаторів?
8. Які принципи дії каталізаторів вам відомі?

9. Чому рН середовища суттєво впливає на активність ферментів?
10. В чому полягає специфічність дії ферментів?
11. Подайте приклад оксидоредуктаз та іонів-активаторів цих ферментів, користуючись інформацією додатку.
12. Що розуміють під „активним центром” ферменту?
13. Поясніть, в чому полягає термолабільність ферментів?
14. Чи завжди швидкість ферментативних реакцій зростає з підвищенням концентрації субстрату?
15. Які кількісні характеристики відбивають активність ферментів?
16. При дослідженні ферментативного каталізу, кінетика якого описується рівнянням Міхаеліса-Ментена, отримані такі результати (табл.7.5). Використовуючи графічну інтерпретацію даних (див. рис.7.2), визначте для свого варіанту значення  $v_{\max}$ ,  $K_M$ ,  $k$ .

Таблиця 7.5 – Варіанти завдань

№ варіанта	$c_E \cdot 10^6$ , моль/л	Параметри реакції	Результати дослідження			
1	4,0	$c_S \cdot 10^4$ , моль/л	2,5	5,0	10,0	15,0
		$v \cdot 10^6$ , моль/хв	2,2	3,8	5,9	7,1
2	25,0	$c_S \cdot 10^3$ , моль/л	3,5	5,5	7,0	12,0
		$v \cdot 10^5$ , моль/хв	3,6	4,6	5,0	6,0
3	5,2	$c_S \cdot 10^4$ , моль/л	1,0	2,0	4,0	6,0
		$v \cdot 10^6$ , моль/хв	5,7	7,7	9,3	10,0
4	38,0	$c_S \cdot 10^3$ , моль/л	2,0	3,8	7,4	14,6
		$v \cdot 10^5$ , моль/хв	1,8	3,7	5,2	6,45
5	6,2	$c_S \cdot 10^4$ , моль/л	3,0	6,0	9,0	12,0
		$v \cdot 10^6$ , моль/хв	2,6	4,2	5,4	6,3
6	12,0	$c_S \cdot 10^3$ , моль/л	4,0	8,0	12,0	16,0
		$v \cdot 10^5$ , моль/хв	3,2	5,0	6,25	7,1
7	3,7	$c_S \cdot 10^4$ , моль/л	2,0	5,0	8,0	13,0
		$v \cdot 10^6$ , моль/хв	1,8	3,7	5,3	6,5
8	42,0	$c_S \cdot 10^3$ , моль/л	3,5	7,5	10,0	12,5
		$v \cdot 10^5$ , моль/хв	4,4	5,3	5,9	6,2
9	2,8	$c_S \cdot 10^4$ , моль/л	2,0	4,0	7,0	20,0
		$v \cdot 10^6$ , моль/хв	1,8	3,2	4,65	6,25
10	54,0	$c_S \cdot 10^3$ , моль/л	3,0	5,0	9,0	16,0
		$v \cdot 10^5$ , моль/хв	3,3	4,4	5,6	6,5
11	7,5	$c_S \cdot 10^4$ , моль/л	2,7	3,2	5,3	8,0
		$v \cdot 10^6$ , моль/хв	2,3	2,7	3,8	5,0
12	18,0	$c_S \cdot 10^3$ , моль/л	2,4	4,8	7,2	14,4
		$v \cdot 10^5$ , моль/хв	2,8	4,4	5,1	6,4

## 8. ВІТАМІНИ

### 8.1. Водорозчинні вітаміни

**Вітаміни** — це органічні речовини, різні за хімічною природою, які у невеликих кількостях необхідні для підтримки нормальної життєдіяльності організму людини. Вітаміни та їх похідні є незамінними для обміну речовин і забезпечення нормальних функцій і будови людського організму. Враховуючи, що добова потреба людини у вітамінах вимірюється у міліграмах або навіть мікрограмах, їх можна назвати мікроелементами харчування. *Порушення балансу вітамінів в організмі* проявляється їх нестачею (негативний баланс) і надлишком (позитивний баланс). Часткову нестачу вітамінів називають *гіповітамінозом*, а виражений дефіцит – *авітамінозом*, їх клінічними проявами є цинга, рахіт, пелагра, бері-бері, нічна сліпота. Нестачу одного вітаміну називають моно-гіповітамінозом, а відразу кількох – полігіповітамінозом. Причини гіповітамінозу можуть мати як *екзогенний*, так і *ендогенний* характер. До екзогенних відносять вітамінну нестачу, зумовлену нераціональним харчуванням, неправильним зберіганням і кулінарною обробкою продуктів. Іншою, не менш поширеною, причиною екзогенного гіповітамінозу, є зміна складу нормальної кишкової мікрофлори (дисбактеріоз), спричинена довготривалим і безконтрольним вживанням хіміотерапевтичних засобів (антибіотиків, сульфаніламідів тощо).

Ендогенні (вторинні) гіпо- й авітамінози зумовлені:

- частковим руйнуванням вітамінів у травному тракті внаслідок зміни кислотоутворюючої функції шлунка (вітаміни В, В<sub>5</sub>, С) або порушення вироблення транспортних білків (В<sub>12</sub>);
- порушенням всмоктування і транспорту вітамінів, як правило, на фоні хронічних інфекційних запальних процесів у кишках (за недостатнього надходження жовчі до верхнього відділу кишечника порушується всмоктування жиророзчинних вітамінів);
- порушенням внутрішніх перетворень окремих вітамінів на біологічно активні та (або) коферментні форми, що виникають унаслідок окремих захворювань печінки, генетично зумовлених дефектів синтезу апоферменту або коферментів;

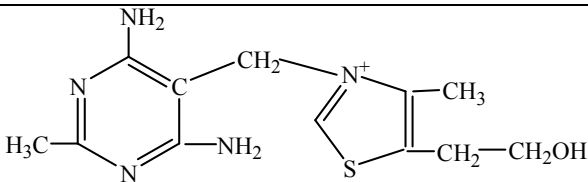
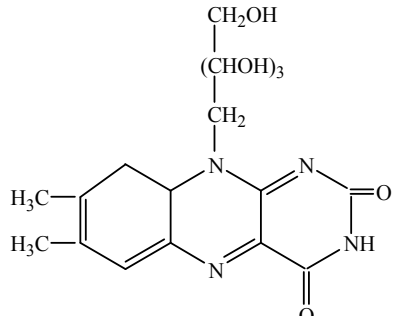
- посиленням розпадом вітамінів в організмі під впливом факторів зовнішнього середовища, при інфекційно-токсичних процесах тощо;
- фізіологічно високою потребою у вітамінах (дитячий вік, вагітність, важка фізична праця, спорт, дія антивітамінів).

Гіпервітаміноз, або вітамінну інтоксикацію, спостерігають за позитивного дисбалансу вітамінів, зумовленого їх надлишковим надходженням в організм. Існує думка, що гіпервітаміноз розвивається внаслідок тривалого вживання великих доз жиророзчинних вітамінів, що проявляється вираженою ліпофільністю, здатністю затримуватися в організмі. У разі одноразового введення великих доз водорозчинних вітамінів можливий розвиток гострої вітамінної інтоксикації.

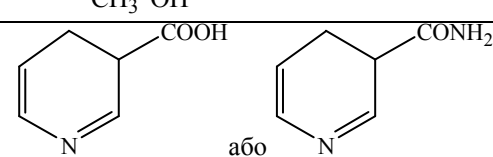
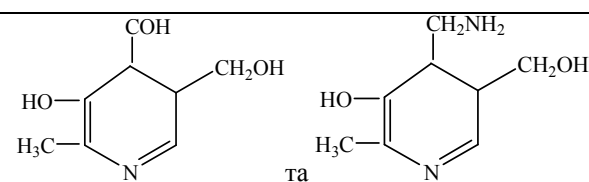
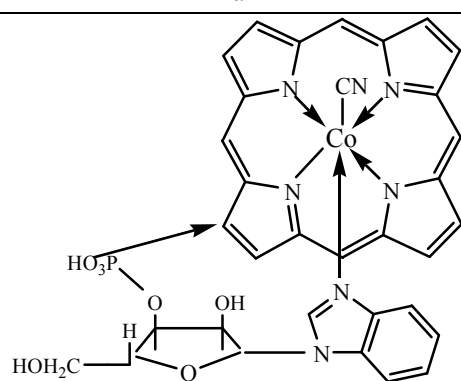
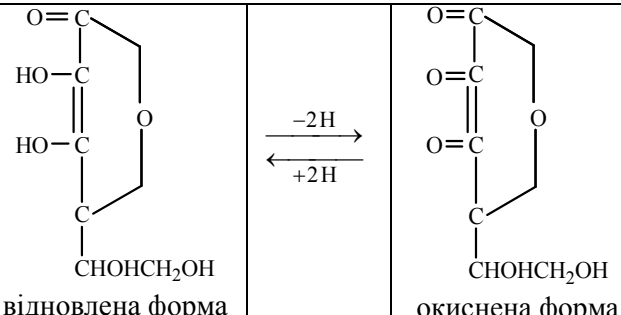
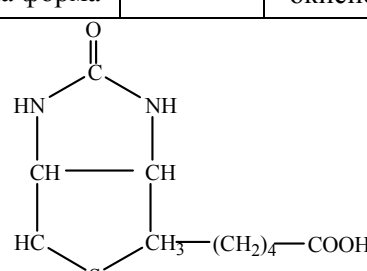
За здатністю вітамінів розчинятися у воді й жирах їх поділяють на водорастворимі та жирорастворимі.

До **водорозчинних вітамінів** (табл.8.1) відносять: тіамін, рибофлавін, піридоксин, нікотинову кислоту, фолієву кислоту, ціанокобаламін, аскорбінову кислоту, біотин, пантотенову кислоту, біофлавоноїди (Р – вітамін проникності). Найважливіші водорозчинні вітаміни входять до складу коферментів багатьох ферментів і приймають участь у важливих метаболічних процесах організму.

