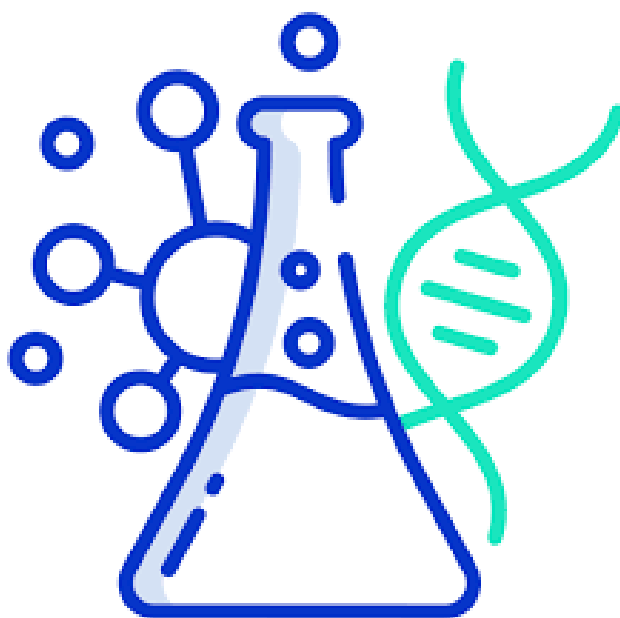




Прилуцька С.В., Гринюк І.І., Ткаченко Т.А.

БІОХІМІЯ

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК



Київ 2022



Прилуцька С.В., Гринюк І.І., Ткаченко Т.А.

БІОХІМІЯ

НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК

Київ 2022

УДК 577.1(075)

П 75

*Рекомендовано до видання рішенням вченої ради
Національного університету біоресурсів і природокористування України
Протокол № 2 від 28 вересня 2022 року*

Рецензенти:

Калачнюк Л.Г., доктор біологічних наук, професор кафедри біохімії та фізіології тварин ім. акад. М.Ф. Гулого НУБІП України;

Савчук О.М., доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри біохімії Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка;

Приседський Ю.Г., доктор біологічних наук, професор кафедри ботаніки і екології факультету хімії, біології і біотехнологій Донецького національного університету імені Василя Стуса.

П 75 Біохімія : навчальний посібник / С.В. Прилуцька, І.І. Гринюк, Т.А. Ткаченко. – Київ : НУБІП України, 2022. – 193 с.

ISBN

Навчальний посібник містить теоретичний та практичний матеріал по основних розділах навчальної програми з курсу «Біохімія» для студентів спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія». Зміст навчального посібника відповідає навчальній дисципліні «Біохімія». Розглянуто такі розділи статичної біохімії як «Протеїни та амінокислоти», «Вуглеводи», «Нуклеїнові кислоти», «Ліпіди», а також «Ферменти», «Вітаміни» та «Фітогормони». З метою кращого засвоєння лекційного і практичного матеріалів та закріплення знань в кінці кожного розділу наведено контрольні запитання і завдання, а також Додатки з наведеними схемами основних біохімічних реакцій та перетворень біорганічних сполук у живих організмах. Основною метою навчально-методичного видання є розширення теоретичних знань та формування практичних навичок у студентів під час вивчення загального курсу «Біохімія».

Для підготовки фахівців освітнього ступеня «Бакалавр» за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія». Посібник буде корисний студентам, аспірантам та викладачам закладів вищої освіти.

УДК 577.1(075)

©Прилуцька С.В., Гринюк І.І.,
Ткаченко Т.А., 2022
© НУБІП України

ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ



Прилуцька Світлана Володимирівна

Доктор біологічних наук, старший науковий співробітник. Випускниця кафедри біохімії біологічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Завідувач кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики Національного університету біоресурсів і природокористування. Викладає дисципліни «Біохімія», «Клітинна біоенергетика», «Вступ до фаху», «Фізіологія рослин з основами біохімії». Автор та співавтор понад 200 наукових праць, серед яких 5 колективних монографій (3 видані за кордоном), 89 статей представлені у наукометрич-

ній базі Scopus, більшість з яких опубліковані у міжнародних високореєтингових наукових фахових виданнях кuartилів Q1 і Q2, 7 патентів України на винахід, 1 навчальний посібник. Наукові інтереси пов'язані з вивченням біологічних властивостей та використанням наноматеріалів у біомедицині та агротехнологіях. Електронна адреса: physiol.biochem2021@gmail.com



Гринюк Ірина Іванівна

Кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник. Випускниця кафедри біохімії біологічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Доцент кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського». Викладає дисципліни «Нанобіотехнології», «Хімія фармацевтичних інгредієнтів», «Біохімія», «Методи аналізу в біотехнології», «Біологічні та хімічні сен-

сорні системи» та ін. Автор та співавтор близько 60 наукових праць, серед яких 3 колективні монографії, 2 навчальних посібники, 50 статей у наукових фахових журналах, більшість з яких представлені у наукометричних базах Scopus та Web of Science. Наукові інтереси пов'язані із дослідженням біоактивності нановуглецевих матеріалів та застосуванням їх у медицині. Електронна адреса: igrynyuk@ukr.net



Ткаченко Тетяна Анатоліївна

Кандидат біологічних наук, доцент кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики, старший науковий співробітник УЛЯБП АПК. Викладає дисципліни «Біохімія», «Біобезпека», «Біоенергетичні основи біотехнологічних процесів». Автор та співавтор понад 60 наукових праць, в тому числі 3 монографій, 1 підручника, 1 термінологічного словника, 2 патентів на корисну модель. Наукові інтереси пов'язані з вивченням біохімічних механізмів впливу важких металів на живі організми. Електронна адреса: physiol.biochem2021@gmail.com

ЗМІСТ

ВСТУП.....	8
ЗАГАЛЬНІ ПРАВИЛА ПОВЕДІНКИ І ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ СТУДЕНТІВ У НАВЧАЛЬНІЙ БІОХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ	10
РОЗДІЛ 1. «ПРОТЕЇНИ І АМІНОКИСЛОТИ»	12
Лабораторна робота № 1 «Виділення рослинних білків»	18
Лабораторна робота № 2 «Якісні (кольорові) реакції на протеїни та амінокислоти»	19
Лабораторна робота № 3 «Визначення концентрації протеїну»	22
Контрольні питання та завдання	28
РОЗДІЛ 2. «ВУГЛЕВОДИ»	29
Лабораторна робота № 4 «Якісні реакції на моносахариди»	39
Лабораторна робота № 5 «Полісахариди: якісні реакції»	42
Лабораторна робота № 6 «Кількісний аналіз вмісту глюкози в рослинному матеріалі»	45
Контрольні питання та завдання	48
РОЗДІЛ 3. «ЛІПІДИ»	49
Лабораторна робота № 7 «Розчинність ліпідів. Утворення емульсії»	58
Лабораторна робота № 8 «Хімічні параметри жирів»	59
Контрольні питання та завдання	64
РОЗДІЛ 4. «НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ»	65
Лабораторна робота № 9 «Якісні реакції на основні складові (дезоксирибонуклеопротейнів»	72
Лабораторна робота № 10 «Спектрофотометричне визначення сумарного вмісту нуклеїнових кислот за методом Спіріна»	76
Контрольні питання та завдання	78
РОЗДІЛ 5. «ЕНЗИМИ»	79
Лабораторна робота № 11 «Вивчення каталітичної активності амілази»	82
Лабораторна робота № 12 «Визначення пероксидазної активності»	83
Лабораторна робота № 13 «Визначення каталазної активності у тканинах рослин методом Баха О.М. і Опаріна А.І.»	85
Лабораторна робота № 14 «Визначення тирозиназної активності у рослинних зразках»	87
Лабораторна робота № 15 «Визначення супероксиддисмутазної активності у рослин за методом Чеварі та співав.»	90

Лабораторна робота № 16 «Визначення каталітичної активності ліпази»	92
Лабораторна робота № 17 «Оцінка властивостей ензимів за дії фізико-хімічних чинників»	94
<i>Контрольні питання та завдання</i>	97
РОЗДІЛ 6. «ВІТАМІНИ»	98
Лабораторна робота № 18 «Якісне визначення фолієвої кислоти»	109
Лабораторна робота № 19 «Кількісне визначення вітаміну С»	111
Лабораторна робота № 20 «Якісне та кількісне визначення вітаміну А»	113
Лабораторна робота № 21 «Кількісне визначення вітаміноподібної речовини (вітамін Р)»	115
<i>Контрольні питання та завдання</i>	118
РОЗДІЛ 7. «ФІТОГОРМОНИ»	119
Лабораторна робота № 22 «Вплив фітогормонів на проростання пилку»	125
<i>Контрольні питання та завдання</i>	127
Лабораторна робота № 23 «Оцінка цитотоксичної дії біхромату калію та пероксиду водню з використанням прижиттєвих барвників»	128
Лабораторна робота № 24 «Кількісне визначення нітратів у рослинах»	130
Лабораторна робота № 25 «Одержання розчину феофітину та металозаміщеного хлорофілу»	132
Лабораторна робота № 26 «Відновлення цитохрому с»	133
Лабораторна робота № 27 «Дослідження процесу фосфорилуючого окиснення»	134
ТЕРМІНОЛОГІЧНИЙ СЛОВНИК.....	137
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	143
Додатки	145

ВСТУП

Біологічна хімія (біохімія) – наука, що спрямована на вивчення хімічного складу, структури, механізмів перетворення речовини та енергії, які відбуваються в живих організмах у процесі їх життєдіяльності. Біохімія є проміжною ланкою між такими дисциплінами як хімія та біологія і взаємопов'язана з рядом біологічних наук: анатомією, яка вивчає будову організму, гістологією та цитологією – структуру тканин і клітин, а також фізіологією, молекулярною біологією, біофізикою, генетикою тощо.

Біохімія, як і інші біологічні науки, вивчає живі системи, але вивчає їх на молекулярному та надмолекулярному рівнях. В основі організменного рівня життя лежить структурна і хімічна взаємодія та взаємовплив, тому вивчення біохімії дозволяє певною мірою наблизитися до розуміння фізіологічних процесів, що відбуваються в цілому організмі.

Біохімічні процеси, що відбуваються у живих організмах ґрунтуються на однакових принципах та визначаються їх спільними властивостями. Так, між рослинами і тваринами багато подібного: хімічний склад більшості клітинних структур, макромолекул, основні метаболічні шляхи та ін., що в свою чергу свідчить про єдність органічного світу. У той же час існують відмінності між біохімічними процесами, які відбуваються у різних класах (типах) живих організмів (рослинних та тваринних організмах). Зокрема біохімічні перетворення у рослинних організмів мають свої особливості, пов'язані із специфікою їх життєдіяльності. Характерною ознакою рослин, яка відрізняє їх від тварин та інших живих організмів, є здатність засвоювати сонячну енергію і здійснювати первинний синтез органічних сполук із вуглекислого газу, води та мінеральних речовин. Більшість рослин характеризуються суттєвою різноманітністю так званих вторинних метаболітів, до яких належать терпени, алкалоїди, фенілпропаноїди, фітонциди, глікозиди і таке інше. Регуляція фізіологічних і біологічних процесів у рослин має також свої особливості, оскільки здійснюється за дії низькомолекулярних іонів і фітогормонів.

Завдання біохімії полягають у дослідженні взаємозалежності між структурою органічної речовини та її функціями, шляхів перетворення хімічних сполук в клітинах та організмі в цілому, способів утворення енергії, її перерозподілу і використання в живих системах, вивченні механізмів контролю та регуляції перетворень різних класів сполук у клітинах, а також тканинах і органах, шляхів передачі спадкової інформації та інше.

Дисципліна «Біохімія» є загальною згідно навчального плану для підготовки фахівців освітнього ступеня «Бакалавр» за спеціальністю 162 «Біотехнології та біоінженерія». Навчальний посібник складається із семи розділів: «Протеїни і амінокислоти» (Прилуцька С.В., Гринюк І.І.), «Ферменти» (Прилуцька С.В., Ткаченко Т.А.), «Вуглеводи» (Прилуцька С.В., Гринюк І.І.), «Нуклеїнові кислоти» (Прилуцька С.В., Ткаченко Т.А.), «Ліпіди» (Прилуцька С.В., Гринюк І.І.), «Вітаміни» (Прилуцька С.В., Ткаченко Т.А.) та «Фітогормони» (Прилуцька С.В., Ткаченко Т.А.). Навчально-методичне видання має за мету надати студенту можливість закріпити і доповнити попередньо набуті знання та сформувати практичні навички при виконанні лабораторних робіт, передбачених загальним курсом «Біохімія».

Навчальний посібник «Біохімія» складається з теоретичного матеріалу до кожного розділу та 27 лабораторних робіт, контрольних запитань до кожного розділу згідно навчальної програми, що допоможе студенту самостійно підготуватися до лабораторної роботи, попередньо засвоївши теоретичний матеріал. У лабораторній роботі описано суть запропонованого методу дослідження, структурні формули та хід хімічних реакцій перетворення речовин, перелік матеріалів, реактивів і обладнання, а також детальний опис ходу виконання роботи. Методики виконання лабораторних робіт, запропоновані у навчальному посібнику, мають за кінцеву мету доповнити теоретичні знання, отримані при вивченні кожного з розділів біохімії, забезпечити набуття практичних навичок згідно робочого плану дисципліни, опанування основними методами біохімічного аналізу, а саме якісного аналізу та кількісного визначення різних біохімічних компонентів і дослідження їх метаболізму. По завершенню експериментальної частини лабораторної роботи студент повинен занотувати у зошиті отримані результати та висновки, виконати наведені завдання, що сприятиме розвитку в студентів навичок організації, планування, технічного виконання і аналізу результатів наукової роботи.

Представлений навчальний посібник «Біохімія» є цінним навчальним виданням для підготовки фахівців-біотехнологів, що закладає основи розуміння біотехнологічних процесів на молекулярному і надмолекулярному рівнях.

ЗАГАЛЬНІ ПРАВИЛА ПОВЕДІНКИ І ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПРИ РОБОТІ СТУДЕНТІВ У НАВЧАЛЬНІЙ БІОХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

1. При перебуванні у біохімічній лабораторії дотримання основних правил безпечного поводження є життєвонеобхідним, оскільки будь-яке порушення несе загрозу здоров'ю і життю виконавця.
2. Студенте, пам'ятай, виконання практичної частини лабораторної роботи неможливе без використання спецодягу (халат, шапочка), який захищає одяг і шкіру від різноманітних забруднень та пошкоджень.
3. Зверніть увагу на те, що робоче місце призначене для виконання практичної частини роботи, тому використовувати можна лише ті речі, які потрібні для її проведення (зошит, ручка, посібник тощо), а всі особисті речі (верхній одяг, сумки, портфелі) зберігати в передбачених для таких потреб місцях.
4. У приміщенні лабораторії абсолютно не припустимим є споживання їжі і води.
5. Пам'ятайте, що навчальна біохімічна лабораторія призначена для виконання лише тих робіт, які описано в навчальному посібнику, довільне змішування хімічних реактивів заборонене!
6. Після використання усі ємності з реактивами необхідно повернути на своє місце, попередньо щільно закривши їх корками.
7. Використання лугів, концентрованих кислот вимагає особливої обережності для запобігання їх потрапляння в очі, на шкіру та одяг. Тому з кислотами, лугами, сильнопахнучими і токсичними речовинами обов'язково працюють під витяжною шафою із включеною тягою.
8. Беззаперечно дотримуйтесь правил безпеки при використанні електроприладів. Дозволяється працювати лише із заземленим обладнанням, не дозволяється виключати прилади з розетки мокрими руками, а також тягнути за кабель живлення.
8. За необхідності скористатися газовим пальником, вентиль слід відкривати поступово.
9. Зверніть увагу, що з легкозаймистими і леткими речовинами працювати біля джерел відкритого вогню (запаленого пальника, спиртівки) категорично заборонено.
11. Якщо необхідно нагріти речовини у пробірці, її прогрівають спочатку зверху донизу і лише потім на дні, при цьому отвір спрямовувати у напрямку від себе і оточуючих.

12. Пам'ятайте, що будь-які ввімкнені прилади (центрифуги, газові пальники, водяні бані тощо) потребують нагляду виконавця роботи і не можуть залишатись без контролю.

13. У випадку виникнення пожежі слід локалізувати джерело займання (по можливості вимкнути прилад з електромережі чи перекрити газопостачання) і скористатися доступними засобами пожежегасіння (вогнегасник, пісок, ковдра з натуральної тканини).

14. Після завершення роботи вміст пробірок із лугами, концентрованими кислотами та іншими токсичними речовинами слід виливати у призначені для цього ємності.

15. Водостічна раковина не призначена для залишків фільтрувального паперу, сірників, побитого посуду та ін., для цього слід використовувати смітник.

16. У випадку забруднення робочого місця реактивами, спочатку їх нейтралізують і лише потім прибирають, використовуючи гумові рукавички та підручні засоби (щітки, совки, ганчірки).

17. Перед тим як помістити пробірки в центрифугу, їх обов'язково треба зрівноважити і розмістити в роторі по діагоналі. Заборонено запускати центрифугу з відкритою кришкою та відкривати останню до моменту повної зупинки ротора.

16. Надання першої допомоги при хімічних опіках:

При потрапленні на шкіру чи одяг лугів - промити ділянку ураження під струменем проточної води після чого обробити місце 1 % розчином оцтової кислоти;

При потрапленні на шкіру чи одяг кислоти - промити ділянку ураження під струменем проточної води після чого обробити місце 1 % розчином соди;

При потрапленні на шкіру фенолу – ділянку ураження промити водою і обробити етиловим спиртом, поліетиленгліколем (не розтираючи по поверхні шкіри на суміжні ділянки), чергуючи процедуру з промиванням під проточною водою.

Якщо кислота чи луг потрапили в очі – промивають очі значною кількістю води і за допомогою піпетки закачують в уражене око відповідно 2 % розчин соди (кислотний опік) або 2 % розчин борної кислоти (лужний опік).

РОЗДІЛ 1 «ПРОТЕЇНИ І АМІНОКИСЛОТИ»

Протеїни – це група органічних сполук, що в своєму складі містять карбон (51-55 %), кисень (21-23 %), нітроген (15-18 %), гідроген (6,6-7,3 %), сульфур (0,3-2,4 %), а деякі протеїни - фосфор (0,2-2%), ферум та ін. Характерною особливістю елементарного складу протеїнів у всіх організмів є наявність нітрогену.

Протеїни – це один з найпоширеніших класів біологічних макромолекул. Вони наявні у кожній клітині живих організмів та у всіх складових клітини. За хімічною природою протеїни є високомолекулярними органічними сполуками (біополімерами), молекули яких складаються із залишків молекул амінокислот, які сполучені один з одним пептидними зв'язками.

Протеїни виконують такі *функції*:

Структурну – протеїни є невід'ємним компонентом, що необхідний для утворення структурної основи клітини і органел, формуванні сполучної тканини, покривних тканин рослин тощо. Протеїни складають приблизно 18 – 21 % загальної сирої маси і близько 45 – 50 % сухої маси організму тварин і людини;

Каталітичну – більше 3000 протеїнів є ензиматичноактивними. Переважно ензими за своєю природою є протеїнами (за виключенням рибозимів). Ензими як каталізатори є високоефективними, порівняно з іншими каталізаторами, а також володіють виключною вибірковістю і субстратною специфічністю;

Рецепторну – протеїни відіграють ключову роль у передачі і прийнятті сигналів поверхнею кожної клітини, забезпечує міжклітинну взаємодію;

Транспортну – з безпосередньою участю протеїнів здійснюється активний транспорт іонів і речовин через клітинну мембрану, а також між тканинами і органами;

Механо-хімічну – білки забезпечують рух гладких і поперечно-позмуглованих м'язів, їх скорочення та розслаблення, в цьому числі роботу серця, перестальтику кишечника, крім того за участю протеїнів здійснюється рух сперматозоїдів, мікроорганізмів (джгутики) та ін.;

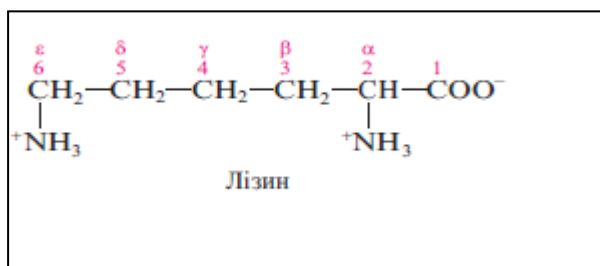
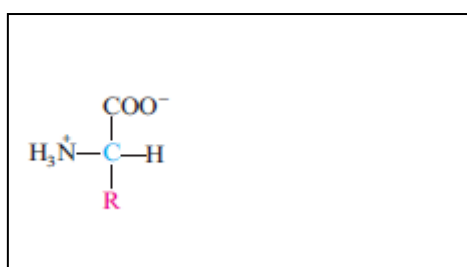
Субстратно-енергетичну – близько 10 – 15 % енергії організм одержує за рахунок катаболічних перетворень резервних білків;

Регуляторну – регуляція обміну речовин в живому організмі здійснюється такими біологічно активними речовинами як гормони, більшість з

яких мають білкову природу. Окремі протеїни здатні інгібувати активність ензимів за рахунок чого відбувається регуляція їх дії;

Захисну – імуноглобуліни, які забезпечують імунну відповідь, фактори зсідання крові (фібриноген, протромбін, тромбін тощо) належать до класу протеїнів. Протеїни в своїй структурі містять численні функціональні групи, за рахунок яких здатні не лише зв'язувати різноманітні токсичні сполуки (алкалоїди, важкі метали), а і знешкоджувати їх.

Амінокислоти – органічні кислоти, у молекулах яких один або кілька атомів водню заміщені аміногрупами. Усі амінокислоти, що входять до складу протеїнів, є α -амінокислотами, тобто їхня аміногрупа (NH_2) перебуває в α -положенні (поруч) з карбоксильною групою (COOH).



Загальна формула амінокислот

У природі існує більше 200 різних амінокислот, більшість з яких виконують самостійні функції, однак лише 20 амінокислот входять до складу білків, які зустрічаються у рослин та тварин. Вищі рослини синтезують усі двадцять амінокислот.

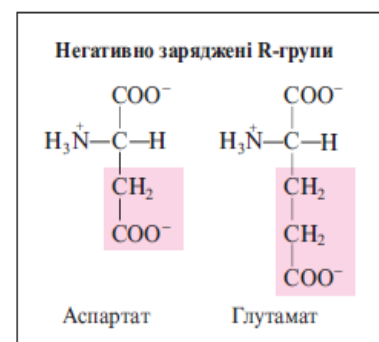
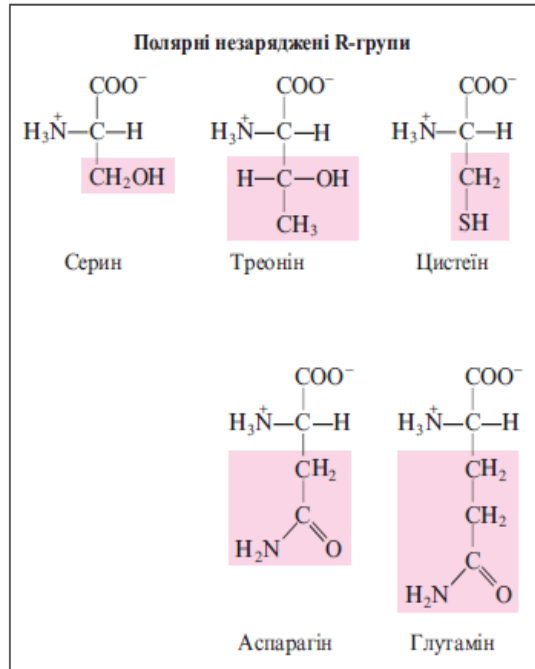
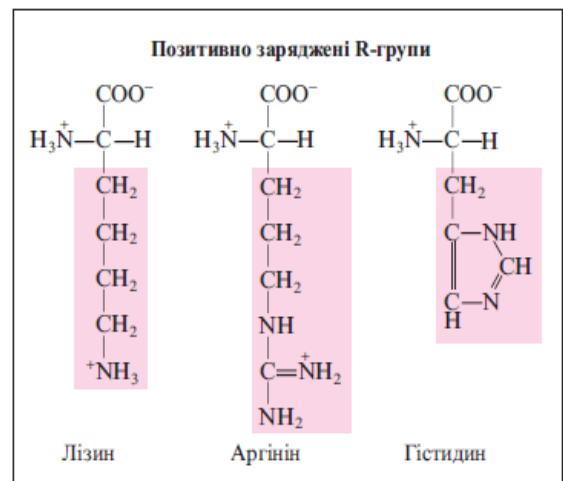
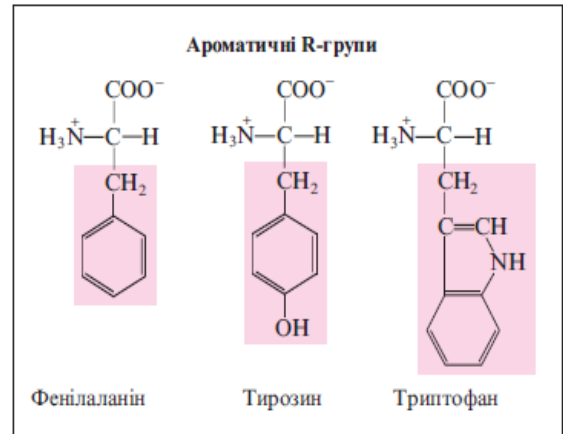
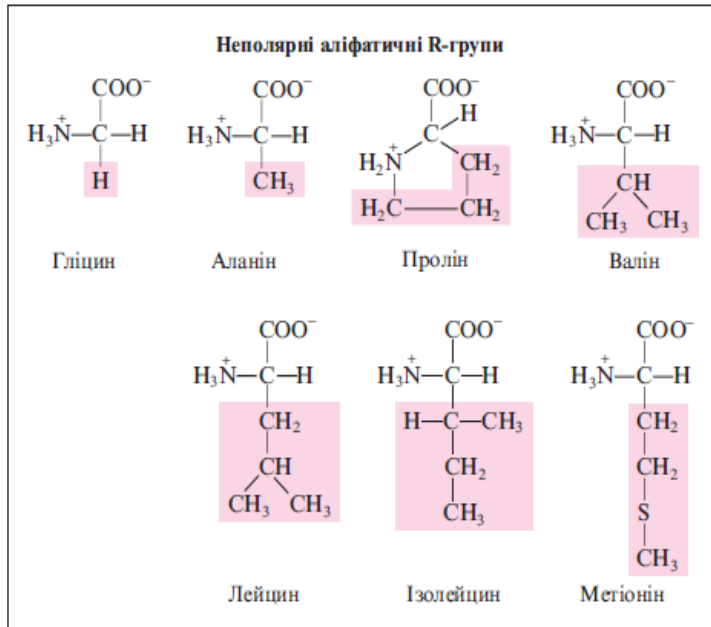
Класифікація амінокислот.

Існує декілька підходів до класифікації амінокислот.

1) Залежно від полярності R (радикальних) – груп

неполярні (гідрофобні)	лейцин, аланін, гліцин, ізолейцин, пролін, метіонін, валін
полярні, але незаряджені	глутамін, треонін, цистеїн, серин, аспарагін
позитивно заряджені	гістидин, аргінін, лізин
негативно заряджені	глутамінова і аспарагінова кислоти
амінокислоти із ароматичними радикалами	тирозин та фенілаланін

2) Амінокислоти є похідними як жирних, так і ароматичних кислот, тому *за будовою карбонового ланцюга* вони діляться на **ациклічні**, які ще мають іншу назву **аліфатичні** та **циклічні**. Останні в свою чергу включають гомоциклічні амінокислоти (тирозин, фенілаланін) та гетероциклічні (пролін, триптофан, гістидин).



3) За кількістю карбоксильних (-COOH) та амінних (-NH₂) груп аліфатичні амінокислоти поділяються на моноаміномонокарбонові (лейцин,

гліцин, серин, аланін, треонін, цистеїн, валін, ізолейцин), діаміномонокарбонові (аргінін, лізин), моноамінодикарбонові (аспарагінова та глютамінова кислоти), діамінодикарбонові (цистин).



Класифікація протеїнів.

1) Серед протеїнів, залежно від їх хімічної будови, виділяють *прості білки (протеїни)*, а також *складні білки*, так звані *протеїди*. Прості білки (протеїни) при гідролізі розпадаються на амінокислоти, разом з тим складні білки гідролізуються як до амінокислот, так і речовин небілкової природи, зокрема вуглеводів, ліпідів, фосфорної кислоти, нуклеїнових кислот та ін. Небілкова частина складних білків має назву простетична група.

Прості білки (протеїни)

гістони
протаміни
альбуміни
глобуліни
глютеліни
проламіни

Складні білки (протеїди)

хромопротеїди (гемоглобін, хлорофіл)
фосфопротеїди (казеїноген, вітелін, іхтулін)
лінопротеїди
глюкопротеїди (гормони)
нуклеопротеїди

2) В залежності від форми або конформації протеїни поділяють на – глобулярні (ензими, гормони) і фібрилярні (кератин, фіброїн).

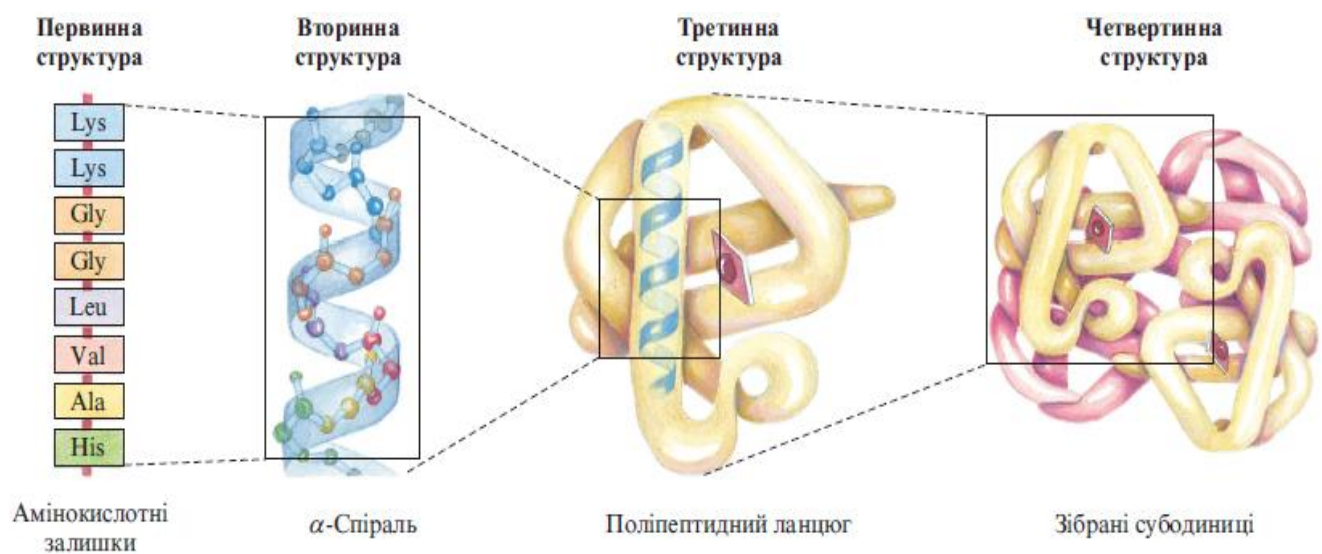
Структурні рівні організації протеїнів.

Первинний рівень структурної організації протеїнів – поліпептидний ланцюг амінокислот, що характеризується їх якісним і кількісним складом та послідовністю розміщення у молекулі білка.

Вторинна структура - це просторова конфігурація молекули протеїну. Виділяють наступні її типи: α -спіральна, β -складчаста (β -лист) і колагенова спіраль.

Третинна структура – це перетворення розгорнутого поліпептидного ланцюга в компактну молекулу.

Четвертинна структура – характерна для тих білків, що складаються з кількох поліпептидних ланцюгів і являє собою спосіб їх об'єднання і розміщення у просторі з утворенням однієї функціонально індивідуальної молекули.



У стабілізації структурної організації протеїнів приймають участь ковалентні (пептидні та дисульфідні) та нековалентні (гідрофобні та електростатичні взаємодії, водневий зв'язок) зв'язки.

Пептидний зв'язок ($-\text{CO}-\text{NH}$) утворюється при взаємодії карбоксильної групи однієї амінокислоти із аміногрупою іншої.

Група атомів $\text{O}-\text{C}'-\text{N}-\text{H}$ має назву пептидна група. Зважаючи на те, що в утворенні зв'язків між мономерними одиницями амінокислот задіяні різні хімічні групи, поліпептидний ланцюг має наступний напрям: той кінець, де

$$\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ \text{R}-\text{C}-\text{COO}^- \\ | \\ \text{}^+\text{NH}_3 \\ \text{Цвітер-іон} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ \text{R}-\text{C}-\text{COO}^- \\ | \\ \text{NH}_2 \end{array} + \text{H}^+$$

протеїнів не дозволяють проходити їм через напівпроникні мембрани. Цю властивість використовують для очищення розчинів протеїнів від низькомолекулярних сполук, а метод очистки протеїнів називається діалізом.

Лабораторна робота №1 **«Виділення рослинних білків»**

1. Отримання проламінів і глютелінів з насіння пшениці

Матеріали та реактиви. Пшеничне борошно, дистильована вода, 70 % етиловий спирт, 0,2 % розчин NaOH.

Обладнання. Хімічний штатив, пробірки, ступка керамічна, шпатель, піпетки, ваги, мірний циліндр.

Хід роботи.

Відважити пшеничне борошно масою 100 г і, додаючи дистильовану воду (50 мл), замісити густе тісто, яке слід обережно промити під проточною водою до моменту, коли вода буде прозорою. До складу цієї клейковини входять два протеїни: гліадин (проламіни) та глютенін (глютеліни). Пробу клейковини розділяють на дві частини: до першої вносять 4-5 мл 70 % етилового спирту (екстрагується гліадин); до другої 4-5 мл 0,2 % розчину NaOH (екстрагується глютенін). Отримані екстракти використовують для проведення якісних реакцій на білки.

2. Отримання альбумінів з бульб картоплі

Матеріали та реактиви. Бульби картоплі, дистильована вода, порошок $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Обладнання. Хімічний штатив, пробірки, ступка керамічна, шпатель, піпетки, ваги, мірний циліндр, центрифуга.

Хід роботи.

Відважити 100 г очищеної бульби картоплі і розтерти в фарфоровій ступці до отримання гомогенної маси, поступово додаючи дистильовану воду в кількості 50 мл. Віджати рідину від клітковини крізь марлю, складену в кілька шарів, та профільтрувати з використанням паперового складчастого фільтру. Для отримання альбумінів їх слід відділити від інших розчинених у воді речовин, таких як моно- і олігосахариди, крохмаль та ін. З цією метою використовують метод висолювання білків: до 20 мл фільтрату додати 10 г порошку сульфату амонію (до повного насичення) і відцентрифугувати при

10000 г. Отриманий осад розчинити у 5 мл дистильованої води і використовувати для проведення якісних і кількісних реакцій на протеїни.

3. Отримання глобулінів з насіння гороху

Матеріали та реактиви. Горохове борошно, дистильована вода, 10 % розчин $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

Обладнання. Колба, магнітна мішалка, ваги, мірний циліндр, фільтр паперовий.

Хід роботи

Відважити горохове борошно (20 г) і перенести в колбу. Внести до сухої маси 50 мл 10 % розчину $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Колбу закрити корком і з допомогою магнітної мішалки перемішувати масу впродовж 10 хвилин та витримати за кімнатної температури 30 хвилин. При цьому протеїн легумін, що належить до глобулінів, переходить в розчин. Після відстоювання відфільтрувати розчин через складчастий паперовий фільтр, попередньо зволожений 10 % розчином $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Легумін нерозчинний у воді, що можна перевірити наступним чином: відміряти в пробірку 1 мл розчину легуміну і додати 5 мл води (утворюється помутніння, що свідчить про випадання цього протеїну в осад); додавання розчину $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ або NaCl приводить до зникнення помутніння (протеїн переходить у розчинений стан). Отриманий розчин легуміну використати для проведення якісних і кількісних реакцій на протеїни.

Лабораторна робота № 2

«Якісні (кольорові) реакції на протеїни та амінокислоти»

Мета роботи. Ідентифікувати наявність амінокислот (циклічних, сірковмісних тощо), пептидних зв'язків у складі протеїнів з використанням кольорових (якісних) реакцій.

1. Біуретова реакція на пептидні зв'язки

Принцип реакції. Протеїни в лужному розчині за наявності купрум (II) сульфату утворюють комплексні сполуки, які мають синьо-фіолетове

забарвлення, при цьому його інтенсивність прямопропорційно залежить від кількості пептидних зв'язків у молекулі протеїну.

Матеріали та реактиви. 1 % водний розчин протеїна (яєчний або альбумін), 10 % розчин NaOH чи KOH, 1 % розчин CuSO₄.

Обладнання. Скляні палички, штатив, пробірки, піпетки, крапельниця.

Хід роботи.

Спочатку необхідно приготувати розчин яєчного протеїну. Для цього протеїн одного яйця відділяють від жовтка, розчиняють його у 15-20 кратному об'ємі дистильованої води. Отриманий розчин протеїну фільтрують через 3-4 шари марлі.

У хімічну пробірку за допомогою піпетки вносять 3 мл розчину протеїну, 1 мл 10 % NaOH або KOH і 1-2 краплі 1% розчину CuSO₄ та перемішують. Суміш у пробірці набуває синьо-фіолетового забарвлення.

2. Реакції на амінокислоти

А. Реакція з нітратною кислотою

Принцип реакції. При реакції нітриту натрію та оцтової кислоти відбувається взаємодія α-амінокислот із нітратною кислотою та виділяється газоподібний азот.

Матеріали і реактиви. 1% протеїновий водний розчин (яєчний або альбумін), 5 % розчин нітриту натрію (NaNO₂), оцтова кислота (CH₃COOH) концентрована.

Обладнання. Штатив, пробірки, крапельниця.

Хід роботи.

У пробірку внести 5 крапель протеїнового розчину, додати 5 крапель 5 % розчину NaNO₂ та 2 краплі розчину CH₃COOH. Після перемішування спостерігаємо виділення газу.

Б. Реакція утворення комплексної солі купруму

Принцип реакції. Амінокислоти в процесі нагрівання з купрум (II) карбонатом (CuCO₃) утворюють комплексну сполуку синього кольору.

Матеріали і реактиви. 1 % протеїновий водний розчин (яєчний або альбумін), порошок купрум (II) карбонату.

Обладнання. Штатив, піпетка, хімічні пробірка, шпатель, спиртівка, пробіркотримач.

Хід роботи.

У пробірку внести 1 мл розчину протеїну, додати на кінчику шпателя порошок купрум (II) карбонату та нагріти на полум'ї спиртівки до закіпання. У пробірці суміш забарвлюється в синій колір.

В. Ксантинпротеїнова реакція на циклічні амінокислоти.

Принцип реакції. В ароматичних амінокислотах, які містять бензольні кільця, під дією азотистої кислоти відбувається реакція нітрування бензольного кільця з утворенням забарвленої в жовтий колір нітросполуки.

Матеріали і реактиви. 1 % протеїновий водний розчин (тирозинвмісний), концентрована азотна кислота (HNO_3), 10 % розчин NaOH.

Обладнання. Штатив, пробірки, піпетки, крапельниця, газовий пальник або спиртівка, пробіркотримач.

Хід роботи. У хімічну пробірку за допомогою піпетки вносять 3 мл розчину протеїну та 1 мл концентрованої азотної кислоти. Вміст пробірки обережно нагрівають над полум'ям пальника до появи жовтого забарвлення та охолоджують до кімнатної температури і додають 1-2 краплі 10 % розчину NaOH. Після чого суміш у пробірці має забарвитися у помаранчевий колір.

Г. Реакція Фоля на сірковмісні амінокислоти.

Принцип реакції. При нагріванні розчинів цистину або цистеїну у лужному середовищі відбувається гідроліз сульфгідрильної групи з подальшим утворенням відповідних сульфідів натрію або калію. Сульфід натрію можна виявити за допомогою важких металів (іонів плюмбуму), які утворюють з іонами сульфуру нерозчинний сульфід плюмбуму чорного кольору.

Матеріали і реактиви. 1 % водний розчин протеїна (яєчний), реактив Фоля (до 10 % розчину ацетату свинця $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ додають 10 % розчин NaOH до розчинення осаду), 20 % розчин NaOH.

Обладнання. Штатив, пробірки, піпетки, скляні палички, водяна баня.

Хід роботи. У хімічну пробірку за допомогою піпетки вносять 1 мл протеїнового розчину, додають 2 мл 20 % розчину NaOH і 1 мл реактиву Фоля. Вміст пробірки ретельно перемішують і поступово нагрівають на водяній бані до появи бурого чи чорного осаду сульфїду плюмбуму.

Висновок:

Лабораторна робота № 3

«Визначення концентрації протеїну»

Мета роботи. Ознайомитися із основними принципами та методами визначення концентрації протеїну у досліджуваних зразках.

Методи концентраційного аналізу, зокрема фотометричні (спектрофотометричні та колориметричні) базуються на законі Бугера-Ламберта-Бера. Завдяки розсіюванню світла в оптично неоднорідному середовищі інтенсивність плоскої світлової хвилі поступово зменшується внаслідок її поширення в середовищі. Ця залежність описується законом Бугера-Ламберта: $I = I_0 e^{-Ed}$, де I_0 та I – інтенсивність падаючого та розсіяного світла, відповідно; d – товщина шару розсіюючого середовища; E – коефіцієнт екстинції (він чисельно дорівнює товщині шару розсіюючого середовища, після проходження якого інтенсивність світла зменшується в $e \approx 2,718$ рази).

Для розбавлених розчинів розсіюючої речовини справедливим є закон Бера: $E = \varepsilon \cdot c$ і закон Бугера-Ламберта-Бера приймає вигляд: $I = I_0 e^{-\varepsilon \cdot c \cdot d}$, де c – концентрація розсіюючої речовини; ε – екстинція (стала, що залежить від довжини хвилі світла та властивостей розсіюючої речовини).

Спектр поглинання речовини – це залежність інтенсивності поглинутого світла речовиною від довжини хвилі (λ , нм). Молекули поглинають світло у широкому діапазоні довжин хвиль, тому їх спектри лежать в різних областях: ультрафіолет (200-400 нм), видиме (400-700 нм), близьке інфрачервоне (700-1200 нм).

Спектрофотометрія базується на вимірюванні поглинання монохроматичних випромінювань досліджуваних речовин у розчинах. Спектрофотометричні методи дозволяють виявляти у незначних кількостях досліджувані речовини, які в процесі дослідження не руйнуються.

Розчини, які використовуються у спектрофотометричних вимірюваннях мають бути: прозорими, не містити пухирців повітря, які збільшують розсіювання світла; кімнатної температури, оскільки на стінках кювет може утворюватися конденсат води; об'єм рідини у кюветі має бути достатнім для того, щоб потік випромінювання проходив повністю через товщину розчину. Кювети для вимірювань мають бути чистими та сухими. Краплі, подряпини і бруд на стінках кювет розсіюють або поглинають світло. Оптичних стінок кювет не слід торкатися пальцями.

Для визначення концентрації досліджуваної речовини, зокрема кількості протеїна, у досліджуваному розчині з використанням спектрофотометра

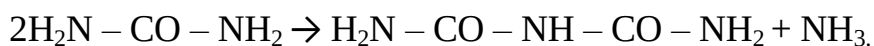
спочатку необхідно побудувати *калібрувальну криву (графік)*. Для побудови калібрувальної кривої готують декілька, не менше п'яти, стандартних розчинів досліджуваної речовини із відомою концентрацією та згідно протоколу виконують усі умови даної реакції. Далі вимірюють екстинцію, або оптичну густину поглинання проб при певній довжині хвилі (згідно протоколу). За результатами вимірювання екстинції стандартних розчинів, зокрема протеїна, будують на міліметровому папері калібрувальний графік, тобто залежність оптичної густини розчину (λ , нм) від вмісту протеїна (мг/мл). Калібрувальну криву будують, наносячи відносно вісі абсцис (X) відомі значення концентрації стандартних розчинів, а на вісі ординат (Y) – відповідну їх екстинцію при певній довжині хвилі. Калібрувальна крива має мати вигляд прямої, яка виходить із початку координат. При зміні реактивів калібрувальний графік потрібно побудувати заново. Графік, отриманий при роботі на одному спектрофотометрі, не підходить для роботи на іншому приладі, оскільки прилади відрізняються чутливістю спектрофотометричних визначень.

Кількісне визначення протеїну в розчинах за допомогою спектрофотометра полягає у вимірюванні їх інтенсивності поглинання світла із біуретовим реактивом при довжині хвилі 540-650 нм та реактивом Фоліна (метод Лоурі) - при 660-750 нм.

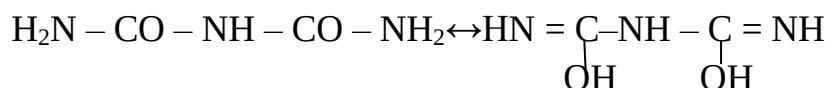
А. Спектрофотометричне визначення концентрації протеїна з біуретовим реактивом.

Принцип реакції. Амінокислоти, що здатні утворювати мінімум два пептидних зв'язки (-CO-NH-), в присутності купрум (II) сульфату у лужному середовищі утворюють комплекси з атомами купруму, які мають фіолетове забарвлення.

Реакція називається біуретовою, оскільки вперше реакцію утворення вказаних комплексних сполук купруму проведено з використанням біурету, який не належить до амінокислот, хоча і має два пептидні зв'язки. Біурет можна отримати нагріваючи сечовину до температури 180 °C:

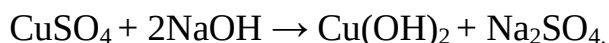


В присутності лугів біурет енолізується за вказаною схемою:

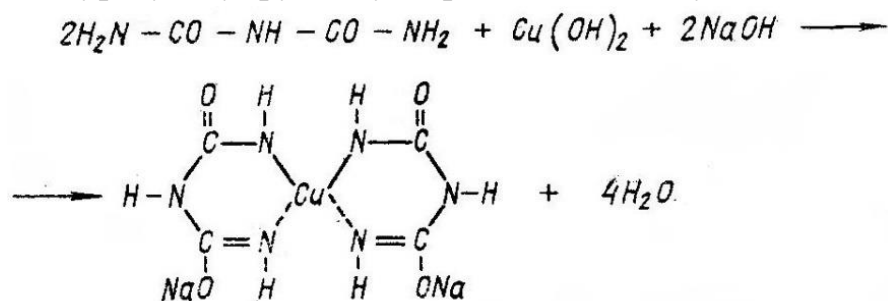


В подальшому 2 молекули енольної форми біурету взаємодіють із купруму (II) гідроксидом, утворюючи комплекс з координаційними зв'язками, утвореними електронними парами атомів нітрогену імінних груп.

Купруму (II) гідроксид, що використовується в біуретовій реакції, зазвичай отримують як продукт реакції взаємодії купрум (II) сульфату з гідроксидом натрію (чи калію):



Комплекс біурету з купрумом утворюється за наступною схемою:



Схожі комплекси із купрумом здатні утворювати окремі амінокислоти, що можуть утворювати пептидні зв'язки за рахунок карбоксильної та аміної груп. До таких амінокислот можна віднести зокрема аспарагін.

Матеріали і реактиви. Розчин телячого сироваткового альбуміну (ТСА) (вихідна концентрація протеїна 4 мг/мл), біуретовий реактив (0,15 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ та 0,6 г $\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (виннокислий натрій, калій) розчиняють в 50 мл дистильованої води, добре перемішують, додають 30 мл 10 % розчину NaOH вільного від вуглекислого натрію, додають 0,2 г KI (для попередження самовільного відновлення) та розчиняють. Отриманий розчини у колбі доводять до об'єму 200 мл дистильованою водою та зберігають у темному місці).

Обладнання. Штатив з пробірками, скляні палички, піпетки, спектрофотометр, кювета.

Хід роботи.

1) Перш за все необхідно приготувати стандартні концентраційні розчини протеїну способом серійних розведень. Для цього у контрольну пробірку (К) та

пробірки 2-5 вносять по 1 мл дистильованої води. У пробірку 1 вносять 2 мл вихідного розчину ТСА (концентрація протеїну 4 мг/мл), звідти відбирають 1 мл розчину протеїну (4 мг/мл) та переносять у пробірку 2 (концентрація протеїну 2 мг/мл) і ретельно перемішують. Із пробірки 2 переносять 1 мл розчину в пробірку 3 (концентрація протеїну 1 мг/мл) і ретельно перемішують. Із пробірки 3 переносять 1 мл розчину в пробірку 4 (концентрація протеїну 0,5 мг/мл) і ретельно перемішують. Із пробірки 4 переносять 1 мл розчину в пробірку 5 (концентрація протеїну 0,25 мг/мл) і ретельно перемішують. Із пробірки 5 відбирають 1 мл розчину, який далі у дослідах не використовують.

2) Потім до кожної пробірки додають по 4 мл біуретового реактиву та впродовж 30 хв витримують за кімнатної температури і проводять вимірювання оптичного поглинання проб на спектрофотометрі при λ 540 нм.

Для послідовності виконання роботи та внесення реактивів можна скористатися таблицею:

Таблиця 1

Послідовність виконання роботи

№ п/п	конц. протеїну, мг/мл	dist. H ₂ O, мл	станд. розчини протеїну	біурет. реактив, мл	t кімн °C, 30 хв	E опт. погл., λ 540, нм
К	-	1	-	4	+	
1	4	-	2 мл вихідного протеїну	4	+	
2	2	1	1 мл із пробірки 1	4	+	
3	1	1	1 мл із пробірки 2	4	+	
4	0,5	1	1 мл із пробірки 3	4	+	
5	0,25	1	1 мл із пробірки 4	4	+	
-	-	-	1 мл із пробірки 5 вилити	-	-	-

3) Будують калібрувальну криву (за ТСА) для визначення концентрації протеїну: на вісі абсцис (x) відкладають відомі концентрації стандартних

розчинів (мг/мл) протеїна (ТСА), а на вісі ординат (y) – оптичну густину поглинання при (λ 540 нм). Усі точки з'єднують між собою прямою.

Б. Спектрофотометричне визначення концентрації протеїна за методом Лоурі.

Принцип методу. Метод Лоурі ґрунтується на вимірюванні інтенсивності забарвлення розчину протеїну під час кольорової реакції Фоліна на протеїн з тирозиновими та цистеїновими радикалами білкової молекули. Під час реакції відбувається відновлення суміші фосфорно-вольфрамової і фосфорно-молібденової кислот та утворення комплексної сполуки, що має синє забарвлення. Реакція ініціюється комплексними сполуками купруму, що утворюються при взаємодії протеїна з лужним розчином купруму (II) сульфату.

Для визначення концентрації протеїну в розчині, що досліджується, за методом Лоурі необхідно заздалегідь побудувати калібрувальний графік (див. Лаб. роб. №3 А) залежності інтенсивності поглинання від концентрації протеїну-стандарту. Тому за цим методом можна встановити абсолютний вміст протеїну в досліджуваному розчині лише в тому разі, якщо калібрувальний графік побудований для того протеїну, концентрацію якого визначають.

Матеріали та реактиви. Розчин протеїну, свіжоприготовлений (extemprore) лужний розчин купруму (50 мл 2 % розчину карбонату натрію в 0,1 моль/л розчині гідроксиду натрію змішують із 1 мл 0,5 % розчину сульфату міді в 1% розчині татрату натрію-калію), реактив Фоліна, для приготування якого фосфорно-вольфрамовий натрій (20 г) і фосфорно-молібденовий натрій (5 г) розчиняють в дистильованій воді (140 мл), після чого додають 80 % розчин ортофосфорної кислоти (10 мл) та концентровану соляну кислоту (20 мл). Приготовану суміш кип'ятять у колбі зі зворотним холодильником Лібіха впродовж 10 год. Потім до розчину додають 30 г сульфату літію, 10 мл дистильованої води, 2-3 краплі бром у, не використовуючи зворотний холодильник, повторно кип'ятять під витяжною шафою для видалення бром у. Після охолодження розчину його об'єм доводять дистильованою водою до 200 мл і фільтрують. Безпосередньо перед виконанням дослідження з отриманого розчину готують робочий розчин, розвівши його вдвічі дистильованою водою.

Обладнання. Скляні палички, пробірки, градуйовані піпетки, штатив для пробірок, годинник, спектрофотометр, кювета.

Хід роботи.

До 0,2 мл досліджуваного протеїнового розчину додають 1 мл лужного розчину купруму, суміш ретельно перемішують та залишають за кімнатної температури на 10 хв. Потім додають 0,08 мл реактиву Фоліна й знову перемішують. Через 30 хв розчин забарвлюється в синій колір. Інтенсивність забарвлення (оптичну густину) проб вимірюють на спектрофотометрі при довжині хвилі 750 нм.

Концентрацію протеїну в досліджуваному розчині визначають за калібрувальною кривою.

В. Визначення концентрації протеїну за формулою Калькара за оптичним поглинаннями проб при λ 280 та λ 260 нм:

$$C_{\text{протеїна (мг/мл)}} = 1,45 \cdot E_{280} - 0,74 \cdot E_{260} \cdot$$

Г. Визначення концентрації протеїну за формулою Вітекера за оптичним поглинаннями проб при λ 235 та λ 280 нм:

$$C_{\text{протеїна (мг/мл)}} = \frac{E_{235} - E_{280}}{2,51} \cdot$$

Висновок.

Контрольні запитання та завдання до Розділу «Протеїни та амінокислоти»

1. Дайте визначення, що таке протеїни?
2. Дайте визначення, що таке амінокислоти?
3. Структура, функції та властивості протеїнів та амінокислот.
4. Сучасні біохімічні методи ідентифікації протеїнів та визначення їх концентрації.
5. Рівні структурної організації протеїнів та зв'язки, які приймають участь у їх стабілізації.
6. Як утворюється пептидний зв'язок?
7. Написати структурні формули найбільш поширених 20 амінокислот та вказати:
 - а) замінна або незамінна;
 - б) в залежності від полярності радикальних груп (*неполярні (гідрофобні); полярні, але незаряджені; позитивно заряджені; негативно заряджені*);
 - в) за природою походження - ациклічні (аліфатичні) або циклічні (гомоциклічні або гетероциклічні);
 - г) за кількістю амінних та карбоксильних груп.
8. Написати структурні формули складних протеїнів: хромопротеїдів – хлорофілів *a* і *b*, позначити відмінності між сполуками.

РОЗДІЛ 2. «ВУГЛЕВОДИ»

Вуглеводи – це органічні сполуки, які у своєму складі містять переважно карбон, гідроген та кисень, а співвідношення атомів гідрогену та кисню таке, як у воді. Їх емпірична формула $C_n(H_2O)_n$. Молекули містять альдегідну ($-CH=O$) або кетонну ($>C=O$) групи і кілька спиртових (окси) ($-OH$) груп.

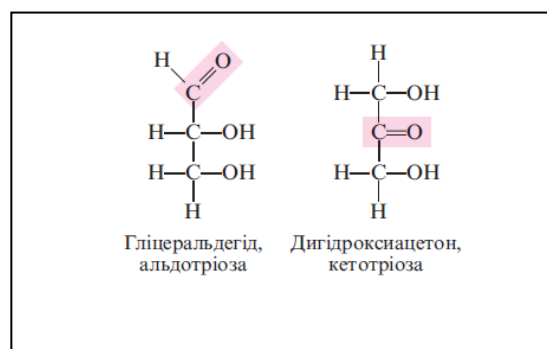
Функції вуглеводів: 1) енергетична; 2) структурна, або пластична; 3) захисна; 4) запасна, або накопичувальна.

Вуглеводи є головними продуктами фотосинтезу і основним субстратом дихання у рослин.

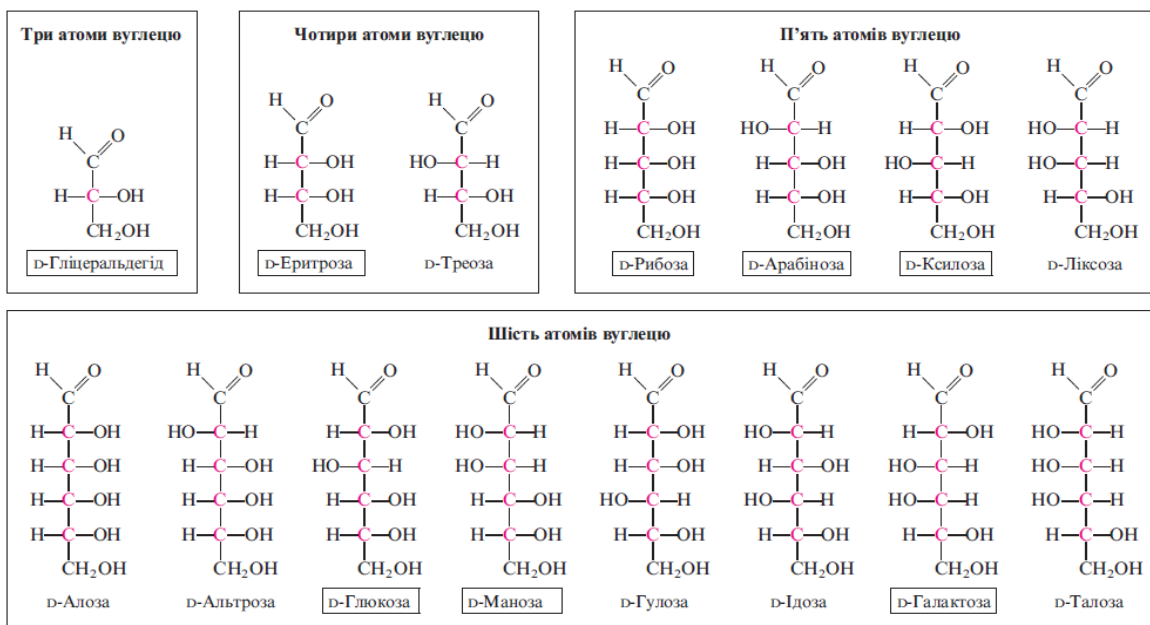
Класифікація вуглеводів. В залежності від складу, структури і властивостей вуглеводи поділяються на три основних класи: моносахариди, олігосахариди та полісахариди. За складністю будови вуглеводи поділяють на прості і складні. Прості вуглеводи (моно-) не гідролізуються, тоді як складні вуглеводи при гідролізі розпадаються на моносахариди.

Моносахариди, або прості цукри містять тільки одну структурну одиницю полігідроксиальдегіду чи полігідроксикетону. Моносахариди - це білі кристалічні речовини, розчинні у воді, солодкі на смак, оптично активні. За хімічною будовою моносахариди класифікують:

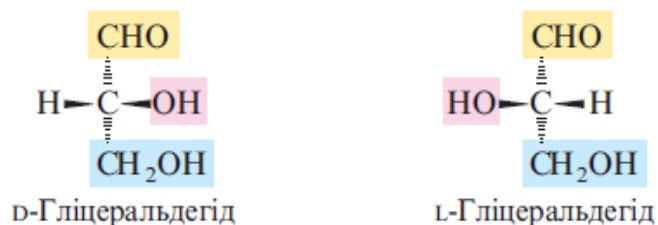
1) за наявністю альдегідної або кетонної групи – на альдози (рибоза, дезоксирибоза, глюкоза, маноза, галактоза) і кетози (рибулоза, фруктоза, седогептулоза);



2) за кількістю атомів карбону: тріози (3 атоми) – гліцериновий альдегід, дигідроксиацетон; тетрози (4 атоми) – еритроза; пентози (5 атомів) – рибоза, дезоксирибоза, арабіноза, ксилоза; гексози (6 атомів) – глюкоза, фруктоза, маноза, галактоза.

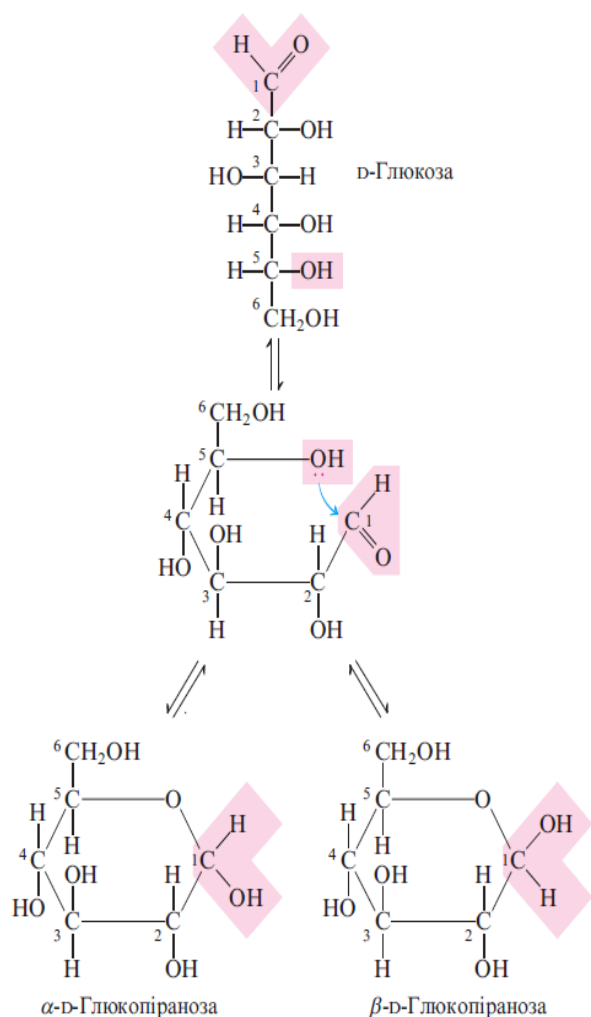


Асиметричний атом карбону у молекулі моносахаридів зумовлює їх оптичні властивості, так звану оптичну стереоізомерію. Кількість таких оптичних ізомерів встановлюється за формулою 2^n , де n – це число асиметричних атомів карбону у молекулі. Тетрози мають 4 (2^2) стереоізомери, пентози - 8 (2^3), гексози – 16 (2^4). Переважно природні моносахариди (глюкоза, фруктоза, маноза, галактоза, рибоза, дезоксирибоза тощо) за своєю стереометричною конфігурацією є сполуками D-ряду. Букви D і L позначають орієнтацію OH-групи молекули моносахариду щодо гліцеринового альдегіду (CH_2OH). D-положення - OH-група знаходиться праворуч, L положення - ліворуч. Стереоізомери моносахаридів, які відрізняються просторовим розміщенням асиметричного атома вуглеця ще називають епімерами, зокрема, D-рибоза і D-арабіноза, D-глюкоза та D-маноза.



Відомо дві форми, в яких моносахариди знаходяться у водних розчинах - ланцюгова (альдегідна або кетонна), що має відкритий карбоновий ланцюг, і циклічна або кільцева (піранозна чи фуранозна). Моносахариди, у складі яких є

більше чотирьох атомів вуглецю, як правило, існують у вигляді циклічних структур.



Варто зазначити, що для обох форм у водному розчині характерна кільцево-ланцюгова таутомерія, тобто динамічна рівновага, яка заключається у постійному переході ланцюгової форми моносахаридів в циклічну і навпаки.

Піранозна форма вуглеводів утворюється при взаємодії альдегідної групи у 1 положенні атому карбону (C-1) та OH-групи у 5 положенні атому карбону (C-5), а *фуранозна форма* – при взаємодії альдегідної групи у 1 положенні атому карбону (C-1) та OH-групи у 4 положенні атому карбону (C-4).

За умови утворення циклічної форми альдогексоз стає асиметричним ще один атом карбону – глікозидний (COOH-група), через що додатково утворюється два ізомери α- і β-форми. Якщо у першому положенні атому гексози OH-група розміщена справа – це α-форма, якщо зліва - β-форма.

У вільному вигляді моносахариди містяться в зелених частинах рослин, насінні, меді. Особливо багатий на цукор виноград, у деяких його сортах цукристість плодів досягає 28-30% на сиру вагу. Цукри плодів винограду представлені виключно моносахаридами – глюкозою та фруктозою, лише у деяких американських сортів може міститися незначна кількість сахарози.

Багато цукрів містять персики, абрикоси, яблука, груші, сливи, цитрусові та ягідні культури. У таблиці 2 наведено усереднені дані щодо вмісту цукрів у плодах і овочах.

У природі найбільш поширеним моносахаридом є **D-глюкоза**, до якої іноді вживають інші назви - виноградний цукор, декстроза. Саме цей

моносахарид є найважливішим джерелом енергії в живих клітинах. У вільному вигляді вона знаходиться в плодах (надзвичайно багато глюкози у виноградному соку), квітах та інших органах рослин. Глюкоза є мономером ряду олігосахаридів (мальтози, лактози, сахарози), полісахаридів (глікогену, крохмалю, целюлози), окремих глікопротеїдів тощо. Для отримання глюкози використовують кислотний гідроліз картопляного і кукурудзяного крохмалю.

Таблиця 2.

Вміст цукрів у різних плодах та овочах (у відсотках на сиру вагу)

Культура	Сахароза	Глюкоза	Фруктоза
Капуста білокачанна	0,1	2,6	1,6
Морква	3,7	2,9	сліди
Цибуля ріпчаста	6,3	1,3	1,2
Томати	0,2	1,5	1,0
Яблука	3,0	3,8	8,1
Вишня	0,4	4,5	3,8
Абрикоси	6,0	2,2	1,7
Помаранчі	3,6	1,3	1,5
Лимони	0,9	0,6	0,6
Хурма	1,2	9,1	7,8

Найпоширеніший у природі моносахарид – шестивуглецевий цукор **D-глюкоза**, який іноді називають також декстрозою, або виноградним цукром. Глюкоза є найважливішим джерелом енергії в живих клітинах. У вільному вигляді глюкоза міститься в плодах (особливо високий її вміст у виноградному соку), квітках та інших органах рослин. Глюкоза входить до складу різних олігосахаридів (лактози, мальтози, сахарози), багатьох полісахаридів (крохмалю, целюлози, глікогену), деяких глікопротеїдів тощо. Глюкозу отримують шляхом кислотного гідролізу картопляного та кукурудзяного крохмалю.

Фруктоза (інша назва левулоза або плодовий цукор) – моносахарид із групи кетогексоз. Вона досить поширена у природі, у вільній формі фруктоза міститься в плодах, меді (близько 50 %), нектарі, зелених частинах рослин. Цей моносахарид солодший у порівнянні з іншими цукрами. Фруктоза також є мономером ряду олігосахаридів (сахарози, рафінози, стахіози), полісахаридів (інулін), глікопротеїнів та глікозидів. Фруктоза забезпечує тургор клітин рослин. Фосфорні ефіри фруктози задіяні в обміні вуглеводів. Цей моносахарид отримують гідролізом інуліну.

Рибоза – моносахарид із групи альдопентоз, який також широко поширений у природі та має надзвичайно важливе значення для живих

організмі, оскільки. у фуранозній формі D-рибоза є компонентом РНК. Похідне рибози - спирт рібіт - є структурним компонентом деяких вітамінів та ензимів.

Ксилоза (деревний цукор) - моносахарид із групи пентоз, що входить до складу пектинових речовин, геміцелюлози, гумі, слизів. Основним джерелом ксилози є ксилани деревини. Саме тому її отримують гідролізом соломи, висівків, соняшникового лушпиння, тощо. Ксилозу, отриману з кукурудзяних качанів, використовують в кондитерській галузі. Ксилоза у людському організмі не здатна засвоюватись, та на відміну від багатьох інших моносахаридів, не зброджується дріжджами. Разом з тим ксиліт - продукт відновлення ксилози - прекрасно засвоюється та навіть використовується людьми, які мають цукровий діабет, як замінник цукру.

Маноза – моносахарид із групи гексоз, ізомер глюкози. У рослинах зустрічається у вигляді складової частини вищих полісахаридів (слизів та геміцелюлоз), глікопротеїнів, глікозидів. У вільному вигляді маноза виявлена в плодах цитрусових та анакардієвих рослин. Утворюється маноза при окисненні шестиатомного спирту маніту, який у великій кількості міститься в лишайнику аспіцилія їстівна (так звана манна), бурих водоростях, маслинах та інших рослинах.

Сорбоза – моносахарид із групи кетогексоз, який вперше було виділено з ягід горобини. Утворюється сорбоза при окисненні сорбіту - шестиатомного спирту. У ягодах горобини міститься близько 7 % сорбіту. При промисловому виробництві сорбози із сорбіту з використанням бактерій *Acetobacter suboxydans* та за умови достатньої аерації, вихід моносахариду може становити близько 90 %. У фармацевтичній промисловості сорбоза є проміжним продуктом синтезу вітаміну С.

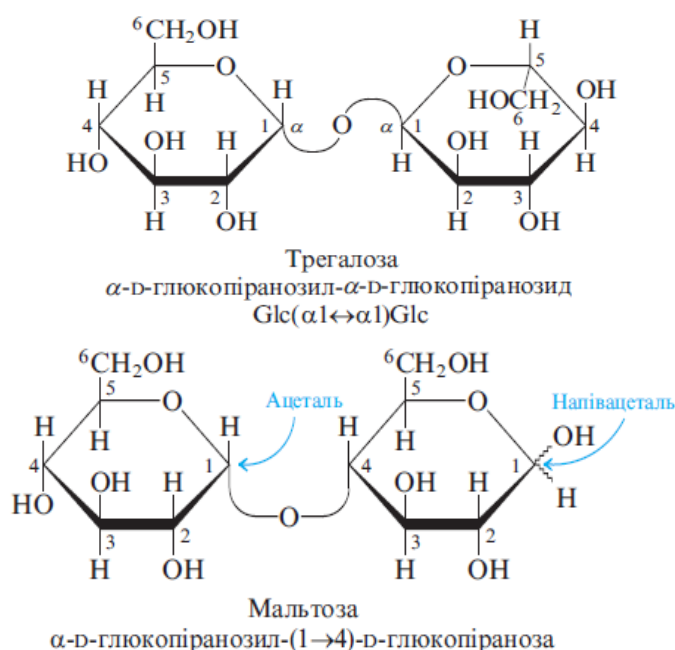
Галактоза – моносахарид із групи гексоз, який є складовою полісахаридів червоних водоростей (L-галактоза). D-галактоза більш розповсюджена в природі і є мономером багатьох олігосахаридів (рафінози, стахіози, лактози), деяких глікозидів, полісахаридів (геміцелюлози, слизів, пектинів та гумі). Зброджується дріжджами.

Олігосахариди є полімерними вуглеводами з невеликою молекулярною масою, що включають від 2 до 10 залишків моносахаридів, пов'язаних один з одним глікозидним зв'язком. Вони добре розчинні в воді, можуть легко кристалізуватися, на смак солодкі.

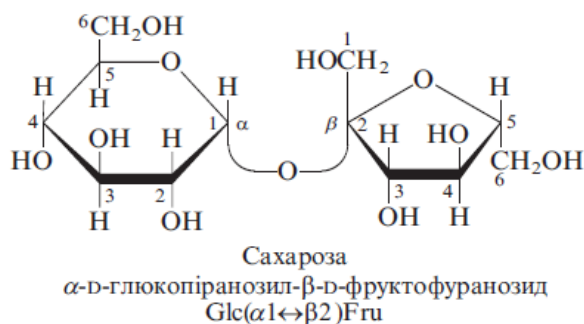
Залишки моносахаридів в олігосахариді поєднуються зв'язками між двома напівацетальними гідроксилами чи напівацетальним гідроксилом одного моносахарида і будь-яким гідроксилом іншого.

Глікозидо-глікозидний зв'язок (дисахарид: трегалоза) утворюється шляхом з'єднання двох моносахаридів по ОН-радикалах у 1 положенні двох атомів карбону (1С-1С).

Глікозидо-глюкозидний зв'язок (дисахарид: мальтоза) утворюється шляхом кисневого містка між глікозидним гідроксилом одного моносахариду в 1 положенні атому карбону та гідроксилом наступного моносахариду в 4 положенні атому карбону (1С-4С).



Дисахариди: сахароза (буряковий, тростинний цукор), при нагріванні з розбавленими кислотами розщеплюється до глюкози і фруктози; лактоза при гідролізі – до α-глюкози та β-галактози; мальтоза (солодовий цукор) - до залишків двох молекул глюкози; трегалоза (грибний цукор) гідролізується з утворенням 2 молекул глюкози; целобіоза містить також залишки 2 глюкоз.



Найпоширенішим у природі дисахаридом та найбільш важливим з олігосахаридів що утворюються в рослинах є **сахароза**. Сахароза добре розчинна у воді і має солодкий смак. Вона складається з α -D-глюкозного залишку в піранозній формі, зв'язаного глікозидним зв'язком з β -D-фруктозою у фуранозній формі. Оскільки аномерний вуглецевий атом обох моносахаридів задіяний в формуванні глікозидного зв'язку, їх напівацетальні групи блоковані і жодне з кілець не може відкритися. Тому сахароза - це не відновний цукор (не відновлює реактиви Фелінга і Бенедикта), і за винятком її чутливості до кислотного гідролізу, вона хімічно інертна. Сахароза здатна піддаватись гідролізу, якщо її нагрівати з кислотою або за дії ферменту сахарази (інвертази), утворюючи інвертний цукор – суміш глюкози та фруктози. Такий цукор приблизно на 30 % є солодшим за сахарозу і тому часто використовується в кондитерському виробництві.

Основним джерелом отримання сахарози є цукровий буряк, що містить до 23 % сахарози, і цукрова тростина, стебла якої містять 10-18% сахарози. Цукрова кукурудза та цукрове сорго в стеблах містять 10-18% сахарози.

Сахароза використовується як продукт харчування, а також у виробництві поверхнево-активних речовин (ефіри сахарози з вищими кислотами). Проте варто зазначити, що цей дисахарид у очищеному вигляді володіє негативним впливом на кровоносні судини, а також є одним з основних провокуючих факторів розвитку діабету, тому в раціоні його доцільно обмежувати приблизно до двох столових ложок на добу.

Лактоза (молочний цукор) – дисахарид, утворений залишками D-галактози та D-глюкози. Цей вуглевод міститься у вільному вигляді в молоці всіх ссавців (4–5 %), тоді як у рослин зустрічається рідко, переважно у зв'язаному стані (глікозиди, глікопротеїни). Лактоза знайдена в пилових трубках квітів *Forsythia* та в каучуконосній рослині *Achras sapota*. Зброджується лактоза особливими лактозними дріжджами, що містяться в

кефірі, кумисі. У рослинах вона може гідролізуватись ферментом галактозидазою.

Одержують лактозу з сироватки – відходу сироварного виробництва та застосовують як компонент для приготування живильних середовищ у мікробіології, а також у фармацевтичній промисловості - як наповнювач при виготовленні порошків і таблеток.

Трисахариди: меліцитоза включає 2 залишки глюкози та один – фруктози; генціаноза – 2 залишки глюкози і один фруктози; рафіноза утворена залишками фруктози, глюкози, галактози;

Тетрасахарид стахіоза сформована 2 мономерами галактози та однією молекулою фруктози і глюкози.

Полісахариди - це високомолекулярні сполуки, які утворені великою кількістю мономерних одиниць моносахаридів і їх похідних. Полісахариди залежно від природи моносахаридів, що їх утворюють, поділяються на гомополісахариди (залишки моносахаридів одного типу) та гетерополісахариди (залишки моносахаридів кількох типів). До гомополісахаридів належать: глікоген, декстрин, крохмаль, клітковина, інουλін, хітин; до гетерополісахаридів – геміцелюлоза, камеді, мукополісахариди (гепарин, хондроїтинсірчана, гіалуронова кислоти) і специфічні полісахариди (групові речовини крові, капсулярні полісахариди, що входять до складу бактерій). Організми можуть накопичувати полісахариди, наприклад, крохмаль, інουλін виконують роль резервних речовин у рослинах, глікоген – в організмі тварин, хондроїтинсірчана кислота – у клітковині, капсулярні полісахариди, хітин відіграють механічну і захисну роль.

Крохмаль – порошок білого кольору, не має запаху і смаку, не розчиняється у холодній воді, а в гарячій утворює колоїд, при додаванні до якого йоду з'являється синє забарвлення. Це продукт фотосинтезу і основна поживна речовина рослин. Крохмаль відкладається в рослинних тканинах (в листі, насінні плодах, бульбах, клубнях) у вигляді шаруватих зерен. Крохмальні зерна – структури різноманітної форми та розмірів і переважно специфічні для кожного виду рослин. При кислотному гідролізі крохмаль розщеплюється до молекул глюкози, яка входить до складу крохмалю у вигляді D-глюкопіранози. Природний крохмаль складається із двох різних фракцій, що різняться за будовою й властивостями: амілоза (~25 %) та амілопектин (~75%). У крохмалі виявлено деякі високомолекулярні жирні кислоти (пальмітинову, стеаринову та

ін), вміст яких досягає 0,6 % та незначну кількість (0,2–0,7 %) мінеральних речовин, переважно представлених фосфорною кислотою.

Целюлоза або клітковина – вищий полісахарид утворений мономерними залишками β -глюкози, що з'єднуються між собою глікозидними β -(1→4)-зв'язками, у воді не розчинна, але здатна в ній набухати. Клітковина є досить стійким полісахаридом, який лише за умови кип'ятіння з концентрованою хлоридною або сульфатною кислотою (кислотний гідроліз), перетворюється на глюкозу, при слабшому – на целобіозу.

Рентгеноструктурним аналізом виявлено, що молекула целюлози має ниткоподібну форму. Ці ниткоподібні молекули, які поєднані пучками 40-60 одиниць, завдячуючи водневим зв'язкам утворюють міцелу. У клітинних стінках рослин такі міцели целюлози пов'язані водневими зв'язками з різними гетерополісахаридами. Окрім того, є дані про те, що в побудові клітинної стінки рослин бере участь особливий глікопротеїд, багатий на оксипролін екстензин.

Високий вміст целюлози у волокнах бавовнику (80–85 %) і льону (80–90 %), деревині (40–60 %), серцевині стебел бузини, соняшнику. Залежно від довжини волокон целюлози сфера застосування різна: довші за 20 мм волокна використовують у текстильній промисловості; 3 мм - для виробництва картону, паперу та хімічної переробки.

Геміцелюлози (напівклітковина) – змішані гетерополісахариди, які разом з целюлозою формують матрикс клітинної стінки. Геміцелюлози розчиняються в лужних розчинах, але нерозчинні у воді. Менш стійкі за целюлозу - гідролізуються кип'ятінням з розведеними мінеральними кислотами. При кислотному гідролізі розпадаються до манози, галактози, арабінози і ксилози та мають відповідні назви - манани, галактани і пентозани (арабан і ксилан).

Разом із целюлозою у значній кількості (від 6 до 43 %) містяться у здерев'янілих частинах рослин (деревині, соломі, лушпинні, насінні, кукурудзяних качанах).

Пектини – компоненти матриксу первинних клітинних оболонок. У рослині пектинові речовини представлені нерозчинним у воді протопектином – сполукою, утвореною метоксильованою полігалактуроновою кислотою із галактаном, а також арабаном клітинної стінки. Розчинний пектин із протопектину можна отримати шляхом його обробки розведеними кислотами або використавши ензим протопектиназу.

Обробка рослинних волокон, зокрема волокон льону, базується на спеціальному впливі саме на пектини стебла. Перший етап, вимочування льону, проходить з використанням специфічних бактерій, які продукують ферменти пектинази, що гідролізують пектини, спричиняючи мацерацію стебел рослини та роз'єднання волокон.

Ці гетерополісахариди у великій кількості знаходяться в бульбах рослин, плодах, ягодах. Характерною властивістю пектинових речовин є їх здатність до формування гелю, в основі якої лежить міжмолекулярна взаємодія ділянок, утворених залишками α -D-галактуранової кислоти. Гелеутворювальні властивості посилюються в присутності гідрофільних речовин, таких як сахароза та гліцерин.