**Таблиця 8.1 – Будова та номенклатура водорозчинних вітамінів**

Позначення	Назва		Формула
	Хімічна	Фізіологічна	
1	2	3	4
B <sub>1</sub>	Тіамін	Антиневритний	
B <sub>2</sub>	Рибофлавін	Вітамін росту	

Продовження табл.8.1

1	2	3	4
B <sub>3</sub>	Пантотенова кислота	Антидерматитний	$\text{HOH}_2\text{C}-\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{OH}}{\text{C}}}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{COOH}$
B <sub>5</sub> (PP)	Нікотинова кислота, нікотинамід	Антипеларгичний	 <p>або</p>
B <sub>6</sub>	Піридоксин	Антидерматитний	 <p>та</p>
B <sub>12</sub>	Ціанокобаламін	Антианемічний	 <p>Спрощена схема</p>
C	Аскорбінова кислота	Антицинготний	 <p>відновлена форма</p> <p>окиснена форма</p>
H	Біотин	Антисеборейний	

Вони надходять до організму з харчовими продуктами (табл.8.2, табл.8.3), причому науково обґрунтовані норми споживання найважливіших

вітамінів людиною.

**Таблиця 8.2 – Біологічна функція водорозчинних вітамінів**

Віта-мін	Функція	Джерело	Добова норма, мг
B <sub>1</sub>	Кофермент декарбоксилаз, каталізуючих декарбоксилювання кетокислот	Хліб грубого помолу, горіхи, квасоля, м'ясні продукти	2,0
B <sub>2</sub>	Кофермент декарбоксилаз (ФМН), каталізуючих окиснення жирних кислот, бурштинової кислоти, перенесення електронів у ланцюзі дихання	Печінка, нирки, жовток курячого яйця, сир	2,0
B <sub>3</sub>	Входить до складу коензіму А (КоА), каталізуючого перетворення ацилів	Дріжджі, печінка, жовток курячого яйця, зелені частини рослин	12,0
B <sub>5</sub> (PP)	Коферментні форми – НАД і НАДФ, які переносять атоми гідрогену в окисно-відновних реакціях та беруть участь у синтезі органічних сполук	В невеликій кількості синтезується в організмі з триптофану. М'ясні продукти, печінка, рослинні продукти	25,0
B <sub>6</sub>	Коферментна форма – піридоксальфосфат – входить до складу декарбоксилаз амінокислот і амінотрансфераз	Зернові й бобові культури, м'ясні продукти, риба	2,0
B <sub>12</sub>	Кофермент, що прискорює реакції вуглеводного, ліпідного та азотистого обмінів	М'ясні продукти, риба, молоко	0,003
C	Є донором атомів гідрогену в окисно-відновних реакціях, бере участь у процесах перетворення ароматичних амінокислот з утворенням нейромедіаторів, у синтезі кортикостероїдів, процесах кровотворення й синтезі колагену	Свіжі фрукти та овочі, шипшина	75
H	Входить до складу ферментів, прискорюючих реакції карбоксилювання	Синтезується в організмі кишковими бактеріями. Горіх, соя, кольорова капуста, гриби, печінка, жовток курячого яйця	0,15

Одним з найважливіших вітамінів, забезпечуючих активізацію ферментів окисно-відновних реакцій, є вітамін С. У нормі в крові дорослої людини вміст вітаміну С становить 39,7...113,6 мкмоль/л. Вітамін С і продукти його розпаду виводяться з організму із сечею: у здорової людини за добу виводить-

ся 20...30 мг або 113,55...170,33 мкмоль вітаміну С. Підвищений розпад вітаміну С зустрічається при гіпоацидному гастриті, виразковій хворобі, ентериті. Виділення вітаміну С у кількості, нижчій від норми, свідчить про С-гіповітаміноз, тобто, недостатню С-вітамінну забезпеченість організму.

**Таблиця 8.3 – Вміст вітаміну С (мг) у харчових продуктах (на 100 г)**

Продукт	Вміст вітаміну	Продукт	Вміст вітаміну
<b>Овочі</b>			
Баклажан	5	Перець	125
Гарбуз	10	Петрушка	150
Горошок зелений	25	Ревінь	15
Кабачок	10	Редис	50
Капуста білокачанна	40	Редька	20
Капуста брюсельська	100	Спаржа	40
Капуста кольорова	75	Томати	35
Картопля	25 (осіння) 7 (весняна)	Цибуля зелена	27
Квасоля	40	Цибуля ріпчаста	10
Огірки	8	Шпинат	30
<b>Фрукти та ягоди</b>			
Абрикос	10	Лимон	50
Агрус	40	Малина	25
Айва	15	Обліпіха	250
Ананас	20	Персик	10
Апельсини	50	Горобина	80
Банан	10	Слива	8
Брусниця	15	Смородина червона	40
Виноград	4	Смородина чорна	2500
Вишня (черешня)	15	Суниця	60
Груша	8	Шипшина	1000...2000
Диня	20	Яблуко	4...20
<b>Продукти харчування</b>			
Кефір	0,14	Сир	0,14
Молоко коров'яче	2	Сметана	0,26
козяче	3		
жіноче	3		
Печінка	20	Яловичина	0,9

При серцево-судинних порушеннях, захворюваннях органів дихання,

порушуються процеси біосинтезу коферментних форм вітамінів. При патології білкового обміну, який виникає внаслідок багатьох захворювань печінки, шлунка, ендокринних залоз, при променевої хвороби, крововтраті – порушуються процеси протеїнізації вітамінів і утворення ферментів, що містять коферменти НАД, ФАД, ТДФ, ПАЛФ, кобамідний кофермент тощо. Білкове голодування, порушення біосинтезу білків у тканинах організму спричинюють підвищене виведення тіаміну, рибофлавіну, піридоксину, ціанокобаламіну, нікотинової і фолієвої кислот внаслідок порушення їх засвоєння. Стреси, порушення функції щитоподібної залози, надниркових залоз, гіпофіза, гострі і хронічні інфекційні захворювання різко підвищують розпад тканинних вітамінів і виведення їх з організму.

Клінічні прояви гіповітамінозу часто недостатньо специфічні, тому для його виявлення проводять визначення вмісту окремих вітамінів у біологічних рідинах.

*Антивітаміни* – речовини різної хімічної природи, які пригнічують дію вітамінів (порушують їх використання) і зумовлюють розвиток авітамінозу навіть у тих випадках, коли в раціоні людини є достатня кількість вітамінів. Деякі антивітаміни є структурними аналогами вітамінів і конкурують з ними за зв'язування з відповідними білками (ферментами). У цьому випадку антивітаміни є антиметаболітами. Антивітаміни широко використовують у практиці для створення експериментальних авітамінозів у тварин і в медицині для лікування бактеріальних інфекцій, злоякісних пухлин тощо.

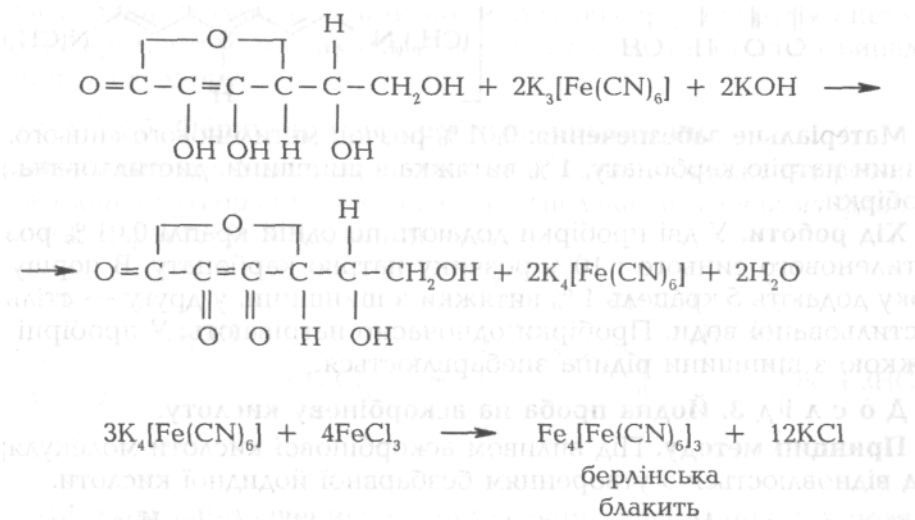
## **8.2. Методи якісного визначення водорозчинних вітамінів**

**Вітамін С** бере участь у окисно-відновних процесах, позитивно впливає на діяльність центральної нервової системи, підвищує опір організму до екстремальних зовнішніх впливів. Недостатня кількість вітаміну С в організмі викликає порушення обміну речовин (процесів метаболізму) у сполучних тканинах, підвищення проникності капілярів, що призводить до крововиливів і цинги. З хімічної точки зору цей вітамін являє собою групу сполук, найважливішою з яких є аскорбінова кислота  $C_6H_8O_6$ . Ця сполука містить енольну групу, за рахунок якої є відновником і легко переходить до дегідроаскорбінової кислоти  $C_6H_6O_6$



Аскорбінова кислота розчинна у воді, але нестійка та окиснюється у повітрі киснем, а також у присутності іонів феруму і купрум; вона більш стійка в кислих середовищах у порівнянні з лужним. Основне джерело вітаміна С для людини – овочі, фрукти та ягоди, однак, його вміст значно знижується з часом зберігання.

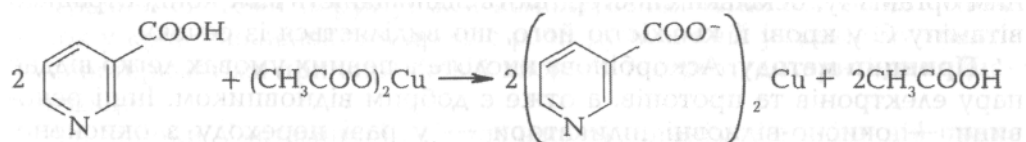
Аскорбінова кислота відновлює калій гексаціаноферату (III) до калій гексаціаноферату (II), який, реагуючи з ферум (III) хлоридом, утворює берлінську блакить – сполуку синього кольору.