Основним джерелом отримання пектинів є відходи промислового виробництва соків, зокрема з апельсинів, лимонів, яблук, мандаринів, окрім того з цією ж метою можуть використовувати жом (відходи виробництва цукру з буряку) або кошики соняшнику, піддаючи їх нагріванню з розчинами фосфатної, сульфатної чи інших кислот, що забезпечує екстракцію пектинів. У шкірці яблук вміст пектинів становить ~ 40 %, в жомі ~ 10–20 %, білій частині шкірки цитрусових ~ 25–30 % сухої маси.

Компоненти пектинових речовин, такі як рамногалактуронан, арабіногалактан виявлені в первинній клітинній стінці дводольних рослин, карагінан, альгінові кислоти – у клітинних стінках бурих водоростей. Зокрема сировиною для отримання агар-агару є червоні водоростей родів *Ahfelcia*, *Gelidium*, *Gracilaria* та *Phyllophora*.

Пектини у харчовій промисловості використовують в якості загусників та стабілізаторів для створення необхідної консистенції кетчупів, морозива, кисломолочних продуктів, мармеладу та ін. Також з допомогою пектинів фруктовим начинкам надають термостабільності.

Солодкий смак – найважливіша ознака цукрів та їх похідних, які розрізняються між собою за ступенем солодкості. У таблиці 3 наведено показники солодкості деяких цукрів та їх похідних.

Необхідно відзначити, що солодкий смак властивий багатьом речовинам, які не є за своєю хімічною природою цукрами. Наприклад, сахарин – імід орто-сульфобензойної кислоти – в 400–500 разів солодший за сахарозу. Надзвичайно високою солодкістю володіють окремі білки: монелін (~1500-3000 разів солодший за сахарозу) отримують з ягід тропічної рослини *Dioscoreophyllum*, яка походить з Африки; тауматин (~ 750-1000 разів солодший за сахарозу), також виділений з плодів африканської рослини *Thaumatococcus*.

Порівняльна оцінка солодкості різних цукрів та їх похідних

Сахароза	100	Ксилоза	40
Глюкоза	74	Мальтоза	32
Фруктоза	173	Галактоза	32
Сорбіт	48	Рафіноза	23
Гліцерин	48	Лактоза	16

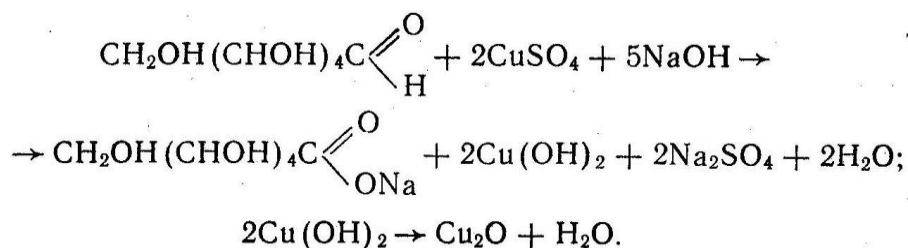
Для кількісного визначення цукрів широко використовується окиснення моносахаридів деякими м'якими окиснювачами (наприклад, іонами купруму (Cu^{2+}) або феруму (Fe^{3+})). У цьому випадку карбонільна група цукрів окиснюється до карбоксильної групи, а окисник відновлюється. Глюкоза та інші цукри, які здатні відновлювати іони, називають відновними цукрами. Відновна здатність цукрів лежить в основі реакції Фелінга – якісного тесту на наявність відновних цукрів. За допомогою вимірювання кількості окисника, відновленого розчином цукру, можна також визначити концентрацію цукру в розчині.

Лабораторна робота № 4 «Якісні реакції на моносахариди»

Мета роботи. Провести ідентифікацію присутності в розчині моносахаридів за кольоровою реакцією (якісною) на альдегідну чи кетонну групу в їх молекулі.

1. Реакція Троммера.

Принцип реакції. При нагріванні в присутності лугів гексози (глюкоза, фруктоза) відновлюють купрум (II) гідроксид до купрум (II) оксиду з окисненням до альдонових кислот. Рівняння реакції має наступний вигляд:



Матеріали та реактиви. Глюкоза (5 % розчин), натрію гідроксид (5 % розчин), купрум (II) сульфат (5 % розчин).

Обладнання. Пробірки лабораторні хімічні, скляні мірні піпетки, штатив лабораторний, спиртівка.

Хід роботи. До 3 мл 5 % глюкози додати 1 мл натрію гідроксиду 5 % та 3-4 краплі розчину купрум (II) сульфату. За умови присутності в молекулі моносахариду відповідно кето- чи альдегідогрупи формується осад купрум (II) гідроксиду, який при перемішуванні або збовтуванні вмістимого пробірки спричиняє блакитне забарвлення останнього. Пробірку слід нагріти над полум'ям спиртівки до температури кипіння та зафіксувати зміну забарвлення її вмістимого (жовтий осад - утворився купрум (I) гідроксид; червоний осад – Cu_2O (геміоксид купруму)).

2. Реакція Фелінга.

Принцип реакції. Реактив Фелінга містить іони купруму (II), що знаходяться в зв'язаному стані з тартратами (комплексна сполука). Принцип реакції всіх редукуючих вуглеводів, в т.ч. гексоз, із реактивом Фелінга аналогічний попередній роботі (реакції Троммера). Моносахариди з альдегідогрупою чи напівацетальним гідроксилом в присутності лугу і реактиву Фелінга при кип'ятінні формують осад Cu_2O червоного кольору. Особливістю реакції з реактивом Фелінга є те, що купрум навіть при надлишку реактиву не випадає у формі окису міді (II).

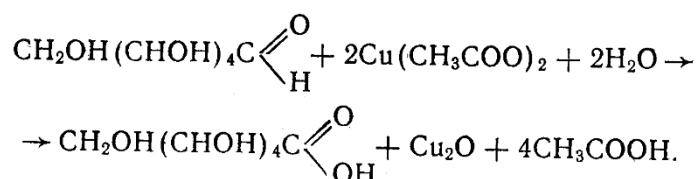
Матеріали та реактиви. Глюкоза (5 % розчин), реактив Фелінга (готувати виключно перед застосуванням в співвідношенні (1:1) розчину 1 (пропис: калій-натрій виннокислий $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{KNa} \times 4\text{H}_2\text{O}$ (200 г), натрію гідроксиду (150 г), дистильована вода довести до 1 л); розчину 2 (пропис: купрум (II) сульфат (40 г), дистильована вода - до 1 л). Реактиви набирати окремими чистими піпетками і змішувати в пробірці!

Обладнання. Пробірки лабораторні хімічні, скляні мірні піпетки, штатив лабораторний, спиртівка.

Хід роботи. Змішати в пробірці розчин глюкози - 1 мл з реактивом Фелінга - 2 мл (готується змішуванням розчину 1 та розчину 2 кожного по 1 мл). Після перемішування вміст нагріти до кипіння – позитивна реакція супроводжується випадінням осаду Cu_2O червоного кольору.

3. Реакція Барфедда.

Принцип реакції. При взаємодії із купрум (II) ацетатом гексози призводять до утворення Cu_2O (купрум геміоксиду). Рівняння цього хімічного перетворення виглядає наступним чином:



Середовище, оптимальне для перебігу цієї реакції, повинно бути близьким до нейтрального $\text{pH} \sim 7,0$, оскільки саме така реакція середовища не зумовлює окиснення редукуючих дисахаридів і таким чином диференціювати їх від моносахаридів.

Матеріали та реактиви: глюкоза (5 % розчин), реактив Барфедда (пропис: купрум (II) ацетат ($\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})$) - 13,3 г, гаряча (70°C) дистильована вода 200 мл – розчинити, профільтрувати і в фільтрату додати крижану оцтову кислоту (1,9 мл).

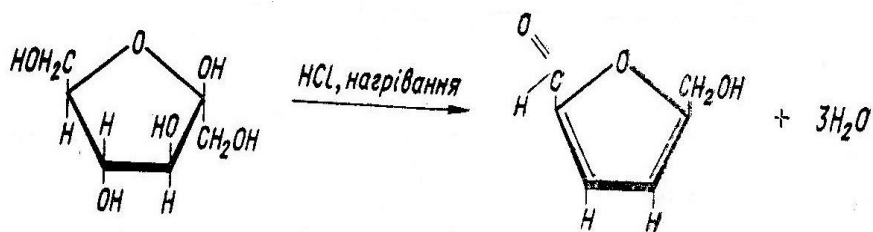
Обладнання. Пробірки лабораторні хімічні, скляні мірні піпетки, штатив лабораторний, спиртівка.

Хід роботи.

Внести в чисту хімічну пробірку розчин глюкози (1 мл) та додати реактив Барфедда (1 мл). Після ретельного перемішування вміст пробірки над полум'ям спиртівки довести до кипіння – при позитивній якісній реакції відмічається утворення осаду червоного кольору Cu_2O .

4. Проба Селіванова (на кетози).

Принцип реакції. Під час підігрівання у присутності хлоридної кислоти кетози (фруктоза), в противагу альдозам, дегідратуються з утворенням оксиметилфурфурола. Рівняння цього хімічного перетворення за участі фруктози виглядає наступним чином:



Оксиметилфурфурол вступає в реакцію конденсації з резорцином утворюючи продукт реакції червоного кольору різної інтенсивності.

Матеріали та реактиви. Резорцин (кристалічний), фруктоза (5 % розчин), глюкоза (5 % розчин), хлоридна кислота (20 % розчин).

Обладнання. Пробірки лабораторні хімічні, шпатель, скляні мірні піпетки, термометр лабораторний, штатив лабораторний, баня водяна.

Хід роботи. В пробірках № 1 і № 2 змішуємо реактиви згідно опису, наведеного в таблиці 4.

Таблиця 4

Послідовність виконання роботи

Реактиви	Пробірка № 1	Пробірка № 2
Розчин фруктози, 5 %	5 мл	-
Розчин глюкози, 5 %	-	5 мл
Хлоридна кислота, 20 %	1 мл	1 мл
Резорцин	кілька кристаликів	кілька кристаликів
Водяна баня (80°C), 5-10 хв		
Забарвлення	вишнево-червоне	-

Висновок:

Лабораторна робота № 5 «Полісахариди: якісні реакції»

Мета роботи. Ідентифікувати мономерні моносахариди в складі полісахаридів, провівши попередньо їх гідроліз.

1. Гідролітичне розщеплення крохмалю.

Принцип реакції. Розчин крохмалю при нагріванні в присутності мінеральних кислот розщеплюється до глюкози, яку в подальшому якісно

виявляють реакціями, характерними для моносахаридів (реакція Троммера та ін).

Матеріали та реактиви. Хлоридна кислота (концентрована), крохмаль (1 % розчин), гідроксид натрію (15 % розчин), купрум (II) сульфат (1 % розчин).

Обладнання. Пробірки лабораторні хімічні, шпатель, скляні мірні піпетки, термометр лабораторний, штатив лабораторний, баня водяна.

Хід роботи. В пробірках № 1 і № 2 змішуємо реактиви згідно пропису, наведеного в таблиці 5.

Таблиця 5

Послідовність виконання роботи

Реактиви	Пробірка № 1	Пробірка № 2
Розчин крохмалю, 1 %	5 мл	5 мл
Концентрована хлоридна кислота	2-3 краплі	-
Дистильована вода	-	2-3 краплі
Кип'ятити на водяній бані 15 хв		
Гідроксид натрію, 15 % розчин	2 мл	2 мл
Купрум (II) сульфат, 1 % розчин	5 крапель	5 крапель
Нагріти над полум'ям		
Забарвлення	вишнево-червоне (відбувся гідроліз крохмалю – позитивна реакція Троммера)	- (осад не утворився – зробити висновок)

Висновок:

2. Якісна реакція на клітковину.

Принцип реакції. Клітковина, яка здерев'яніла (лігніфікована), має здатність забарвлюватись барвниками.

Матеріали та реактиви. Зріз здерев'янілої частини рослинного стебла, 1% розчин флороглюцину, хлоридна кислота концентрована, гліцерол.

Обладнання. Предметні і покривні скельця, скальпель, фільтрувальний папір, мікроскоп.

Хід роботи.

Скальпелем зробити тонкий зріз стебла, який помістити на предметне скло в 1 % спиртовий розчин флороглюцину в спирті. Надлишок реактиву прибрати за допомогою фільтрувального паперу і нанести на поверхню зрізу краплину концентрованої хлоридної кислоти та додати через 1-2 хв краплю гліцеролу. Після цього накрити препарат покривним склом та обстежити під мікроскопом при малому збільшенні (лігніфіковані клітинні оболонки забарвлюються у вишневий колір).

Висновок:

3. Гідроліз клітковини.

Принцип реакції. Гідролітичне розщеплення клітковини під дією мінеральних кислот проходить більш повільно у порівнянні з крохмалем. Попередня обробка клітковини сульфатною кислотою (80 % розчин) суттєво пришвидшує гідроліз клітковини.

Матеріали та реактиви. Джерело клітковини - вата, сульфатна кислота (3 % та 80 % розчини) , насичений розчин NaOH, реактиви Фелінга та Барфедда.

Обладнання. Пробірки лабораторні хімічні, скляні мірні піпетки, термометр лабораторний, штатив лабораторний, баня водяна, індикаторний папір.

Хід роботи.

I етап роботи: невеликий шматочок вати (150-200 мг) помістити у хімічну пробірку, внести 0,5 мл сульфатної кислоти (3 % розчин) і кип'ятити у водяній бані 10-12 хв. Нейтралізувати вміст пробірки (під контролем індикаторного папірця) та поділити на 2 частини. *II етап роботи.* У іншій чистій хімічній пробірці до аналогічної кількості вати завчасно додати розчин сульфатної кислоти (80 %) в кількості 0,5 мл до її повного розчинення, в подальшому довести дистильованою водою до 1 мл і прокип'ятити на водяній бані 5-6 хв. Нейтралізувати вміст пробірки з допомогою індикаторного паперу та також розділити на 2 частини.

III етап роботи. Гідролізати, отримані на I і II етапі роботи, використовують для постановки реакції Фелінга (додати по 1 мл розчину Фелінга, змішати і нагріти до кипіння) і реакції Барфедда (додати по 1 мл реактиву Барфедда, змішати, нагріти до кипіння).

Пробірки, отримані на першому етапі роботи, при нагріванні не дають осад червоного кольору (негативна проба Фелінга і Барфедда), тоді як в пробірках, отриманих на II етапі роботи, спостерігається утворення червоного осаду Cu_2O (позитивна проба Фелінга і Барфедда). Зробіть відповідні висновки.

Висновок:

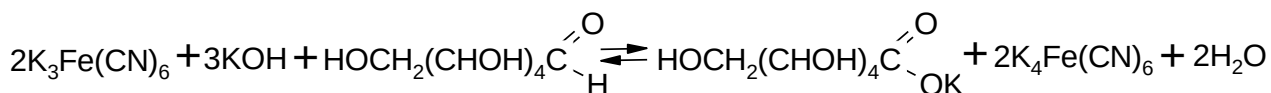
Лабораторна робота № 6.

«Кількісний аналіз вмісту глюкози в рослинному матеріалі»

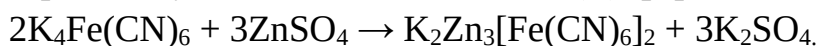
Мета роботи. Провести кількісне дослідження концентрації глюкози в досліджуваному зразку.

Метод Хагендорна-Ієнсена.

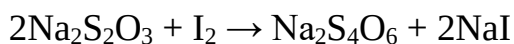
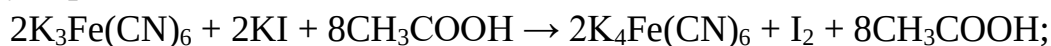
Принцип методу. У лужному середовищі глюкоза здатна при нагріванні відновлювати фериціанід калію – (гексаціано-(III)-ферат калію, червона кров'яна сіль) в залістосинєродистий калій – $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ (гексаціано-(II)-ферат калію, жовта кров'яна сіль). Рівняння цього хімічного перетворення виглядає наступним чином:



Завдяки тому, що ця реакція є зворотною, залістосинєродистий калій за дії ZnSO_4 утворює нерозчинну сіль – цинк-гексаціано-(II)-ферат калію:



Фериціанід калію береться в надлишку і його надлишок, що не був задіяний у вказаній хімічній реакції, встановлюють йодометрично у присутності оцтової кислоти. Йод, який при цьому утворюється, відтитровують натрію тіосульфатом:



В якості індикатора для вивільненого в реакції молекулярного йоду застосовують крохмаль.

Для розрахунку концентрації глюкози в мг/мл досліджуваного розчину користуються спеціальною таблицею (табл. 6, див. нижче), де певний об'єм натрію тіосульфату, що був затрачений для титрування йоду, відповідає надлишку фериціаніду калію, а також тій кількості міліграмів глюкози, що вступила в реакцію.

Матеріали і реактиви. Фільтрувальний папір, вата, ягоди або фрукти, калію гідроксид (0,1 моль/л), цинку сульфат (0,45 % розчин), калію гексаціано-(III)-ферат лужний розчин (*пропис*: $K_3Fe(CN)_6$ - 1,65 г і Na_2CO_3 безводний - 10,6 г розчинити у дистильованій воді і довести до 1 л), $ZnSO_4$ в розчині $NaCl$ (*пропис*: $ZnSO_4$ (10 г) і $NaCl$ (50 г) розчинити в дистильованій воді й довести розчин до об'єму 200 мл), розчин калію йодиду (KI (5 г) розчинити в 25 мл дистильованої води), розчин $Na_2S_2O_3$ (0,05 моль/л), розчин CH_3COOH (3%), розчин крохмалю (1%).

Обладнання. Пробірки лабораторні хімічні, скляні мірні піпетки, колби конічні термостійкі ($V = 50$ мл), лійки скляні, бюретки, штатив лабораторний, баня водяна, бинт, чашка, ступка керамічна, терка.

Хід роботи.

Спершу слід підготувати дослідну пробу, якщо це фрукти, їх необхідно натерти на дрібній терці, якщо ягоди - перетерти в ступці, потім вичавити з подрібненої маси сік і профільтрувати.

У 2 пробірки налити розчин калію гідроксиду (по 1 мл). До вмісту пробірки № 1 (дослідна) додати 0,1 мл соку, пробірки № 2 (контрольна) – 0,1 мл дистильованої води. Після цього в обидві пробірки внести 0,45 % розчин $ZnSO_4$ по 5 мл, змішати скляною паличкою та помістити в кип'ячу водяну баню на 3-4 хв. Отримані суміші необхідно профільтрувати в термостійкі конічні колби, використовуючи паперовий фільтр або вату, вкладену в лійку. Лійку та тампон з вати (фільтр) промити підігрітою дистильованою водою трьохкратно (по 2 мл кожне промивання), даючи повністю стекти кожній порції промивки. Після чого в кожную колбу до розчинів додати по 2 мл лужного розчину фериціаніду калію і кип'ятити на водяній бані впродовж 15 хв.

В подальшому до розчинів у кожній колбі внести по 2,6 мл розчину $ZnSO_4$ в розчині $NaCl$, розчину KI (по 0,4 мл), перемішати вміст і додати розчин CH_3COOH (по 2 мл) та розчин крохмалю (по 3 краплі). Потім суміш протитрувати розчином $Na_2S_2O_3$ (0,05 моль/л) до зникнення синього

забарвлення, що виникло після додавання крохмалю (обов'язково порахувати об'єм витраченого розчину на титрування кожної з проб (дослід, контроль)).

Записавши витрачені на титрування об'єми розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (в мл, відповідно проба і контроль), користуючись табл. 6 встановлюють концентрацію глюкози і проводять розрахунок різниці мас глюкози в контролі та дослідній пробі.

За нижчевказною формулою розраховують концентрацію глюкози (мг/мл):

$$C = \frac{(B - A)}{V},$$

де А і В – маси глюкози за даними табл. 6 для проби і контролю відповідно; V – об'єм соку (0,1 мл), взятий для аналізу.

Таблиця 6

Залежність вмісту глюкози від об'єму титранту

Об'єм тіосульф. натрію, мл	0,00	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09
0,0	0,385	0,382	0,379	0,376	0,373	0,370	0,367	0,364	0,361	0,358
0,1	0,355	0,352	0,350	0,348	0,345	0,343	0,341	0,338	0,336	0,333
0,2	0,331	0,329	0,327	0,325	0,323	0,321	0,318	0,316	0,314	0,312
0,3	0,310	0,308	0,306	0,304	0,302	0,300	0,298	0,296	0,294	0,292
0,4	0,290	0,288	0,286	0,284	0,282	0,280	0,278	0,276	0,274	0,272
0,5	0,270	0,268	0,266	0,264	0,262	0,260	0,259	0,257	0,255	0,253
0,6	0,251	0,249	0,247	0,245	0,243	0,241	0,240	0,238	0,236	0,234
0,7	0,232	0,230	0,228	0,226	0,224	0,222	0,221	0,219	0,217	0,215
0,8	0,213	0,211	0,209	0,208	0,206	0,204	0,202	0,200	0,199	0,197
0,9	0,195	0,193	0,191	0,190	0,188	0,186	0,184	0,182	0,181	0,179
1,0	0,177	0,175	0,173	0,172	0,170	0,168	0,166	0,164	0,163	0,161
1,1	0,159	0,157	0,155	0,154	0,152	0,150	0,148	0,146	0,145	0,143
1,2	0,131	0,139	0,138	0,136	0,134	0,132	0,131	0,129	0,127	0,125
1,3	0,124	0,122	0,120	0,119	0,117	0,115	0,113	0,111	0,110	0,108
1,4	0,106	0,104	0,102	0,101	0,099	0,098	0,097	0,095	0,093	0,092
1,5	0,088	0,086	0,084	0,083	0,081	0,079	0,077	0,075	0,074	0,072
1,6	0,070	0,068	0,066	0,065	0,063	0,061	0,059	0,057	0,056	0,054
1,7	0,052	0,050	0,048	0,047	0,045	0,043	0,041	0,039	0,038	0,036
1,8	0,034	0,032	0,031	0,029	0,027	0,025	0,024	0,022	0,021	0,019
1,9	0,017	0,015	0,014	0,012	0,010	0,008	0,006	0,005	0,003	0,002

Примітка: - об'єм тіосульфату натрію: *за вертикаллю* – цілі та десяти частки мілілітра, *за горизонталлю* - соті частки.

Висновок:

Контрольні запитання та завдання до розділу «Вуглеводи»

1. Структура, властивості та функції вуглеводів.
2. Класифікація вуглеводів. Навести приклади.
3. Класифікація моносахаридів. Навести приклади.
4. Ланцюгова та циклічна форми моносахаридів.
5. Що таке епімери? Навести приклади.
6. Якісні реакції на вуглеводи.
7. Написати структурні формули:
 - 1) Моносахаридів: тріоз, тетроз, пентоз, гексоз, представників підписати.
 - 2) Альдоз та кетоз, представників підписати.
 - 3) Глюкози, манози, рибози, дезоксирибози у циклічній та ланцюговій формах.
Вказати їх конфігурації та конформації (D- чи L- та α - чи β -).
 - 4) β -D-фруктофуранози та β -D-глюкопіранози.
 - 5) Олігосахаридів:
 - а) дисахаридів (сахарози, лактози, мальтози, трегалози);
 - б) трисахаридів (мелицитози, рафінози);
 - в) тетрасахариду (стахіози);
 - б) полісахариду (крохмаль), вказати сполука є гомо- чи гетерополісахаридом.

РОЗДІЛ 3. «ЛІПІДИ»

Ліпіди – це природні біоорганічні сполуки, які включають як жири, так і жироподібні речовини, що не розчиняються у воді, проте розчиняються в органічних розчинниках (ацетоні, ефірі, хлороформі та ін.). Переважна більшість представників цього класу сполук - це похідні вищих жирних кислот та спиртів або альдегідів.

Ліпіди належать до низькомолекулярних сполук, до складу яких входять один або кілька невеликих структурних компонентів. Компоненти, що входять до складу ліпідів, містять різне число атомів вуглецю, можуть мати один або декілька ненасичених зв'язків. Гідрофобними компонентами є поліметиленові (жирні кислоти насичені і ненасичені) та поліпренові (ізопрен, терпен, сквален, фітол, вітаміни А, Е, К) похідні оцтової кислоти; гідрофільними – спирти та їх похідні (етиленгліколь, пропандіол, гліцерин), азотовмісні похідні етанолу (етанол амід, серин, інозитол, сфінгозин, сіалова кислота, ацетилглюкозамін) та неорганічні фосфат і сульфат.

Саме від складу та хімічної будови залежать їх фізичні та хімічні властивості.

Властивості ліпідів:

1) амфіфільність ліпідів – ліпіди мають подвійну спорідненість, і на межі поділу між гідрофільним і гідрофобним середовищами розміщуються наступним чином: полярні голови знаходяться у воді, а неполярні хвости - у неполярному розчиннику (олії), таким чином формуються бішар мембран, міцели;

2) утворення емульсій - нестійкі емульсії легко розділяються на дві фази: воду і жир. Стійкі емульсії утворюються при додаванні емульгаторів – поверхнево активних речовин, здатних адсорбуватися на окремих краплинах жиру, не даючи їм зливатися в більші краплини;

3) якщо до складу жиру входять переважно насичені жирні кислоти, то такий жир є твердим і має високу температуру топлення (свиняче сало – 36-45 °С), і навпаки, якщо є вищий вміст ненасичених жирних кислот, то жир є рідким (олії) і, відповідно, буде нижча температура топлення (конопляна олія – 17 °С, лляна – 17 °С, соняшникова – 21 °С);

4) рідкі жири (олії) можна згустити шляхом гідрогенізації;

5) гідроліз жирів може відбуватися під дією лугів, кислот, перегрітого пару і ензимів. Гідроліз в присутності лугів зумовлює утворення гліцерину і

солей жирних кислот, що називаються милом, а сама реакція має назву *омилення*.

Функції ліпідів:

1) структурна (фосфоліпіди, гліколіпіди, сульфоліпіди, холестерол в комплексі з протеїнами, вуглеводами входять до структури різного типу мембран);

2) енергетична (1 г жиру при окисненні дає ~ 39 кДж енергії, що вдвічі більше, ніж аналогічний енергетичний вихід білків і вуглеводів);

3) запасуюча (відкладаються в клітинах у вигляді ліпідних крапель);

4) захисна (восковий наліт на поверхні листків, плодів, бруньок захищає їх від надлишкового випаровування й проникнення мікроорганізмів);

5) регуляторна (гормони стероїдної природи (статеві, кортикостероїди) та жиророзчинні вітаміни безпосередньо задіяні в регуляції різних процесів життєдіяльності організму);

6) термоізоляційна (жири володіють низькою теплопровідністю, тому накопичуючись у підшкірній клітковині, захищають від втрат тепла);

7) метаболічна (впливають на активність ензимів);

8) електроізоляційна (глікосфінголіпіди, сфінгомієліни) - це своєрідний «електроізолюючий матеріал» мієлінових оболонок клітин;

9) емульгуюча - амфіфільні ліпіди під час розподілу на поверхні фаз жир-вода володіють стабілізуючою дією щодо емульсій, запобігаючи їх розшаруванню. Так, жовчні кислоти, фосфогліцериди емульгують ацилгліцерини в кишечнику, в той же час фосфогліцериди крові стабілізують розчинний холестерол;

10) транспортна – фосфоліпіди і жовчні кислоти здійснюють транспорт речовин, зокрема катіонів через біліпідний шар мембрани; жирних кислот з кишечника в кров, формуючи холейнові комплекси;

11) водоутворююча (тварини в сплячці, мешканці пустель використовують накопичені жири як своєрідні резервуари метаболічної води - окиснення 1 г жиру забезпечує утворення 1,1 г води).

Класифікація ліпідів.

Ліпіди мають 3 основні класифікації: за біологічною або фізіологічною роллю, фізико-хімічними властивостями та структурними особливостями.

Біологічна класифікація. Згідно з цією класифікацією ліпіди є резервними і структурними. Резервні переважно накопичуються як підшкірний і вісцеральний жир. У переважної більшості людей без надлишкової ваги кількість резервних ліпідів складає ~10-15 % маси тіла. Проте систематичне

порушення режиму харчування, недостатня рухова активність, порушення обміну речовин зумовлене різними причинами може призводити до ожиріння, при якому кількість резервного жиру (підшкірного і вісцерального) може сягати 25-35 % або і 50 % від маси тіла.

У складі резервних ліпідів превалюють ацилгліцероли, значні кількості яких ідуть на забезпечення енергетичних потреб живого організму. В протиположності резервним ліпідам, структурні ліпіди не є настільки енергетично цінними. За хімічною будовою вони належать до складних ліпідів та становлять основу клітинних і субклітинних структур.

Фізико-хімічна класифікація. За цією класифікацією ліпіди бувають неполярні (нейтральні) та полярні. Перший тип ліпідів не має заряду, другий - має заряд і проявляє полярні властивості, це зокрема жирні кислоти, фосфоліпіди.

Структурна класифікація ґрунтується на хімічній структурі молекул ліпідів. згідно з нею ліпіди входять до таких трьох груп: прості, складні та похідні ліпідів.

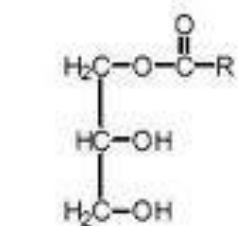


Структурна класифікація ліпідів

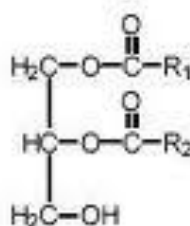
Характеристика основних ліпідів

Прості ліпіди.

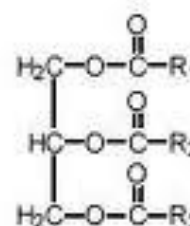
Ацилгліцероли (моно-, ди-, триацилгліцероли) є основою резервних ліпідів та джерелом утворення енергії. Вони являють собою складні ефіри трьохатомного спирту гліцеролу і жирних кислот. Наприклад, триацилгліцероли чи нейтральні ліпіди, утворюються при етерифікації жирними кислотами всіх трьох гідроксильних груп гліцерола. *Гліцерол* є складовою нейтральних ліпідів і фосфоліпідів.



Моноацилгліцерин



Діоацилгліцерин



Триацилгліцерин

Ацилгліцероли нерозчинні у воді, для транспорту в крові утворюють спеціальні транспортні форми - комплекси з білками та фосфоліпідами (ліпопротеїни).

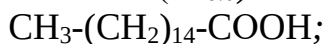
Попередники та похідні ліпідів.

Вищі жирні кислоти. Відомо близько 200 жирних кислот, які відрізняються кількістю атомів карбону, ступенем насиченості, характером розміщення подвійних зв'язків та наявністю гідрокси- і оксигрупи. Жирні кислоти – це карбонові кислоти, тобто похідні вуглеводів. Розрізняють насичені та ненасичені жирні кислоти.

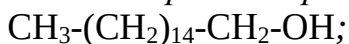
Молекули *насичених жирних кислот* – це нерозгалужений ланцюг, який складається із парної кількості атомів карбону. В рослинах зустрічається пальмітинова жирна кислота (C_{16:0}).

Молекули *ненасичених жирних кислот* містять подвійні або потрійні зв'язки. За числом подвійних зв'язків в молекулі жирні кислоти є моно-, ди-, триєнові (полієнові). У рослин зустрічаються переважно олеїнова (моноєнова (C_{18:1}^{Δ9}), лінолева (дієнова (C_{18:2}^{Δ9,12}), ліноленова (триєнова (C_{18:3}^{Δ9,12,15})) жирні кислоти.

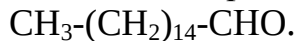
Пальмітинова насичена жирна кислота (C_{16:0})



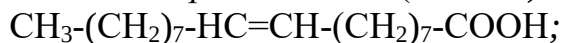
Цетиловий (гексадеканол) насичений жирний спирт (C_{16:0})



Пальмітиновий (гексадеканаль) насичений жирний альдегід (C_{16:0})



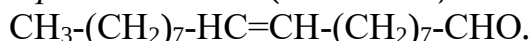
Олеїнова ненасичена моноєнова жирна кислота (C_{18:1}^{Δ9})



Олеїновий ненасичаний жирний спирт (9-октадецен-1-ол) (C_{18:1}^{Δ9})



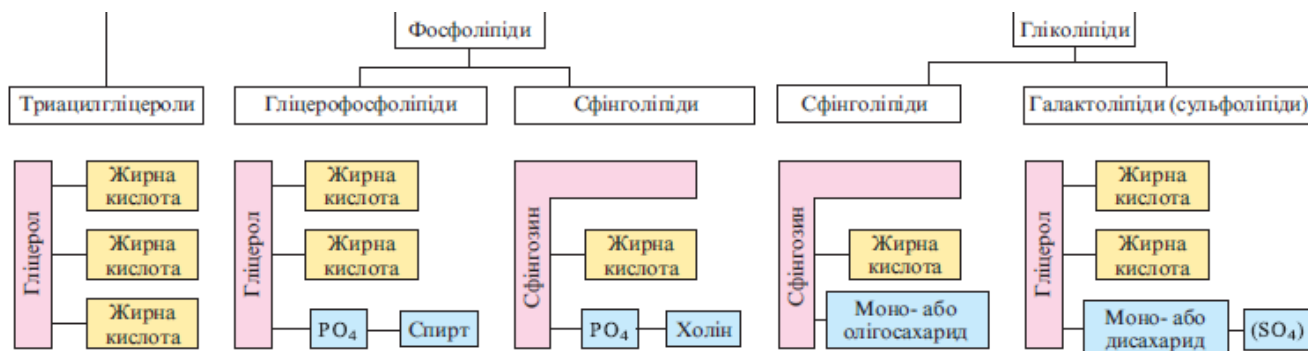
Олеїновий ненасичений жирний альдегід (9-октадецен-1-аль)(C_{18:1}^{Δ9})



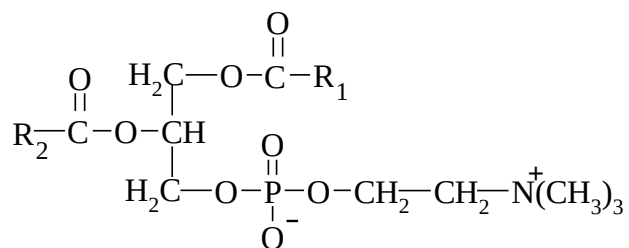
Похідними вищих жирних кислот є вищі жирні спирти (містять спиртову групу) і альдегіди (містять альдегідну групу), які можуть бути як насиченими, так і ненасиченими. У природі частіше зустрічаються моноєнові спирти – аналоги моноєнових жирних кислот та поліненасичені первинні спирти (терпеноли). Із спиртової природи у ліпідах зустрічаються також гліцерол, діюли, міоїнозитол, вуглеводи і вищі аміноспирти.

Складні ліпіди.

Фосфоліпіди – це похідні гліцеролу, які містять залишки жирних кислот, фосфорної кислоти, спирту (холін, етаноламін), амінокислоти тощо. Фосфоліпіди в тканинах тварин і рослин, в клітинах бактерій виконують структурну функцію, приймають участь у формуванні біологічних мембран, приймають участь у метаболічних процесах. Фосфоліпіди класифікуються згідно особливостей гідрофільного замісника: фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін попередник фосфатидилхолінів, фосфатидилсерин.



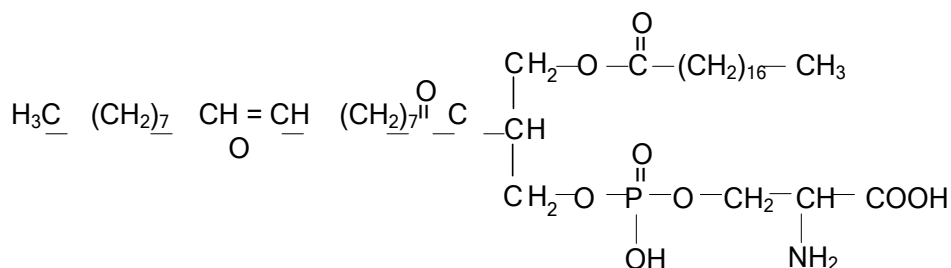
Фосфатидилхоліни. Одним з представників фосфатидилхолінів є лецитин (lethitos - жовток), отриманий вперше із жовтка яйця ще у 1845 р.



Фосфатидилхолін (лецитин)

Молекула лецитину включає гліцерол, у якого 2 гідроксили поєднані відповідно з аналогічною кількістю молекул вищих жирних кислот, одна з яких є, зазвичай, ненасиченою. Гідроксил біля третього атому карбону зв'язаний із залишком фосфатної кислоти, який в свою чергу з'єднаний з аміноспиртом холіном.

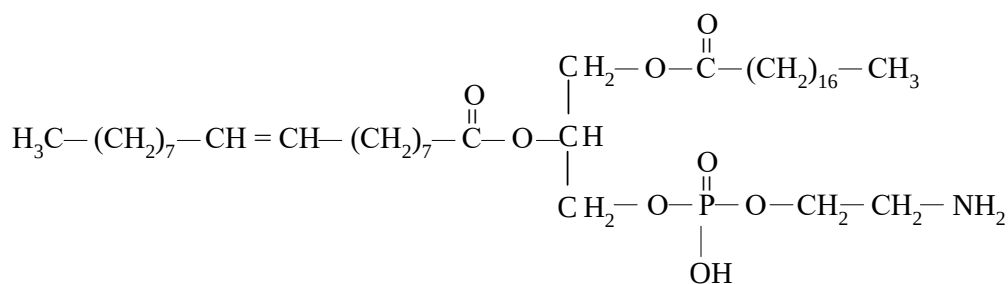
Фосфатидилсерини. Така назва цієї групи складних ліпідів обумовлена саме їх складом, оскільки вони містять залишок амінокислоти серину. Вперше фосфатидилсерини було виділено та ідентифіковано з головного мозку бика і пізніше виявлено у багатьох інших тканинах як тварин, так і рослин та бактерій.



Фосфатидилсерин

Основна їх функція – синтез фосфатидилетаноламінів.

Фосфатидилетаноламіни (коламінфосфатиди). В основу фосфатидилетаноламінів входить етаноламін, інша назва коламін, аміноспирт, що є продуктом декарбоксилювання серину. Відповідно ця група фосфоліпідів одержала назву фосфатидилетаноламінів або коламінфосфатидів.

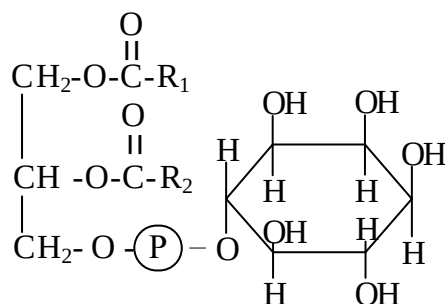


Фосфодіетаноламін (кефалін)

Фосфатидилетаноламіни є основними компонентами ліпідного бішару біомембран.

Фосфатидилінозитолі. Ця група складних ліпідів в основі своєї молекули містить інозит, що є шестиатомним циклічним спиртом.

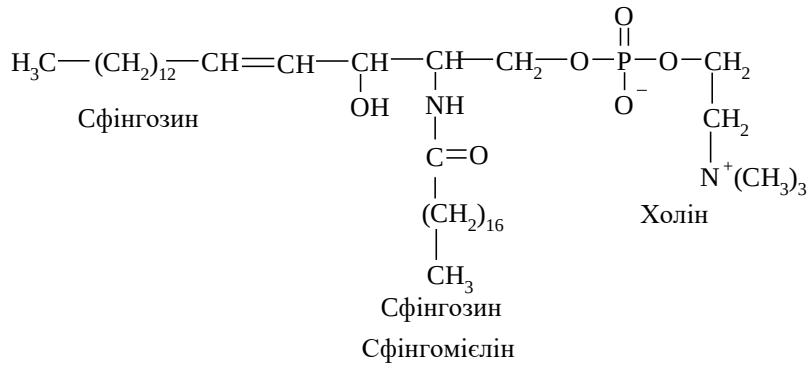
Фосфатидилінозитолі мають значну кількість форм, які різняться наявністю або відсутністю в своїй структурі гліцеролу, числом залишків фосфатної та жирних кислот: поліфосфатидилінозитолі, монофосфатидилінозитолі і складні фосфатидилінозитолі (у останніх інозитол зв'язаний з іншими речовинами - моносахаридами, амінокислотами, фітосфінгозином). Представників фосфатидилінозитолів виділено вперше з *Mycobacterium tuberculosis* і пізніше ідентифіковано в тканинах рослин і тварин.



Фосфатидилінозитол

Ключову роль в діяльності нервової системи відіграють поліфосфорні фосфатидилінозитолі, які, відповідно, виявлені у головному мозку; серед рослин їх вміст високий у сої, соняшнику, арахісові.

Сфінголіпіди - це складні ефіри сфінгозинових основ. В молекулах природних сфінголіпідів взаємодія сфінгозинової основи із залишком жирної кислоти відбувається не по гідроксильній групі, а через аміногрупу з утворенням амідного зв'язку. Сфінгозинові основи відрізняються за довжиною вуглецевого ланцюга, її структурою, ступенем насичення, числом



Нейтральні гліколіпіди – сполуки, в молекулах яких ковалентно зв’язані

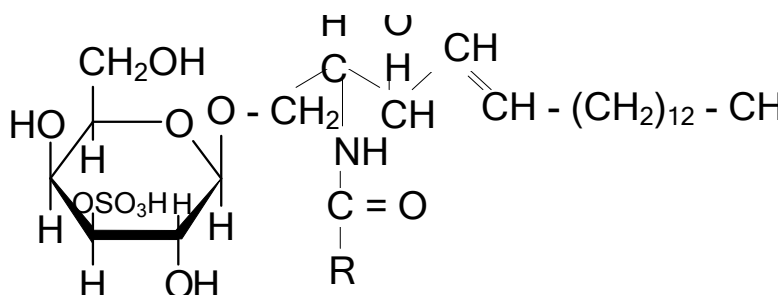
Розрізняють такі підгрупи гліколіпідів – цереброзили та гангліозили.

Церебροзиди. Ці ліпіди містять жирні кислоти, структурний скеле

метаболізмі, супроводжується тяжкими нервово-психічними розладами (хвороба Тея-Сакса). У рослинах та мікроорганізмах ці ліпіди відсутні.

Гангліозиди функціонують як рецептори для нейротрансмітерів, що забезпечують хімічний зв'язок між різними клітинами організму, імунохімічну специфічність, впливають на дозрівання і диференціювання багатьох типів клітин, підтримують іонний гомеостаз у синапсах, зв'язують бактеріальні токсини.

Сульфоліпіди є сульфатними похідними цереброзидів. В їх молекулі сульфат з'єднаний з третім гідроксилом галактози.



Сульфоліпіди за рахунок виражених кислих властивостей можуть досить легко зв'язувати катіони, також вони забезпечують транспорт катіонів крізь мембрани нервових клітин та волокон. Саме тому нормальна електрична активність нервової системи не можлива без участі гангліозидів.

Лабораторна робота № 7

«Розчинність ліпідів. Утворення емульсії»

Мета роботи. Вивчити здатність ліпідів до емульгування.

1. Розчинність ліпідів та здатність до емульгування

Принцип методу. Жири добре розчиняються у більшості органічних розчинників, зокрема хлороформі, ацетоні, діетиловому ефірі і при цьому не розчиняються у воді. При активному змішуванні їх із водою формуються емульсії. Їх стійкість, насамперед, залежить від складу середовища, в якому емульсії утворюються. За наявності у воді так званих емульгаторів, до яких належать жовчні кислоти, сапоніни, яєчний білок, лецитин та ін., стійкість утворених емульсій суттєво зростає. Сам процес формування емульсії

наступний: в шар води, який знаходиться навколо краплинки жиру, направляються поверхнево-активні частинки емульгатора, які їх обволікають і тим самим стають перешкодою для їх злиття.

Матеріали та реактиви. Соняшникова (кукурудзяна, лляна, оливкова) олія, хлороформ, бензол, етанол C_2H_5OH (96 %), розчин Na_2CO_3 (1 %).

Обладнання. Хімічні пробірки, скляні мірні піпетки, штатив.

Хід роботи. 1) Взяти 4 чисті сухі пробірки і в кожну з них налити 0,3 - 0,4 мл рослинної олії. У першу пробірку додати 4-5 мл води, в другу пробірку 4-5 мл етанолу, у третю - 4-5 мл бензолу, в четверту - 4-5 мл хлороформу. Пробірки слід акуратно, але досить енергійно струсити впродовж 1-2 хв, і по візуалізації результатів зробити відповідні висновки: пробірка №1 – вміст (олія і вода) розшаровується, пробірка № 2 - розчин каламутний (олія недостатньо розчинилась в етанолі), пробірки № 3 і № 4 - прозорі розчини.

2) В штатив поставити дві сухі пробірки і внести в кожну 3-4 краплини олії. У першу додати воду (~2 мл), в другу - розчин натрію карбонату Na_2CO_3 . (~2 мл). Пробірки слід акуратно, але досить енергійно струсити впродовж 1-2 хв - утворюється емульсія. Пробірки поставити в штатив і провести спостереження щодо стійкості емульсій: висновок записати.

Висновок:

Лабораторна робота № 8 **«Хімічні параметри жирів»**

Мета роботи. Навчитись визначати та обчислювати хімічні параметри жирів.

1. Число омилення нейтральних жирів.

Принцип методу. Число омилення (ЧО) це кількість КОН (мг), яка необхідна для того, щоб нейтралізувати усі жирні кислоти (ЖК) (як вільні, так і в складі триацилгліцеролів), в 1 грамі жиру.

Матеріали та реактиви. Соняшникова (кукурудзяна, лляна, оливкова) олія, фенолфталеїн (0,1 % розчин), HCl (0,5 моль/л розчин), КОН розведений на етанолі (0,5 моль/л) (*пропис реактиву:* в 30 мл води розчинити 40 г КОН (у відповідності до концентрації спиртового розчину) відміряти певну кількість розчину КОН на воді та розвести спиртом, який перегнали в присутності $NaOH$ (на 100 г етанолу 5 г $NaOH$). Для приготування такого спирту, необхідно додати

вказану кількість NaOH і впродовж години кип'ятити суміш зі зворотним холодильником та в подальшому перегнати; відстояти впродовж доби, профільтрувати і перелити в посудину з темного скла, щільно її закоркувавши для подальшого зберігання.

Обладнання. Зворотний холодильник, колби V=50 мл, баня водяна, мірні скляні піпетки, бюретки, ваги.

Хід роботи. У колбу №1 (дослід) додати 0,5 г жиру, в колбу № 2 (контроль) - 0,5 мл води. До вмістимого колб долити по 15 мл розчину КОН на спирті та кип'ятити на водяній бані з використанням зворотного холодильника впродовж 50 хв, доки не відбудеться повне омилення гліцеридів та нейтралізація вільних ЖК. Після цього у кожену колбу внести 10 крапель фенолфталеїну і з використанням бюретки протитрувати теплим розчином HCl (кількість мілілітрів порахувати) до моменту зникнення рожевого кольору (нейтральне середовище).

Число омилення (ЧО), що характеризується кількістю КОН в мг, обчислити по формулі:

$$ЧО = (C - Д) \times f \times Q/a,$$

де (C-Д) - різниця між кількістю мл розчину HCl (0,5 моль/л), затрачених на титрування контрольного та досліджуваного зразків; а - наважка жиру (0,5 г); f – поправочний коефіцієнт на титр розчину HCl (0,5 моль/л); Q - маса КОН (28,05 мг), що є еквівалентом 1 мл розчину КОН (0,5 моль/л).

2. Кислотне число жиру

Принцип методу. Кислотне число (КЧ) жиру виражається кількістю КОН (мг), яку необхідно витратити на нейтралізацію вільних ЖК в 1 г жиру. КЧ є показником доброякісності жиру, сорту, оскільки вільні ЖК утворюються при псуванні.

Матеріали та реактиви. Соняшникова (кукурудзяна, лляна, оливкова) олія, спирт, нейтралізований за фенолфталеїном, р-н КОН (0,1 моль/л), 0,1 % фенолфталеїн, ваги.

Обладнання. Колби (V = 50 мл), скляні мірні піпетки, гумові груші, бюретки.

Хід роботи. Відважити жир (1 г) та помістити його в колбу, піпеткою внести 5 ml нейтралізованого спирту та ретельно перемішати, щоб наявні вільні ЖК в повній мірі розчинилися. Після цього вміст колби протитрувати розчином

КОН з періодичним помішуванням, доки не з'явиться стійке рожеве забарвлення, не зникаюче впродовж одної хвилини.

КЧ досліджуваного жиру обчислити за такою формулою:

$$KЧ = C \times d \times E / v,$$

де С - об'єм р-ну КОН (0,1 моль/л), що пішов на титрування проби, мл; а - наважка жиру, г; d – поправочний коефіцієнт на титр р-ну КОН (0,1 моль/л); Е – маса калію гідроксиду (5,61 мг), яка є еквівалентною 1 мл р-ну КОН (0,1 моль/л); v – маса проби, 1 г.

3. Ефірне число жиру

Принцип методу. Ефірне число (ЕЧ) - кількість КОН в мг, що необхідно використати задля нейтралізації триацилгліцеролів ЖК, які утворюються при омиленні 1 г жиру. Обчислюють ЕЧ віднімаючи від ЧО жиру його КЧ.

За відомим значенням ЕЧ жиру, можна методом розрахунку обчислити вміст гліцеролу (на вивільнення 1 молекули гліцеролу витрачається 3 молекули КОН).

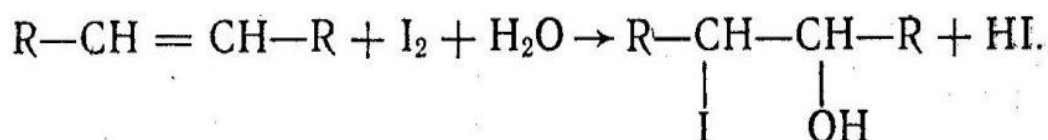
Відсоткове значення гліцеролу в жирі обчислюють наступним чином:

$$C = 96,02 \times EЧ \times 100 / 56,11 \times 3 \times 1000,$$

де 96,02 - Mr гліцеролу; ЕЧ - ефірне число жиру; 56,11 - Mr КОН.

4. Йодне число жиру

Принцип методу. Йодне число (ЙЧ) характеризується кількістю йоду в грамах, що здатна наситити ненасичені зв'язки в 100 г олії чи тваринного жиру. Тобто, чим вище ЙЧ, тим більше у жирі ненасичених ЖК, тих що мають подвійні або потрійні зв'язки. Реакція приєднання I₂ до ненасиченого зв'язку відбувається наступним чином:



Матеріали та реактиви. Соняшникова, кукурудзяна, лляна, оливкова чи інша олія, р-н I_2 спиртовий (0,1 моль/л), 1 % крохмаль, р-н $Na_2S_2O_3$ (0,05 моль/л).

Обладнання. Ваги, колби конічні V 50 ml, скляні мірні піпетки, бюретка.

Хід роботи. В пробірках I і II змішуємо реактиви згідно пропису, наведеного в таблиці 7.

Таблиця 7

Послідовність виконання роботи

Реактиви	Пробірка № 1	Пробірка № 2
Олія (наважка)	0,1-0,2 г	-
Вода	-	0,1-0,2 мл
Розчин I_2 спиртовий	10 мл	10 мл
Залишити на 15 хв		
Розчин $Na_2S_2O_3$	Титрувати до появи жовтуватого забарвлення	
Розчин крохмалю, 1 %	1 мл	1 мл
Розчин $Na_2S_2O_3$	титрувати до зникнення синього забарвлення	

Обчислити ЙЧ згідно формули:

$$ЙЧ = (C - Д) \times d \times Q \times 100 / b \times 1000,$$

де (C - Д) – різниця кількості мілілітрів розчину $Na_2S_2O_3$ (натрію тіосульфату), що було витрачено на титрування контрольної і дослідної проби; b – маса наважки, г; d – поправочний коефіцієнт на титр р-ну натрію тіосульфату (0,05 моль/л); Q - маса I_2 (12,69 мг), еквівалентна 1 мл р-ну натрію тіосульфату (0,05 моль/л).

5. Пероксидне число

Принцип методу. Пероксидне число (ПЧ) це об'єм (мл) р-ну натрію тіосульфату ($Na_2S_2O_3$), що затрачається для титрування йоду, вивільненого при окисненні КІ пероксидними сполуками з 1 г жиру.

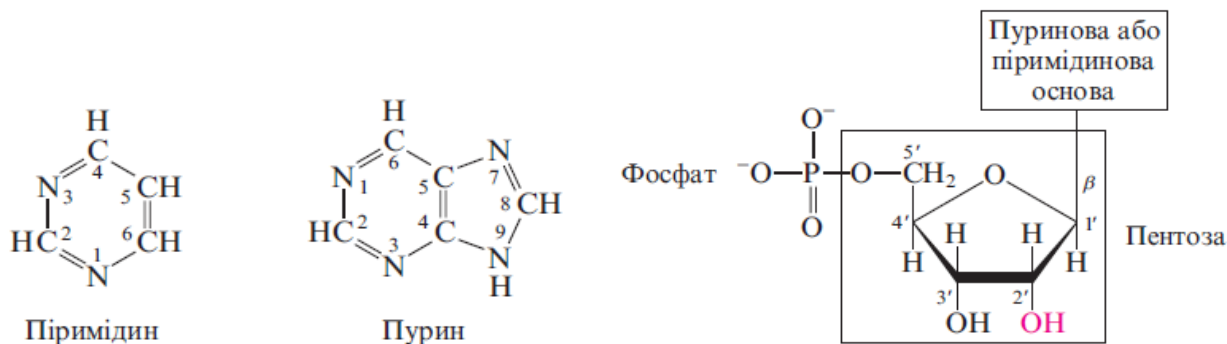
В основі цього методу аналізу лежить здатність пероксидних сполук жиру в кислому середовищі реагувати з КІ за наступною схемою:

Контрольні запитання та завдання до розділу «Ліпіди»

1. Дати визначення що таке Ліпіди?
2. Функції ліпідів:
3. Структурні компоненти ліпідів (гідрофобні та гідрофільні).
4. Класифікація ліпідів. Навести приклади.
5. Властивості ліпідів.
6. Хімічні параметри жирів, у яких галузях можна застосувати ці показники?
7. Охарактеризуйте ліпідні полімери рослин, наприклад, кутин, суберин та воски.
8. Написати структурні формули:
 - А) жирних кислот, спиртів та альдегідів (насичені та ненасичені). На прикладі пальмітинової, стеаринової, лінолевої та ліноленової кислот.
 - Б) триацилгліцеролів (гліцерол та його похідні).
 - В) фосфоліпідів (фосфатидилсерин, фосфатидилхолін, фосфатидилетаноламін, фосфатидова кислота).
 - Г) сфінголіпідів (сфінгомієлін, глюкоцереброзид).

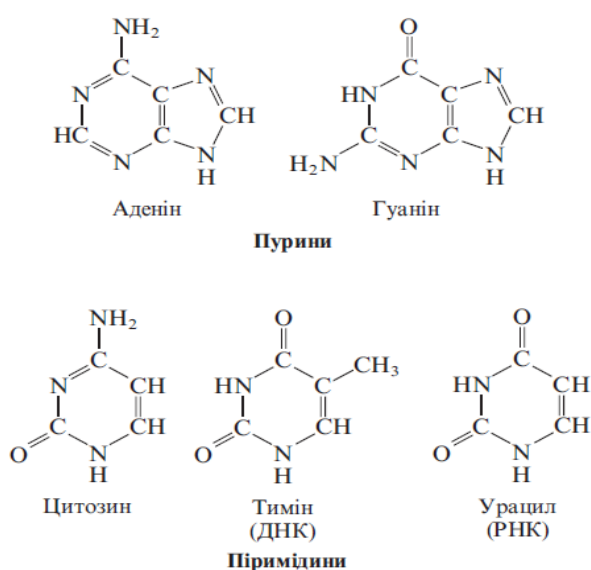
РОЗДІЛ 4. «НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ»

Нуклеїнові кислоти по своїй природі є біополімерами, які присутні в живих організмах та зберігають і передають спадкову інформацію. У природі існує два типи нуклеїнових кислот – це ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота) та РНК (рибонуклеїнова кислота). Мономерними одиницями нуклеїнових кислот є нуклеотиди, які складаються із трьох компонентів: 1) азотовмісна циклічна сполука – пуринові чи піримідинові основи, 2) вуглевод (пентози - дезоксирибоза або рибоза), 3) залишок фосфорної кислоти.



Будова нуклеотиду

Піримідинові основи - це похідні шестичленної гетероциклічної сполуки – піримідину. Цитозин (2-окси-6-амінопіримідин) входить до складу як ДНК, так і РНК; тимін (5-метил-2,6-диоксипіримідин) – до складу ДНК, а урацил (2,6-диоксипіримідин) – до складу РНК. Мінорні основи похідних піримідина – це метильовані (5-метилцитозин), сірковмісні (2- або 6-тіоурацил), гідровані (дигідроурацил).



Пуринові основи – це похідні гетероциклічної молекули піримідину, яка складається із піримідинового і імідазольного кілець, що конденсовані по 4-5 зв'язках. *Аденін* (6-амінопурин) та *гуанін* (2-аміно-6-оксипурин) входять до складу як ДНК, так і РНК. Природними похідними пурину є гіпоксантин, ксантин і сечова кислота. *Міnorні основи* пуринових основ – 1-метиладенін, 2-метиладенін, 7-метилгуанін, виявлено у тРНК і нуклеїнових кислотах вірусів.

Вуглеводний компонент - це альдопентози у фуранозній формі. До складу РНК входить β -D-рибоза, а до ДНК – β -D-2-дезоксирибоза, у якої ОН-група у положенні 2 атома карбону заміщена атомом гідрогену. Відсутність у 2 положенні ОН-групи у дезоксирибозі робить ДНК більш стійкою до лужної деградації.

Нуклеозиди складаються із залишка пуринової чи піримідинової основи, який зв'язаний через атом нітрогену із залишком D-рибози або 2-дезоксид-рибози у фуранозній формі. Відповідно нуклеозиди, які містять рибозу називаються аденозин, гуанозин, цитидин та уридин, а які містять дезоксирибозу - дезоксиаденозин, дезоксигуанозин, дезоксицитидин, тимідин.

У нуклеозидах атом карбону пентози у першому положенні (1 С) зв'язаний β -глікозидним зв'язком із атомом нітрогену піримідину у положенні 1 (1 N) або атомом пурину у положенні 9 (9 N).

Нуклеотиди – це фосфорнокислі ефіри нуклеозидів, в яких фосфорна кислота з'єднана складноефірним зв'язком з вільною ОН-групою пентози у п'ятому положенні атому карбону. Назви нуклеотидів залежать від назви основ: аденилова, гуанилова, тимідинова, цитидилова і уридилова кислоти. Нуклеотиди з'єднуються між собою за допомогою фосфодиефірних зв'язків, які утворюються між ОН-групою в 5 положенні пентози одного нуклеотиду та ОН-групою в 3 положенні пентози іншого нуклеотиду.

Структура ДНК. ДНК – це полінуклеотид, мономерними одиницями є чотири дезоксирибонуклеотиди (дАМФ, дГМФ, дЦМФ і дТМФ). Співвідношення і послідовність нуклеотидів у ДНК відрізняються в залежності від видів організмів.

Розрізняють три рівні структурної організації ДНК:

Первинна структура ДНК – це послідовність розміщення нуклеотидів у полінуклеотидному ланцюзі дезоксирибонуклеїнової кислоти. Нуклеотиди сполучаються фосфодиефірними зв'язками - формуються між гідроксильною

(ОН-) групою у 5 положенні атома карбону дезоксирибози одного нуклеотиду та гідроксильною групою в 3 положенні атома карбону пентози іншого нуклеотиду. Біологічні властивості нуклеїнових кислот визначаються якісним співвідношенням і послідовністю нуклеотидів вздовж полінуклеотидного ланцюга. Основні закономірності кількісного вмісту азотистих основ у ДНК (*правила Чаргаффа*):

- 1) Сума пуринових основ (А+Г) рівна сумі піримідинових основ (Т+Ц).
- 2) Кількість основ з аміногрупами (А+Ц) рівна кількості основ із кетогрупами (Г+Т).
- 3) Молярні співвідношення пуринових і піримідинових основ наближаються до 1: (А=Т і Г=Ц). Правило еквівалентності має важливе значення задля утворення подвійного ланцюга ДНК.

У ДНК існують послідовності нуклеотидів, які ініціюють (AUG - мет, GUC- вал) та термінують (UAA, UAG, UGA) синтез ДНК (реплікацію), синтез РНК (транскрипцію) і протеїнів (трансляцію), окрім того є і так звані беззмістовні послідовності нуклеотидів, що не містять якоїсь генетичної інформації, а відіграють роль регуляторних молекул.

Кодування генетичної інформації у ДНК забезпечується специфічною послідовністю її мономерів (нуклеотидів) і міститься не лише в хромосомах ядра, але і у нехромосомній ДНК. Наприклад, у бактерій до таких ДНК відносяться плазміди і деякі віруси, у клітинах еукаріот – це ДНК мітохондрій, хлоропластів та інших органоїдів клітин.

Вторинна структура ДНК – це просторова конфігурація полінуклеотидних ланцюгів, модель подвійної спіралі ДНК, коли два полінуклеотидних ланцюга ДНК закручуються вправо навколо однієї осі (утворюють *праву спіраль*).

Полінуклеотидні ланцюги поєднуються один з одним водневими зв'язками, що виникають між атомами гідрогену NH_2 - або ОН-груп пуринових і піримідинових основ. Між А і Т утворюється два Н-зв'язки, а між Г і Ц – три. Азотисті основи розміщуються всередині структури, а фосфодіефірний остов – ззовні.

Основи утворюють прямий кут з віссю спіралі і укладені у стопку один над одним, відстань між сусідніми основами складає 0,34 нм (період ідентичності). Крок спіралі рівний 3,4 нм і містить 10 пар основ, а діаметр - близько 2 нм. Антипаралельні ланцюги, коли полінуклеотидні ланцюги орієнтовані у протилежному напрямку, тому на одному кінці спіралі ланцюг

несе вільний 5'-фосфат, а інший – вільний 3'-ОН, відповідно кінці ланцюгів називають 5' та 3'.

Азотисті основи протилежно направлених ланцюгів перебувають у чітко фіксованому положенні (А-Т, Г-Ц), що забезпечує утворення між ними водневих зв'язків. Тому А-Т, Г-Ц - пари називають комплементарними парами основ, а повна послідовність одного із ланцюгів повністю комплементарна послідовності іншого ланцюга.

Для всіх подвійних спіралей нуклеїнових кислот і деяких двохланцюгових ділянок у одноланцюгових ДНК і РНК характерна гідрофобна взаємодія між сусідніми азотистими основами одного й того ж ланцюга. Така взаємодія призводить до своєрідної укладки основ у вигляді стопок (стекінг-взаємодії) і забезпечує формування вторинної структури нуклеїнових кислот. Іонні взаємодії можуть виникати між іонізованими фосфатними групами, які утворюють комплекси з оточуючими молекулами основних білків (гістонів або протамінів), поліамінів та лужноземельними металами (магній, кальцій).

Однак, головну роль у стабілізації упорядкованої структури ДНК відіграють специфічні спарювання азотистих основ та гідрофобні взаємодії між основами одного й того ж ланцюга.

Третинна структура ДНК - це укладена в просторі двохланцюгова спіраль ДНК у суперспіраль або кільцеву форму. Для «економії» простору витягнутий лінійний ланцюг дезоксирибонуклеїнової кислоти упаковується в структуру мінімального об'єму, що займає лише 1/5 клітини. Відомо, що довжина хромосоми людини ~8 см, при цьому вона вміщається у хромосомі, довжина якої лише 5 нм. Топоізомерази – це ферменти, які регулюють ступінь суперспіральності (збільшення або зменшення кількості витків).

Стабілізація третинної структури відбувається за участю ковалентних зв'язків залишків амінокислот, що формують білки нуклеопротейдного комплексу (хроматину).

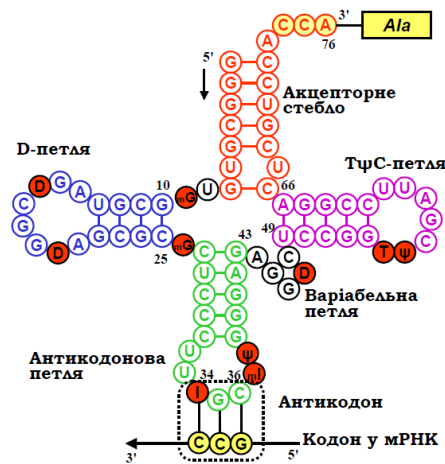
У більшості організмів ДНК існує у вигляді подвійної спіралі, однак зустрічаються і одноланцюгові ДНК (деякі бактеріофаги).

Структура і властивості РНК. За хімічним складом РНК аналогічна ДНК, однак замість дезоксирибози в РНК міститься рибоза, а замість тиміну – урацил. По структурі РНК, так як і ДНК, - це полімер, який складається із нуклеотидів. На відміну від ДНК молекула РНК складається із одного полінуклеотидного ланцюга, який скручений у вигляді спіралі, представляє

певну послідовність петель і шпильок, в яких азотисті основи утворюють комплементарні ГЦ- і АУ-пари.

У клітинах існує **три основних типи РНК**, які відрізняються локалізацією, розміром, нуклеотидним складом, структурними і функціональними властивостями – це рибосомна РНК (рРНК), транспортна РНК (тРНК), матрична або інформаційна РНК (мРНК або іРНК). Усі перераховані типи РНК виконують специфічну роль у процесі біосинтезу протеїна, при якому послідовність амінокислот визначається нуклеотидною послідовністю ДНК.

рРНК локалізовані у рибосомах, приймають участь при специфічній взаємодії з рибосомними протеїнами, що виконують функцію синтезу білків. рРНК мають форму вторинної структури у вигляді коротких двохспіральных ділянок, які з'єднані зігнутим одиноким ланцюгом (Y або V-подібна форма).



Будова молекули тРНК

тРНК реалізує кодову відповідність між амінокислотою і відповідним їй кодоном мРНК, тобто транлює інформацію, яка закодована в мРНК у специфічну послідовність амінокислот. Кожна молекула тРНК має постійну вторинну структуру, форму двохмірного листка конюшини і складається із спіральних ділянок, які утворені нуклеотидами одного й того ж ланцюга і розміщеними між ними одноланцюгових петель. Неспарені послідовності утворюють характерні структурні елементи (гілки): акцепторне стебло, псевдоуридилова або ТψЦ-петля, додаткова петля, антикодонова петля та дигідроуридилова петля (Д-петля).

мРНК містить генетичну інформацію про послідовність амінокислот для основних ферментів і інших білків, тобто служить матрицею для біосинтезу

поліпептидного ланцюга. Стабільність мРНК визначається модифікаціями її молекули. Так, 5'-кінцева послідовність мРНК вірусів і еукаріот є метильована або «заблокована», або кепована. На 3'-кінцях багатьох молекул мРНК еукаріотичних клітин є відносно довгі (50-200 нуклеотидів) послідовності аденілових нуклеотидів (полі-А). Вважають, що 5'-кепи і 3'-полі-А послідовності необхідно для стабілізації мРНК, або від дії нуклеаз, або для регуляції процесу трансляції.

Фізико-хімічні властивості нуклеїнових кислот.

1) Реакційна здатність.

- ДНК вступає у велику кількість хімічних реакцій, оскільки є досить сильною багатоосновною кислотою, яка повністю іонізується при рН 4 і вище. Іонізовані фосфатні групи, розміщені по периферії подвійної спіралі ДНК, у сукупності надають молекулі великий негативний заряд.
- ДНК утворює міцні стехіометричні комплекси (солеподібні сполуки) із протеїнами лужного характеру (протамінами і гістонами), які входять до складу хромосом еукаріотичних клітин.
- ДНК можуть утворювати комплекси з металами (полідентантні ліганди). Співвідношення металів до кількості мономерних одиниць у ДНК 1:150 (для РНК 1:50).

2) *Розміри* – нуклеїнові кислоти характеризуються таким параметрами, як молекулярна маса, довжина і число нуклеотидних пар. ДНК – високомолекулярна сполука з різною молекулярною масою. Низькомолекулярні ДНК містять декілька тисяч нуклеотидів, високомолекулярні досягають довжини ланцюга еукаріотичних хромосом. Довжина молекули ДНК у різних видів різна. Наприклад, у вірусу мавпи (SV-40) 0,00017 см, а у хромосомі людини – 8 см.

3) *Поглинання в УФ-області.* Як ДНК, так і РНК інтенсивно поглинають промені в УФ області спектра при 260-280 нм, що обумовлено наявністю у складі нуклеотидів азотистих основ зі спряженими подвійними зв'язками. Істинне поглинання ДНК в УФ-області завжди менше (на 40 %) порівняно із сумарним поглинанням мононуклеотидів, які входять до складу ДНК (явище гіпохромізму). Гіпохромний ефект є важливим фактором при вивченні хімії ДНК для якісної та кількісної оцінки процесів орієнтації / дезорієнтації (денатурація, ренатурація, утворення гібридів ДНК - РНК). При порушенні впорядкованої двоспиральної комплементарної конформації ДНК відбувається

збільшення поглинання світла в УФ-області з максимумом при 260 нм, так званий ефект гіперхромізму.

4) *Оптичне обертання*. Нативна ДНК характеризується позитивним обертанням площини поляризації світла. Оптична активність ДНК обумовлена її вторинною структурою – наявністю спіральних ланцюгів зі спіральним розподілом полярних груп. При дезорганізації вторинної структури (денатурація) оптична активність ДНК зникає.

5) *В'язкість*. Пружність двоспіральної молекули ДНК у поєднанні з великою довжиною (відносно діаметра) визначає високу в'язкість водних розчинів ДНК. Цей параметр знаходиться у прямій залежності від форми, молекулярної маси і нативної структури. Порушення водневих зв'язків у подвійній спіралі ДНК призводить до зменшення в'язкості.

6) *Щільність*. Для визначення щільності ДНК використовують метод рівноважного центрифугування при високих швидкостях із концентрованими розчинами хлористого і сіркокислого цезію, в яких установлюється градієнт щільності. За таких умов ДНК переміщається у ту частину пробірки, де її щільність буде відповідати щільності сольового розчину. Така щільність називається плаваючою і знаходиться у межах 1,69-1,73.

7) *Денатурація* – процес, при якому водневі зв'язки між основами розриваються і комплементарні пари ДНК відокремлюються одна від одної. При цьому двохспіральна ДНК повністю або частково розділяється на окремі ланцюги. Цей процес відбувається під дією кислот, основ, при нагріванні, зміні рН та супроводжується підвищенням поглинання в УФ - області спектру, зменшенням в'язкості, збільшенням щільності ДНК.

Процес термічної денатурації називається плавленням. Температура плавлення – це температура, при якій приріст поглинання складає половину максимального і пошкоджується половина спіральної структури, відбувається денатурація. Для кожного виду ДНК характерна своя температура денатурації (це значні величини 85-95 °C).

Ренатурація. Денатурована ДНК знову може відновитися у двоспіральну нативну конформацію. Зворотній процес, при якому комплементарні ланцюги знову об'єднуються за рахунок правильних водневих зв'язків і подвійна спіраль відновлюється. Швидкість ренатурації тим вища, чим більша однорідність ДНК за нуклеотидним складом.

Лабораторна робота № 9

«Якісні реакції на основні складові (дезоксирибонуклеопротейдів)»

Мета роботи. Приготувати гідролізат (дезоксирибонуклеопротейдів та провести ідентифікацію основних складових нуклеотидів, використовуючи якісні реакції.

1. Виділення нуклеопротейдів.

Принцип методу. Дезоксирибонуклеопротейди добре розчиняються в лугах і сольових розчинах та осаджуються після нейтралізації розчинів або розведення розчинів солей. Рибонуклеопротейди також добре розчиняються в лужних розчинах та осаджуються в ізоелектричній точці неорганічними кислотами. Кінцевими продуктами при гідролізі нуклеїнових кислот є: вуглеводи (пентози - дезоксирибоза та рибоза), азотисті основи (пуринові та піримідинові) та залишок фосфорної кислоти.

Матеріали та реактиви. Сухі пекарські дріжджі, 0,4 % і 0,02 моль/л р-н їдкого натрію, 5 % р-н оцтової кислоти, 10 % р-н H_2SO_4 .

Обладнання. Порцелянова ступка з товкачиком, центрифужні та хімічні пробірки, штатив, центрифуга, колба із круглим дном, пробка із скляною трубкою, лійки, фільтрувальний папір, водяна баня.

Хід роботи. Для приготування гідролізату дріжджів №1 10 г сухих дріжджів старанно розтирають у порцеляновій ступці впродовж 15 хв із 50 мл 0,4% р-ну NaOH, який додають невеликими порціями. Отриманий розчин слід процентрифугувати при 2000 g впродовж 10 хв. Надосадову рідину відділяють від осаду, помішуючи доливають до неї 15-20 мл розчину оцтової кислоти і повторно центрифугують за тих же умов. Осад розчиняють у 15-20 мл розчину NaOH (0,02 моль/л).

Отриманий таким чином гідролізат, що містить нуклеопротейди, використовують у якісних реакціях на вуглеводи, зокрема, пентози.

Для приготування гідролізату нуклеопротейдів дріжджів № 2 необхідно в круглодонну колбу помістити свіжі хлібопекарські дріжджі - 1 г, 20 мл розчину сірчаної кислоти та 20 мл дистильованої води. Після цього колбу слід закрити корком із скляною трубкою довжиною 20-30 см (як зворотній холодильник) та кип'ятити впродовж 35 хвилин на водяній бані. Після чого рідину необхідно охолодити і довести її об'єм до початкового дистильованою водою і відфільтрувати.

Гідролізат, який отримали таким чином, використовується для якісних реакцій на білки, пуринові основи та залишок фосфорної кислоти.

2. Виявлення білків у гідролізаті дріжджів (за біуретовою реакцією).

Принцип реакції. Протеїни в лужному середовищі із CuSO_4 формують складні комплекси синьо-фіолетового забарвлення різної інтенсивності, що знаходиться в прямій залежності від кількості пептидних зв'язків у молекулі протеїну.

Реактиви і матеріали. Дріжджовий гідролізат № 2, 10 % р-н NaOH, 1 % р-н CuSO_4 .

Обладнання. Хімічні пробірки, скляні палички, штатив, піпетки, крапельниця, універсальний індикатор.

Хід роботи: Відміряти скляною піпеткою 0,5 мл гідролізату і внести його в пробірку. Нейтралізувати розчином їдкого натрію (за універсальним індикатором), додати 0,5 мл р-ну NaOH і 2-3 краплі р-ну CuSO_4 та обережно перемішати. Синьо-фіолетовий колір розчину є свідченням наявності білків у нуклеопротеїдах гідролізату.

3. Виділення дезоксирибонуклеїнової кислоти із рослинного матеріалу.

Мета роботи: виділити дезоксирибонуклеїнову кислоту із рослинних клітин та візуалізувати її присутність в розчині.

Принцип методу: Виділення сумарної ДНК за класичною методикою є процесом, що включає наступні 4 етапи: відбір і зберігання рослинного матеріалу; його руйнування задля вивільнення клітинного вмісту; видалення інших компонентів клітини, за виключенням ДНК; отримання максимально концентрованого препарату дезоксирибонуклеїнової кислоти.

Матеріали та реактиви. Натрію хлорид х.ч. (NaCl), натрію гідрокарбонат х.ч. (NaHCO_3), дистильована вода, детергент (засіб для миття посуду, мило), 95 % етиловий спирт, банан.

Обладнання. Ступка з товкачиком або гомогенізатор лабораторний, лійки, колби, склянки, пробірки скляні, папір фільтрувальний, ваги.

Хід роботи

Першим етапом роботи є приготування буферного розчину, тобто того розчину який здатний зберігати стале рН при додаванні до нього певної кількості кислоти або лугу чи при розведенні водою. Для приготувати в колбу

внести 120 мл дистильованої води, додати 1,5 г натрію хлориду і 5 г гідрокарбонату натрію. До отриманого розчину додати 50 мл детергенту і помішувати впродовж 3 хвилин.

Другим етапом є підготовка рослинного матеріалу для отримання ДНК. Банан очистити від шкірки, взяти наважку 20-30 г і ретельно гомогенізувати в ступці чи гомогенізатором. До отриманої маси додати холодний буферний розчин з детергентом і обережно перемішувати впродовж 5 хвилин (під впливом детергенту руйнуються мембрани клітин і ядер та в розчин вивільняється ДНК).

Після цього з розчину слід видалити залишки клітинних стінок: профільтрувати розчин через паперовий фільтр. Відібрати 5-7 мл отриманого фільтрату та помістити в пробірку, після чого по стінці пробірки, нахиливши її під гострим кутом, обережно нашарувати охолоджений в морозилці 95 % етиловий спирт в об'ємі 3-4 мл. На межі розподілу двох рідин спостерігається утворення білих ниток ДНК, обумовлене тим, що при взаємодії з етиловим спиртом, на відміну від інших клітинних компонентів, тільки дезоксирибонуклеїнова кислота швидко випадає в осад, а інші залишаються в водній фазі.

Висновок:

4. Виявлення вуглеводів.

А. Реакція із орцином (реакція Біаля) на пентози.

Принцип методу. За наявності в розчині концентрованої хлоридної кислоти, рибози при нагріванні утворюють фурфурол, який взаємодіючи з орцином за наявності ферум (III) хлориду, набуває синьо-зеленого кольору, а з флорглюцином – вишнево-червоного.

Реактиви і матеріали. Гідролізат нуклеопротейдів дріжджів №1, хлоридна кислота концентрована, кристалічний орцин, 0,1% р-н флорглюцину.

Обладнання. Хімічні пробірки, скляні палички, штатив, баня водяна.

Хід роботи. У дві пробірки внести гідролізат дріжджів № 1 в об'ємі 1 мл. У першу додати 1 мл HCl і кілька кристалів орцину, у другу – 1,5 мл р-ну флорглюцину. Вміст необхідно ретельно перемішати скляними паличками. Першу пробірку впродовж 6 хв слід кип'ятити на водяній бані, а другу пробірку лише нагріти до кипіння. Вміст пробірок охолодити та відмітити зміну кольору в 1 пробірці із орцином (синьо-зелений) і в 2 пробірці із флорглюцином – вишнево-червоний.

Висновок:

В. Якісна реакція із дифеніламіном на дезоксирибозу.

Принцип методу. Нагрівання дезоксирибоз в кислому середовищі приводить до формування сполук (оксилевулінового альдегіду, фурфурілового спирту тощо), що при конденсації з дифеніламіном утворюють сполуки синього забарвлення.

Матеріали та реактиви. Гідролізат нуклеопротейдів дріжджів №1, розчин дифеніламіну (1 г дифеніламіну розчиняють у суміші концентрованої сірчаної кислоти (2, 75 мг) і льодяної оцтової кислоти (100 ml)).

Обладнання. Пробірки хімічні, штатив, піпетки.

Хід роботи. Внести в пробірку гідролізат дріжджів № 1 близько 2 ml і додати 2 ml дифеніламінового реактиву. Ретельно перемішати вміст пробірок і кип'ятити на водяній бані впродовж 15 хвилин. Якщо у гідролізаті нуклеопротейдів міститься дезоксирибоза то вміст пробірки набуде синього забарвлення, а якщо рибоза – то зеленого.

Висновок:

5. Виявлення пуринових основ.

Принцип методу. За наявності в реакційному середовищі солей аргентуму, пуринові основи формують з ними комплексні сполуки.