Для кількісного визначення вмісту вітаміна С використовують методи окисно-відновного титрування, зокрема йодометричного, що ґрунтується на реакції

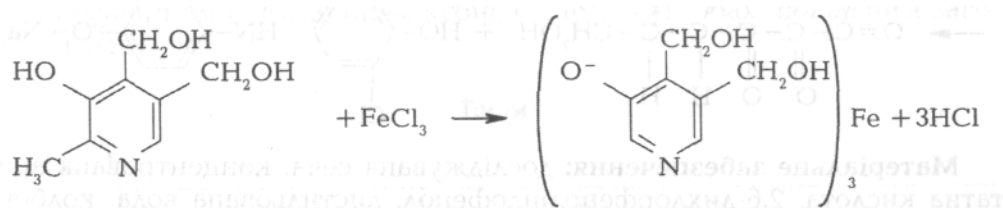


**Вітамін В<sub>5</sub>.** При нагріванні нікотинової кислоти з розчином купрум ацетату утворюється синій осад солі нікотинової кислоти



**Вітамін В<sub>6</sub>.** При додаванні до розчину піридоксину розчину ферум (III)

хлориду утворюється комплексна сполука типу ферум феноляту, яка має характерний червоний колір.



### 8.3. Жиророзчинні вітаміни

До жиророзчинних (табл.8.4) відносять ретинол, токоферол, кальциферол, філохінон та вітамін F.

**Вітамін А** (ретинол, антиксерофтальмічний) бере участь у окисно-відновних процесах, тканинному диханні, процесах біосинтезу білків, нуклеїнових кислот, гормонів (кортикостероїдів тощо), окисного фосфорилювання, фоторецепції (входить до складу простетичної групи білка родопсину), у регуляції проникності біологічних мембран, рості кісткової тканини, обміні мінеральних речовин (кальцію), збільшує опір організму до інфекцій тощо. Вітамін А міститься переважно в продуктах тваринного походження (печінка, нирки, легені, яєчний жовток тощо), а також у деяких продуктах рослинного походження у вигляді провітаміну – каротину. Всмоктування вітаміну А відбувається за допомогою жовчних кислот.

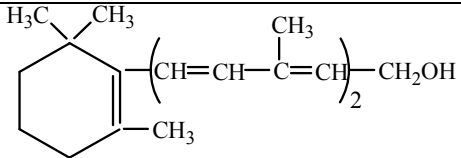
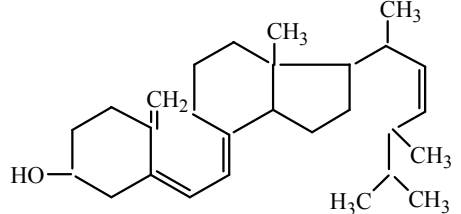
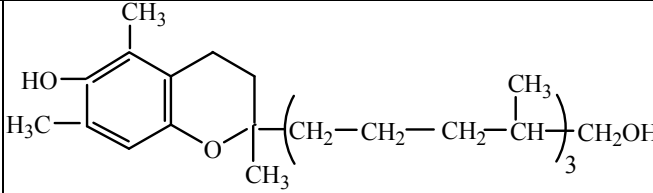
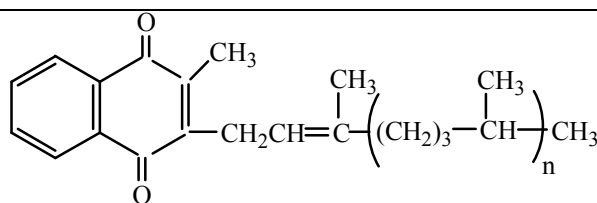
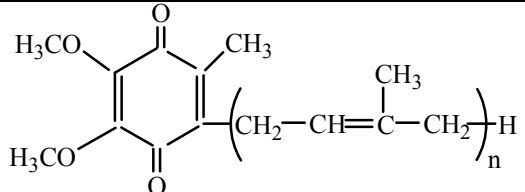
Біологічну дію вітамін А проявляє у таких формах: вітамін А – спирт (ретинол), альдегід (ретиналь), кислота (ретинолова кислота), ефір (ретинолпальміат, -олеат), причому кожна з форм виконує певні функції. В крові циркулює переважно спиртова форма вітаміну А в комплексі з білками.

За нестачі вітаміну А розвиваються три види симптомів: гемералопія, або нічна сліпота, ксерофтальмія (висихання рогівки ока, порушення сльозотворення), кератомаліяція (оболонка ока розм'якшується та втрачає прозорість, що призводить до повної втрати зору). Крім того спостерігають ороговіння і злущування епітелію дихальних шляхів, травного тракту, сечових шляхів. Добова потреба у ретинолі становить 1,5...3 мкг, або 5000...6000 МО, або 2...5 мг β-каротину (табл.8.5).

**Вітамін D** (кальциферол, антирахітний) існує у формах: D<sub>2</sub>-

ергокальциферол, який отримують із дріжджів, D<sub>3</sub>-холекальциферол, що утворюється в організмі людей і тварин з провітаміну 7-дегідрохолестерину під впливом сонячного випромінювання або штучної ультрафіолетової радіації. Він міститься у риб'ячому жирі, печінці, вершковому маслі тощо.

**Таблиця 8.4 – Будова та номенклатура жиророзчинних вітамінів**

Позначення	Назва		Формула
	Хімічна	Фізіологічна	
А	Ретинол	Антиксерофтальмічний	
Д	Кальциферол	Антирахітичний	
Е	Токоферол	Антистерильний	
К	Філохінон	Антигеморагічний	
Q	Убіхінон	—	

Вітамін D бере участь у регуляції транспорту кальцію і фосфатів у клітинах слизової оболонки кишки і кісткової тканини. Нестачу вітаміну D у дітей проявляється розвитком рахіту, симптомами якого є розм'якшення кісток черепа, остеопороз, слабкість м'язової тканини тощо. Добова потреба у кальцифе-

ролі становить 12...25 мкг (50...100 МО) (див. табл.8.5).

**Вітамін К** (філохінон, антигеморагічний) бере участь у біосинтезі протромбіну та інших факторів згортання крові, стимулює процеси окисного фосфорилування, входить до складу біологічних мембран, сприяє регенерації тканин і загоєнню ран. Вітамін К існує у формах: К<sub>1</sub>-філохінон, К<sub>2</sub>-менахінон і синтетичний аналог К<sub>3</sub> – менадіон (2-метил-1,4-нафтохінон). На основі останнього синтезовано десятки розчинних у воді похідних, що знайшли широке застосування у медичній практиці (вікасол, синкавіт тощо).

Вітамін К надходить до організму з продуктами (капуста, помідори, салат, печінка) та синтезується мікрофлорою. Нестачу вітаміну К виникає внаслідок вживання антибіотиків, сульфаніламідних препаратів, при хворобах печінки і жовчного міхура, коли порушується біосинтез жовчних кислот і відтік жовчі в кишки. Добова потреба у філохіноні становить 1...2 мг (див. табл.8.5).

**Таблиця 8.5 – Біологічна функція жиророзчинних вітамінів**

Вітамін	Функція	Джерело	Добова норма, мг
А	Регулює нормальний рост і диференціювання кліток організму, бере участь у фотохімічному акті зору	Печінка різних риб, жовток курячого яйця, сметана, молоко	2,5
Д	Регулює транспортування іонів кальцію і фосфатів через кліткові мембрани	Печінка, вершкове масло, молоко, дріжджі, рослинні олії	0,025... 0,0025
Е	Бере участь у процесах розмноження, є сильним антиоксидантом, що перешкоджає ланцюговим реакціям пероксидного окиснення ненасичених ліпідів у біологічних мембранах	Зернові культури, рослинні олії, капуста, салат	15,0
К	Регулює зсілість крові	Капуста, гарбуз, томати, зелені частини рослин, печінка	0,25
Q	Кофермент оксидоредуктаз, які переносять атоми гідрогену й електрони в окисно-відновних реакціях	Тканини тварин і рослин, печінка, м'язи серця	—

**Вітамін Е** (токоферол, антистерильний) бере участь у окисно-відновних процесах, має антиоксидантні властивості, входить до складу біологічних мембран. Нестачу вітаміну Е призводить до підвищення проникності або повного

руйнування клітинних мембран, ядра, мітохондрій і лізосом, а також до зміни активності ряду ферментів лізосом внаслідок їх виходу в міжклітинну рідину і кров. Добова потреба у філохіноні становить 10...20 мг (див. табл.8.5).

**Вітамін F** (поліненасичені жирні кислоти, антисклеротичний) – група біологічно активних кислот (лінолева, ліноленова, арахідонова), що є аліментарними незамінними факторами, фізіологічно активною формою яких є цис-конфігурація.

Вітамін F входить до складу клітинних мембран, регулює обмін ліпідів, підсилює ліотропну дію холіну, бере участь у біосинтезі простагландинів, сприяє переходу холестерину в розчинну форму і виведенню його з організму. Нестачу цього вітаміну майже не зустрічається. Добова потреба у вітаміні F становить 1000 мг (15...20 г соняшникової олії) (див. табл.8.5).

#### **8.4. Дослідна частина роботи**

##### **Матеріали дослідження:**

- 5 %-й розчин калій гексаціаноферату (III), 1 %-й розчин ферум (III) хлориду, 1 %-ва витяжка з шипшини, дистильована вода;
- 10 %-й розчин ацетатної кислоти, нікотинова кислота, 5 %-й розчин купрум ацетату;
- водний розчин піридоксину, 5 %-й розчин ферум (III) хлориду;
- 0,1 %-й спиртовий розчин  $\alpha$ -токоферолу, 1 %-й розчин ферум (III) хлориду.