Реактиви і матеріали. Гідролізат дріжджів № 2, р-н NH_3 концентрований, 1% р-н AgNO_3 .

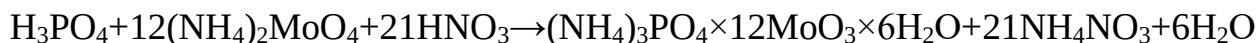
Обладнання. Хімічні пробірки, скляні палички, штатив, універсальний індикатор.

Хід роботи. До 1 мл гідролізату дріжджів № 2 додають концентрований р-н NH_3 , доки рН не стане лужним (за універсальним індикатором), і 0,5 мл р-ну AgNO_3 . Впродовж 2-4 хвилин формується осад, утворений срібними солями пуринових основ.

Висновок:

6. Виявлення фосфорної кислоти (молібденова реакція).

Принцип реакції. Фосфорна кислота здатна взаємодіяти із молібденовим реактивом з утворенням фосфорної солі молібдату амонію (жовте забарвлення):



Реактиви і матеріали. Гідролізат нуклеопротеїдів дріжджів № 2, молібденовий реактив (*пропис*: молібдат амонію (7,5 г) розчинити в 100 мл води та додати 100 мл 32 % р-ну нітратної кислоти з відносною щільністю 1,2, повне розчинення молібдату амонію відбудеться після додавання нітратної кислоти).

Обладнання. Пробірки із штативом, піпетки, водяна баня.

Хід роботи. До 1 мл гідролізату дріжджів додають 1 мл молібденового реактиву та кип'яють. За присутності фосфорної кислоти у гідролізаті нуклеопротеїдів дріжджів рідина в пробірці забарвлюється в лимонно-жовтий колір, а при охолодженні випадає кристалічний осад жовтого кольору.

Висновок:

Лабораторна робота № 10

«Спектрофотометричне визначення сумарного вмісту нуклеїнових кислот за методом Спіріна».

Принцип методу. Кількісне визначення НК проводять з використанням методів, які базуються на вимірюванні світлопоглинання чи високоспецифічних реакціях, характерних для окремих компонентів нуклеїнових кислот. Максимальне поглинання світла для нуклеїнових кислот спостерігається при 260 нм, що обумовлено азотистими основами в їх складі. Всі вони володіють однаковим максимумом абсорбції, окрім цитозину, найбільше світлопоглинання якого знаходиться при 270 нм. Проте природна дезоксирибонуклеїнова кислота має світлопоглинання суттєво нижче (приблизно на 40-50 %), порівняно зі складовими її нуклеотидів. Це пов'язано з «гіпохромним ефектом» обумовленим наявністю подвійної спіралі в природній ДНК, таким самим ефектом володіє й РНК, яка має петлі.

Зважаючи на вказані особливості, Спіріним А.С. був розроблений метод, що базується на реєстрації світлопоглинання гідролікатів НК за двох довжин хвиль (270 і 290 нм), оскільки саме в таких умовах нівелюється їх відмінність у складі нуклеотидів.

Реактиви і матеріали. Рослинна тканина (0,1–0,2 г), охолоджений р-н HClO_4 (0,2 Н і 0,5 Н), льод.

Обладнання. Скляні піпетки, ваги, пробірки конічні, лабораторна центрифуга (3000 g), водяна баня, годинник, спектрофотометр, кювети.

Хід роботи.

1. Гомогенізувати рослинну тканину і відважити (0,1–0,2 г). Помістити наважку в конічну пробірку та внести 5–10 мл 0,2 Н р-ну HClO_4 . Перемішати гомогенат з розчином і відокремити осад методом центрифугування (3000 g впродовж 10 хв).

2. Надосад відібрати, а до осаду додати 5–10 мл 0,5 Н р-ну хлорної кислоти, закрити пробірку пробкою з повітряним холодильником та нагрівати у киплячій водяній бані впродовж 30 хв (відбувається кількісна екстракція НК із рослинного матеріалу та її кислотний гідроліз на окремі фрагменти).

3. Гідролізат охолодити і відцентрифугувати, надосад відділити в окрему колбу, а з осадом провести повторну екстракцію 0,5 Н HClO_4 . Гідролізати об'єднати та виміряти з допомогою спектрофотометра світлопоглинання при довжинах хвиль (270 та 290 нм) проти контролю, яким є 0,5 Н розчин HClO_4 . При потребі гідролізат розвести таким же розчином. Вміст фосфору НК з розрахунку на 1 мл гідролізату обчислити по формулі:

$$C_{\text{Фн}} = \frac{E_{270} - E_{290}}{0,19},$$

де $C_{\text{Фн}}$ – кількість мкг фосфору в НК,

0,19 – показник екстинкції, який обчислюється різницею $E_{270} - E_{290}$, який властивий гідролізату НК, що містить нуклеїновий фосфор в кількості 1 мкг в 1 мл розчину.

При розрахунках враховувати загальний об'єм гідролізату і його розведення. Щоб перерахувати нуклеїновий фосфор (мкг) на кількість НК використати середній перерахунковий коефіцієнт - 10,3.

Висновок:

Контрольні запитання та завдання до розділу «Нуклеїнові кислоти»

1. Що таке нуклеїнові кислоти? Навести приклади.
2. Хімічний склад нуклеїнових кислот.
3. Чим відрізняється нуклеотид від нуклеозиду?
4. Функції нуклеїнових кислот.
5. Характерні особливості структурного складу та будови ДНК.
6. Характерні особливості структурного складу та будови РНК.
7. Фізико-хімічні властивості нуклеїнових кислот.
8. Рівні структурної організації ДНК та зв'язки, які приймають участь у стабілізації.
9. Правило комплементарності азотистих основ у складі ДНК (правило Чаргаффа).
10. Де міститься генетична інформація у клітині?
11. Будова (структурно-функціональний стан) хромосоми.
12. Поняття геному.
13. Структура і будова РНК. Типи РНК: інформаційна, транспортна, рибосомальна.
14. Написати структурні формули:
 - А) пуринових (аденін, гуанін) та піримідинових (цитозин, тимін, урацил) основ.
 - Б) нуклеотидів, які входять до складу ДНК (дАМФ, дГМФ, дЦМФ і дТМФ).
 - В) нуклеотидів, які входять до складу РНК (АМФ, ГМФ, ЦМФ і УМФ).

РОЗДІЛ 5. «ЕНЗИМИ»

Ензими або ферменти за своєю біологічною функцією є каталізаторами протеїнової природи, що містяться в живих клітинах і прискорюють різні хімічні перетворення в них та координують біохімічні реакції метаболізму. Насьогодні відомо, що немає жодного процесу в організмах, який би відбувався без участі ензимів. Ензими направлено каталізують біохімічні реакції у клітині та регулюють обмін речовин.

Термін *фермент* має походження від латинського слова *fermentation*, що означає кипіння або бродіння. Вперше вживання слова *фермент* було запропоновано голландським вченим 17 століття Я. Б. Ван-Гельмонтом, який застосовував його для позначення речовин, що перетворюють виноградний сік у вино. Цей процес супроводжувався появою бульбашок газу, які і нагадували вченому кипіння. Саме тому щодо самого процесу ним було використано термін «*ферментація*», а щодо речовин, які його зумовлюють – термін «*ферменти*». Пізніше почали використовувати інший термін – *ензим* (з грецької *en zyme* – у дріжджах). Згідно із сучасною номенклатурою доцільно використовувати термін ензим, а не фермент.

За хімічною природою ензими – це протеїни, за винятком рибозимів (пре-іРНК). Головним доказом протеїнової природи ензиму є втрата каталітичної активності при дії протеолітичних ензимів (трипсину або пепсину). Структурна організація ензимів аналогічна протеїнам. Вони мають чотири рівні організації: первинну, вторинну, третинну і четвертинну структури. Ензими з четвертинною структурою, а їх більшість, складаються з протомерів (субодиниць).

Ензими, як і протеїни, поділяються на прості та складні. Прості ензими, або однокомпонентні, у своєму складі містять лише амінокислоти, тоді як складні ензими, або двохкомпонентні, містять протеїнові та непротеїнові (простетичні) компоненти.

Ензими мають такі ж *фізико-хімічні властивості*, як і протеїни, зокрема:

1. Високу молекулярну масу.
2. Здатність розщеплюватись під час гідролізу до амінокислот.
3. Амфотерність.
4. Формування колоїдних розчинів.
5. Чутливість до дії високої температури, солей важких металів.
6. Можуть виступати антигенами.
7. Здатні фракціонувати.

Будова ензимів. Прості ензими: білки, які складаються з послідовності амінокислот. Складні ензими: білкова (термолабільна) частина ензиму називається апоензим (апофермент), а термостабільна частина – коензим (кофермент), які при поєднанні утворюють власне ензим, що має назву холоензим (холофермент).

Механізм дії ензимів. Активний центр ензиму – це ділянка його молекули, що з'єднується із субстратом, а також відповідає за формування ензим-субстратного (ES) комплексу та перетворення субстрату. В активному центрі умовно виділяють каталітичну ділянку (здійснює каталітичне перетворення субстрату), і контактну або адсорбційну (відбувається приєднання субстрату до ензиму).

Розрізняють також алостеричні центри ензиму – це ті ділянки ензимів, на які впливають різні регуляторні чинники (ефектори), зокрема активатори та інгібітори, за рахунок чого змінюється каталітична активність.

Специфічність дії ензимів. Протеїнова природа ензимів обумовлює їх високу специфічність. Ця властивість відрізняє їх від інших каталізаторів. Кожен ензим діє на певний субстрат або групу субстратів, які подібні за своєю будовою. Розрізняють абсолютну, абсолютну групову, відносну групову і оптичну або стереохімічну специфічність.

Швидкість ензиматичної реакції залежить також від показників рН та температури середовища. При підвищенні температури середовища збільшується швидкість ензиматичних реакцій, однак при високих значеннях t (вище $60\text{ }^{\circ}\text{C}$) відбувається денатурація ензиму і, як наслідок, швидкість ензиматичної реакції знижується. Оптимальні значення температури для більшості ензимів коливаються у межах від $20\text{--}40\text{ }^{\circ}\text{C}$. При низьких значеннях температури (нижче оптимальної) активність ензимів інгібується, але без руйнування структури ензиму.

Максимальна дія ензиму проявляється при певному значенні рН середовища (рН-оптимум) та знаходиться в межах рН 6-8. Незначні зміни рН знижують активність ензиму або зовсім гальмують, тоді як значні зміни рН призводять до денатурації ензиматичних протеїнів.

Класифікація та номенклатура ензимів.

Насьогодні класифіковано понад 3500 ензимів, встановлена їх природа, для деяких і структура, для багатьох – існування різних молекулярних форм (ізоензимів).

Класифікація ензимів заснована і періодично оновлюється Комісією з ензимів (Enzyme commission), звідси термін «EC number», прийнятий в

англомовній літературі) при Міжнародній спільці біохімії та молекулярної біології.

За «Номенклатурою ферментів» 1972 р., виданою Міжнародною біохімічною спілкою, до використання рекомендовано два типи назв ензимів - систематичну, що ідентифікує ензим і позначає його дію, а також робочу (тривіальну) – коротка назва, якою зручно користуватись в повсякденній роботі. Кожному ензиму привласнюється чотиризначний шифр (код). Код ензиму – класифікаційний номер ензиму в міжнародній ієрархічній класифікації. Ухвалена система класифікує ензими за групами та індексує індивідуальні ензими, що важливо для стандартизації досліджень. Шифр КФ має 4 цифри, які відокремлені крапками з конкретним змістом: перша цифра позначає клас ензиму, друга - підклас, третя - підпідклас, четверта - порядковий номер у підпідкласі. Обов'язково перед цифровим шифром вживаються букви КФ - класифікація ферментів.

Розшифровка шифру алкогольдегідрогенази (КФ.1.1.1.1) є наступною: 1 (перша) – оксидоредуктази (клас), 1 (друга) –дегідрогенази (підклас), 1 (третя) - анаеробна дегідрогеназа (підпідклас) (в якості акцептора виступає НАДФ⁺ чи НАД), 1 (четверта) - власне ензим алкогольдегідрогеназа.

Класифікація ензимів враховує реакційну та субстратну специфічності ензимів, а не їхню протеїнову структуру. Шифр КФ визначає хімічну реакцію, що каталізується ензимом. Тому аналогічні ензими (іноді десятки) з різних організмів мають один код, незважаючи на структурні відмінності.

До недавнього часу, згідно сучасної міжнародної наукової класифікації, ензими по типу каталізованої ними реакції поділялися на 6 класів:

1. **Оксидоредуктази** каталізують окисно-відновні реакції.
2. **Трансферази** каталізують реакції міжмолекулярного перенесення різних хімічних груп і залишків.
3. **Гідролази** каталізують реакції гідролітичного розщеплення внутрішньомолекулярних зв'язків.
4. **Ліази** каталізують реакції приєднання або відщеплення груп по подвійним зв'язкам.
5. **Ізомерази** каталізують реакції ізомеризації.
6. **Лігази** (синтетази) каталізують реакції утворення речовин шляхом поєднання 2 молекул з використанням енергії АТФ чи подібного нуклеозидтрифосфату.

Проте стало очевидним, що жоден з них не може описати важливу групу ензимів, що каталізують рух йонів або молекул через мембрани або їх розподіл

усередині мембран. Деякі з них включають гідроліз АТФ і раніше класифікувалися як АТФази (КФ 3.6.3.-), хоча гідролітична реакція не є їхньою основною функцією. Насьогодні ці ензими віднесені до нового **7 класу транслоказ ЄС** (КФ 7).

Міжнародна одиниця системи SI, якою вимірюють *активність ензимів* це катал (кат). Один катал це така активність ензиму, яка каталізує перетворення 1 моля субстрату в продукт за 1 с (кат=моль/с). Також для вираження активності ензимів використовують молекулярну і питому активність. Питомою активністю ферментів називають число одиниць ензиматичної активності, яке властиве 1 мг протеїну. Молярна активність – кількість молекул субстрату, які перетворюються 1 молекулою ферменту впродовж 1 хв.

При вивченні структури ензимів використовують наступні методи: хімічна модифікація, спектроскопія, рентгенівський структурний аналіз ядерного магнітного резонансу, електронний парамагнітний резонанс тощо. Цікаві результати отримано з використанням методу сайт-специфічного мутагенезу, при якому проводять спрямовану заміну амінокислот в молекулі протеїну методами генної інженерії.

З метою дослідження активності ензимів та їх дії користуються якісними чи кількісними реакціями із застосуванням субстрату (речовини, на перетворення якої впливає ензим) (субстратів), чи реєстрацією продуктів реакції, утворених під впливом ензиму.

Щоб отримати ензими застосовують методики отримання витяжок із різних частин рослини, де вони мають розчинену форму. Після виділення проводять очищення ензиму з використанням фракціонування екстракту осадженням органічними розчинниками чи нейтральними солями, розділення методами гель-фільтрації, іонообмінної хроматографії тощо. Поєднання різних методів дозволяє очистити ензими та навіть отримати їх в кристалічному стані.

Лабораторна робота № 11 **«Вивчення каталітичної активності амілази»**

Мета роботи. Вивчення каталітичної дії амілази.

Принцип методу. Амілаза - це ензим, що впливає на гідроліз α -глюкозидного зв'язку α -1-4-крохмалю та глікогену до декстринів, які є проміжними продуктами. Крохмаль утворює при взаємодії з I_2 сполуки, що

мають синє забарвлення, амілодекстрин – фіолетове, еритродекстрин – червоно-буре, ахродекстрин – жовте.

Реактиви і матеріали. 0,2 % р-н крохмалю, 0,1 % р-н йоду в 0,2 % р-ні калію йодиду, р-н амілази слини (див. нижче).

Обладнання. Штатив із пробірками, колби, крапельниці, мірні піпетки, лійки, фільтрувальний папір.

Хід роботи. Перед проведенням дослідів необхідно приготувати препарат ензиму слини - амілази. Задля цього здійснюються певні операції в наступній послідовності:

- а) сполоснути ротову порожнину водою для видалення залишків їжі;
- б) набрати в чистий посуд 50 мл дистильованої води та ополіскувати нею рот впродовж 3-5 хвилин, думаючи про смачну їжу;
- в) воду після ополіскування перенести в чистий скляний стакан – ця рідина містить амілазу слини;
- г) профільтрувати зібрану рідину через фільтрувальний папір у чисту склянку.

У дві пробірки налити по 5 ml крохмального клейстеру, в першу (дослідну) додати 0,5 ml отриманого р-ну слини, в якому міститься амілаза, в другу (контрольну) – 0,5 ml води. Вміст обох пробірок необхідно перемішати і залишити за кімнатної температури на 15 хв. Після цього в кожную пробірку внести 5 крапель р-ну I_2 . У першій пробірці, де присутня амілаза слини, приблизно через 1 год спостерігають знебарвлення розчину, а в другій (амілаза відсутня) - колір залишається синьо-фіолетовим і не змінюється з часом.

Висновок.

Лабораторна робота № 12 **«Визначення пероксидазної активності».**

Мета роботи. Дослідити пероксидазну активність картопляного соку, що характеризується зміною забарвлення при окисненні поліфенолів у хінони:



Матеріали та реактиви. Картопля, 1 % р-н гідрохінону, 3 % р-н пероксиду водню.

Обладнання. Скальпель, терка, марля, лійка, конічна колба V=50 ml, штатив з пробірками, скляні мірні піпетки.

Хід роботи. Використовуючи терку подрібнити очищену картоплину (достатньо невеликої кількості). Віджати крізь марлю сік та зібрати його в колбу. Взяти 4 пробірки і внести в кожну 1 % р-н гідрохінону в кількості 5 ml. До першої додати 1 ml 3 % р-ну H₂O₂ і 1 ml соку картоплі; до другої - 1 ml 3 % р-ну H₂O₂; до третьої – 1 ml соку картоплі; до четвертої - 1 ml соку картоплі, який був попередньо прокип'ячений впродовж 1 хвилини з 1 ml H₂O₂.

Відмітити зміну забарвлення суміші в кожній з пробірок.

Результати внести у таблицю:

№ пробірки	Склад суміші в пробірці			Забарвлення розчину в пробірках
	Сік картоплі, 1 мл	H ₂ O ₂ , 1 мл	Гідрохінон, 5 мл	
1	+	+	+	
2 (К)	-	+	+	
3	+	-	+	
4(t, 100 ⁰ C)	+	+	+	

Окиснення гідрохінону приводить до утворення хінону, при цьому відмічається зміна кольору розчину на бурий. При контакті соку картоплі з повітрям також можна побачити слабе побуріння картопляного соку, навіть коли в нього не додавали гідрохінон і пероксид водню, що відбувається під

впливом поліфенолоксидази, яка окиснює поліфеноли картоплі з участю молекулярного кисню.

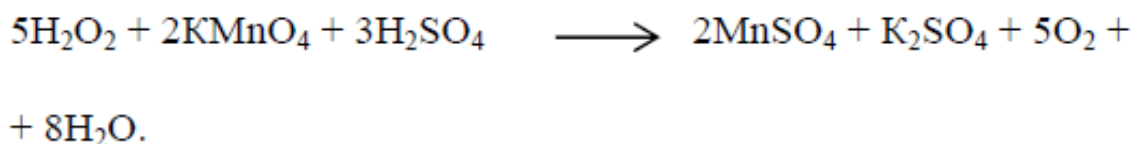
Таку ж реакцію можна відтворити і з іншими рослинами, зокрема плодами чи листками деревних рослин та порівняти подібність результатів.

Висновок.

Лабораторна робота № 13
«Визначення каталазної активності у тканинах рослин
метод Баха О.М. і Опаріна А.І.»

Мета роботи. Визначити каталазну активність у тканинах рослин.

Каталаза (К.Ф. 1.11.1.6) – ензим класу оксидоредуктаз, що здійснює каталіз розкладу пероксиду водню до води й молекулярного кисню. Незначною мірою вона також сприяє окисненню деяких спиртів та різних сполук пероксидами. Цей ензим є досить поширеним у рослинних тканинах і є одним із найактивніших. Активність каталази визначається за кількістю H_2O_2 , який розклався під дією цього ензиму. У реакційну суміш вносять надлишок пероксиду водню. У контролі каталазу дезактивують сірчаною кислотою, у дослідній пробі частина внесеного H_2O_2 розкладається за дії ензиму, а ту частину, що не розклалася, визначають шляхом титрування розчином KMnO_4 в закисленому середовищі. При цьому відбувається наступна реакція:



Об'єм H_2O_2 , який розклався за дії ензиму у відповідності до приведеної реакції, є результатом обчислення різниці дослідного і контрольного титрування.

Реактиви і обладнання. Ваги, годинник, термостат, центрифуга лабораторна, фарфорові ступки із товчачиком, циліндри мірні, центрифужні пробірки, хімічні стакани $V=50\text{ ml}$, колби конічні $V=200\text{ ml}$, бюретки, мірні скляні піпетки, шпателі, спиртовий термометр, 0,1 н р-н пероксиду водню (H_2O_2), 10 % р-н сульфатної кислоти, 0,1 н р-н калію перманганату (KMnO_4),

кальцію карбонат, дистильована вода, універсальний індикатор, пісок кварцовий, рослинний матеріал.

Хід роботи:

Зважити 2-3 г свіжого зразку рослинного походження (картоплі, моркви, капусти, цибулі, тощо) та розтерти його в ступці з кварцовим піском. Якщо рН зразка менше 7,0 (кисле середовище), у ступку слід внести кальцію карбонат (на кінчику шпателя). Під час розтирання до рослинного матеріалу влити рівно 40 мл води, яку слід додавати маленькими порціями. Отриману масу з ступки перемістити кількісно в центрифужні пробірки, при цьому стінки ступки змити 10 мл дистильованої води, і центрифугувати при 3-5 тис. об/хв 10-15 хв. Потім надосадову рідину з центрифужних пробірок перелити в хімічний стакан.

Задля дослідження активності ензиму із стакана взяти дві проби по 20 ml ферментної витяжки і помістити їх у конічні колби на 200 ml. В одну з колб, яка служить контролем, внести 5 ml розчину сульфатної кислоти, яка інактивує фермент. Після цього в обидві ємності відміряти по 20 ml розчину H_2O_2 . Реакцію розкладання H_2O_2 проводять за температури 20 °C впродовж 30 хв. Після додавання кожного реактиву вміст колб старанно розмішати. Через 30 хв фермент у досліджуваній колбі інактивувати додаванням у неї 5 мл розчину сірчаної кислоти. Після цього надлишок H_2O_2 в колбах відтитрувати 0,1 н калію перманганатом до появи рожевого забарвлення, яке не зникає впродовж 1 хв.

Каталазна активність (Е) виражається у мікромолях H_2O_2 , який піддався розкладу під впливом ензиму впродовж 1 хв в розрахунку на 1 г зразку. Розрахунок провести за формулою

$$E = \frac{(V_k - V_e) \cdot T \cdot 50 \cdot 50}{m \cdot 20 \cdot 30},$$

де V_k – кількість мілілітрів 0,1 н р-ну KMnO_4 , що витрачений для титрування контрольного зразка; V_e – кількість мілілітрів 0,1 н р-ну KMnO_4 , що витрачений для титрування досліджуваного зразка; T – поправка на титр 0,1 н р-ну калію перманганату; 50 – коефіцієнт, що застосовується для переведення на мікромолі H_2O_2 ; 50 – кількість мілілітрів взятого екстракту; 20 – кількість мілілітрів ферментного розчину, взятого для аналізу; 30 – час ферментативної реакції, хв.; m – маса рослинного зразку, взятого для аналізу, г.

Висновок

Лабораторна робота № 14

«Визначення тирозиназної активності у рослинних зразках»

Мета роботи. Визначити тирозиназну активність у рослинних зразках.

Принцип методу. Тирозиназа (монофенольна монооксигеназа (К.Ф. 1.14.18.1)) купрумвмісний ензим, який локалізований у мембрані та каталізує синтез меланіну й інших пігментів з їхнього попередника тирозину. Тирозиназа широко поширена у багатьох живих організмах, зокрема і в рослинах. Її виявлено у цукрових буряках, зерні злаків, картоплі, більшості плодових культур та ін. Активну форму тирозинази виявляють в деяких сортах пшеничного борошна і зерні жита. Впливом тирозинази частково обумовлене темне забарвлення житнього хліба та потемніння макаронних виробів при висушуванні.

Необхідною умовою дії тирозинази є присутність вільного кисню. Під впливом тирозинази окиснюються тирозин, феноли, пірокатехін, крезолі, пірогалол й інші сполуки. Каталітична дія тирозинази на тирозин реалізується двостадійною реакцією гідроксилювання із послідовним дегідруванням. Окиснення тирозину призводить до його перетворення у дигідроксифенілаланін, а потім у дофахінон. На наступних етапах дофахінон перетворюється в дигідроксиіндол та індол-5,6-хінон, останні два продукти конденсують з утворенням димеру, який шляхом окиснення може приєднувати чергові дигідроксиіндольні ланки, після чого в підсумку формуються високополімерні темнозабарвлені сполуки – меланіни. Очищена картопля, розрізаний цукровий буряк і плоди темніють за рахунок утворення меланінів, обумовленого дією тирозинази у присутності кисню повітря.

Для виділення тирозинази із рослинного зразка здійснюють екстрагування водою. Після цього до водної витяжки, в якій присутній ензим, додають тирозин і проводять інкубацію в термостаті за температури 40 °С. Після нагрівання з частини тирозину утворюється меланін, що дає темне забарвлення. В подальшому розчин кип'ятять - ензим інактивується, а меланін осаджується барію хлоридом. Кількісне визначення у витяжці неокисненої форми тирозину проводять броматометрією. Кількісний аналіз у водній витяжці тирозину проводять шляхом внесення надлишку 0,03 н р-ну бромат-бромідної суміші, з підкисленням хлоридною кислотою і наступною інкубацією за кімнатної температури впродовж 10 хв (тирозин бромується). Надлишкову кількість броду визначають шляхом титрування метилоранжем, що піддається руйнуванню і знебарвлюється під впливом броду. Титрують розчин до

виникнення стійкого червоного кольору, що зумовлений надлишковою кількістю метилоранжу. Для встановлення нормальності метилоранжу проводять титрування розчину бромат-броміду з обчисленням отриманого результату за наступними даними: молярна маса бромату калію (KBrO_3) - 167,0; тирозину ($\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})\text{CH}_2\text{CH}(\text{NPr}_2)\text{COOH}$) – 181,19.

Реактиви і обладнання: ступка керамічна, товкачик, скляні піпетки, колби градуйовані різних об'ємів 50 ml, 100 ml, 200 ml і 1000 ml, конічна колба $V=250$ ml, стакани скляні хімічні, термостат, лійки скляні, фільтри паперові, бюретки, центрифуга лабораторна, годинник, пісок прожарений, толуол, 0,05 % р-н тирозину (*пропис:* в градуйовану колбу на 200 ml влити 0,1 г тирозину, 1,2 ml 5 % розчину Na_2CO_3 , додати 150 ml дистильованої води і нагрівати, доки розчиниться тирозин; після охолодження додати води до позначки в 200 ml і змішати; перелити в темну посудину та зберігати у холодильнику); 0,03 н р-н бромат-броміду (*пропис:* відважити з допомогою аналітичних вагів 0,8349 г KBrO_3 і помістити в колбу $V=1$ л, додати 10 г калію броміду, після чого розчинити у невеликому об'ємі води і довести об'єм до позначки 1 л), 0,2 % р-н метилоранжу (*пропис:* відважити 2 грами метилоранжу, помістити в колбу $V=1$ л, розчинити дистильованою водою і довести до позначки 1 л, відфільтрувати), 10 % р-н барію хлориду (*пропис:* 10 г $\text{BaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ помістити до колби $V=100$ мл, розчинити дистильованою водою і довести до 100 ml), 5 % р-н натрію карбонату (*пропис:* 50 г безводної солі Na_2CO_3 помістити в колбу $V=1$ л, розчинити дистильованою водою і довести до 1 літра), р-н хлоридної кислоти 1:1 (*пропис:* до 50 ml дистильованої води поступово додати 50 ml концентрованої хлоридної кислоти і перемішати).

Для встановлення нормальності р-ну метилоранжу проводять обрахунок за калію броматом: в колбу вносять 10 ml 0,03 н р-ну бромат-броміду, додають 30 ml дистильованої води, 4 ml р-ну хлоридної кислоти (1:1) та титрують приготівленим розчином метилоранжу до появи стійкого червоного забарвлення. Нормальність (N) розраховують згідно формули:

$$N = \frac{10 \cdot 0,03}{V} = \frac{0,3}{V}$$

де V – кількість мілілітрів метилоранжу, що був затрачений на титрування 10 ml 0,03 н р-ну бромат-броміду.

Хід роботи.

Зважити 3-5 г свіжого зразка рослинного походження (картопля, буряк цукровий), подрібнити з допомогою терки, після чого розтерти товкачиком в фарфоровій ступці, додавши незначну кількість дистильованої води. При необхідності (зразок погано розтирається), до рослинної маси можна внести трішки прожареного піску. Розтерту масу помістити в градуйовану колбу $V=50$ ml, сполоснувши стінки ступки дистильованою водою $\sim 5-10$ мл, після чого довести загальний об'єм водою до позначки, перемішати, залишити трохи відстоятись та профільтрувати. У разі поганого осадження рослинних частинок - процентрифугувати впродовж 15 хвилин (5 тис.об/хв). З надосадової рідини відібрати за допомогою скляної піпетки 10 ml рідини (не скаламучуючи осад) або ж 10 ml отриманого фільтрату і внести в конічну колбу $V=250$ мл. До фільтрату додати розчин тирозину в об'ємі 10 ml, толуол 2-3 краплі, та помістити колбу на інкубацію в розігрітий до температури 40°C термостат на 2 год. Витримання за вказаного температурного режиму приводить до окиснення певної частини тирозину в меланіни, що каталізується ензимом тирозиназою. По закінченню інкубації до суміші в колбі внести 1 ml розчину Na_2CO_3 , 3 ml розчину BaCl_2 , закип'ятити і профільтрувати, використовуючи фільтр, в чисту колбу. Промити колбу та осад на фільтрувальному папері трьохкратно гарячою водою в кількості 7-9 ml та внести до вихідного розчину. Дати схолонути фільтрату, після чого в колбу внести бромат-бромідний розчин в кількості 10 ml і хлоридну кислоту - 4 ml. Вмістиме колби змішати, накрити і вистояти за кімнатної температури впродовж 10 хв. Надлишкову кількість броду протитрувати, використовуючи розчин метилоранжу, доки не з'явиться стійкий червоний колір, який не зникає. Для недопущення втрати Br під час титрування, додавши кожен наступну порцію метилоранжу, обережно коливаючи колбу перемішати її вміст, уникаючи різких енергійних рухів.

Паралельно з дослідною підготувати контрольну пробу: 10 ml розчину, який отримали під час фільтрування чи центрифугування, внести в колбу, додати дистильовану воду в кількості 25 ml і прокип'ятити 4-6 хв (відбувається інактивація ензиму). В охолоджений р-н внести 10 ml тирозину, р-н бромату-броміду 10 ml, р-н хлоридної кислоти 4 ml - змішати, накрити склом і інкубувати при кімнатній температурі 10 хв. Надлишкову кількість броду протитрувати, використовуючи розчин метилоранжу, доки не з'явиться стійкий червоний колір, який не зникає.

Тирозиназну активність розрахувати за формулою

$$E = \frac{166,8 \cdot 50 \cdot N \cdot (V_e - V_k)}{10 \cdot m \cdot 2} = \frac{417,0 \cdot N \cdot (V_e - V_k)}{m},$$

де E – тирозиназна активність, виражена в одиницях мкмоль/1 год/1 г рослинного матеріалу;

50 – кількість мілілітрів отриманої витяжки з рослинного зразка;

10 – V розчину, який взяли для аналізу, ml;

2 – кількість годин, впродовж яких ензим взаємодіяв з тирозином;

V_e – кількість мілілітрів р-ну метилоранжу, який витратили задля титрування дослідної проби;

V_k – кількість мілілітрів р-ну метилоранжу, який витратили задля титрування контрольної проби;

N – нормальність р-ну метилоранжу, який використовували для титрування;

m – кількість грамів рослинного матеріалу взятого для приготування витяжки;

166,8 – коефіцієнт перерахунку мг нормального розчину тирозину в мікромолі ($30\,200 : 181,2 = 166,8$).

Висновок

Лабораторна робота № 15

«Визначення супероксиддисмутазної активності у рослин за методом Чеварі та співав.»

Мета роботи. Визначити супероксиддисмутазну активність у рослинному матеріалі.

Принцип методу. Супероксиддисмутаза (СОД) (К.Ф. 1.15.1.1) - пероксид: пероксид оксидоредуктаза, ензим антиоксидантної системи, який каталізує реакцію дисмутації супероксиду в кисень і пероксид водню:



Пероксид водню, що утворюється в результаті реакції, інактивує сам фермент (СОД). Активність СОД залежить від рівня супероксиду в тканинах, що виступає по відношенню до ензиму як індукуючий фактор.

СОД надзвичайно розповсюджена в природі, оскільки є одним з ключових езимів антиоксидантного захисту майже в усіх аеробів, окрім молочнокислої

бактерії *Lactobacillus plantarum* та інших подібних їй організмів, які еволюційно використовують інші механізми, що захищають від супероксидного аніону.

В активному центрі ензиму знаходяться атоми металів змінної валентності, залежно від типу яких виділяють кілька форм СОД: найбільш поширеною є Cu, Zn – СОД (містить купрум як кофактор в активному центрі, що безпосередньо приймає участь в дисмутації, і цинк як кофактор, що стабілізує конформацію ензиму), яка знаходиться у цитозолі клітин та міжмембранному просторі мітохондрій. У матриксі мітохондрій присутня манганвмісна супероксиддисмутаза (Mn – СОД, з манганом в активному центрі), яка дисмутує O_2^- радикали, що надходять з електронтранспортного ланцюга. Менш поширеними є Fe-СОД та Ni-СОД.

Метод визначення СОД базується на здатності ензиму інгібувати відновлення нітросинього тетразолію (НСТ) радикалами супероксиду на світлі у присутності рибофлавіну та метіоніну. У присутності СОД відсоток відновлення НСТ зменшується.

Матеріали та реактиви. 50 мМ калій-фосфатний буфер (рН 7,8), рибофлавін, метіонін, нітросиній тетразолій, ЕДТА, пероксид водню, 7-добові проростки озимої пшениці (*Triticum aestivum* L.).

Обладнання. Штатив з пробірками, гомогенізатор, піпетки, колби, лійки, фільтрувальний папір, льодяна баня, термостат, скляні палички, терези, центрифуга, спектрофотометр.

Хід роботи

Надземну частину проростків пшениці, вирощених на дистильованій воді, при освітленні 5000 лк на рівні рослин і температурі +24 °С, обприскати 500 мкМ H_2O_2 , після чого витримати у скляній камері впродовж 1, 4 та 24 год. Контрольні рослини обприскати дистильованою водою.

Пероксид водню використовуємо як універсальний окиснювач, який у фізіологічній концентрації індукує оксидативний стрес, не пошкоджуючи при цьому клітини. З усіх активних форм кисню тільки пероксид водню може реагувати з речовинами і як радикал, і як цілісна молекула. та є джерелом надзвичайно реакційно здатного гідроксильного радикала, який утворюється в реакціях H_2O_2 з металовмісними протеїнами (реакція Фентона) або з супероксид аніоном за участю ферумвмісних протеїнів (реакція Хабера–Вейса)

Після інкубації 300 мг проростків листків пшениці прогомогенізувати у 20 мл 50 мМ калій-фосфатного буфера (рН 7,8). Гомогенат відцентрифугувати (15 хв, 7000 g) при охолодженні. Активність СОД визначаємо у супернатанті цитозольної фракції. Інкубаційне середовище містить 1,3 мМ рибофлавіну,

13 мМ метіоніну, 63 мкМ нітросинього тетразолію, 0,1 мМ ЕДТА та екстракт ензиму. Реакцію запускаємо додаванням до середовища рибофлавіну. Розчин інкубуємо упродовж 20 хв на білому світлі (4000 л). Абсорбцію світла вимірюємо при λ 540 нм проти контролю, який витримували в темряві.

За одиницю активності приймаємо кількість ензиму, необхідну для зниження оптичної густини у процесі відновлення НСТ в дослідній пробі на 50 %. Активність СОД виражали в ум. од. на 1 г сирової маси.

Активність СОД розрахувати за формулою:

$$\frac{E_0 - E_{\text{пр}}}{E_0} \cdot 100\% = \% \quad \text{пригнічення}$$

де E_0 - екстинція реакційної суміші без СОД (нульова проба),

$E_{\text{пр}}$ - екстинція реакційної суміші досліджуваної проби (дослідна проба).

Висновок

Лабораторна робота № 16 **«Визначення каталітичної активності ліпази»**

Мета роботи. Визначити каталітичну активність ліпази у насінні олійних культур.

Принцип методу: Ліпази – однокомпонентні ферменти. По розчинності розрізняють ліпазу розчинну і нерозчинну в воді. Нерозчинна ліпаза міститься в насінні рицини і має рН оптимум 3,6. Розчинна ліпаза міститься в насінні більшості олійних культур і має рН оптимум 8.

Ліпази рослин переважно містяться в насінні, оскільки воно має високий вміст триацилгліцеролів, які є джерелом енергії для появи проростків. Під час проростання насіння запаси триацилгліцеролів вичерпуються. Оскільки жирні кислоти не можуть окиснюватись із утворенням енергії доти, доки знаходяться в складі триацилгліцеролів, то ліполітичні ферменти беруть участь в цьому процесі, таким чином регулюючи швидкість проростання. Тому насіння олійних культур має досить високу ліполітичну активність.

Матеріали та реактиви. Насіння гарбуза, соняшнику або сої, субстрат - 3 % стабілізована емульсія соняшникової олії або сухого молока, 95 % спирт етиловий, розчин тимолфталейну, 0,05 М р-н натрію гідроксиду.

Обладнання. Млинок лабораторний, термостат, пробірки, штатив, бюретка.

Хід роботи.

Приготувати водну витяжку з свіжоперемеленого насіння, додавши до нього дистильовану воду в співвідношенні 1:5 та витримавши за кімнатної температури впродовж 30 хвилин.

Внести у 2 пробірки дистильовану воду по 0,25 мл, субстрат (емульсія олії чи сухого молока) по 0,3 мл та реакцію середовища довести буферним розчином до рН 8. У першу пробірку (дослідна) внести 0,1 мл водної витяжки, отриманої із насіння, другу залишаємо без змін - контроль. Після перемішування обидві пробірки помістити в термостат (37 °С) на 1 год. По завершенню інкубування в кожную пробірку внести 0,3 мл 95 % етилового спирту, щоб інактивувати ліпазу, до контрольної пробірки додати 0,1 мл витяжки. Внести по 1 краплі тимолфталейну (кисле середовище - безколірний, лужне - синій), перемішати і титрувати вивільнені жирні кислоти розчином натрію гідроксиду до появи блакитного кольору.

Каталітична активність ліпази обчислюється за формулою:

$$E = C - D \times 1 / 0,1$$

де: E – активність ліпази у 1 мл водної витяжки з насіння;

C – об'єм (в мл) 0,05 М р-ну NaOH, витраченого на титрування дослідної проби;

D - об'єм (в мл) 0,05 М р-ну NaOH, витраченого на титрування контрольної проби;

0,1 – об'єм витяжки, взятий для аналізу.

Висновок.

Лабораторна робота № 17

«Оцінка властивостей ензимів за дії фізико-хімічних чинників»

Мета роботи. На практиці встановити як впливають різні фізико-хімічні чинники на каталітичну активність ензимів.

1. Залежність каталітичної активності амілази від температури.

Принцип методу. Амілаза - це ензим, що каталізує розщеплення крохмалю. Швидкість цієї каталітичної реакції визначається температурою середовища, за якої проходить реакція, а результат встановлюється залежно від інтенсивності забарвлення крохмального розчину чи продуктів реакції після взаємодії з йодом.

Реактиви і матеріали. 1% р-н крохмалю, р-н амілази (див. Лаб. роб. № 11), 0,1 % р-н йоду в 0,2 % р-ні калію йодиду, лід.

Обладнання. Хімічні пробірки, штатив лабораторний, піпетки, фільтрувальний папір, водяна баня, скляні палички, фарфорові (скляні) пластинки.

Хід роботи.

Взяти 4 пробірки, пронумерувати і в кожну за допомогою піпетки відміряти по 5 мл крохмального розчину. Першу пробірку помістити в киплячу водяну баню ($t=100\text{ }^{\circ}\text{C}$), другу інкубувати у водяній бані при температурі $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, третю залишити стояти в штативі на робочому столі (кімнатна температура), четверту - помістити в лід. Через 12-15 хв, не змінюючи умов інкубування, до крохмального розчину додати розчин амілази і ретельно перемішати за допомогою скляної палички. Ступінь гідролізу крохмалю встановлюють реакцією з йодом: на фарфорову (скляну) пластинку помістити краплини розчину йоду і змішати їх з краплиною сумішей з пробірок, які інкубували за різних температур. Аліквоти з кожної пробірки (№ 1-4) взяти через 1, 2, 4, 6, 8, 10, 12 хвилини після додавання розчину амілази (результати записати).

Ступінь гідролізу крохмалю встановлюють по зміні забарвлення краплини суміші при взаємодії з йодом. В першій пробірці, яка інкубувалась за температури $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ спостерігається утворення синього кольору, що свідчить про відсутність гідролізу крохмалю через інактивацію ензиму. У пробірках, які інкубувались за інших температур забарвлення може бути різним: № 2 температурний оптимум ($40\text{ }^{\circ}\text{C}$) – різні відтінки жовтого (повний гідроліз); № 3 (кімнатна температура) і № 4 (лід) - від червоного до фіолетово-червоного (частковий гідроліз).

2. Вплив рН на активність амілази.

Принцип методу. Каталітичну активність ензиму встановлюють за інтенсивністю кольору, який утворюється при взаємодії йоду з крохмалем, який піддавали дії амілази. Амілаза, що міститься в слині, має рН-оптимум 6,8, і зміна рН реакційного середовища в кислу чи лужну сторону зумовлює зниження каталітичної активності ензиму.

Матеріали та реактиви. 1% крохмальний р-н, розчин амілази (див. Лаб. роб. № 11), вода дистильована, 0,1 М хлоридна кислота, 0,1 М натрію гідроксид, 0,1 % р-н йоду або Люголя.

Обладнання. Хімічні пробірки, піпетки, штатив лабораторний, водяна баня, скляні палички.

Хід роботи.

У пробірках 1, 2 і 3 змішуємо реактиви в кількостях та послідовності, наведених в таблиці 9.

Таблиця 9

Послідовність виконання роботи

Реактиви	Пробірка 1	Пробірка 2	Пробірка 3
0,1 % розчину крохмалю	5 мл	5 мл	5 мл
0,1 М НСІ	1 мл	-	-
0,1 М NaOH	-	1 мл	-
Дистильована вода	-	-	1 мл
Розчин амілази слини	2 мл	2 мл	2 мл
<i>Інкубація при температурі 36-38 °С (20-25 хвилин)</i>			
Розчин Люголя або 0,1 % йод	5 крапель	5 крапель	5 крапель
Забарвлення			

Результат записати в таблицю.

3. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази.

Принцип методу. До активаторів амілази належить натрію хлорид, до інгібіторів – купруму сульфат. Визначення впливу NaCl і CuSO₄ на амілазну активність встановлюють за ступенем ферментативного гідролізу крохмалю в присутності вказаних солей.

Реактиви і матеріали. Розчин амілази ((див. Лаб. роб. № 11), вода дистильована, 0,5 % р-н крохмалю, 0,1 % р-н йоду в 0,2 % р-ні KI, 1 % р-н NaCl, 1% р-н CuSO₄.

Обладнання. Хімічні пробірки, штатив лабораторний, піпетки скляні, гумові груші, водяна баня.

Хід роботи.

В пробірках 1, 2 і 3 змішуємо реактиви в кількостях та послідовності, наведених в таблиці 10.

Таблиця 10

Послідовність виконання роботи

Реактиви	Пробірка 1	Пробірка 2	Пробірка 3
Дистильована вода	2,5 мл	2,0 мл	2,0 мл
1% розчин NaCl	-	0,5 мл	-
1% розчин CuSO ₄	-	-	0,5 мл
Розчин амілази слини	2,5 мл	2,5 мл	2,5 мл
<i>Інкубація при температурі 38 °C (5 хвилин)</i>			
0,1% розчин йоду	5 крапель	5 крапель	5 крапель
Забарвлення	фіолетове або червоне	червоне або жовте	синє

Висновок:

Контрольні запитання та завдання до Розділу «Ензими»

1. Дайте визначення що таке Ензими?
2. Дайте визначення що таке Ізоензими?
3. Дайте визначення що таке Кофактори?
4. Дайте визначення що таке Кoenзими?
5. Властивості ензимів.
6. Застосування ензимів.
7. Будова ензимів.
8. Механізм дії ензимів.
9. Сучасна номенклатура та класифікація ензимів.
10. В яких одиницях виражається активність ензимів?
11. Які фізико-хімічні чинники впливають на протікання ензиматичних реакцій?
12. Як впливають активатори та інгібітори на каталіз ензиматичних реакцій?
13. Специфічність дії ензимів.
14. Написати структурні формули коензимів, їх повну назву та перерахувати складові:
 - А) Нікотинамідних (НАД та НАДФН).
 - Б) Флавіновінових (ФАД).
 - В) Хінону (убіхінон - КоQ).
 - Г) Нуклеозидфосфатів (АМФ, АДФ, АТФ).
 - Д) Ацилювання (КоА).

РОЗДІЛ 6. «ВІТАМІНИ»

Вітаміни - це органічні речовини різноманітної природи, які володіють високою біологічною активністю та у незначних кількостях є необхідними для нормального перебігу метаболічних процесів в організмі людини і тварин. Зараз відомо близько 20 різних вітамінів, які разом із основними харчовими речовинами – протеїнами, вуглеводами та ліпідами повинні забезпечувати нормальний ріст і життєдіяльність організмів. Джерелами вітамінів для людей і тварин є переважно продукти рослинного походження. Окремі вітаміни містяться лише в організмах тварин (А, Д). Деякі тварини, крім людей, мавп, синтезують вітамін С із глюкози.

За фізико-хімічними властивостями вітаміни поділяють на водорозчинні та жиророзчинні (добре розчинні в неполярних розчинниках і жирах). До водорозчинних вітамінів належать такі, як тіамін (вітамін В1), рибофлавін (вітамін В2), нікотинова кислота (вітамін В5, РР), пантотенова кислота (вітамін В3), піридоксин (вітамін В6), біотин (вітамін Н), фолієва кислота (вітамін Вс), кориноїди (вітаміни групи В12), аскорбінова кислота (вітамін С). Усі ці вітаміни відіграють важливу роль в перебігу метаболічних процесів, оскільки входять до складу коферментів. До жиророзчинних належать вітаміни груп: А (каротиноїди), Д (кальцифероли), К (філохінони), Е (токофероли).

Крім добре відомих вищеназваних вітамінів існують інші речовини, які необхідні для нормальної життєдіяльності живих організмів, але вони не вважаються вітамінами - це вітаміноподібні речовини. До них належить карнітин, інозитол, ліпоєва кислота, рутин, катехін, вітамін В₁₃ (оротова кислота), вітамін В₁₅ (пангамова кислота) тощо.

Узагальна інформація про будову, властивості, роль вітамінів представлено у таблиці 11:

Таблиця 11

ВІТАМІНИ

Водорозчинні вітаміни		
Тіамін (вітамін В1)	Будова	Містить піримідинове та тіазольне кільця, які з'єднані між собою СН ₃ -групою.
	Властивості	У кислому середовищі стійкий до дії високої температури. У лужному середовищі вітамін швидко інактивується за температури 80-100 °С,

		легко розчиняється у воді, ефірі та хлороформі.
	Добова доза	1,8 мг
	Джерело	Продукти рослинного та тваринного походження – хліб, м'ясо, картопля, дріжджі, борошно, висівки, неочищений рис.
	Біологічна дія	Дефіцит в харчовому раціоні людини призводить до хвороби бері-бері, що супроводжується швидкою втратою маси тіла та неврологічними порушеннями.
	Коферментна роль	Тіамінпірофосфат як кофактор входить до складу піруватдегідрогеназного та α -кетоглутаратдегідрогеназного комплексів.
Рибофлавін (вітамін B2)	Будова	6,7-диметил-9-рибітилізоалоксазин
	Властивості	Нагрівання впродовж 5-6 год при 120°C майже не впливає на активність рибофлавіну.
	Добова доза	2-3 мг
	Джерело	Продукти рослинного та тваринного походження – зерно, пшениця, морква, печінка, нирки, яйця, дріжджі.
	Біологічна дія	Авітаміноз B2 супроводжується зниженням процесів тканинного дихання, що призводить до затримки росту, посиленого розпаду тканинних білків. Ознаки захворювання: запалення рогівки ока (кератит), запалення язика, шкіри.
	Коферментна роль	Рибофлавін входить до складу двох коферментів – ФМН (флавінмононуклеотиду) та ФАД (флавінаденіндинуклеотиду).

Нікотинова кислота (вітамін PP, B5)	Будова	Піридин-3-карбонова кислота
	Властивості	Термостабільний
	Добова доза	20-30 мг
	Джерело	Продукти рослинного та тваринного походження – хліб, крупи, рис, висівки, м'ясо, молоко, дріжджі.
	Біологічна дія	Дефіцит в їжі нікотинової кислоти викликає у людей захворювання, яке називається пелагрою (у перекладі з італ. – «шершава шкіра»), що супроводжується патологічними змінами шкіри – дерматитами. У важких випадках порушується функція нервової системи і послаблюються розумові здібності (деменція).
Пантотенова кислота (вітамін B3)	Коферментна роль	Нікотинамід є компонентом двох коферментів – НАД ⁺ (нікотинамідаденіндинуклеотид) і НАДФ ⁺ (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат). Ці сполуки є коферментами багатьох окисно-відновних ферментів.
	Будова	До складу входить β-аланін, який через NH ₂ -групу зв'язаний з масляною кислотою, де в α- і γ-положеннях є по OH-групі, а в β-положенні – дві CH ₃ групи.
	Властивості	Добре розчинна у воді, гірше - у ефірі та етанолі, нестійка до дії високих температур, особливо в кислому та лужному середовищах.
	Джерело	Дріжджі, горох, пшеничне борошно, печінка, серце, нирки, яйця. У людини невелика кількість цього вітаміну може синтезуватися в кишечнику

		мікроорганізмами.
	Біологічна дія	Впливає на синтез статевих гормонів, гормонів наднирників, незамінних жирних кислот, холестерину, нейромедіаторів (ацетилхолін, гістамін) та утворення пігменту еритроцитів гемоглобіну; через коферментну роль задіяна в метаболізмі протеїнів, жирних кислот, вуглеводів та окисно-відновних реакціях в клітинах. Пантотенова кислота при нанесенні на шкіру може всмоктуватись, в чому є її унікальність. Гіповітаміноз зустрічається рідко (голодування) і не має специфічних ознак (стомлюваність, депресія, головні і м'язеві болі, диспепсія, послаблення імунітету).
	Коферментна роль	Входить до складу коферменту А (коферменту ацилювання), який приймає участь у β -окисненні жирних кислот.
Піридоксин (вітамін B6)	Будова	Похідне піримідину.
	Властивості	Стабільна сполука у сильно кислому та сильно лужному середовищах; вітамін B6 не втрачає біологічних властивостей навіть при нагріванні, але швидко руйнується під впливом світла та внаслідок окиснення; добре розчиняється у воді та етанолі, погано – в ефірі та хлороформі.
	Добова доза	2-3 мг
	Джерело	Міститься у пшеничному та кукурудзяному борошні, дріжджах, печінці, нирках, м'ясі. Мікроорганізмами кишечника

		синтезується в середньому 0,5-0,7 мг цього вітаміну.
	Біологічна дія	У разі нестачі вітаміну В6 порушуються процеси трансамінування та інші ланки білкового обміну, а також тканинного дихання. Авітаміноз В6 супроводжується порушеннями нервової системи.
	Коферментна роль	Піридоксаль фосфат є простетичною групою деяких ферментів (трансамінази, аміотрансферази), які каталізують реакції обміну амінокислот.
Біотин (вітамін Н)	Будова	Складається з тіофену та імідазолу, до яких приєднана валеріанова кислота.
	Властивості	Стійкий до дії високих температур, впливу кислого та лужного середовищ, добре розчиняється у воді та спирті.
	Добова доза	10-20 мкг
	Джерело	Міститься у печінці, яєчних жовтках і бобових рослинах.
	Біологічна дія	Вітамінна недостатність розвивається за умов порушення нормальної мікрофлори кишечника.
	Коферментна роль	Є коферментом у реакціях приєднання CO ₂ (карбоксилювання), зокрема при біосинтезі жирних кислот.
Фолієва кислота (вітамін Вс, В10, В11)	Будова	Складається із глутамінової кислоти, п-амінобензойної кислоти та гетероциклічної сполуки – заміщеного птеридину.
	Властивості	Малорозчинна в холодній воді, етиловому спирті, у гарячій воді розчиняється краще.
	Добова доза	0,2-0,5 мг
	Джерело	Великі кількості ФК містить листя,

		овочі, фрукти, ягоди, зокрема суниці, а також продукція тваринництва - печінка, м'ясо, серце.
	Біологічна дія	Авітаміноз ФК призводить до анемії і лейкопенії (зниження кількості в крові еритроцитів та лейкоцитів через порушення їх утворення) та інших метаболічних змін.
	Коферментна роль	ФК не має коферментних властивостей, при відновленні перетворюється на тетрагідрофолієву кислоту (ТГФК), яка переносить одновуглецеві групи: метильну, метиленову, формільну. ТГФК бере участь у біосинтезі азотистих основ нуклеїнових кислот, креатину, метіоніну, в утворенні серину з гліцину тощо.
Вітамін B12 <i>(кобаламін, протианемічний)</i>	Будова	Містить 4 пірольних кільця, іон кобальту (з валентністю від Co^{3+} до Co^{6+}), групу CN- . При синтезі коферментних форм ціанідна група CN- в організмі замінюється метильною або 5'-дезоксиаденозильною.
	Властивості	Термостабільний, швидко руйнується на світлі, добре розчинний у воді, етанолі і метанолі.
	Добова доза	3-10 мкг
	Джерело	Синтезується грибами і деякими видами мікроорганізмів. Міститься в продуктах тваринного походження - печінці, нирках, серці, м'ясі.
	Біологічна дія	Недостатність вітаміну B12 (хвороба Адісона-Бірмера, злаякісна анемія) може розвиватися внаслідок порушення його всмоктування у ШКТ.

	Коферментна роль	Аденозилкобаламін зв'язаний із ензимами, внутрішньомолекулярними трансферазами, які каталізують переміщення ацильних, фосфо-, аміно- та інших груп.
Аскорбінова кислота (вітамін С)	Будова	Дієнол гулонової кислоти.
	Властивості	Добре розчиняється у воді та метанолі, окиснюється киснем повітря, особливо у присутності іонів важких металів (купруму, феруму); без кисню витримує нагрівання до 100 °С.
	Добова доза	50-70 мг
	Джерело	Шипшина, чорна смородина, томати, цитрусові, білокачанна капуста, зелені овочі, горіх грецький, перець червоний.
	Біологічна дія	Приймає участь в окисно-відновних процесах, завдяки її властивості віддавати та приєднувати атоми гідрогену, підтримує сульфгідрильні групи ферментативних білків у відновному стані.
	Коферментна роль	Коферментну роль АК виявлено у реакціях гідроксилювання біомолекул.
Жиророзчинні вітаміни		
Вітамін А (включає жиророзчинні сполуки, зокрема ретиноїди: ретинол (вітамін А1, аксерофтол), дегідроретинол (вітамін А2), ретиналь (ретинен, альдегід вітаміну А1),	Будова	β-іононові кільця з'єднані 18-карбоновим ланцюгом, що складається з чотирьох залишків ізопрену.
	Властивості	Термостабільний, може витримувати нагрівання до 100-120 °С у безкисневому середовищі; у повітрі швидко окиснюється і руйнується, особливо в кислому рН та на сонячному світлі.
	Добова доза	0,75-1,5 мг

<i>ретиноєву кислоту і кілька провітамінів-каротиноїдів (β-каротин)</i>	Джерело	Багато вітаміну А міститься в печінці риб і ссавців, які живуть у водах Арктики.
	Біологічна дія	Впливає на біосинтез ліпідних компонентів клітинних мембран; забезпечує підтримання бар'єрної ролі слизових оболонок, ресинтез глікопротеїдних зорових пігментів; синтез стероїдних гормонів, сперматогенез. При дефіциті відмічають погіршення зору, так звану курячу сліпоту, запалення рогівки та ороговіння епітелію слізних каналів; у важких випадках відбувається розм'якшення рогівки – кератомалія; одночасно з цим збільшується ороговіння та злучення епітелію дихальних шляхів, ШКТ і сечовидільних шляхів.
Вітамін D (вітамін D2 – ергокальциферол; вітамін D3 – холекальциферол).	Будова	Стероли рослинного та тваринного походження. Найпоширенішою формою вітаміну D є D3, або холекальциферол, який утворюється у шкірі людини та тварин з 7-дегідрохолестеролу під дією сонячної радіації або УФ-променів. Вітамін D2 або ергокальциферол утворюється під час УФ опромінення ергостеролу дріжджів.
	Властивості	Досить стійкі до дії високої температури, але швидко руйнуються під впливом окиснювачів і мінеральних кислот, добре розчинні в жирах і органічних розчинниках.
	Добова доза	10-20 мкг
	Джерело	Продукти тваринного походження – риб'ячий жир, печінка, вершкове масло.

	Біологічна дія	Регулює обмін кальцію і фосфатів наступними шляхами: 1) забезпечує транспорт цих іонів через епітелій слизової оболонки тонкого кишечника; 2) метаболізує кальцій в кістках; 3) забезпечує реабсорбцію цих мінеральних речовин в ниркових канальцях. Дефіцит вітаміну супроводжується порушеннями фосфорно-кальцієвого обміну та формування кісток, що призводить до зменшення в них кількості кальцію, фосфору та збільшення кількості органічних речовин. Унаслідок цих змін знижується щільність кісток (остеопороз), відбувається розм'якшення (остеомаліяція), спостерігається також переродження та слабкість м'язів.
Вітамін Е (токоферол, антистерильний гормон)	Будова	Має три CH_3 групи у хромофорному ядрі. Під поняттям вітамін Е об'єднана ціла група речовин (α -токоферол, β -токоферол, γ -токоферол, δ -токоферол), токотриєнол (α -токотриєнол, β -токотриєнол, γ -токотриєнол, δ -токотриєнол).
	Властивості	Стійкий при нагріванні до 150-170 °С, менш стійкий в кислому та лужному середовищах.
	Добова доза	10-20 мкг
	Джерело	Салат, зародки пшениці, різні рослинні олії, м'ясо, яйця.
	Біологічна дія	Дефіцит вітаміну Е у тварин викликає лущення шкіри, м'язову слабкість (дистрофію), порушення функцій нервової системи, втрату здатності до

		продовження роду (стерильність). Потужний біоантиоксидант - захищає клітинні структури від дії вільних радикалів ендogenous походження та ксенобіотиків.
Вітамін К (філохінони, антигеморагічний вітамін)	Будова	K1: 2-метил-3-фітил-1,4-нафтохінон, який має боковий ланцюг із чотирьох ізопренових одиниць.
	Властивості	K1 – масляниста рідина, яка плавиться за температури 20 °С, дуже чутливий до світла, швидко руйнується під дією УФ променів.
	Добова доза	200-300 мкг
	Джерело	Рослинні продукти харчування (капуста, помідори, салат), а також печінка та м'ясо.
	Біологічна дія	Приймає участь у процесах зсідання (згортання) крові. Вітамін К необхідний для нормального утворення протейну плазми крові – протромбіну, який є неактивним попередником тромбіну. Тромбін перетворює фібриноген крові на фібрин, який формує кров'яний згусток.
Вітаміноподібні речовини		
Вітамін Р (біофлавоноїди) – поліфеноли, до яких належать рутин, катехін	Будова	Містять дифенілпропановий вуглецевий скелет, подвійний зв'язок, кето- та гідроксигрупи в циклах і залишки цукрів.
	Властивості	Розчинні у воді, нерозчинні в етиловому ефірі, є продуктами життєдіяльності рослин.
	Добова доза	100-200 мг
	Джерело	Виноград, чайне листя.

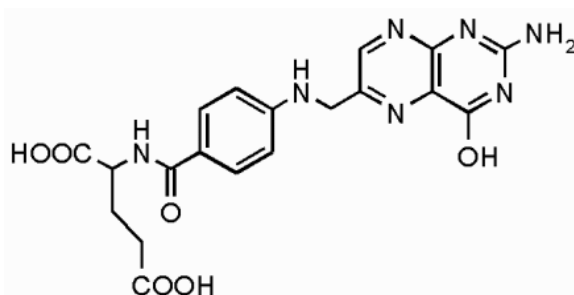
	Біологічна дія	Гальмують окиснення аскорбінової кислоти і перекисне окиснення ліпідів, в т.ч. викликане впливом важких металів, володіють протизапальною і капіляророзміцнювальною дією.
Оротова кислота (вітамін B13)	Будова	Похідне піримідину.
	Властивості	Розчинна у воді, руйнується під впливом світла.
	Добова доза	0,5-2 г/добу
	Джерело	Молочні продукти, коренеплоди, печінка, дріжджі.
	Біологічна дія	Посилює анаболічні процеси, забезпечує метаболізм пантотенової, фолієвої кислот, вітаміну B12, необхідна для синтезу метіоніну, нуклеїнових кислот, білків.
Пангамова кислота (вітамін B15)	Будова	Складний естер α -глюконової кислоти та диметилглїцину.
	Властивості	Розчинна у воді, не стійка до дії високих температур та світла.
	Добова доза	1-2 мг
	Джерело	Злаки, дріжджі, кавун, диня, оболонки рису, гарбуз, печінка, м'ясо.
	Біологічна дія	Має метильні групи, які нейтралізують вільні радикали, забезпечує живлення клітин киснем, синтез креатинфосфату, нормалізує ліпідний обмін, запобігаючи жировій інфільтрації печінки; ефективний засіб детоксикації за отруєння хлорорганічними сполуками, антибіотиками тетрациклінового ряду, алкоголем, наркотичними речовинами.
Убіхінон (кофермент Q₁₀)	Будова	Хінонове кільце з ізопреноїдним ланцюжком.
	Властивості	Розчиняється в етанолі, майже

		нерозчинний у воді, на світлі поступово розкладається і забарвлюється.
	Добова доза	90-200 мг
	Джерело	Соєва олія, червона пальмова олія, кунжут, арахіс, яловичина, курятина, апельсини, полуниця.
	Біологічна дія	Кофермент Q бере участь в реакціях окисного фосфорилування, є компонентом дихального ланцюга мітохондрій.

Лабораторна робота № 18 «Якісне визначення фолієвої кислоти»

Мета роботи. Виділити фолієву кислоту (вітамін В₉) з дріжджів.

Фолієва кислота (вітамін В₉, В₁₀, В₁₁, птероїлглутамінова кислота) вперше була виділена із листя шпинату. Молекула фолієвої кислоти складається із глутамінової кислоти, п-амінобензойної кислоти та гетероциклічної сполуки – заміщеного птеридину.



Структурна формула фолієвої кислоти (вітамін В₉).

У організмі рослин ФК стимулює синтез ДНК і РНК, а, відповідно, допомагає синтезувати білки. Регулювання метаболічних функцій рослин - ще одна важлива функція фолієвої кислоти. ФК дозволяє рослині засвоювати вуглеводи, але оскільки вона швидко розкладається під впливом яскравого світла, рекомендується в процесі вирощування давати додаткову ФК.

Фолієва кислота є вітаміном зростання, оскільки стимулює утворення нових клітин. У організмі людини і тварин ФК нормалізує функцію кісткового мозку (нормалізує вироблення тромбоцитів, підвищує рівень лейкоцитів, стимулює імунну систему, підтримує оптимальну густоту крові) та нервової системи.

Принцип методу. Фолієва кислота добре розчиняється в лужних розчинах, зокрема NaOH (0,1 моль/л). Екстрагована фолієва кислота із дріжджів за ультрафіолетового опромінення здатна викликати інтенсивну блакитну флюоресценцію.

Матеріали та реактиви. Пекарські дріжджі, кварцевий пісок, концентрована оцтова кислота, 0,4% розчин перманганату калію, 3% розчин пероксиду водню, розчини гідроксиду натрію (0,1 моль/л та 0,005 моль/л), лакмусовий папірець.

Обладнання. Штатив для пробірок, центрифужні пробірки, центрифуга, флюорисцента лампа, порцелянова ступка, піпетки.

Хід роботи.

В порцеляновій ступці розтирають 10 г дріжджів із 10 мл розчину NaOH (0,1 моль/л) та 2 г кварцевого піску впродовж 5 хвилин. Отриману рідину центрифугують при 800 g (15 хвилин). Надосад обережно переносять в іншу пробірку та використовують у подальших реакціях.

До 10 крапель надосадової рідини додають 20 крапель концентрованої оцтової кислоти (рН 3,0) та 10 крапель розчину KMnO_4 так, щоб рожеве забарвлення не зникало впродовж 10 хвилин. Якщо рожеве забарвлення розчину є нестійким, то необхідно додати ще декілька крапель KMnO_4 . Через 10 хвилин надлишок перманганату калію видаляють шляхом додавання 4-5 крапель розчину H_2O_2 та додають 4-5 мл розчину гідроксиду натрію (0,005 моль/л) до рН 4,0 - 4,5, використовуючи лакмусовий папірець.

Фолієва кислота в лужному розчині за умови опромінення в ультрафіолетовому діапазоні світла здатна до флюоресценції (виникає блакитне світіння).

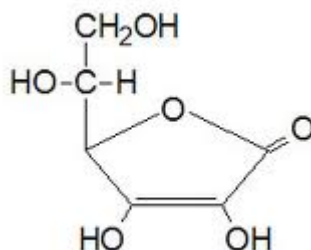
Висновок

Лабораторна робота № 19

«Кількісне визначення вітаміну С»

Мета роботи. Визначити кількість вітаміну С (аскорбінової кислоти).

Вітамін С або аскорбінову кислоту вперше було виділено із лимонного соку (1933р). Завдяки антискорбутним властивостям (попередження розвитку цинги) цей вітамін назвали аскорбіновою кислотою.



Структурна формула аскорбінової кислоти (вітаміну С).

Молекула вітаміну С за будовою подібна до гексоз і є лактоном дієнол гулонової кислоти. Ця кислота може віддавати два атоми водню, перетворюючись на дегідроаскорбінову кислоту. Аскорбінова кислота добре розчиняється у воді та метанолі, гірше – в етанолі. Вона добре окиснюється киснем повітря, особливо у присутності іонів важких металів (купруму, феруму) з підвищенням рН і температури середовища. В безкисневих умовах аскорбінова кислота може витримати нагрівання до 100 °С.

Біологічна роль аскорбінової кислоти – приймає участь в окисно-відновних процесах, завдяки її властивості віддавати та приєднувати атоми водню. Основна роль цього вітаміну – це підтримання сульфгідрильних груп ферментативних білків у відновному стані, що забезпечує активність ряду ензимів. Коферментну роль аскорбінової кислоти виявлено у реакціях гідроксилування біомолекул.

Більшість тварин та усі рослини можуть синтезувати цей вітамін з глюкози. У організмі людей, мавп, мурчаків і деяких інших хребетних тварин цей вітамін не синтезується. Мікроорганізми не мають і не потребують цього вітаміну.

Середньодобова потреба дорослих у вітаміні С становить 50-70 мг. Найкращим джерелом вітаміну С є шипшина, чорна смородина, томати, цитрусові, білокачанна капуста, зелені овочі, горіх грецький, перець червоний.

Принцип методу. Визначення аскорбінової кислоти ґрунтується на її окисно-відновних властивостях, а саме при окисненні аскорбінова кислота відновлює йодат калію до вільного йоду, кількість якого розраховують за реакцією з крохмалем.

Матеріали та реактиви. Фрукти (яблука, мандарини, апельсини), овочі (морква, цибуля, редис), 2 % розчин HCl, 1 % розчин KI, 0,5 % розчин крохмалю, 0,1 н розчин KIO₃ (0,3568 г KIO₃ розчиняють у 1 л води, 100 мл цього розчину переносять у колбу на 1 л і доводять водою до мітки), їдкий натрій, фенолфталеїн.

Обладнання. Порцелянова ступка, колби мірні об'ємом на 100 мл, фільтрувальний папір, мірні циліндри, піпетки, мікробюретки.

Хід роботи.

Наважку 2-10 г (залежно від вмісту вітаміну С) рослинного матеріалу розтирають з невеликою кількістю дистильованої води у порцеляновій ступці. Отриману суміш переносять в мірну колбу об'ємом на 100 мл, вміст колби доливають дистильованою водою до мітки і фільтрують через сухий фільтр в сухий стаканчик або конічну колбу об'ємом на 100 мл. Для титрування використовують 10 мл фільтрату до якого приливають 1 мл 2 % розчину HCl, 0,5 мл 1 % розчину KI, 2 мл 0,5 % розчину крохмалю і 6-7 мл дистильованої води. Вміст колби 1 титрують 0,01 н розчином йодату калію з мікробюретки до виникнення стійкого синього забарвлення. Паралельно необхідно зробити контрольну пробу. Для цього у колбу 2 замість фільтрату вносять 10 мл дистильованої води, додають всі реактиви згідно протоколу та вміст колби 2 також титрують до виникнення стійкого синього забарвлення.

Кількість вітаміну С (мг %) визначають за формулою:

$$C = \frac{(a - b) \cdot T \cdot V_1 \cdot 100 \cdot 0,8806}{H \cdot V_2},$$

де С – кількість вітаміну С; (а – b) - кількість 0,01 н йодату калію, витраченого на титрування дослідного та контрольного зразків, мл; Т – поправка до титру 0,01 н йодату калію; V₁ – загальний об'єм витяжки, мл; V₂ – об'єм витяжки взятої для титрування (10 мл); Н – наважка рослинного матеріалу, г.

Примітка. 1 мл 0,01 н розчину йодату калію відповідає 0,8806 мг аскорбінової кислоти. Якщо вміст аскорбінової кислоти низький, беруть 0,001 н йодат калію (1 мл відповідає 0,088 мг вітаміну С).

Перевага цього методу в порівнянні з методом Муррі, полягає в тому, що визначення вітаміну С можна проводити в забарвлених екстрактах рослин.

Висновок

Лабораторна робота № 20 **«Якісне та кількісне визначення вітаміну А»**

Якісні реакції на вітамін А

Матеріали та реактиви. Розчин вітаміну А, морква, концентрована сульфатна кислота, розчин вітаміну А в хлороформі, льодяна оцтова кислота, насичена феруму сульфатом (II).

Обладнання. Штатив, пробірки, мірні скляні піпетки.

А. Реакція Друммонда. В пробірку внести 2-3 краплі вітаміну А до якого додати 2–3 краплі концентрованої сульфатної кислоти. У пробірці розчин набуває синього кольору, що з часом може змінюватись і ставати фіолетовим чи бурим.

Висновок

Б. Реакція з феруму сульфатом (II).

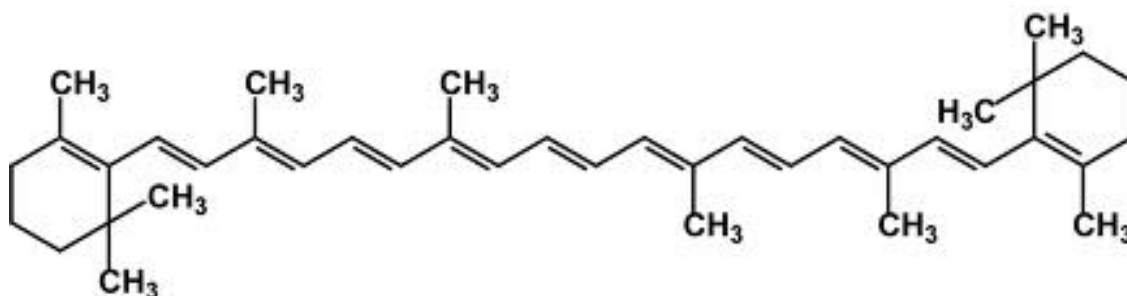
Внести в першу пробірку 2-3 краплі олійного розчину вітаміну А в хлороформі, а в другу - 2-3 краплі свіжовіджатого соку моркви та додати в кожену 5-10 крапель концентрованої оцтової кислоти, що насичена феруму сульфатом (II), і 1–2 краплі концентрованої H_2SO_4 . При взаємодії з вітаміном А суміш набуває блакитного забарвлення, що через певний час змінюється червоно-рожевим, каротини ж набувають зеленого забарвлення.

Висновок

Кількісне визначення вітаміну А

Мета роботи. Визначити концентрацію вітаміну А.

Вітамін А (каротиноїди, антиксерофтальмічний фактор), під цією назвою об'єднується група похідних рослинних пігментів – каротинів. Біологічне значення для людини мають α -, β - і γ -каротини.



Структурна формула β -каротину

В організмі людини та тварин β -каротин може ферментативно перетворюватися на вітамін А1, тому каротини називають провітамінами – попередниками вітаміну А. Вітамін А термостабільний, може витримувати нагрівання до 100-120 °С у безкисневому середовищі, стійкий до дії лугів, легко окиснюється киснем повітря, однак у кислому середовищі та під дією сонячного світла швидко руйнується.

Вітамін А бере участь в окисно-відновних процесах, тканинному диханні, процесах біосинтезу білків, нуклеїнових кислот, кортикостероїдів та входить до складу зорового пігменту людини - родопсину. Біологічна роль вітаміну А полягає у зоровій функції у формах ретинолу, ретиналю, ретинолової кислоти.

Середньодобова потреба дорослої людини у вітаміні А становить 0,75-1,5 мг. У разі перевищення рекомендованих доз вітаміну у 20-30 разів спостерігаються токсичні ефекти та загибель людей. Особливо багато вітаміну А міститься в печінці риб і ссавців, які живуть у водах Арктики.

Принцип методу. Вітамін А екстрагують із рослинного матеріалу органічними розчинниками та визначають його кількість спектрофотометричним методом за інтенсивністю поглинання світла при довжині 700 нм, оскільки інтенсивність забарвлення екстракту пропорційна вмісту у ньому вітаміну.

Матеріали та реактиви. Морква, кварцевий пісок, ацетон, бензин, безводний сульфат натрію, порошок каротину.

Обладнання. Порцелянова ступка, скальпель, фільтрувальний папір, лійка, мірна колба об'ємом на 100 мл, піпетки, розподільна лійка, пробірки, спектрофотометр, кювета.

Хід роботи.

За допомогою скальпеля дрібно нарізають 1 г сирої моркви та розтирають у порцеляновій ступці із кварцевим піском, додавши 5 мл ацетону. Отриману суміш фільтрують через складчастий паперовий фільтр у мірну колбу об'ємом на 100 мл. Осад промивають новими порціями ацетону до тих пір, поки останній не перестане забарвлюватися у жовтий колір.

До ацетонової витяжки каротину за допомогою піпетки додають 10 мл бензину та 3 мл води. Колбу закривають і струшують протягом 2-3 хвилин. Вміст колби переносять у розподільну лійку. Після розшарування рідин у лійці, нижній шар, що містить ацетон і воду, обережно зливають. Верхній бензиновий шар, який містить екстракт каротину, переносять у пробірку для подальших досліджень. Для зневоднення бензинової витяжки в пробірку додають 1 г безводного сульфату натрію.

Вимірюють оптичну густину поглинання проб на спектрофотометрі чи фотоелектроколориметрі при червоному світлофільтрі (625-740 нм). Як контрольну пробу використовують кювету з бензином. Стандартний розчин каротину: 0,203 мг каротину розводять в 100 мл бензину.

Вміст каротину розраховують за формулою:

$$A = \frac{E_2 \cdot V \cdot 0,203}{E_1 \cdot m \cdot 100} ,$$

де E_2 - екстинція каротинової витяжки дослідної проби, E_1 - екстинція каротинової витяжки стандартного розчину, V - об'єм витяжки, мл (3 мл); m - наважка моркви, г (1 г).

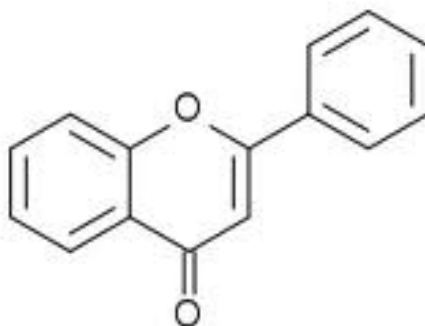
Висновок

Лабораторна робота № 21

«Кількісне визначення вітаміноподібної речовини (вітамін Р)»

Мета роботи. Визначити концентрацію вітаміну Р в чаї (за методом Левенталю).

Біофлавоноїди – це сполуки рослинного походження. Більшість біофлавоноїдів добре розчинні у воді, нерозчинні в етиловому ефірі, хлороформі і бензолі. На сьогодні відомо близько 150 біофлавоноїдів, які характеризуються Р-біологічною активністю – це катехіни, халкони, флавіни, флаволи тощо.



Структурна формула вітаміну Р.

Біофлавоноїди характеризуються наявністю у хімічній формулі ароматичних бензольних кілець і ядра, які з'єднані між собою трьохвуглецевим фрагментом. Флавоноїди поділяються на декілька груп в залежності від хімічної структури. Біологічна роль біофлавоноїдів: антиоксидантні та протизапальні властивості, нормалізують ліпідний, вуглеводний та білковий обміни у клітині, стабілізують основну речовину сполучної тканини, інгібуючи гіалуронідазу, при недостатній кількості біофлавоноїдів підвищується проникність кровоносних судин, що супроводжується кровотечами.

До речовин, що мають Р-вітамінну активність, належать досить поширені в рослинному світі глікозиди — рутин і геспередин, а також танін, що міститься в чайному листі і винограді.

Принцип методу. Рутин здатен окиснюватись перманганатом калію, як індикатор використовують індигокармін, який взаємодіє із KMnO_4 після того, як окислиться весь рутин. Встановлено, що 1 мл розчину перманганату калію (0,02 моль/л) окиснює 6,4 мкг рутину.

Матеріали та реактиви. Чай, розчин перманганату калію (0,01 моль/л), індикатор індигокармін (1 г індигокарміну розтирають і додають 50 мл концентрованої сірчаної кислоти, об'єм до 1 л доводять дистильованою водою, фільтрують і зберігають в темному скляному посуді).

Обладнання Водяна баня, фільтрувальний папір, колби, мікробюретки.

Хід роботи.

Наважку чаю 100 мг заливають 50 мл гарячої дистильованої води і доводять до кипіння на водяній бані. Отриманий екстракт охолоджують і фільтрують. У колбу 1 (дослід) наливають 10 мл фільтрату чаю, а у колбу 2 (контроль) - 10 мл дистильованої води. В обидві колби додають по 10 мл дистильованої води і 5 крапель індигокарміну. У колбі 1 утворюється синє забарвлення. Вміст обох колб ретельно перемішують та титрують розчином KMnO_4 до появи стійкого жовтого забарвлення. Різниця між дослідним і контрольним титруванням (без екстракту) являє собою кількість мл 0,01 моль/л KMnO_4 , що витрачається на окиснення рутину.

Для визначення вмісту (мкг) вітаміну Р використовують формулу:

$$X = A \cdot V_1 \cdot k / V_2 \cdot P,$$

де k - стандартний коефіцієнт титрування (3,2), A - різниця кількості 0,01 моль/л розчину KMnO_4 , що пішло на титрування дослідної і контрольної проб, V_1 - об'єм (мл), в якому розчинена дослідна наважка чаю, V_2 - об'єм рослинного матеріалу (мл), взятий для аналізу, P - кількість чаю, г, взятого для аналізу.