##### **Дослід 1. Відновлення калій гексаціаноферату (III) аскорбіновою кислотою**

###### **Хід роботи**

У дві пробірки додайте по одній краплі розчинів калій гексаціаноферату (III) і ферум (III) хлориду. В одну з пробірок додайте 5...10 крапель витяжки з шипшини, у другу – 5...10 крапель дистильованої води. В якій пробірці ви спостерігаєте зміни? Поясніть результати дослідження.

##### **Дослід 2. Йодна проба на аскорбінову кислоту**

## Хід роботи

### 1. Приготування препарату аскорбінової кислоти

Наважку рослинного продукту масой 10...20 г розтерти у фарфоровій ступці з додаванням розчину хлоридної кислоти з масовою часткою HCl 2 %. Отриману суміш із застосуванням лійки та скляної палички перенести до мірної колби на 100 мл. Ступку промити розчином 2 %-ї хлоридної кислоти та злити в ту ж саму колбу, довести до мітки, закрити корком, струсити та залишити на 10 хв для вилучення аскорбінової кислоти.

### 2. Визначення вмісту аскорбінової кислоти

2.1. В дві колби для титрування піпеткою відміряйте 2 проби витяжки по 10...20 мл, розвести водою до 100 мл, додайте 2 мл розчину крохмалю і відтитруйте розчином йоду з молярною концентрацією 0,02 моль/л до появи стійкого синього кольору, що не зникає протягом 20 с. Вміст аскорбінової кислоти ( $\omega$ ) визначають (маса кислоти в міліграмах на 100 г продукту) за формулою

$$\omega = \frac{V(I_2)c(I_2)V_{\text{вит}}M_{\text{к}}}{V_{\text{пр}}m_{\text{н}}} 100, \quad (8.3)$$

де  $V(I_2)$  – об'єм розчину йоду, що витрачений на титрування, мл;  
 $c(I_2)$  – концентрація розчину йоду, моль/л;  
 $V_{\text{пр}}$  і  $V_{\text{вит}}$  – об'єм проби, що аналізують, і загальний об'єм витяжки, мл;  
 $M_{\text{к}}$  – молярна маса аскорбінової кислоти, г/моль;  
 $m_{\text{н}}$  – маса наважки вихідного продукте, г.

2.2. При аналізі рідких продуктів, наприклад соків, відмірьте 20 мл рідини, додайте 10 мл розчину хлоридної кислоти з масовою часткою HCl 2 %, 2 мл розчину крохмалю, розведіть водою до 100 мл і відтитруйте розчином йоду до появи стійкого синього кольору, що не зникає протягом 20 с. Вміст аскорбінової кислоти визначте за формулою

$$\omega = \frac{V(I_2)c(I_2)M_{\text{к}}}{V_{\text{пр}}} 100. \quad (8.4)$$

Запропонуйте форму таблиці для результатів аналізу. Порівняйте їх із даними табл.8.3. Зробіть висновки.

### **Дослід 3. Проба на нікотинову кислоту**

#### **Хід роботи**

5...10 мг нікотинової кислоти розчиніть при нагріванні в 10...20 краплях 10 %-го розчину ацетатної кислоти. До киплячого розчину додайте рівний об'єм 5 %-го розчину купрум ацетату. Що спостерігається відразу та через деякий час після досліду? Поясніть отримані результати.

### **Дослід 5. Ферихлоридна проба на піридоксин**

#### **Хід роботи**

До 5 крапель водного розчину піридоксину додайте 1 краплю розчину ферум хлориду і збовтайте. Занотуйте колір реакційної суміші. Поясніть отримані результати.

### **Дослід 6. Визначення вітаміну Е**

Спиртовий розчин  $\alpha$ -токоферолу окиснюється ферум (III) хлоридом до токоферилхінону червоного кольору.

#### **Хід роботи**

У суху пробірку навлийте 4...5 крапель розчину  $\alpha$ -токоферолу, додайте 0,5 мл розчину ферум хлориду, інтенсивно перемішайте і підігрійте на відкритому вогні до зміни кольору. Поясніть результати досліду.

## **8.5. Питання та вправи для контролю**

1. Які властивості (окисні або відновні) більш притаманні вітамінам?
2. Звідки людина отримує вітаміни?
3. На які групи поділяють вітаміни?
4. Назвіть основні водорозчинні та жиророзчинні вітаміни.
5. Яку роль відіграють вітаміни в організмі людини? Чи є вони амінами?
6. Які функції вітамінів А, Д, Е та К?

7. В яких реакціях беруть участь вітаміни в організмі людини? Перелічте вітаміни групи В та ферменти, до складу яких вони входять?
8. Використовуючи таблиці визначте, в яких харчових продуктах міститься найбільша кількість вітамінів.
9. Побудуйте ранжирований ряд харчових продуктів за вмістом в них вітаміну С.
10. Якими якісними реакціями можна визначити біологічно – активні кислоти, що входять до складу вітаміна F?
11. Визначте, до якого типу реакцій відноситься взаємодія:
  - аскорбінової кислоти з калій гексаціанофератом (III),
  - аскорбінової кислоти з йодом,
  - нікотинової кислоти з іонами купруму,
  - піридоксину з ферум (III) хлоридом,
  - $\alpha$  - топоферолу з ферум (III) хлоридом.

Які функціональні групи молекул вітамінів беруть участь у кожній реакції?

## 9. ОКИСНО-ВІДНОВНІ БІОЛОГІЧНІ ПРОЦЕСИ

### 9.1. Потенціали біологічних систем

У біологічних системах проходять численні окисно-відновні реакції виду



де  $Ox$  і  $Red$  – окиснена та відновлена форми речовини відповідно;

$x$  – кількість гідроген-іонів;

$z$  – кількість електронів, що беруть участь у реакції.

Отже, будь-яка окисно-відновна система (ОВС) являє собою супряжену пару двох форм речовини – окисненої та відновленої, причому при взаємодії з іншими ОВС окиснена форма буде акцептором, а відновлена – донором електронів. Здатність ОВС відбирати або віддавати електрони характеризують величиною *редокс-потенціалу* системи (*окисно-відновного потенціалу*).

*Рівноважний потенціал* окисно-відновних реакцій  $E$  розраховують за рівнянням

$$E = E^0 - \frac{2,3RT}{zF} \lg \frac{c_{red}}{c_{ox}} - \frac{2,3RT}{F} \frac{x}{z} pH, \quad (9.2)$$

де  $E^0$  – стандартний потенціал реакції, В;

$F$  – стала Фарадея;

$c_{red}$  та  $c_{ox}$  – концентрації відновленої та окисненої форм речовини відповідно,

$pH$  – водневий показник середовища.

В окремих випадках для визначення енергетичного стану ОВС використовують *мідпойнт-потенціал* (midpoint potential)  $E_m$ , виміряний за однакових концентрацій окисненої та відновленої форм речовини

$$E = E^0 - \frac{2,3RT}{F} \frac{x}{z} pH. \quad (9.3)$$

У біологічних об'єктах міжфазовою межею, на якій можуть виникати стрибки потенціалів, є межа між розчином та іонообмінником, наприклад білком, полісахаридом, клітковими компонентами та мембранними структурами. В іонообмінниках існує деяка кількість фіксованих зарядів – полярних груп, зв'язаних ковалентними зв'язками з полімерною матрицею, внаслідок чого вони

є нерухомими. Густина фіксованих зарядів  $q = c_{\phi}z_{\phi}$ . Електронейтральність іонообмінника підтримується іонами протилежного знаку – протиіонами. При контакті іонообмінника з розчином між ними встановлюється рівновага за всіма рухомими іонами

$$(\sum c_i z_i) = -c_{\phi} z_{\phi},$$

а потенціал на межі „іонообмінник – розчин”, який називають Доннановським,  $E_d$  дорівнює

$$E_d = \frac{2,3RT}{z_i F} \lg \frac{c_{\text{роз}}}{c_{\text{іонообм}}}, \quad (9.4)$$

де  $c_{\text{роз}}$  і  $c_{\text{іонообм}}$  – концентрації рухомих іонів у відповідних фазах.

Знак потенціалу Доннана визначається знаком фіксованих зарядів: катіонообмінник заряджається негативно щодо розчину, а аніонообмінник – позитивно.

Наприклад, якщо катіонообмінник має високу густину негативних фіксованих зарядів, то

$$E_d = \frac{2,3RT}{z_+ F} \lg \frac{c_+ z_+ \text{розчин}}{c_{\phi} z_{\phi}},$$

а для поганого іонообмінника

$$E_d = \frac{2,3RT}{2F} \lg \frac{c_{\phi} z_{\phi}}{c_{\text{розчин}}}.$$

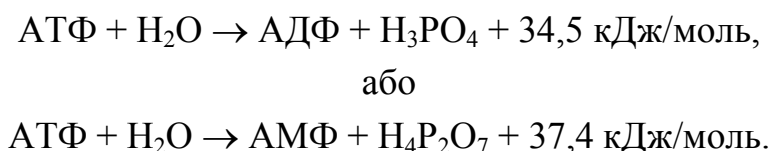
Біологічні мембрани характеризуються селективністю проникності для компонентів середовища. Різні концентрації даного виду іонів або речовин усередині ( $c_B$ ) та зовні ( $c_3$ ) клітини призводять до виникнення на мембрані різниці потенціалів, яку називають **мембранним потенціалом**  $\Delta E$  та розраховують за рівнянням

$$\Delta E = \frac{2,3RT}{zF} \lg \frac{c_3}{c_B}. \quad (9.5)$$

Наявність різниці концентрацій та потенціалів є формою накопичення енергії  $\Delta G$  у біологічних системах, яку визначають за рівнянням

$$\Delta G = -zF\Delta E. \quad (9.6)$$

Ця енергія акумулюється шляхом утворення *макроергічних зв'язків* (зміна вільної енергії сполуки при їх руйнуванні становить більш 25 кДж/моль), наприклад при синтезі АТФ (ГТФ), і вивільнюється при гідролізі. АТФ – головна макроергічна сполука організму – не є найбільш енергоємною, а знаходиться всередені енергетичної шкали. Вивільнення енергії АТФ відбувається двома шляхами:

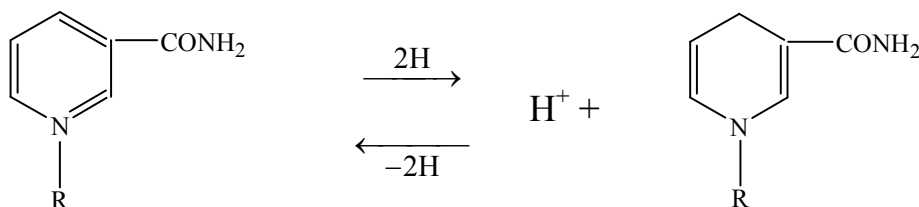


## 9.2. Типи біологічних редокс-систем

Супряжені пари кислот циклу Кребса (рис.9.1), що поставляють відновлені еквіваленти у дихальний ланцюг, можна розглядати як практично *необоротні окисно-відновні системи*:

- ізолимонна кислота (ізоцитрат) →  $\alpha$ -кетоглутарова кислота +  $\text{CO}_2$  + 2H;
- $\alpha$ -кетоглутарова кислота → бурштинова кислота (сукцинат) +  $\text{CO}_2$  + 2H;
- бурштинова кислота → фумарова кислота (фумарат) + 2H;
- яблучна кислота → щавлевооцтова кислота (оксалоацетат) + 2H

До другої важливої групи біологічних редокс-систем, які умовно характеризують як „*напівоборотні*”, відносять похідні нікотинової кислоти – нікотинамідаденіндинуклеотид ( $\text{НАД}^+$ ) і нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат ( $\text{НАДФ}^+$ ). Ці речовини виконують функцію коферментів оксидоредуктаз та переносять відновлені еквіваленти до дихального ланцюга або до відновних реакцій біосинтезу



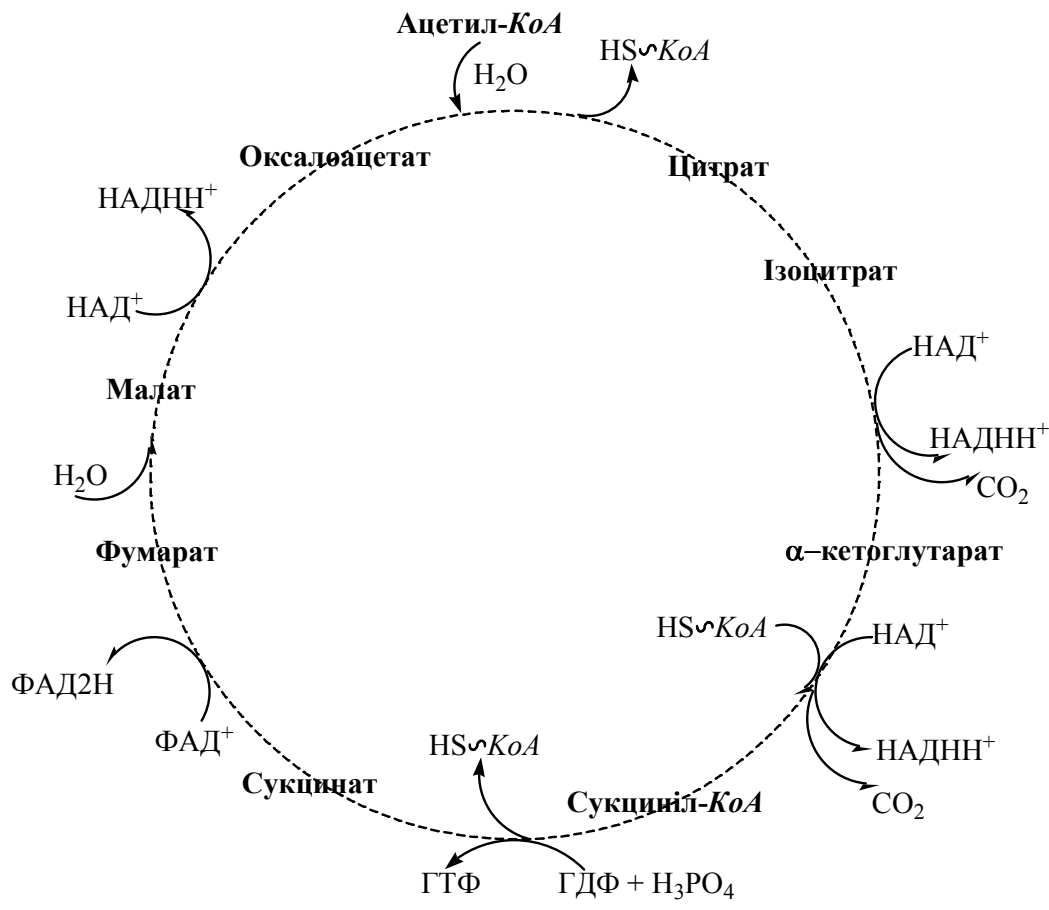
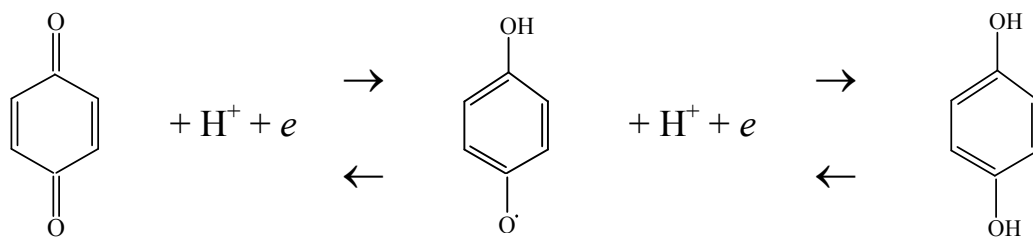


Рисунок 9.1– Крибс цикл

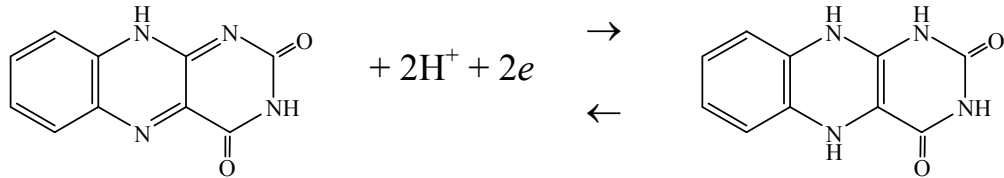
Третя група *оборотних* біологічних редокс-систем складається зі сполук хіноїдної структури (хінони та флавіни), комплексів феруму з порфіринами та ферумсульфідних білків, що містять активні полімерні кластери Fe-S. Серед біологічних редокс-систем є одноелектронні переносники (ферумпорфірини та ферумсульфідні білки), двохелектронні (хінони), а також сисетми, здатні у відповідних умовах переносити один чи два електрони (флавіни й деякі хінони).

Процес відновлення хінонів проходить стадійно з утворенням вільного радикала (семіхінона):



Хінони в біологічних системах не зв'язані з білками, тоді як флавіни та ферумпорфірини є простетичними групами (кофакторами) різних ферментів.

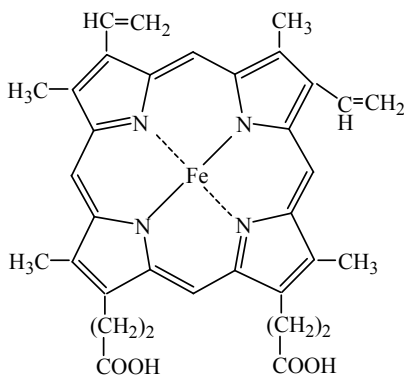
Механізм реакцій за участю флавінів ґрунтується на здатності ізоаллоксазинового групування, що є основою цих сполук, до відновлення/окиснення за схемою



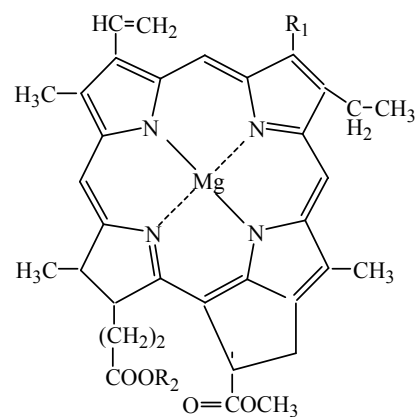
Ферумпорфіринові комплекси входять до складу цитохромів – білків, які беруть участь у перенесенні електронів у аеробних клітинах та є компонентами ланцюга кліткового дихання. Окисно-відновні властивості цих сполук зумовлені оборотною реакцією



Крім того, найважливішою функцією комплексу феруму з протопорфірином (протогема або гема *b*) є перенесення кисню, а комплексу магнію з дигідропорфірином (хлорофілом) – хлорофіллу – участь у фотосинтезі



Протогем



Хлорофілл *a* ( $R_1 - -\text{CH}_3$ )

Хлорофілл *b* ( $R_1 - -\text{CHO}$ )

$R_2 - -\text{C}_{19}\text{H}_{39}$

Ланцюги перенесення електронів, в яких бере участь більшість з розглянутих редокс-систем, локалізовані у мембранних структурах клітини. Головною

енергетичною „станцією” клітини є мітохондрії, в матриксі яких зосереджено ферменти циклу Кребса, а у внутрішній мембрані – компоненти дихального (електронтранспортного) ланцюга. Саме тут відбувається заключна стадія перетворення енергії у аеробних клітинах – перенесення електронів ланцюгом окисно-відновних систем на кисень з одночасним утворенням АТФ.