Висновок

Контрольні запитання та завдання до розділу «Вітаміни»

1. Що таке вітаміни? Що є їх джерелом?
2. Що відбувається в організмі людини при нестачі та надлишку вітамінів?
3. Біологічні функції вітамінів.
4. Класифікація вітамінів.
5. Чому рослини із високим вмістом піридоксину (вітамін В₆) слід зберігати у темному місці?
6. Які вітаміни є стійкими до дії високих температур, а які ні? Як це впливає на їх біологічні властивості?
7. Який вітамін входить до складу коферментів – ФМН та ФАД?
8. Який вітамін входить до складу коферментів – НАД та НАДФ?
9. Який вітамін входить до складу коферменту-А?
10. Написати структурні формули водорозчинних вітамінів:
 - тіаміну (вітамін В₁),
 - рибофлавіну (вітамін В₂),
 - нікотинової кислоти (вітамін В₅, РР),
 - пантотенової кислоти (вітамін В₃),
 - піридоксину (вітамін В₆),
 - біотину (вітамін Н),
 - фолієвої кислоти (вітамін В_с),
 - кобаламіну (вітамін В₁₂),
 - аскорбінової кислоти.
11. Написати структурні формули жиророзчинних вітамінів:
 - вітаміну А₁ (каротиноїди),
 - вітаміну D₃ (холекальциферол),
 - вітаміну К₁ (філохінон),
 - вітаміну Е (токоферол).
12. Написати структурні формули вітаміноподібних речовин:
 - карнітину,
 - інозитулу,
 - ліпоєвої кислоти,
 - рутину,
 - катехіну,
 - вітаміну В₁₃ (оротова кислота),
 - вітаміну В₁₅ (пангамова кислота).

РОЗДІЛ 7. «ФІТОГОРМОНИ»

Фітогормони (ФГ) – це низькомолекулярні органічні сполуки, які синтезуються клітинами рослин і виконують регуляторну функцію. Фітогормони діють за низьких концентрацій (до 10^{-11} М) і спричиняють фізіолого-морфологічні ефекти в тих ділянках рослин, які є чутливими до їх дії.

На відмінну від тварин, рослини не мають спеціальних органів, які синтезують гормони, однак деякі органи та тканини рослин здатні накопичувати велику кількість гормонів. Так, ауксини накопичуються у верхівковій меристемі стебла, гібереліни – у листі, цитокіни – у коренях та дозріваючому насінні.

Фітогормонам та їх синтетичним аналогам характерний широкий спектр дії, а саме: вони регулюють процеси життєдіяльності рослин – проростання насіння, ріст, диференціацію тканин і органів, цвітіння, дозрівання плодів, плодоношення, спокій, коренеутворення і т.п. Утворюючись в одному органі (або його частині) рослини, фітогормони зазвичай транспортуються в інший (або його частину). Ефект фітогормонів у значній мірі залежить від дії інших зовнішніх і внутрішніх факторів. Значний вклад в розвиток гормонального напрямку в фізіології рослин вніс відомий фітофізіолог М.Г.Холодний.

Молекулярні механізми дії фітогормонів. Активність фітогормонів забезпечується їх взаємодією з певними рецепторами. Рецептори – це молекули білкової природи, які розпізнають фітогормон, специфічно зв'язуються з ним, утворюючи гормон-рецепторний комплекс. Саме такий комплекс і передає сигнал для запуску відповідної фізіологічної реакції клітини. Такі рецептори знаходяться як на мембранах, так і в цитозолі. Причому один і той же гормон може зв'язуватися з різними рецепторами, зумовлюючи відповідно різні фізіологічні реакції. Цим фактором пояснюються причини поліфункціональної дії фітогормонів. Найчутливішими у відповідь на дію фітогормонів є мембрани. Тому ФГ регулюють проникність мембран. Так, ауксини і цитокіни підсилюють надходження іонів через мембрани, а абсцизова кислота та етилен індукують їх вихід із клітини. Гібереліни підвищують проникність мембран для цукрів. ФГ впливають на енергетичну функцію мембран, а саме, ауксини посилюють окисне фосфорилування, а гібереліни – фотофосфорилування. Ауксини також підвищують активність роботи дихального ланцюга, внаслідок чого розвивається гіперполяризація мембран, зростає електрохімічний потенціал.

Однак, передумовою функціонування механізмів регуляції є компетентність клітини до дії конкретних ФГ, яка визначається наявністю певних рецепторів.

Класифікація фітогормонів. Серед рослинних гормонів виділяють 5 основних груп: абсцизини, ауксини, цитокініни, етилен та гібереліни. Часто до фітогормонів відносять і інші сполуки: брасиностероїди, жасмонати, поліпептидні гормони, крезацин, олігосахариди.

Ауксини (з давньогрецької збільшуватися, рости) – це стимулятори росту плодів рослин, що володіють високою фізіологічною активністю. Природний ауксин виділено з колеоптилю злакових рослин ще в 1934 р. (вівсяна проба Вента) та ідентифіковано як індоліл-3-оцтову кислоту. Нині створено синтетичні препарати, що здатні стимулювати ріст аналогічно індоліл-3-оцтовій кислоті – це індоліл-піровиноградна кислота, хлор-фенокси-оцтова кислота й ін. У рослині індоліл-3-оцтова кислота синтезується з попередника - триптофану, можливо, триптаміну. Загалом біосинтез ауксину може здійснюватись чотирма шляхами (триптофан-залежними та триптофан-незалежними), які є різними для різних видів рослин та обумовлені потребами рослини в речовині-попередникові.

Ауксини притаманні як вищим, так і нижчим рослинам, окрім того вони присутні в сечі, слині ссавців. Найактивніший синтез ауксинів характерний для молодих листків і бруньок вищих рослин, а також активного камбію, пилку і насіння в період його формування. Виявляють ауксини в незначній кількості у верхівкових меристемах кореня, проте існує припущення про його транспортування через провідну тканину з основи до кореня.

Паренхімні й камбіальні клітини транспортують ауксини полярно в напрямку верхівка пагона - корінь зі швидкістю, що становить приблизно 10-15 км/год. У стеблі рослини пересування здійснюється по провідних пучках; з листків - по флоємі. Для вказаних частин рослини транспортування відбувається не полярно та подібне до перенесення вуглеводів. Таке переміщення ауксинів є енергозатратним процесом. Вважається, що переміщення індоліл-3-оцтової кислоти в напрямку апікальної частини клітини відбувається пасивним шляхом паралельно з іонами гідрогену, в той же час рух до базального кінця, ймовірно, потребує переносників, що забезпечують виділення ауксинів із клітини проти концентраційного градієнту. Полярність руху ауксинів в коренях маловиражена в напрямку до їх кінчиків.

Дія ауксинів на рослини є диференційовано різною, на що має вплив вид рослини, тип тканини, етап онтогенезу. Високі концентрації є токсичними, що

дозволяє використовувати синтетичні ауксини (2,4Д, диамба) в якості гербіциду для знищення бур'янів.

Ауксини мають вплив на: 1) ріст клітин у фазах розтягування; 2) ріст клітин камбію (стимулюють); 3) взаємодію окремих органів; 4) регуляцію корелятивного росту. Дія ауксинів пов'язана з диференціацією провідної тканини ростучих пагонів, контролем росту плодів, затримкою розвитку бічних бруньок. У промисловому виробництві ауксини застосовують для регулювання опадання листя, плодів, квіток.

Завдяки дії ауксину в плазмолемі відбувається індукція роботи H^+ -насосу, що призводить до підкислення матриксу клітинної стінки, активації кислих гідролаз, розм'якшення клітинної стінки, що забезпечує ріст рослинної клітини розтягуванням. ІОК після проникнення в клітину приєднується до специфічних рецепторів і регулює функціональну активність біомембран, полірибосом, роботу ядерного апарату.

Інактивація ауксинів в різних тканинах рослин відбувається за участю ІОК-оксидази, що розщеплює їх при необхідності. Рівновага синтезу, окиснення і зв'язування ІОК може виконувати роль чутливої системи регуляції вмісту ІОК в рослинних тканинах.

Цитокініни – це N-заміщені похідні аденіну, які стимулюють поділ клітин. Ефект цитокінінів вперше був відкритий на кокосовому молоці Фольком Скугом (1940 р). Класифікують два типи цитокінінів: аденінового типу (кінетин, зеатин і 6-бензиламінопурин), феніл-сечовинового типу (дифенілсечовина або тидіазурон). Цитокініни аденінового типу синтезуються в основному в коренях, стеблах та листях. Камбій і інші тканини рослин, які активно діляться, є місцем синтезу цитокінінів. Не відомо про виявлення цитокінінів типу фенілсечовини в тканинах рослин. Цитокініни приймають участь в локальній передачі сигналу та на відстані (для транспорту пуринів і нуклеозидів). Основним місцем, де синтезуються цитокініни, є апікальні меристеми кореня. Природні цитокініни зустрічаються в формі рибонуклеозидів та рибонуклеотидів, які, можливо, є їх попередниками.

Цитокініни регулюють численні фізіологічні процеси рослин, такі як клітинний поділ, морфогенез пагонів та коренів, дозрівання хлоропластів, утворення та розпускання бруньок, лінійний ріст клітини, гальмують процеси старіння. За присутності ауксинів цитокініни стимулюють поділ рослинних клітин.

Гібереліни за хімічною природою є слабкими карбоновими кислотами, які мають гібереліновий скелет і належать до тетрациклічних дитерпеноїдів.

Гібереліни нестійкі і швидко руйнуються в середовищі з кислим та лужним рН. Відомо понад 90 гіберелінів, проте найбільшою біологічною активністю характеризується гіберелова кислота (ГКЗ), яка має у структурі гідроксили і подвійний зв'язок. Синтезуються гібереліни за схемою: ацетат → мевалонат → перебудови → катрен → гіберелова кислота. Ці фітогормони піддаються ферментативному розщепленню, проте продукти цієї реакції поки що невідомі.

Гібереліни відкрив японський вчений Є. Куросава при дослідженні хвороби рису (надмірний ріст або "скажені сходи"), яку викликав гриб *Gibberella fujikuroi* Sow (pid *Fusarium*). Японський вчений Т. Ябута виділив гібереліни з цього гриба у кристалічному вигляді і відповідно їх назвав.

Високий вміст гіберелінів у тих тканинах вищих рослин, які швидко ростуть, у недозрілому насінні і плодах, паростках. Синтезуються гібереліни в листях та коренях, світло стимулює синтез гіберелінів, які транспортуються з ксилемним або флоемним током. Місцем дії гіберелінів є апікальна та інтеркалярна меристеми.

Гібереліни активують поділ клітин та стимулюють фазу розтягування. Гібереліни використовуються для прискорення стрілкування, утворення квітконосів рослинами довгого дня, виведення насіння та бульб окремих рослин зі стану спокою. ГК не стимулює ріст коренів, а високі концентрації останньої є навіть шкідливими. Гібереліни застосовують при вирощуванні льону і конопель з метою збільшення виходу волокон, діаметру ягід в гронах безкісточкового винограду, стимулювання нарощування зеленої маси травами. Гібереліни активують проростання пилку, дозрівання томатів, яблук, черешень, а також запобігають вилягання злакових культур.

ГК взаємодіє з фоторецепторами білкової природи, активує ензими, що контролюють синтез фосфоліпідів, утворення гранулярного ЕПР та секрецію ферментів.

Розтягування клітин під впливом гіберелінів відбувається аналогічно ауксину, завдяки підкисленню клітинних стінок. Причому чутливі до ГК клітини не реагують на ауксин, можливо за рахунок різних специфічних рецепторів цих фітогормонів.

Абсцизини. **Абсцизова кислота** (або абсцизин, абодормін) – це ізопреноїд, який синтезується з мевалонової кислоти або при розпаданні каротиноїдів, зокрема, віолоксантину. В противагу попереднім ФГ, АБК інгібує процеси росту. Вона дуже поширена в бруньках, листі, плодах, насінні, бульбах вищих рослин. Центри синтезу АБК – листя, плоди та кореневий чохлак.

АБК ще називають гормоном стресу, оскільки вона здатна інтенсивно накопичуватись в рослинних тканинах, зокрема в умовах водного дефіциту: синтезуючись у хлоропластах, вона рухається плазмодесмами в напрямку продихових клітин і викликає їх закриття впродовж 3-9 хв. Відомо, що хлоропласти мезофілу синтезують АБК, тоді як продихові хлоропласти не здатні синтезувати їх. АБК гальмує вихід H^+ із замикаючих клітин та надходження K^+ в ці клітини. Абсцизова кислота змінює осмотичний потенціал продихових клітин, і викликає закриття продихів. Закриття продихів знижує транспірацію і запобігає подальшій втраті води через листя.

За рахунок того, що АБК є потужним інгібітором росту, вона накопичується в насінні, бруньках при переході до стану фізіологічного спокою. Під впливом АБК у плодоніжках, черешках формується відокремлювальний шар, завдяки якому відбувається опадання плодів і листків, також цей фітогормон стимулює розвиток процесу старіння – під його впливом руйнуються нуклеїнові кислоти, білки, хлорофіл.

Абсцизинова кислота впливає на утворення бульб і дозрівання плодів, завдяки цьому її застосовують для прискорення досягання плодів і оптимізації термінів збору врожаю шляхом екзогенного введення (обприскування).

В умовах підготовки рослин до зими абсцизинова кислота утворюється в кінцевих бруньках, гальмуючи ріст рослин, та призводить до формування із прилистків захисних лусочок на бруньках, що захищають їх у період холодів. Абсцизова кислота зупиняє поділ клітин камбію і зупиняє первинний і вторинний ріст.

Місце і час утворення АБК. Утворюється в зелених фруктах і насінні перед початком зимового періоду; в період передзбирального підсушування рослин при ущільненні ґрунту; швидко переноситься із кореня в листя по судинам ксилеми; синтезується у відповідь на стресові фактори навколишнього середовища в усіх органах рослин – коренях, квітах, листях, стеблі.

АБК викликає закриття продихів, знижує транспірацію і попереджає втрату вологи; зупиняє дозрівання плодів і проростання насіння, бульб; інгібує синтез ферментів, які необхідні для фотосинтезу.

Етилен (етен, $CH_2=CH_2$) є органічною хімічною сполукою - найпростішим алкеном (олофеїном). За своєю природою він є безколірним горючим газом зі слабковираженим солодким запахом. Етилен малорозчинний у воді – за температури $0\text{ }^{\circ}C$ в 100 ml H_2O розчиняється 25,6 ml; в етанолі за аналогічних умов - 359 ml; у диетиловому ефірі та вуглеводах розчиняється добре. Етилен має наркотичну дію з четвертим класом безпечності.

Рослини (папороті, мохи, синьозелені водорості) продукують етилен, у покритонасінних цю функцію виконують всі тканини, окрім того його утворюють і деякі бактерії. Вищі рослини етилен синтезують у плазмалемі з амінокислоти метіоніну. Механізм катаболізму цього фітогормону є маловивченим, однак відомо, що при цьому виділяється CO_2 .

Етилен пригнічує лінійний ріст паростків, листя, затримує мітоз, проте у великої кількості видів рослин він, навпаки, стимулює процеси проростання пилку, бульб, насіння. Оскільки етилен є ФГ в газоподібному стані, він здатний проявляти свою дію і на сусідні рослини. Відома важлива роль етилену в детермінації статі однодольних рослин (огірки, гарбузи - збільшення числа жіночих квітів).

Опосередковано, через гальмування полярного переміщення ауксину, етилен посилює процес старіння рослин, скидання листя і плодів. Реалізація вказаних процесів відбувається за рахунок першопочаткового розростання віддільного шару клітин в основі черешка чи квітоніжки. Вказані клітин синтезують і виділяють ензими (целюлазу, пектиназу), які спричиняють руйнування клітинних стінок в клітинах відокремлювальної зони.

Механізм дії. Етилен специфічно зв'язується із рецептором-білком, локалізованим на мембранах апарату Гольджі, при цьому відбувається стимуляція синтезу енімів, які каталізують руйнування структурних компонентів клітинних стінок (cellulasei, pectinase). Для виробничих потреб розроблений препарат етилену - етефон, що при обробці рослин розкладається з вивільненням цього фітогормону.

Рослини містять й інші сполуки з фізіологічно активною дією. Це сполуки, які продукуються нижчими рослинами, мікроорганізмами та вищими рослинами (фузікокцин, галова кислота, фенол карбонові сполуки і т.д.).

Деякі фітогормони використовуються в якості гербіцидів – речовин, що знищують бур'яни, при цьому викликаючи виражені морфологічні зміни.

Ауксин 2,4Д – гормональні гербіциди, які не пошкоджують злакових, але знищують дводольні бур'яни.

Ретарданти – сповільнювачі росту пагонів, мають сприятливий вплив на стійкість до поглинання (ССС, фосфон Д), затримують синтез гіберелінів, чим зменшують довжину пагонів. Морфактини викликають прокидання бокових бруньок, що призводить до кущіння.

Лабораторна робота № 22

«Вплив фітогормонів на проростання пилку»

Мета роботи. Дослідити дію ауксину, цитокініну і гібереліну на процес проростання пилку.

Фітогормони є регуляторами багатьох процесів, в тому числі ростових, які відбуваються у вегетативних органах рослин. Саме їх баланс в рослинних тканинах впливає на ріст стебла, кореню, листка. Одночасно вони проявляють ефективний вплив і на генеративні органи рослин, забезпечуючи утворення та розвиток квітів і плодів, стимулюють цвітіння та регулюють процеси запліднення у рослин.

Матеріали та реактиви. Пилок, зібраний з пиляків квітів, які нещодавно розпустились, 1 % розчин агару на дистильованій воді з додаванням 10 % хімічно чистої сахарози, індолілоцтова кислота (3,5 мг/л середовища), гіберелін (1 мг/л), кінетик (1 мг/л).

Обладнання. Скельця (предметні, покривні), палички скляні, вазелін, термостат, мікроскоп, окуляр-мікрометр.

Хід роботи.

Пророщування пилку:

I модифікація методу - на поверхню предметного скла поміщають кільце зі скла висотою 0,5 см. В скляну камеру, яка утворилась таким чином, на дно нанести краплю води. Поверх скляного кільця розмістити покривне скельце, на нижню сторону якого (обернену всередину камери) нанести краплю агару з 10 % сахарозою, який засіяти пилком зі свіжорозкритого пиляка. Покривне скло по краю, прилягаючого до кільця, змазати вазеліном, щоб запобігти висиханню пилку. Предметне скло з камерою помістити в термостат з t 20-25 °C.

II модифікація методу - використовують предметні скельця, які мають лунки, куди слід внести краплю 10-20 % розчину сахарози із 0,01 % натрію борату (запобігає осмотичному розриву кінчиків пилкових трубок та стимулює ріст), струсити над краплею свіжорозкритий пиляк.

Після приготування препарату його оглядають під мікроскопом з однаковими часовими інтервалами. Локалізовані в кінчиках зростаючих пилкових трубок ядра при необхідності зафарбовують методом додавання до розчину барвників - ацетокарміну чи нейтрального червоного.

При підготовці досліду готують наступні проби:

- 1) контрольна (пиллок пророщений одним із вищезазначених методів);
- 2) пиллок пророщений в середовищі з додаванням індолілоцтової кислоти;
- 3) пиллок пророщений в середовищі з додаванням гібереліну;
- 4) пиллок пророщений в середовищі з додаванням кінетину.

Пиллок пророщують у термостаті за t 20-25°C впродовж 1 години. Інтервал між посівами у пробах повинен становити 10 хвилин. Дотримуючись інтервалу в 40 хвилин окуляром-мікрометром кілька разів слід виміряти довжину десяти пилкових трубок і порівняти швидкість їх росту в контрольній та дослідних пробах.

Одержані дані, виміряні в мкм/год, внести в таблицю 12:

Таблиця 12

Результати дослідів

Проби дослідів	Кількість пророслих пилкових зерен, шт		Довжина пилкової трубки, мкм		Швидкість росту, мкм/год
	за 40 хв	за 80 хв	за 40 хв	за 80 хв	
1) Контроль					
2) + ИОК					
3) + гіберелін					
4) + кінетин					

Висновок

Контрольні запитання та завдання до розділу «Фітогормони»

1. Дайте визначення поняттю Фітогормони.
2. Класифікація фітогормонів.
3. Перерахуйте синтетичні етилен-продуценти, що застосовуються для обробки рослин.
4. З якою метою у рослинництві використовують етилен?
5. Назвіть рослинні реакції, які є виявом синергічної дії різних ФГ.
6. Дія гіберелінів на репродуктивний розвиток рослин
7. Перерахуйте ФГ-антагоністи?
8. Зв'язок біосинтезу етилену і вмісту ауксину в рослинних тканинах?
9. Фізіологічна дія АБК: швидкі та повільні реакції рослин.
10. Яка рецепція та внутрішньоклітинний механізм цитокінінового сигналу?
11. Поясніть природу цитокінінової індукції пігментоутворення.
12. Як змінюється структура хлоропластів під впливом цитокініну?
13. Абсцизова кислота. Структура, біосинтез, транспорт та фізіологічна активність.
14. Дайте порівняльну характеристику реакціям рослин за впливу гібереліну і ауксину.
15. Опишіть взаємодію фітогормонів у регуляції спокою рослин.
16. Як широко використовуються гібереліни в господарстві різних країн і на яких рослинах?
17. Синтез якого фітогормона-інгібітора стимулює β -індолілоцтова кислота?
18. Де на практиці використовують ауксини?
19. Чи можна тестувати продуктивність рослин за розвитком кореневої системи у проростків?
20. Написати структурні формули: етилену, гіберелінової кислоти, абсцизової кислоти та індолилоцтової кислоти

Лабораторна робота № 23

«Оцінка цитотоксичної дії біхромату калію та пероксиду водню з використанням прижиттєвих барвників»

Мета роботи. Оцінити вплив модельних токсикантів ($K_2Cr_2O_7$ та H_2O_2) на ушкодження рослинних клітин з використанням світлової мікроскопії та прижиттєвого барвника.

Принцип методу. Метод світлової мікроскопії з використанням прижиттєвих барвників широко використовується у біологічних дослідженнях з метою ідентифікації кількості живих/мертвих клітин за впливу різноманітних фізико-хімічних чинників. Найчастіше з таких барвників перевагу надають трипановому синьому, нейтральному червоному, малахітовому зеленому, метиленовому синьому та іншим.

Механізми взаємодії клітин із вітальними барвниками наразі інтенсивно досліджуються. Відомо, що лізосомальний апарат приймає активну участь у знешкодженні речовин, які проникають в клітину. Барвники, проникаючи в цитоплазму клітини, першопочатково розміщуються дифузно, після чого накопичуються в апараті Гольджі як гранули, тому вони ще мають назву гранулярних. В залежності від концентрації барвника та термінів накопичення, зростає як розмір, так кількість таких гранул, що призводить до їх розповсюдження поза межі апарату Гольджі й поширення в усій цитоплазмі. Накопичувати гранули можуть лише життєздатні клітини. У пошкоджених і мертвих клітинах забарвлення барвником дифузне, охоплює цитоплазму, а також ядро. Барвники у клітинах рослин накопичуються у вакуолях і мають вигляд кольорових гранул, краплин чи кристалів різної форми і розміру, що в свою чергу є захистом протоплазми від токсичної дії цих речовин.

Матеріали та реактиви. Рослини (валіснерія, елодея або наяда); калію біхромат $K_2Cr_2O_7$ (0,01; 0,1; 1,0 мг/л), H_2O_2 (0,01, 0,1, 1 %), барвники (нейтральний червоний чи трипановий синій) з концентрацією 0,01 %.

Обладнання. Мікроскоп, предметне та покривне скельце, піпетки, склянки і колби мірні об'ємом 100 ml.

Хід роботи.

Занурити рослини у розчини, що містять модельні токсиканти різної концентрації, попередньо відміряні по 5-10 мл і налиті у хімічні склянки, та витримати впродовж 1 години. Після цього листки цих рослин перенести в розчин 0,01 % нейтрального червоного чи трипанового синього аналогічного об'єму 5- 10 мл та витримати також 1 годину.

Після цього забарвлені рослини перенести на предметні скельця і приготувати препарати, за якими провести спостереження з допомогою світлової мікроскопії. Для подальших досліджень у наяди і елодеї відбирають верхівкові пагони, у валіснерії – ту ділянку стебла, яка знаходиться в основі, тобто частини рослини з молодими клітинами.

Залишки стебла рослин переносять у посуд із дистильованою водою і витримують ще упродовж 1 години задля того, щоб відновити здатність рослинних клітин утворювати гранули. Готують тимчасові препарати для спостереження.

Оцінка рівня накопичення барвника (утворення гранул) в рослинних клітинах проводиться по наступній шкалі:

- гранули не утворились (цитоплазма забарвлена дифузно) – (–);
- слабкий (в клітині відмічається формування поодиноких гранул) – (+);
- середній (в клітині відмічається формування поодиноких гранул і невеликих грон) – (++);
- інтенсивний (в клітині відмічається формування великих грон гранул) – (+++).

Оцінка ступеня забарвлення в рослинних клітинах проводиться по наступній шкалі:

- відсутнє забарвлення – 0;
- слабкий колір (світло-рожевий) – 1;
- середній колір (інтенсивно-рожевий) – 2;
- інтенсивний колір (яскраво-малиновий) – 3.

Отримані результати оформити у вигляді таблиці:

Таблиця 13

Результати дослідів

<i>Вид рослини</i>	<i>Концентрація токсиканта</i>	<i>Забарвлення клітин після експозиції в розчинах токсиканта</i>		<i>Забарвлення клітин після експозиції в розчинах токсиканта і чистій воді</i>	
		<i>гранулярне</i>	<i>дифузне</i>	<i>гранулярне</i>	<i>дифузне</i>

Висновок

Запитання:

1. Що таке вітальні барвники, назвіть їх?
2. Які механізми обумовлюють безперешкодне проникнення вітальних барвників у цитоплазму?
3. Назвіть органоїди клітин рослини, що акумулюють вітальні барвники та токсичні речовини?
4. Перерахуйте чинники, що обумовлюють концентрування барвників у різних частинах клітини?

Лабораторна робота № 24 **«Кількісне визначення нітратів у рослинах»**

Мета роботи: визначити вміст нітратів в різних рослинах шляхом порівняння забарвлення з контрольними концентраціями нітратів.

Рослини засвоюють мінеральні речовини з ґрунту у формі різних сполук. Азот в процесі живлення використовується рослинами в різних формах, зокрема у вигляді молекулярного азоту повітря, або нітратної та амонійної форми, або органічного азоту.

Нітратна форма азоту є найоптимальнішою для живлення рослинного організму. Рослини поглинають нітрати (солі азотної кислоти) кореневою системою та відновлюють їх до аміаку. При анаболічному перетворенні, зокрема в реакціях трансамінування при взаємодії аміаку з кетокислотами утворюються амінокислоти. Також, під дією різних чинників нітрат може проходити паренхіму кореня рослини в незмінному вигляді і по ксилемі з висхідним током потрапляти до листків, в яких нітрат фотохімічним шляхом відновлюється до аміаку.

Нітрати, при нераціональному використанні агрохімікатів, зокрема понаднормовому використанні азотних добрив і за недостатнього освітлення, здатні накопичуватись в рослинах, плодах, овочах.

Середньодопустимий вміст нітратів в овочах і фруктах становить 2-3 мг на 1 кг їх сирової маси. Найбільше накопичення нітратів виявлено у листовій зелені, редисці, капусті, буряку, моркві та ін., в коренеплодах вони локалізуються переважно у верхній частині (ближче до листків).

Отже, вміст нітратів є важливим показником оцінки якості рослинної продукції, яку споживають з їжею.

Матеріали та реактиви: коренеплоди (морква, буряк), контрольний розчин нітратів (1,631 г хімічно чистого сухого калію нітрату KNO_3 розчинити у невеликому об'ємі дистильованої води та довести до 1 л), дифеніламін (0,5 %), розчинений в концентрованій сульфатній кислоті, дрібна терка, марля, скальпель, піпетки, фарфорові стаканчики.

Хід роботи

1. Підготувати стандарти, в яких концентрація KNO_3 в розрахунку на 1 л становить 10 мг, 125 мг, 250 мг, 500 мг і 1000 мг.

2. Стандарти KNO_3 розмістити в фарфорових стаканчиках так, щоб їх порядок був від нижчої концентрації до вищої.

3. В дослідні ємності внести по 2 краплі вичавленого соку з підготовлених та гомогенізованих коренеплодів.

4. В стаканчики зі стандартами і соком досліджуваних коренеплодів внести по 1 краплі дифеніламіну. При взаємодії реактиву з азотом впродовж 1-2 хвилин з'являється забарвлення. Через швидку зміну кольору, порівняння інтенсивності кольорів у дослідних стаканчиках зі стандартами, що мають різну концентрацію калію нітрату, необхідно якнайшвидше.

Таблиця 14

Результати дослідів

<i>Об'єкт</i>	<i>Забарвлення</i>	<i>Кількість нітратів</i>
К		
10 мг		
125 мг		
250 мг		
500 мг		
1000 мг		

У висновку вказати, в яких органах дослідних рослин проходить відновлення нітратів і як зовнішні умови впливають на їх вміст у рослинах.

Висновок

Запитання:

1. Як відбувається у рослинах перетворення нітратної форми в амонійну?
2. Назвіть методи визначення вмісту нітратів у рослинах?
3. В процесі живлення якими шляхами рослина може отримувати азот?
4. Яка допустима норма нітратів і нітритів в рослинній сировині?
5. В яких органах рослини нітрати піддаються перетворенням?

Лабораторна робота № 25

«Одержання розчину феофітину та металозаміщеного хлорофілу»

Хлорофіл відіграє провідну роль у процесі фотосинтезу, оскільки забезпечує світлопоглинання, передачу енергії та електронів.

Хлорофіл є складним ефіром дикарбонової хлорофілінової кислоти з метиловим спиртом та фітолом. Атом Mg^{2+} в структурі хлорофілу зумовлює зелене забарвлення пігменту. Вміст хлорофілу в рослинах під час вегетації зазнає постійних змін: зростає до настання фази цвітіння та поступово зменшується до закінчення вегетації.

Матеріали і реактиви: листя, 95 % етиловий спирт, 10 % розчин HCl , цинку ацетат кристалічний.

Обладнання: ступка керамічна з товкачиком, пробірки, колба, фільтрувальний папір, спиртівка, лійка скляна, фольга.

Хід роботи

Відважити 0,5 г листя і перетерти в ступці поступово додаючи 5-6 мл етилового спирту. Профільтрувати отриману масу через паперовий фільтр. У першу пробірку внести 2-3 мл фільтрату і додати 2 краплі 10 % розчину HCl . Під час руйнування металоорганічного зв'язку втрачається іон магнію та утворюється феофітин, при цьому відбувається зміна кольору розчину.

У другу пробірку також внести 2-3 мл фільтрату, додати кілька кристалів цинку ацетату і, попередньо накривши пробірку фольгою, закип'ятити. Утворюється аналог хлорофілу (іон цинку вбудовується замість іона магнію).

Висновки.

Запитання:

1. Яка ультраструктура хлоропластів.
2. Для розвитку яких пластид потрібне світло?
3. Назвіть роль хлоропластів у рослинній клітині.
4. Вкажіть, в якій тканині листків фотосинтез найшвидший?

Лабораторна робота № 26 «Відновлення цитохрому с»

Мета роботи. Дослідити здатність до відновлення цитохрому с.

Цитохром с є важливим компонентом електронно-транспортного ланцюга мітохондрій, роль якого полягає у забезпеченні транспорту електронів на ділянці дихального ланцюга між цитохромами в і а. Цитохром с - складний білок, що включає простетичну групу, яка є похідною протопорфірину IX і включає іони феруму – металу зі змінною валентністю, що дозволяє здійснювати перехід з окисненої у відновлену форму. Завдяки таким властивостям цитохрому с є важливою ланкою процесів біологічного окиснення.

Принцип методу. Аскорбінова кислота здатна відновлювати цитохром с і окиснюючись утворювати дигідроаскорбінову кислоту. Завдяки відновленню цитохрому с відбувається зміна забарвлення розчину.

Матеріали і реактиви: свіжа рослинна тканина, дистильована вода, 0,5М р-н аскорбінової кислоти.

Обладнання: штатив з пробірками, терка, ножиці, марля, фарфорові ступки, мірний циліндр, скляні лійки, паперові фільтри, ваги.

Хід роботи.

5 г рослинної тканини (листя, плоди) ретельно подрібнити за допомогою ножиць або терки і перетерти товкачиком в ступці до гомогенної маси, поступово додаючи дистильовану воду (чотирикратний об'єм).

Отриману масу відфільтрувати через паперовий фільтр або кілька шарів марлі, промиваючи осад на фільтрі дистильованою водою до прозорості стікаючої рідини. Цей осад містить комплекс цитохромів, дегідрогенази, цитохромоксидазу та інші, використовується для проведення дослідження: перенести його з фільтру в пробірку та внести з допомогою піпетки 2 мл 0,5 М розчину аскорбінової кислоти. Результати спостереження записати і зробити висновок.

Висновок

Запитання:

1. Напишіть схему перенесення електронів в системі цитохромів.
2. Чим подібні та відмінні будова і функції гемоглобіну та цитохромів?
3. Яка функціональна роль переходу цитохрому с із окисненої у відновлену форму?
4. Які типи цитохромів ви знаєте і в чому полягає відмінність між ними?
5. Де локалізовані основні компоненти цитохромної системи?

Лабораторна робота № 27

«Дослідження процесу фосфорилуючого окиснення»

Мета роботи. Встановити перебіг процесу фосфорилуючого окиснення в мітохондріях рослин.

Процес синтезу аденозинтрифосфату з аденозиндифосфату та залишку фосфатної кислоти, який поєднаний з процесами окиснення в клітинах, має назву фосфорилуюче окиснення. Залежно від того, за яким принципом відбувається енергетичне спряження, виділяють фосфорилуюче окиснення на рівні субстрату і на рівні електронно-транспортного ланцюга. Якщо це субстратне фосфорилування, активний залишок фосфатної кислоти переноситься на аденозиндифосфат з продукту окиснення субстрату, тому

таким чином утворюється невелика кількість АТФ (анаеробне окиснення вуглеводів, третій етап виділення енергії циклу Кребса). Тоді як другий вид, окисне фосфорилування, що відбувається в електронно-транспортному ланцюзі, реалізується при тканинному диханні чи біологічному окисненні.

Матеріали і реактиви: мітохондрії у вигляді суспензії, 1,5 М розчин KCl, фосфатний буфер (рН...7,4), АДФ, субстрат (ізоцитрат, сукцинат, малат, глутамінова кислота (0,3 М розчин з рН 7,4), 10 % розчин ТХО, 2,5 % р-н амонію молібдату, 0,3 М р-н аскорбінової кислоти в 0,1 н розчині HCl, дистильована вода.

Для приготування фосфатного буферу з рН 7,4 в мірний циліндр (V 200 мл) до 81 мл 0,2 М розчину Na_2HPO_4 додати 19 мл 0,2 М р-ну NaH_2PO_4 та долити в суміш дистильовану воду до позначки (200 мл).

Для приготування інкубаційної суміші до 0,1 мл 1,5 М р-ну KCl додати фосфатний буферний розчин (рН...7,4) - 0,2 мл, 0,5 М розчин магнію хлориду - 0,1 мл та 0,25 М розчин сахарози - 0,6 мл. В отриману суміш внести 0,02 мл розчину аденозиндифосфату (*протис:* 45 мг аденозиндифосфату розчинити в 1 мл фосфатного буферу). Суміш аденозиндифосфату зберігається в замороженому вигляді при -22 °С). Інкубаційну суміш готують безпосередньо перед використанням.

Обладнання: хімічний штатив, пробірки, скляні піпетки, автоматичні піпетки, мірні циліндри, скляні лійки, паперові фільтри, термостат.

Хід роботи

В пробірках 1 і 2 вносимо реактиви в кількостях та послідовності, наведених в таблиці 15.

Таблиця 15

Послідовність виконання роботи

<i>Реактиви</i>	<i>Пробірка 1</i>	<i>Пробірка 2</i>
Інкубаційна суміш	1 мл	1 мл
Розчин АДФ	0,02 мл	0,02 мл
Субстрат	0,5 мл	-
Суспензія мітохондрій	0,5 мл	0,5 мл
Дистильована вода	-	0,5 мл
Інкубація в термостаті 37 °С 15 хвилин		
10 % р-н ТХО	0,1 мл	0,1 мл
Профільтрувати через складчастий фільтр		

Фільтрати використати для визначення фосфатної кислоти: в 1 і 2 пробірку внести 2,5 % розчин амонію молібдату (2 мл) та розчин аскорбінової кислоти в 0,1 н HCl (0,5 мл). Відмітити зміну кольору розчинів та зробити і записати висновок з поясненням отриманих результатів.

Висновок

Запитання:

1. Які є ділянки спряження в дихальному ланцюзі мітохондрій?
2. Напишіть реакцію циклу Кребса, де відбувається окисне фосфорилювання на рівні субстрату.
3. Якими шляхами утворюється аденозинтрифосфат у гетеротрофних організмів.

ТЕРМІНОЛОГІЧНИЙ СЛОВНИК

Аланін - аліфатична амінокислота (замінна), що має дві форми - альфа-аланін є структурною одиницею білків, бета-аланін – біологічно активних речовин.

Амілаза - ензим, який виробляється підшлунковою залозою і слинними залозами та каталізує розщеплення крохмалю.

Амінокислоти - це органічні кислоти, у молекулах яких один або кілька атомів водню заміщені аміногрупами.

Анаболізм - єдність хімічних реакцій в живому організмі, які забезпечують створення і поновлення структури тканин та органів; є одним із етапів проміжного обміну, який забезпечує процеси ферментативного синтезу складних сполук з більш простих низькомолекулярних попередників з використанням енергії АТФ і подібних макроергів; має тісний взаємозв'язок з **катаболізмом** (протилежний процес).

Антиоксиданти - речовини, які пригнічують окиснення і можуть нейтралізувати окисну дію вільних радикалів і інших речовин.

Аргінін - основна α -амінокислота, її L-форма належить до 20 так званих протейногенних амінокислот, які закодовані генетичним кодом (кодони ЦГА, ЦГУ, ЦГГ, ЦГЦ, АГА, АГГ у мРНК) та є основою протейнів.

Асиміляція - синтез речовин, необхідних для життєдіяльності організму.

Азотистий обмін - хімічні реакції в живому організмі, у яких беруть участь сполуки, що містять Нітроген (азот).

Бактерії - це найпростіша група одноклітинних мікроорганізмів, які відносяться до надцарства прокаріотів.

Біосинтез - процес утворення складних органічних речовин у живих організмах з інших сполук, які потрапляють до них ззовні чи утворюються в них самих, під дією біокаталізаторів.

Протеїни- високомолекулярні азотовмісні органічні речовини, молекули яких складаються із залишків амінокислот.

Безкисневий (анаеробний) обмін - відбувається в гіалоплазмі і призводить до вивільнення невеликої кількості енергії.

Біогенні аміни – речовини, що містять одну чи кілька аміногруп та синтезуються в організмі тварини і рослини за рахунок декарбоксилування амінокислот або приєднання аміногрупи до альдегідів і кетонів.

Біполярний іон - це своєрідна внутрішньо-молекулярна сіль, яка утворюється внаслідок переходу протона (H^+) від карбоксильної до аміногрупи.

Віруси – неклітинна форма життя, що не здатна розмножуватись клітинним діленням і використовує живі клітини для створення своїх нових копій; на противагу прокаріотам і еукаріотам має малі розміри, не має систем протеїнутворення, належить до облигатних внутрішньоклітинних паразитів.

Вітаміни – група органічних сполук, необхідних для забезпечення нормального функціонування організму та є структурними компонентами багатьох ензимів та гормонів, які в свою чергу є регуляторами різних біохімічних реакцій.