Мітохондріальний ланцюг перенесення електронів містить системи, розташовані послідовно відповідно до значень їх редокс-потенціалів (табл.9.1).

**Таблиця 9.1 – Редокс-потенціали ( $E^0$ ) систем електронтранспортного ланцюга (рН = 7)**

Субстрат	Форма коферменту		Частинка, що переноситься	$E^0$ , В
	окиснена	відновлена		
Піровіноградна, $\alpha$ -кетоглутарова, яблучна, ізолимонна кислоти	НАД <sup>+</sup>	НАДН + Н <sup>+</sup> *	2Н (2e)	-0,32
НАДН	ФМН <sup>+</sup>	ФМНН	2Н (2e)	-0,07
Бурштинова кислота (сукцинат)	ФАД <sup>+</sup>	ФАДН	2Н (2e)	-0,003
ФМНН, ФАДН	<i>KoQ</i> (убіхінон)	<i>KoQH</i>	2Н (2e)	+0,09
	цит. <i>b</i> (Fe <sup>3+</sup> )	цит. <i>b</i> (Fe <sup>2+</sup> )	<i>e</i>	0,09
	цит. <i>c</i> <sub>1</sub> (Fe <sup>3+</sup> )	цит. <i>c</i> <sub>1</sub> (Fe <sup>2+</sup> )	<i>e</i>	0,22
	цит. <i>c</i> (Fe <sup>3+</sup> )	цит. <i>c</i> (Fe <sup>2+</sup> )	<i>e</i>	0,25
	цит. <i>aa</i> <sub>3</sub> (Fe <sup>3+</sup> )	цит. <i>aa</i> <sub>3</sub> (Fe <sup>2+</sup> )	<i>e</i>	0,36
	O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	<i>e</i>	+0,82

Відновленні у циклі Кребса субстрати передають два атоми гідрогену НАД<sup>+</sup>, який приєднує один протон і два електрони, а другий протон переходить до середовища (Н<sup>+</sup>\*). Акцептором електронів від НАДН є флавопротеїд з простетичною групою ФМН, який містить також центри негімінового феруму (FeS). Наступний компонент ланцюга – убіхінон *KoQ* відновлюється шляхом приєднання двох протонів та двох електронів, які можуть надходити як від ФМН, так і від ФАД, субстратом якого є бурштинова кислота або сукцинати. На

убіхіноні відбувається перехід з двохелектронного на одноелектронний транспорт через систему цитохромів, що містять окиснену/відновлену форми феррум-іонів). До коензиму  $Q$  у електронтранспортному ланцюзі (рис.9.2) передаються атоми гідрогену, а після нього – тільки електрони, а гідроген-іони вивільнюються у середовище.

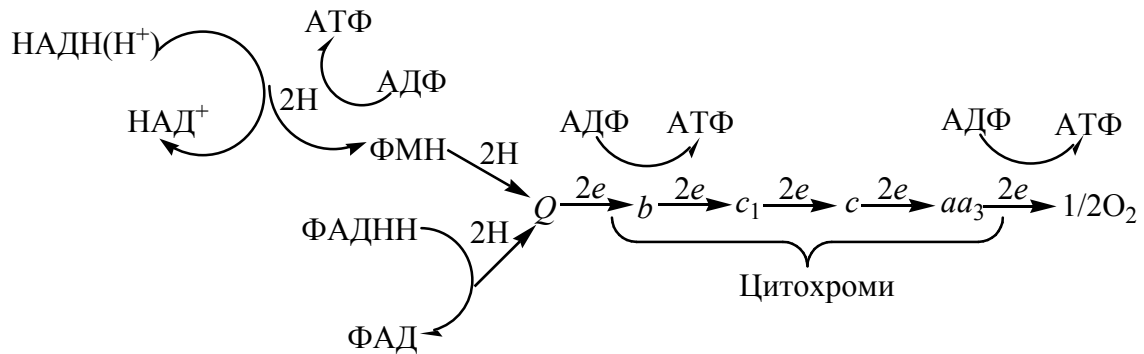
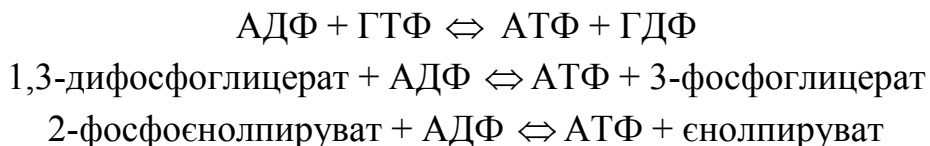


Рисунок 9.2 – Схема електронтранспортного ланцюга

### 9.3. Шляхи перетворення енергії в біологічних системах

Перетворення енергії у біологічних системах здійснюється поетапно. Перший етап – підготовчий, зв'язаний з розщепленням біополімерів до мономерів, тому він не має енергетичного значення, а утворена енергія (1 % від загальної) розсіюється у вигляді тепла.

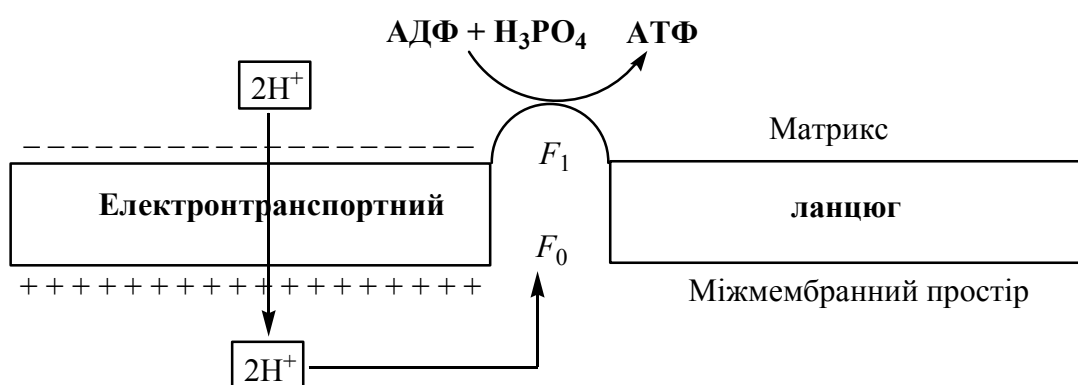
На другому етапі утворюються ацетил-*КоА* та метаболіти циклу Кребса, тобто кількість субстратів скорочується і вивільнюється до 20 % енергії у **анаеробних умовах**. Частина цієї енергії акумулюється, а залишок розсіюється. Причому акумуляція енергії відбувається шляхом субстратного фосфорилування – при взаємодії АДФ і фосфату, що входить до складу деякого субстрата, наприклад



Третій етап – кінцевий розпад метаболітів до діоксиду карбону та води – перебігає в **аеробних умовах** і є процесом біологічного окиснення. Атоми гідрогену, що переходять до коферментів НАД і ФАД у циклі Кребса, є універсаль-

ним енергетичним паливом для ферментів оксидоредуктаз, розташованих на внутрішній мембрані мітохондрій. При перенесенні їх електронтранспортним ланцюгом відбувається супраження процесу окиснення і фосфорилування з утворенням АТФ, яке називають **окисним фосфорилуванням**. Внаслідок цього вивільнюється і акумулюється 80 % всієї енергії, що надходить до організму з їжею.

Супраження окиснення і фосфорилування відбувається на трьох ділянках електронтранспортного ланцюга, для яких різниця потенціалів  $\Delta E$  відповідає енергії утворення макроергічного зв'язку (Рис.9.3). З рівняння (9.6) можна розрахувати, що  $\Delta G = -34,5$  кДж/моль, якщо  $\Delta E \approx 0,22$  В.



**Рисунок 9.3 – Схема синтезу АТФ (окисного фосфорилування)**

#### 9.4. Питання та вправи для контролю

1. Обчисліть ЕРС кола при 298 К, що складається з водневого та аргентум-хлоридного електродів, занурених у 0,5 л буферного розчину, що містить по 0,3 г  $\text{CH}_3\text{COOH}$  та  $\text{CH}_3\text{COONa}$ . Потенціал аргентум-хлоридного електрода складає 0,238 В.
2. Для вимірювання рН соку підшлункової залози було складено гальванічне коло з водневого та каломельного ( $E^0 = 0,241$  В) електродів, ЕРС якого складала 707 мВ. Визначте рН соку підшлункової залози та приведіть схему гальванічного кола.
3. Скляний електрод, з'єднаний у гальванічному колі з електродом рівняння при  $T = 298$  К, спочатку занурили в розчин з рН = 3,5, а потім – у пробу молока.

При цьому ЕРС кола збільшилась на 0,15 В. рН молока в нормі знаходиться в межах 6,6 – 6,9. Оцініть результат дослідження молока, якщо скляний електрод є негативним щодо електрода порівняння.

4. Визначте величину потенціалу мембрани при  $T = 310$  К клітин підшлункової залози, що проникна для іонів  $\text{Ca}^{2+}$ , якщо у внутрішньоклітинному середовищі  $c(\text{Ca}^{2+}) = 2 \cdot 10^{-6}$  моль/л, а в зовнішньо клітинному –  $c(\text{Ca}^{2+}) = 5 \cdot 10^{-4}$  моль/л.

5. Визначте зміну величини енергії Гіббса під час руху пари електронів через усе коло клітинного дихання.

6. Фермент лактатдегідрогеназа (ЛДГ) каталізує реакцію  
 $\text{піруват}_{\text{окиснений}} + \text{НАД}(\text{H}) + \text{H}^+ + 2e \rightarrow \text{лактат}_{\text{відновлений}} + \text{НАД}^+$ .

Визначте константу рівноваги цієї реакції ( $T = 298$  К), оцініть результат.

7. Редокс-потенціал системи ФАД/ФАДН<sub>2</sub> при  $T = 298$  К та рН = 7,0 становить – 0,20 В. Як зміниться величина потенціалу, якщо рН зменшиться на 0,5?

8. Редокс-потенціал системи метгемоглобін/гемоглобін при 298 К становить 0,055 В. Як зміниться його значення, якщо 5 % гемоглобіну буде окиснено натрій нітратом (III)?

9. Концентрації лактат- і піруват-іонів є однаковими при рН = 7,0,  $T = 298$  К. Як зміниться редокс–потенціал при окисненні 10 % лактат-іонів до піруват-іонів?

10. Масова частка метгемоглобіну (у відсотках до загального гемоглобіну) змінюється з віком дитини таким чином:

немовля – 6,22 %;

1 – 3 міс. – 2,21 %;

1 – 3 роки – 1,13 %

7 – 14 років – 1,08 %.

Визначте, на скільки змінюється в кожному віці редокс-потенціал системи метгемоглобін/гемоглобін?  $T = 310$  К.

11. Концентрація піруват-іонів у два рази перевищує концентрацію лактат-іонів. Визначте редокс-потенціал системи при рН = 6,5,  $T = 298$  К.

12. Редокс-індикатори дозволяють визначити окисно-відновний потенціал речовин безпосередньо у біологічних тканинах, не руйнуючи їх. Визначте, чи буде

пофарбований крезоловий синій з потенціалом виникнення кольору  $E^0 = -0,032$  В у біологічних системах:

а) НАД<sup>+</sup>/НАДН + Н<sup>+</sup> ( $E^0 = -0,32$  В);

б) дегідроаскорбінова кислота/аскорбінова кислота ( $E^0 = 0,14$  В),

якщо пофарбованою є окиснена форма крезолового синього, а відновлена – безбарвна.

13. У склад препаратів, що рекомендовані для лікування ферум-дефіцитної анемії, входять солі феруму (II), які легко окиснюються повітрям. Визначте за допомогою розрахунків, чи може аскорбінова кислота, що міститься у ліках, перешкоджати їх окисненню, якщо:

$$E^0(\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}) = 0,77 \text{ В},$$

$$E^0_{\text{дегідроаск/аск}} = 0,14 \text{ В}$$

14. Для визначення рН жовчі (з жовчного міхура) було складено коло з водневого та аргентум-хлоридного ( $E^0 = 0,238$ В) електродів, ЕРС якого дорівнює 0,577 В при  $T = 298$  К. Визначте рН жовчі.

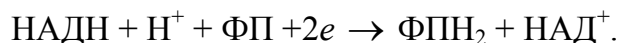
15. Для вимірювання рН слізної рідини склали гальванічне коло з водневого та каломельного ( $E^0 = 0,241$ В) електродів, ЕРС якого дорівнює 0,764 В при  $T = 298$  К. Визначте рН та концентрацію гідроген-іонів у слізній рідині.

16 Визначте значення мембранного потенціалу при  $T = 310$  К, якщо концентрація іонів К<sup>+</sup> усередині клітини в 20 разів більше, ніж зовні.

17. Концентрації ацетат- та піруват-іонів в системі однакові. Яке значення матиме редокс-потенціал цієї біологічної системи при рН = 6 та рН = 8 ( $T = 298$  К)?

18. Формальний редокс-потенціал системи НАД<sup>+</sup>/НАДН+Н<sup>+</sup> дорівнює – 0,32 В. Обчисліть значення редокс-потенціалу при відновленні 15 % НАД<sup>+</sup> ( $T = 298$  К).

19. У ході біологічного окиснення перебігає наступна реакція:



Редокс-потенціали супряжених пар при  $T = 298$  К та рН = 7,0 дорівнюють:

$$\text{НАД}^+/\text{НАДН} + \text{Н}^+ \quad - 0,32 \text{ В}$$

$$\text{ФП}/\text{ФПН}_2 \quad - 0,06 \text{ В}$$

Знайдіть величину  $\Delta G^0$  та вкажіть, на що витрачається енергія, що виділяється.

20. Нітрати (V), що містяться у рослинах, можуть відновлюватися до нітратів (III) та реагувати у шлунку з вторинними амінами, що містяться у харчових продуктах, з утворенням сильних канцерогенів – нітрозамінів. Визначте, чи можуть нітрат(V)-аніони відновлюватися аскорбіновою кислотою.

21 Редокс-потенціал системи НАДФ<sup>+</sup>/НАДФН при 298 К та рН = 7 становить – 0,3 В. Як треба змінити рН, щоб редокс-потенціал цієї системи дорівнював формальному редокс-потенціалу  $E^{01} = -0,324$  В?

22. Визначте кількість речовини цитохрому  $c_1$  в окисненій формі, яка може утворюватися з його відновленої форми за рахунок енергії, що вивільнюється при оксненні глюкози в кількості 1 моль за н.у.

## ДОДАТОК

### Додаток А. Константи дисоціації слабких кислот та основ у водних розчинах

Кислота	$K_d$	Основа	$K_d$
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	10 <sup>-10</sup>	Cu(OH) <sub>2</sub>	3,4·10 <sup>-7</sup>
H <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>		Fe(OH) <sub>2</sub>	1,3·10 <sup>-4</sup>
K <sub>дI</sub>	2,2·10 <sup>-10</sup>		
K <sub>дII</sub>	1,6·10 <sup>-12</sup>		
H <sub>2</sub> S		Fe(OH) <sub>3</sub>	1,35·10 <sup>-12</sup>
K <sub>дI</sub>	1,0·10 <sup>-7</sup>		
K <sub>дII</sub>	2,5·10 <sup>-13</sup>		
H <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>		Ni(OH) <sub>2</sub>	2,5·10 <sup>-5</sup>
K <sub>дI</sub>	1,4·10 <sup>-2</sup>		
K <sub>дII</sub>	6,2·10 <sup>-8</sup>		
CH <sub>3</sub> COOH	1,7·10 <sup>-5</sup>	Al(OH) <sub>3</sub>	1,38·10 <sup>-9</sup>
H <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>		Cr(OH) <sub>3</sub>	1,02·10 <sup>-10</sup>
K <sub>дI</sub>	2,5·10 <sup>-13</sup>		
K <sub>дII</sub>	4,7·10 <sup>-11</sup>		
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>		Cd(OH) <sub>2</sub>	5,0·10 <sup>-3</sup>
K <sub>дI</sub>	8,0·10 <sup>-3</sup>	NH <sub>4</sub> OH	1,76·10 <sup>-5</sup>
K <sub>дII</sub>	7,5·10 <sup>-8</sup>	Mn(OH) <sub>2</sub>	5,0·10 <sup>-4</sup>
K <sub>дIII</sub>	5,0·10 <sup>-13</sup>	AgOH	1,1·10 <sup>-4</sup>
HCN	4,9·10 <sup>-10</sup>	Zn(OH) <sub>2</sub>	4,0·10 <sup>-5</sup>
HCOOH	1,8·10 <sup>-4</sup>	Co(OH) <sub>2</sub>	4,0·10 <sup>-5</sup>

### Додаток Б. Ваговий склад тіла людини, %

Вода	60...80
Тверді речовини:	40...20
Білки	15...20
Ліпіди	3...20
Вуглеводи	1...15
Низькомолекулярні органічні речовини	0...1
Неорганічні речовини	1

**Додаток В. Склад деяких органів і тканин, %**

Орган, тканина	Вода	Білки	Ліпіди	Мінеральні речовини
Шкіра	58	27	14	0,6
Кістки	28	20	25	27
М'язи	70	22	6	1
Жирова тканина	23	6	71	0,2
Печінка	71	22	3	1,4
Мозок	75	11	12	1,4

**Додаток Г. Вміст елементів в земній корі та організмі людини**

Елемент	Вміст, %	
	в земній корі	в організмі людини
<b>O</b>	47,0	65,0
<b>Si</b>	28,1	–
<b>Al</b>	7,9	–
<b>C</b>	0,09	18,0
<b>H</b>	0,22	10,0
<b>N</b>	0,03	3,0
<b>Ca</b>	3,4	2,0
<b>P</b>	0,1	1,0
<b>K</b>	2,45	0,35
<b>S</b>	0,05	0,25
<b>Na</b>	2,45	0,15
<b>Cl</b>	0,2	0,15
<b>Mg</b>	2,4	0,05
<b>Fe</b>	4,43	0,004
<b>F</b>	0,08	–
<b>Cu</b>	0,01	–
<b>Mn</b>	0,1	–
<b>Zn</b>	0,02	–
<b>I</b>	$3 \cdot 10^{-5}$	–

### Додаток Д. Коферменти та простетичні групи ферментів

Назва коферменту	Простетична група (вітамін)	Функціональні групи, що переносяться
Никотинамідаденіндинуклеотид (НАД)	Никотинамід (вітамін <i>PP</i> )	Атоми Н, електрони
Никотинамідаденіндинуклеотид-фосфат (НАДФ)	Никотинамід (вітамін <i>PP</i> )	Атоми Н, електрони
Флавінмононуклеотид, рибофлавінфосфат (ФМН)	Рибофлавін (вітамін <i>B</i> <sub>2</sub> )	Атоми Н, електрони
Флавінадениндинуклеотид (ФАД)	Рибофлавін (вітамін <i>B</i> <sub>2</sub> )	Атоми Н, електрони
Убіхінон (коензім <i>Q</i> )	Вітамін <i>Q</i>	Атоми Н, іони Н <sup>+</sup> , електрони
Коензім <i>A</i> (КоА)	Пантотенова кислота	-COOH, -CO
Тетрагідрофолієва кислота (ТГФ)	Фолієва кислота	-CH <sub>3</sub> , =CH <sub>2</sub> , -CONH <sub>2</sub>
Біоцитин	Біотин (вітамін <i>H</i> )	CO <sub>2</sub>
Тіаміндифосфат (ТДФ)	Тіамін (вітамін <i>B</i> <sub>1</sub> )	Альдегіди, кетони
Пиридоксальфосфат (ПФ)	Пиридоксин (вітамін <i>B</i> <sub>6</sub> )	-COOH, -NH <sub>2</sub>
Дезоксіденозил-(метил-) кобаламін	Ціанкобаламін (вітамін <i>B</i> <sub>12</sub> )	-CH <sub>3</sub> , ізомеризація

### Додаток Е. Метали – активатори ферментів

Назва ферменту	Каталізуємий процес	Іон-активатор
Цитохроми	Перенос електронів	Fe <sup>2+</sup>
Пероксидаза	Оксидення поліфенолів, аліфатичних та ароматичних амінів, жирних кислот у присутності H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Fe <sup>2+</sup>
Фенооксидаза	Оксидення поліфенолів	Cu <sup>2+</sup>
Нітратредуктаза	Відновлення органічних нітратів	Mo <sup>2+</sup>
Альдегідоксидаза	Оксидення альдегідів	Mo <sup>2+</sup>
Пептидаза	Розщеплення ді та трипептидів	Co <sup>2+</sup> , Mg <sup>2+</sup>
Амілаза, ліпаза	Гідроліз вуглеводів і тригліцеридів	Ca <sup>2+</sup>
Карбоангідраза	Утворення ангідридів карбонових кислот	Zn <sup>2+</sup>
Фосфатаза	Відщеплення фосфат-іону	Mg <sup>2+</sup>
Аргіназа	Розщеплення аргініна	Mn <sup>2+</sup>

**Додаток Ж. Деякі біологічно-активні органічні кислоти**

Назва кислоти	Склад і структура	Назва солі
<b>Насичені та ненасичені двохоосновні</b>		
Щавлева	$\text{HOOC-COOH}$	Оксалат
Малонова	$\text{HOOC-CH}_2\text{-COOH}$	Малонат
Бурштинова	$\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_2\text{-COOH}$	Сукцинат
Глутарова	$\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_3\text{-COOH}$	Глутарат
Адипинова	$\text{HOOC-(CH}_2\text{)}_4\text{-COOH}$	Адипинат
Фумарова	$\text{HOOC-CH=CH-COOH}$	Фумарат
<b>Оксі- та кетокислоти</b>		
Молочна	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-CH-COOH} \\   \\ \text{OH} \end{array}$	Лактат
Яблучна	$\begin{array}{c} \text{HOOC-CH}_2\text{-CH-COOH} \\   \\ \text{OH} \end{array}$	Малат
Лимонна	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\   \\ \text{HOOC-CH}_2\text{-C-CH}_2\text{-COOH} \\   \\ \text{OH} \end{array}$	Цитрат
Піровіноградна	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-C-COOH} \\    \\ \text{O} \end{array}$	Піруват
Щавлевооцтова	$\begin{array}{c} \text{HOOC-CH}_2\text{-C-COOH} \\    \\ \text{O} \end{array}$	Оксалоацетат
Ацетилсаліцилова (аспірин)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{-C-C}_6\text{H}_4\text{-COOH} \\    \\ \text{O} \end{array}$	Ацетилсаліцилат

### Додаток 3. Термодинамічні властивості деяких речовин за стандартних умов

Речовина	$\Delta_f H_{298}^0$ , кДж/моль	$S_{298}^0$ , Дж/моль·К	Речовина	$\Delta_f H_{298}^0$ , кДж/моль	$S_{298}^0$ , Дж/моль·К
<b>Амінокислоти</b>			<b>Спирти</b>		
Аланін (т)	-563,6	132,2	Гліцерин (р)	-670,7	204,6
Аланін, цвіттер-іон (р)	-554,8	159,0	Етанол (р)	-277,0	161,0
Аргінін (т)	-621,7	250,6	Метанол (р)	-238,7	126,8
Аргінін, цвіттер-іон (р)	-615,5	-	<b>Кислоти</b>		
Аспарагінова кислота (т)	-977,9	154,4	Ацетатна	-484,2	159,8
Аспарагінова кислота, цвіттер-іон (р)	-947,4	216,3	Бурштинова (р)	-912,2	269,5
Аспарагін (т)	-790,4	174,5	Бутанова (р)	-532,6	303,8
Аспарагін, цвіттер-іон (р)	-766,1	238,9	Лимонна, моногідрат (т)	-1838,8	283,5
Цистеїн (т)	-532,6	169,9	Молочна (р)	-673,6	192,1
Цистин (т)	-1044,33	280,6	Пальмітинова (т)	-890,8	455,2
Глутамінова кислота (т)	-1009,2	188,2	Піровіноградна (р)	-607,5	179,9
Глутамінова, цвіттер-іон (р)	-982,0	249,0	Фумарова (т)	-810,7	166,1
Глутамін (т)	-825,9	195,1	<b>Вуглеводи</b>		
Глутамін, цвіттер-іон (р)	-805,0	251,0	Глюкоза (р)	-1263,8	269,5
Гліцин (т)	-537,2	103,5	Лактоза (р)	-2233,1	399,6
Гліцин, цвіттер-іон (р)	-523,0	158,6	Мальтоза (р)	-2238,1	407,9
Лейцин (т)	-649,8	207,1	Сахароза (р)	-2215,9	403,8
Лейцин, цвіттер-іон (р)	-643,4	207,5	<b>Неорганічні речовини</b>		
Метіонін (т)	-761,7	231,5	CO <sub>2</sub> (г)	-393,5	213,6
Валін (т)	-618,0	181,2	H <sub>2</sub> O (р)	-285,8	70,0
			N <sub>2</sub> (г)	0	191,5

## Додаток К. Методика приготування реактивів

### Біуретов реактив

1,5 г купрум сульфату  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  і 6 г натрій-калій тартрату розчинити у 300 мл 10 %-го розчину  $\text{NaOH}$  та довести об'єм дистильованою водою до 1 л.

### Молібдатний реактив

7,5 г амоній молібдату розчинити у 100 мл води і додати 100 мл 32 %-ї нітратної кислоти (густина 1,2 г/мл).

### Реактив Міллона

40 г ртуті розчинити у 60 мл концентрованої нітратної кислоти кімнатної температури, потім поставити на теплу водяну баню до припинення виділення  $\text{NO}_2$  при перемішуванні. Після цього додати 120 мл води і одержаний розчин розвести у співвідношенні 1:1.

### Реактив Несслера

10 г калій йодиду розчинити у 15 мл води, додати 15 г йоду, ретельно перемішати і додати 80 мл 50 %-го розчину  $\text{NaOH}$ , перемішати та довести об'єм дистильованою водою до 0,5 л. Залишити на добу, після чого профільтрувати крізь скляну вату.

### Реактив Фоля

До 5 %-го водного розчину плюмбум ацетату додати 30 %-й розчин  $\text{NaOH}$  (рівний об'єм до розчинення утвореного мутного осаду).

### Розчин білка

Білки трьох курячих яєць відділити від жовтків, змішати з 700 мл дистильованої води і 300 мл насиченого розчину натрій хлориду, відфільтрувати.

## Список літератури

1. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов: Учеб. для вузов / Ю.А. Ершов, В.А. Попков, А.С. Берлянд и др. Под ред. Ю.А. Ершова.– 4-е изд., стер.– М.: Высш. шк., 2003.– 560 с.
2. Проскурина И.К. Биохимия: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений. – М.: ВЛАДОС-ПРЕСС, 2001. – 240 с.
3. Практикум по биофизике: Учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / В.Ф. Антонов, А.М. Черныш, В.И. Пасечник, С.А. Вознесенский, Е.К. Козлова. – М.: ВЛАДОС, 2001. – 352 с.
4. Биохимия. Краткий курс с упражнениями и задачами / Под ред. члена-корреспондента РАН, проф. Е.С. Северина, проф. А.Я. Николаева. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 448 с.
5. Литвинова Т.Н. Задачи по общей химии с медико-биологической направленностью. – Ростов н/Д.: «Феникс», 2001. – 128 с.
6. Практикум з біологічної хімії/ За ред. О.Я. Склярова. – К.: Здоров'я, 2002. – 298 с.
7. Шапиро Я.С. Биологическая химия: Учеб. пособие. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2004. – 368 с.
8. Посібник з хімічного термінознавства: Навч. посібник / О.В. Бондарець, В.І. Булавін, В.В. Дубчинський, О.П. Некрасов, Г.Д. Павлова, Л.Я. Терещенко. – Харків: НТУ „ХПІ”, 2003. – 112 с.

Навчальне видання

Практикум з основ біохімії та біофізики  
для організації лабораторних, практичних занять і самостійної роботи  
з дисципліни "Основи біохімії та біофізики"

Укладачі

ВЕДЬ Марина Віталіївна  
ЯРОШОК Тамара Петрівна  
САХНЕНКО Микола Дмитрович  
ОРЕХОВА Тетяна Юріївна  
БУЛАВІН Віктор Іванович

Відповідальний за випуск В.І. Булавін  
Роботу до друку рекомендував Я.М. Пітак

Редактор В.М.Баранов

План 2004 р., 25 / \_\_\_\_

Підписано до друку

Формат 60 x 84 1/16. Папір друк. №2.

Друк – ризографія. Гарнітура Таймс. Ум. друк. арк. 5,6. Обл.-вид. арк. 6,5.

Наклад 100 прим. Зам.№ Ціна договірна

---

Видавничий центр НТУ "ХП", 61002, Харків, вул. Фрунзе, 21  
Свідоцтво про державну реєстрацію ДК № 116 від 10.07.2000 р.

---

Друкарня НТУ "ХП", 61002, Харків, вул. Фрунзе, 21