Вода – найпоширеніша речовина на Землі в її приповерхневому шарі, що входить до продуктів харчування і впливає на їх харчову цінність, смак, тривалість зберігання, мікробіологічні показники та біохімічну активність.

Водневий показник рН - відносний показник кислотності. рН дорівнює значенню від'ємного десяткового логарифму концентрації іонів водню в даному середовищі.

Вторинна структура білків - це просторова конфігурація білкової молекули. Виділяють три типи вторинної структури: α -спіральна, β -складчаста і колагенова спіраль.

Вуглеводи - це органічні сполуки, які у своєму складі містять переважно карбон, гідроген та кисень, а співвідношення атомів гідрогену та кисню таке як у воді.

Гідроліз - реакція обмінної взаємодії речовин із водою.

Гістидин - амінокислота, що є складовою білків. Гістидин є попередником нейромедіатора гістаміну, який виконує роль сигнальної сполуки в алергічних процесах.

Глутамінова кислота - аліфатична α -амінокислота, що зустрічається в усіх організмах у вільному вигляді та є складовою білків.

Глікоген - полісахарид, гомополімер α -глюкози, що є резервною її формою для зберігання в клітинах тварин, більшої частині грибів, багатьох бактерій і архей.

Гліколіз - ланцюг із десяти реакцій хімічних перетворень, в результаті яких з глюкози $C_6H_{12}O_6$ утворюється 2 пірувати ($CH_3(CO)COOH$), а також АТФ (аденозинтрифосфат) і НАДН (відновлений нікотинамідаденіндинуклеотид).

Гідрофобність - властивість деяких речовин не розчинятися у воді.

Гліцин - одна із двадцяти амінокислот, які входять до складу білків.

Гістамін - сполука органічного походження, належить до біогенних амінів, медіаторів алергічної реакції негайного типу, регуляторів численних фізіологічних процесів.

Дегідрогенізація - відщеплення водню від молекул хімічних сполук.

Денатурація - руйнування високорівневої структури макромолекул під впливом екстремальних умов довкілля, зокрема дії кислот або основ, високих концентрацій неорганічних солей чи органічних розчинників, зміни температури.

Дисахариди - це глюкозиди моносахаридів, їх емпірична формула $C_{12}H_{22}O_{11}$. Залишки моносахаридів у молекулах дисахаридів можуть бути зв'язані між собою двома напівацетальними гідроксидами або напіацетальним гідроксидом одного моносахарида і будь-яким іншим гідроксидом іншого моносахарида.

Дисиміляція - окислювально-відновлювальний процес ферментативного розщеплення органічних речовин у клітинах живих організмів на простіші з вивільненням енергії, накопиченої в процесах біологічної асиміляції.

Дисоціація води – це розпад на іони H^+ і OH^-

Діаліз - це очищення колоїдних і високомолекулярних розчинів від розчинених в них низькомолекулярних сполук за допомогою напівпроникної мембрани.

Ензими (ферменти) - це біологічні каталізатори білкової природи, які синтезуються у живих клітинах. Ферменти направлено каталізують біохімічні реакції у клітині та регулюють обмін речовин.

Енергетичний обмін – це метаболічні процеси, в результаті яких синтезується АТФ, запасається енергія, яка далі використовується при функціональній активності клітин.

Етери - це органічні сполуки, у яких два вуглеводневих радикала сполучені атомом кисню.

Жири – це клас органічних сполук, молекули яких складаються із залишків молекул багатоатомного спирту гліцеролу та вищих карбонових кислот.

Катаболізм – система реакцій каталітичного розщеплення різних біоорганічних молекул (вуглеводів, ліпідів, протеїнів, нуклеїнових кислот,), які організм отримує ззовні у вигляді продуктів харчування, кормів, а також тих біомолекул, що формують структуру клітин та тканин організму, задля утворення хімічної енергії.

Крохмаль - рослинний високомолекулярний полісахарид амілози і амілопектину, мономером яких є глюкоза.

Кофермент - молекула небілкової природи, що вільно зв'язується з ферментом та важлива для його каталітичної активності.

Лізін - амінокислота.

Ліпаза - це фермент, який каталізує реакції гідролізу жирів.

Мальтоза - це дисахарид, що складається з двох мономерів глюкози, з'єднаних глікозидним зв'язком.

Метаболізм – це безперервний і саморегульований кругообіг речовин, який відбувається у процесі існування живих організмів.

Метіонін - незамінна амінокислота, що входить до складу ферментів та майже всіх тканин.

Мінеральні речовини - хімічні сполуки та прості речовини, що мають кристалічну будову та чітко визначений хімічний склад і утворились внаслідок геологічних та космічних процесів.

Моносахариди - найпростіші вуглеводи, які не здатні гідролізуватись до простіших вуглеводів, та за хімічною будовою поділяються на альдози і кетози. До моносахаридів належать глюкоза, фруктоза, галактоза, рибоза, дезоксирибоза та інші.

Нуклеїнові кислоти - складні високомолекулярні біополімери, мономерами яких є нуклеотиди.

Нуклеопротейни - складні білки, комплекси нуклеїнових кислот з протеїнами.

Обмін речовин - сукупність хімічних реакцій, що відбуваються в живих організмах.

Обмін речовин з навколишнім середовищем - це хімічні процеси, в результаті яких поживні речовини потрапляють в організм, а продукти обміну виводяться у зовнішнє середовище.

Олігосахариди - полімери моносахаридів, що включають від 2 до 10 їх залишків, з'єднаних один з одним глікозидними зв'язками, і характеризуються невеликою молекулярною масою. Вони добре розчинні в воді, легко кристалізуються, солодкі на смак.

Ортофосфатна кислота - неорганічна кислота (H_3PO_4), яка утворює ряд солей ортофосфатів.

Пептидний зв'язок - ($-\text{CO}-\text{NH}$) утворюється між карбоксильною групою однієї амінокислоти із аміногрупою (у α -положенні) іншої амінокислоти.

Пептиди - органічні сполуки, які утворюються внаслідок поліконденсації амінокислот, тобто взаємодії їх α -карбоксильної та α -аміногруп.

Первинна структура білків - це якісний і кількісний склад амінокислот, а також їх послідовність розміщення у поліпептидному ланцюзі білкової молекули.

Пластичний обмін - це комплекс хімічних реакцій, які забезпечують синтез специфічних для організму речовин: структурних компонентів, скоротливих білків, ензимів, гормонів, жирів, складних вуглеводів тощо.

Полісахариди - це високомолекулярні сполуки, які побудовані із великої кількості залишків моносахаридів та їх похідних.

Пролін - амінокислота гетероциклічного ряду, яка входить до складу білків рослинних і тваринних організмів.

Проміжний обмін - це внутрішньоклітинне перетворення речовин, які потрапляють із зовнішнього середовища або синтезуються в клітинах.

Рецептор - білкова молекула великого розміру, яка специфічно змінює свою просторову конформацію при приєднанні до неї молекули хімічної речовини (ліганд) або у відповідь на фізичне подразнення (механічне, теплове, електричне і т.п.).

Рибоза - моносахарид, що належить до класу пентоз групи альдопентоз.

Рибuloза - це кетопентоза - моносахарид, що містить п'ять атомів вуглецю і включає кетоніву функціональну групу.

Серин - амінокислота ($\text{HOCH}_2\text{CHCOOH}$).

Стереїзомери - молекулярні структури з однаковими атомами й характером зв'язків, які відрізняються розміщенням у просторі.

Сфінголіпіди - це складні ефіри сфінгозинових основ. В молекулах природних сфінголіпідів взаємодія сфінгозинової основи із залишком жирної кислоти відбувається не по гідроксильній групі, а через аміногрупу з утворенням амідного зв'язку.

Токсини - речовини різної хімічної природи і походження, які при визначених умовах і в певних дозах або концентраціях викликають порушення та розлади процесів життєдіяльності організму, розвиток отруєння (інтоксикації) чи інших хвороб, патологічних станів і смертельних наслідків.

Третинна структура білків - це перетворення розгорнутого поліпептидного ланцюга в компактну молекулу.

Ферменти (ензими) - це біологічні каталізатори білкової природи, які синтезуються у живих клітинах. Ферменти наведено каталізують біохімічні реакції у клітині та регулюють обмін речовин.

Фітогормони – це низькомолекулярні органічні сполуки, які синтезуються рослинами і проявляють регуляторні функції.

Фосфоліпіди - це похідні гліцеролу, які містять залишки жирних кислот, фосфорної кислоти, спирту (холін, етаноламін), амінокислоти тощо.

Функціональний обмін - це хімічні реакції, які забезпечують функціональну активність клітин, органів, тканин, систем організму.

Четвертинна структура білків - це характерний спосіб об'єднання і розміщення у просторі окремих поліпептидних ланцюгів, які складають одну функціонально індивідуальну молекулу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бацманова, Л. М. Активність супероксиддисмутази та каталази в листках проростків озимої пшениці за дії екзогенного пероксиду водню. *Український біохімічний журнал*. 2008. т. 80, № 6. С.101-105.
2. Остапченко Л.І., Рибальченко В.К. Біологічна і біоорганічна хімія: підручник у 2 томах. Київ, 2015. 918 с.
3. Біологічна і біоорганічна хімія. В 2 кн. Кн. 2: Біологічна хімія / За ред. Ю.І. Губського, І.В. Ніженковської. Київ: Медицина, 2017. 544 с.
4. Біохімія : підручник / за ред. А.Л. Загайка, К. В. Александрової. Харків: Форт, 2014. 728 с.
5. Біохімія: підручник / Кучеренко М.Є. та ін. Київ: ВПЦ «Київський університет», 2002. 480 с.
6. Біохімія: підручник / Остапченко Л.І. та ін.; за ред. Л.І. Остапченко. Київ: ВПЦ «Київський університет», 2012. 796 с.
7. Володимирець В.О. Біохімія рослин: інтерактивний комплекс навчально-методичного забезпечення. Рівне: НУВГП, 2006. 127 с.
8. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини: підручник. Тернопіль: Укрмедкнига, 2017. 732 с.
9. Григорюк І.П., Бойко О.А., Прилуцька С.В. Фізіологія рослин з основами біохімії: практикум. Київ: Аграр Медіа Груп, 2014. 148 с.
10. Злобін Ю.А. Курс фізіології і біохімії рослин: підручник. Суми: ВТД “Університетська книга”, 2004. 464 с.
11. Иншина Н.Н. Курс лекций по биохимии. Раздел «Белки»: учебное пособие. Сумы: СумГУ, 2018. 47 с.
12. Кобилецька М.С., Терек О.І. Біохімія рослин : навч. посіб. Львів: ЛНУ ім. І. Франка, 2017.– 269 с.
13. Ковальов В.М., Павлій О., Ісакова Т.І. Фармакогнозія з основами біохімії рослин. Харків: Прапор, 2000. 706 с.
14. Красільнікова Л.О., Авксентьева О.О., Жмурко В.В. Біохімія рослин. Харків: Колорит, 2007. 191 с.
15. Кучеренко М.Є., Бабенюк Ю.Д., Войціцький В.М. Сучасні методи біохімічних досліджень. К.: Фітосоціоцентр, 2001. 424 с.
16. Сиволоб А.В. Молекулярна біологія: підручник. Київ: ВПЦ «Київський університет», 2008. 384 с.
17. Наконечна О.А., Бачинський Р.О. Біохімія ферментів. Аспекти медичної ензимології : навч.-метод. посібник. Харків, 2020. 48 с

18. Склярів О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія: підручник. Тернопіль: Укрмедкнига, 2020. 706 с.
19. Ліпіди рослин / Таран Н.Ю., Косик О.І., Оканенко О.А., Бацманов Л.М. Київ: Ленвіт, 2006. 104 с.
20. Фізіологія рослин: практикум / О.В. Войцехівська та ін.; за заг. ред. Т.В. Паршикової. Луцьк: Терен, 2010. 416 с.
21. Чевари С., Чаба И., Секей Й. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах. *Лабораторное дело*. 1985. Вып. 11. С. 678-681.
22. Buchanan B.B., Gruissem W. Jones R.L. Biochemistry & Molecular Biology of Plants. 2000, ASPP., 1320 p.
23. Bowsher C., Tobin A. Plant Biochemistry. Garland Science, 2021. 490 p.
24. Nelson D.L., Cox M.M. Lehninger Principles of Biochemistry. Publisher: W.H. Freeman (15th Edition), 2009. 1100 p.
25. Nelson D.L., Cox M.M. Lehninger: principles of biochemistry (4th edn). W.H. Freeman & Co., New York, 2004. 1119 p.
26. Tipton K., McDonald A. A Brief Guide to Enzyme Nomenclature and Classification. 2018. <https://iubmb.org/wp-content/uploads/sites/10116/2018/11/A-Brief-Guide-to-Enzyme-Classification-and-Nomenclature-rev.pdf>
27. Tipton K. "Translocases (EC 7): A new EC Class". ExplorEnz - The Enzyme Database.
<https://iubmb.org/wp-content/uploads/sites/10116/2018/10/Translocases-EC-7.pdf>
28. Worthington. Enzyme manual. URL: <http://www.worthington>.

ДОДАТКИ

Додаток 1. Основи клітини

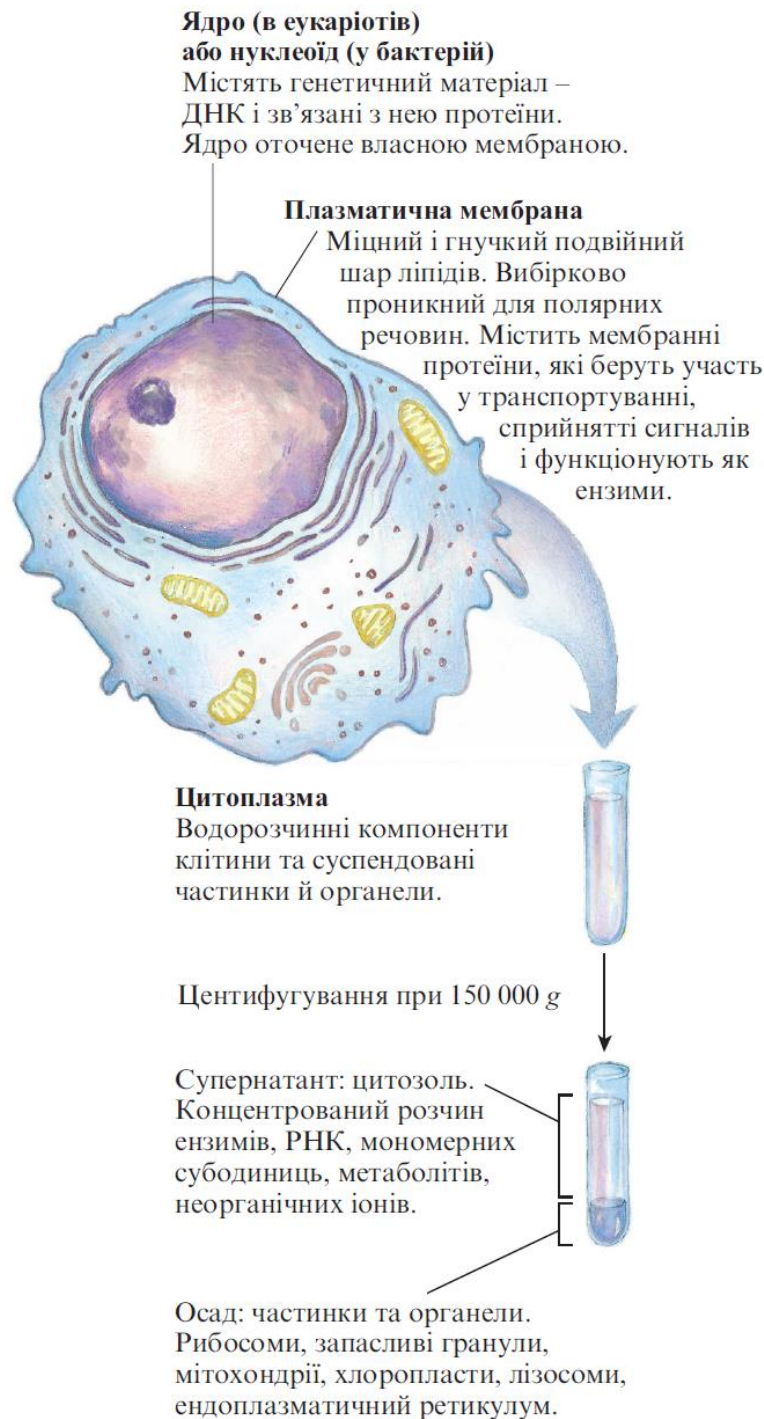
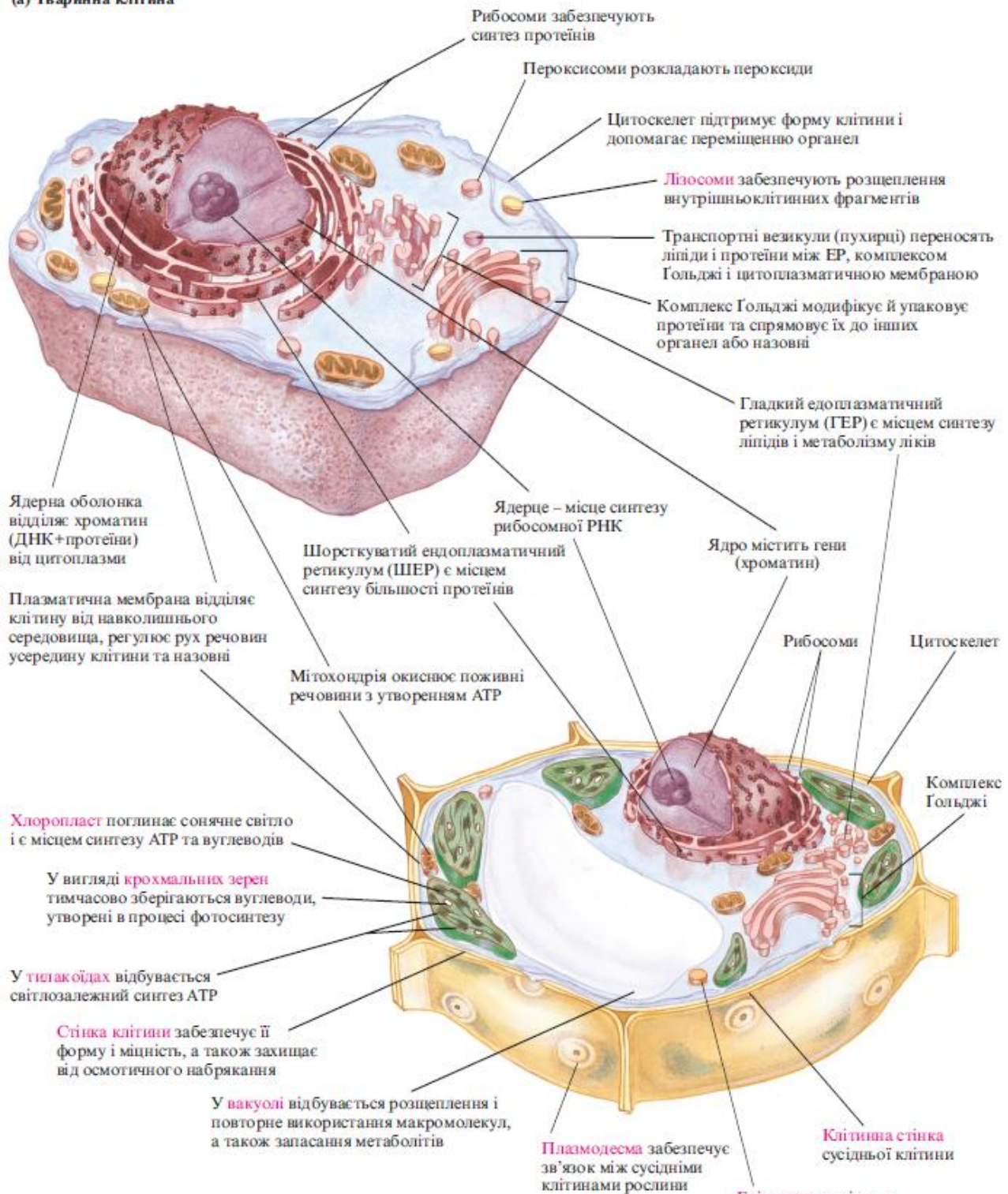


Рис. 1. Будова живої клітини [24]

(а) Тваринна клітина



(б) Рослинна клітина

Рис. 2. Будова еукаріотичної клітини тварин (а) і рослин (б) [24]

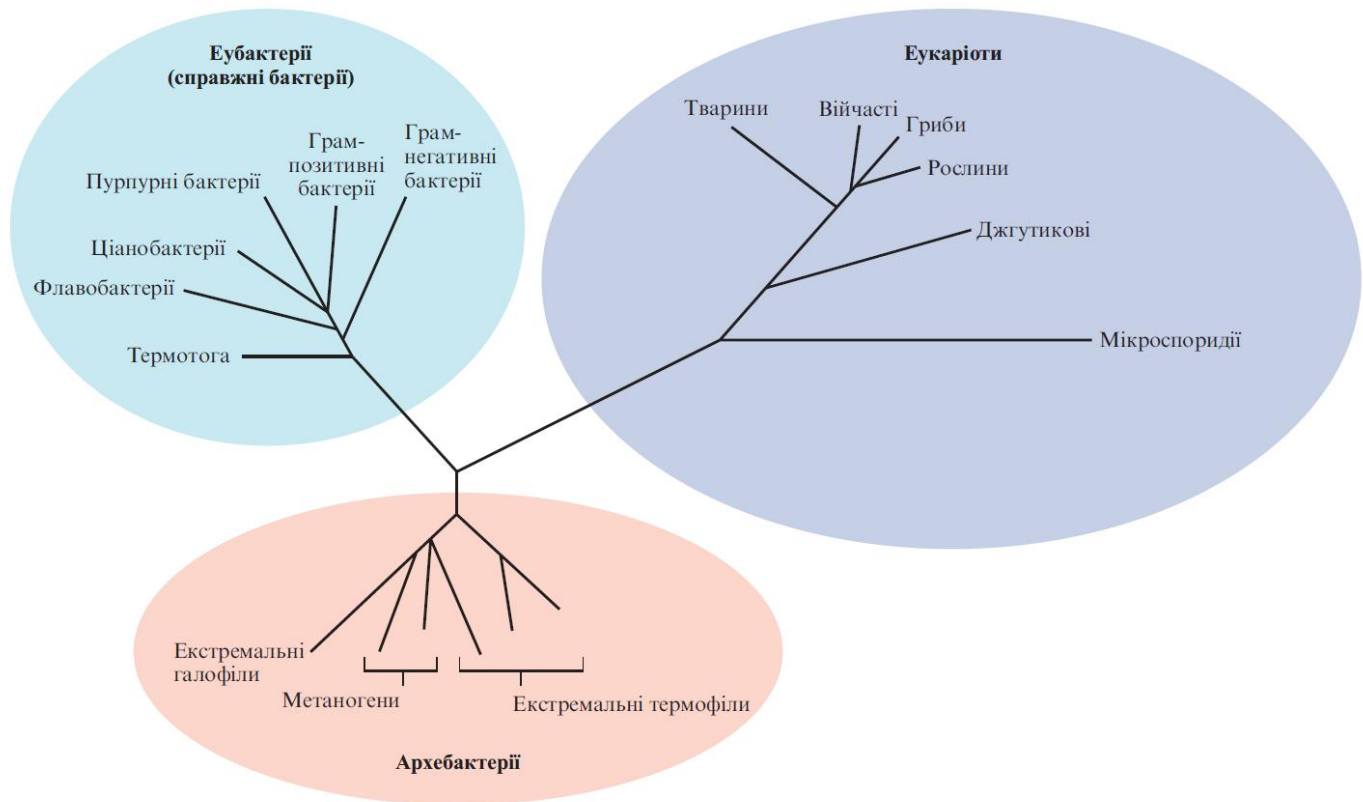


Рис. 3. Філогенія трьох царств живих організмів [24]

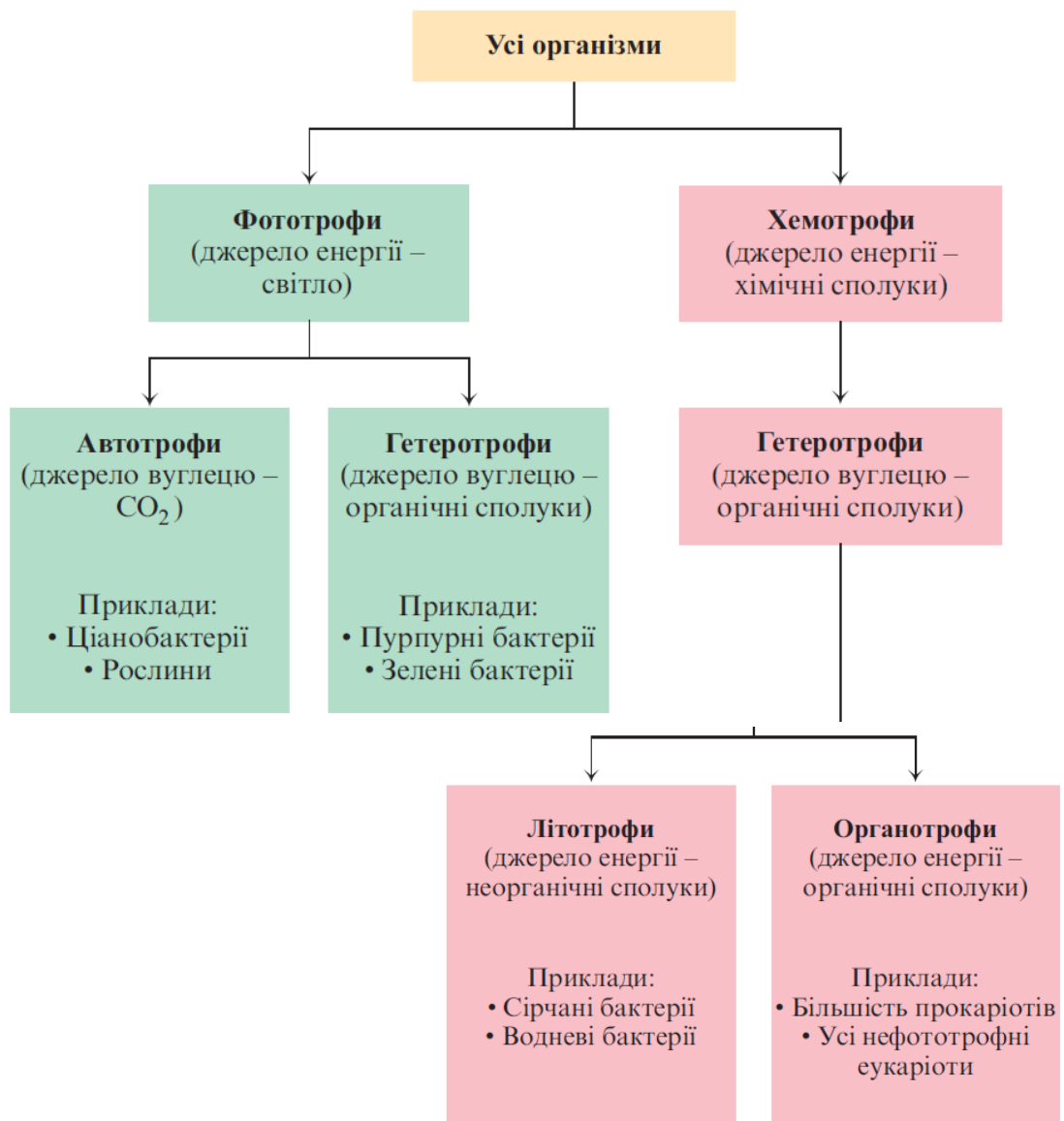


Рис. 4. Класифікація організмів за джерелами енергії і карбону, які використовуються для синтезу [24]

Тип зв'язку	Енергія дисоціації зв'язку*, кДж/моль	Тип зв'язку	Енергія дисоціації зв'язку*, кДж/моль
Одинарні зв'язки		Подвійні зв'язки	
O–H	470	C=O	712
H–H	435	C=N	615
P–O	419	C=C	611
C–H	414	P=O	502
N–H	389		
C–O	352	Потрійні зв'язки	
C–C	348	C≡C	816
S–H	339	N≡N	930
C–N	293		
C–S	260		
N–O	222		
S–S	214		

Рис. 5. Міцність хімічних зв'язків у молекулах

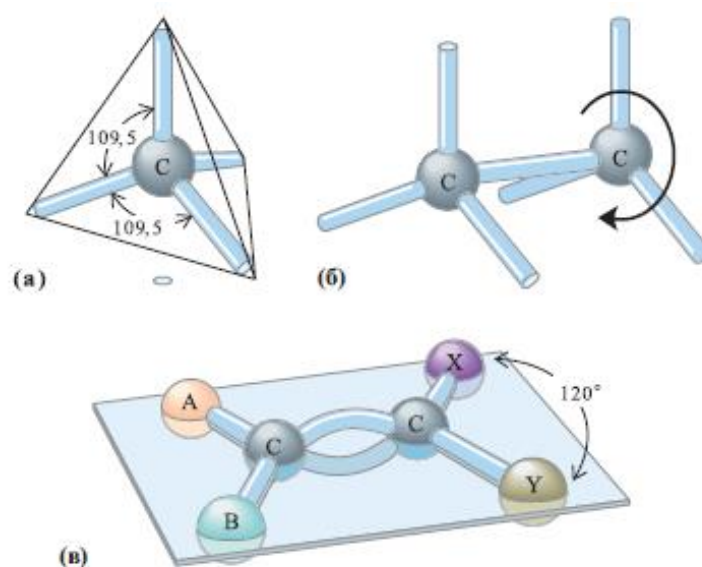


Рис. 6. Геометрія зв'язування карбону [24]

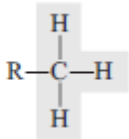
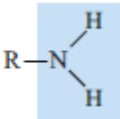
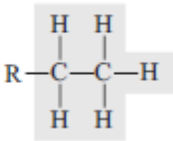
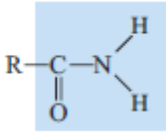
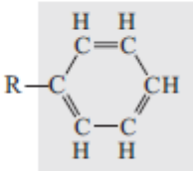
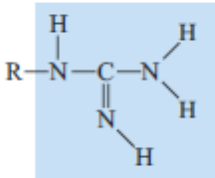
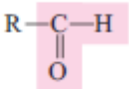
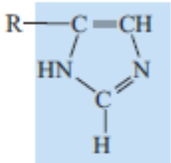
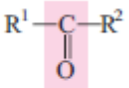
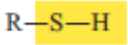
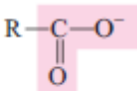
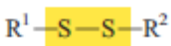
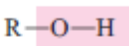
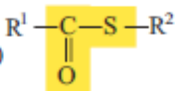
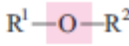
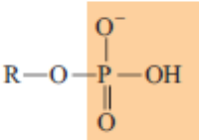
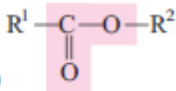
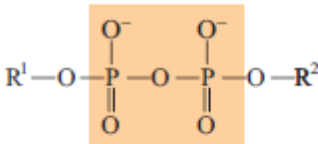
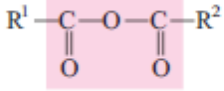
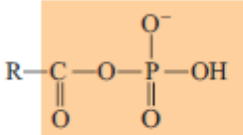
Метил		Аміно	
Етил		Амідо	
Феніл		Гуанідино	
Карбоніл (альдегід)		Імідазол	
Карбоніл (кетон)		Сульфогідрил	
Карбоксил		Дисульфід	
Гідроксил (спирт)		Тіоефір (інша назва – тіоестер)	
Ефір (інша назва – етер)		Фосфорил	
Складний ефір (інша назва – естер)		Фосфоангідрид	
Ангідрид (двох карбонових кислот)		Змішаний ангідрид (карбонової і фосфорної кислот, інша назва – ацилфосфат)	

Рис. 7. Поширенні функціональні групи біомолекул [24]

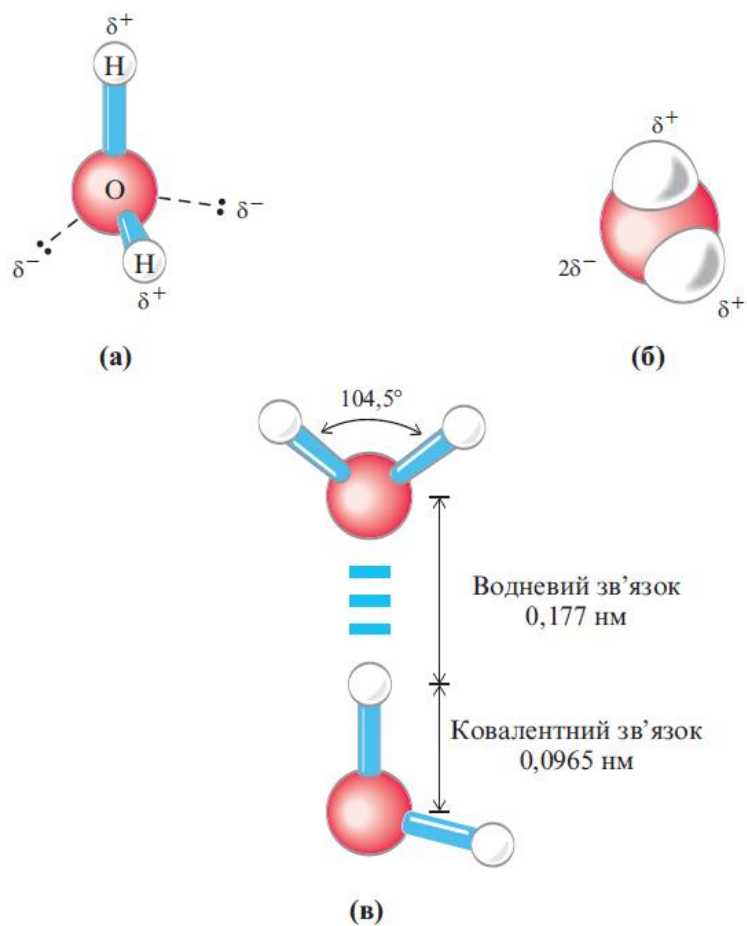


Рис. 8 Структура молекули води [24]

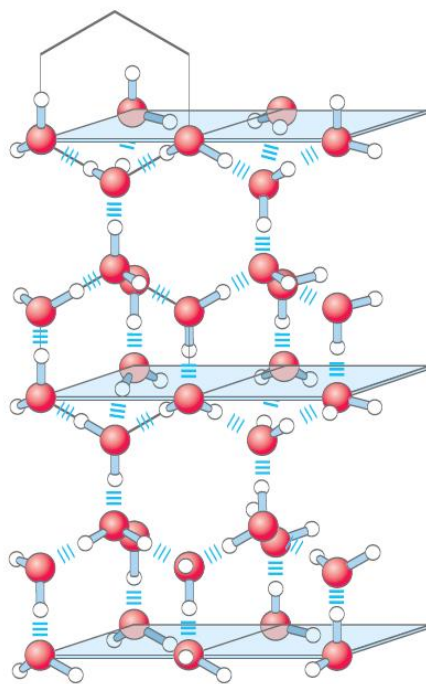
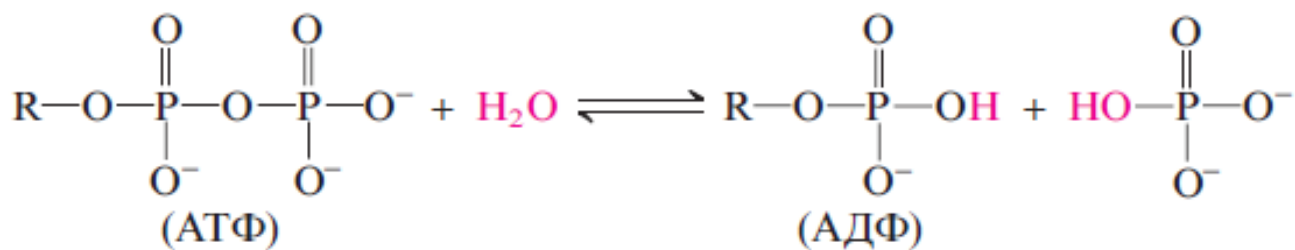
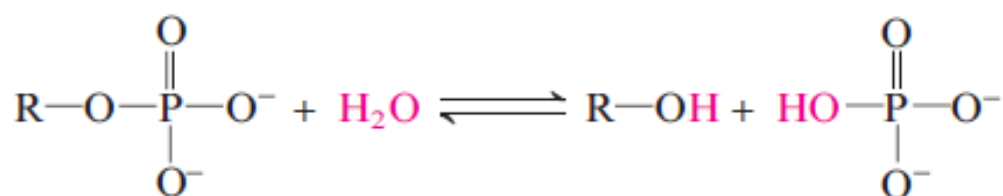


Рис. 9 Водневі зв'язки [24]



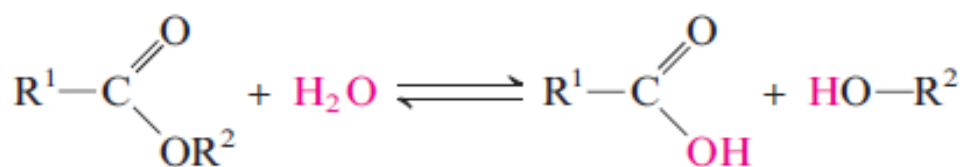
Фосфоангідрид

(a)



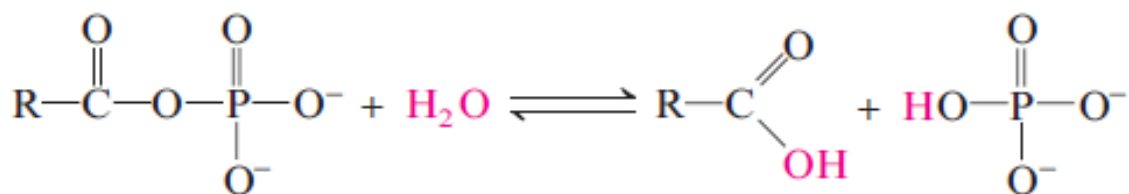
Фосфатний ефір

(6)



Карбоксилатний ефір

(B)



Ацилфосфат

(I)

Рис. 10. Участь води у біологічних реакціях [24]

$[H^+], M$	pH	$[OH^-], M$	pOH^*
$10^0 (1)$	0	10^{-14}	14
10^{-1}	1	10^{-13}	13
10^{-2}	2	10^{-12}	12
10^{-3}	3	10^{-11}	11
10^{-4}	4	10^{-10}	10
10^{-5}	5	10^{-9}	9
10^{-6}	6	10^{-8}	8
10^{-7}	7	10^{-7}	7
10^{-8}	8	10^{-6}	6
10^{-9}	9	10^{-5}	5
10^{-10}	10	10^{-4}	4
10^{-11}	11	10^{-3}	3
10^{-12}	12	10^{-2}	2
10^{-13}	13	10^{-1}	1
10^{-14}	14	$10^0 (1)$	0

* Значення pOH іноді використовують для позначення лужності розчину, або концентрації в ньому OH^- ; pOH визначають за рівнянням $pOH = -\lg [OH^-]$, аналогічним до рівняння для pH . Зауважте, що завжди $pH + pOH = 14$.

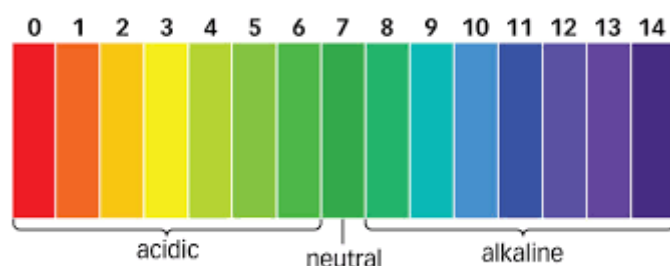


Рис. 11. Шкала pH

$$pH = \lg \frac{1}{[H^+]} = -\lg[H^+]$$

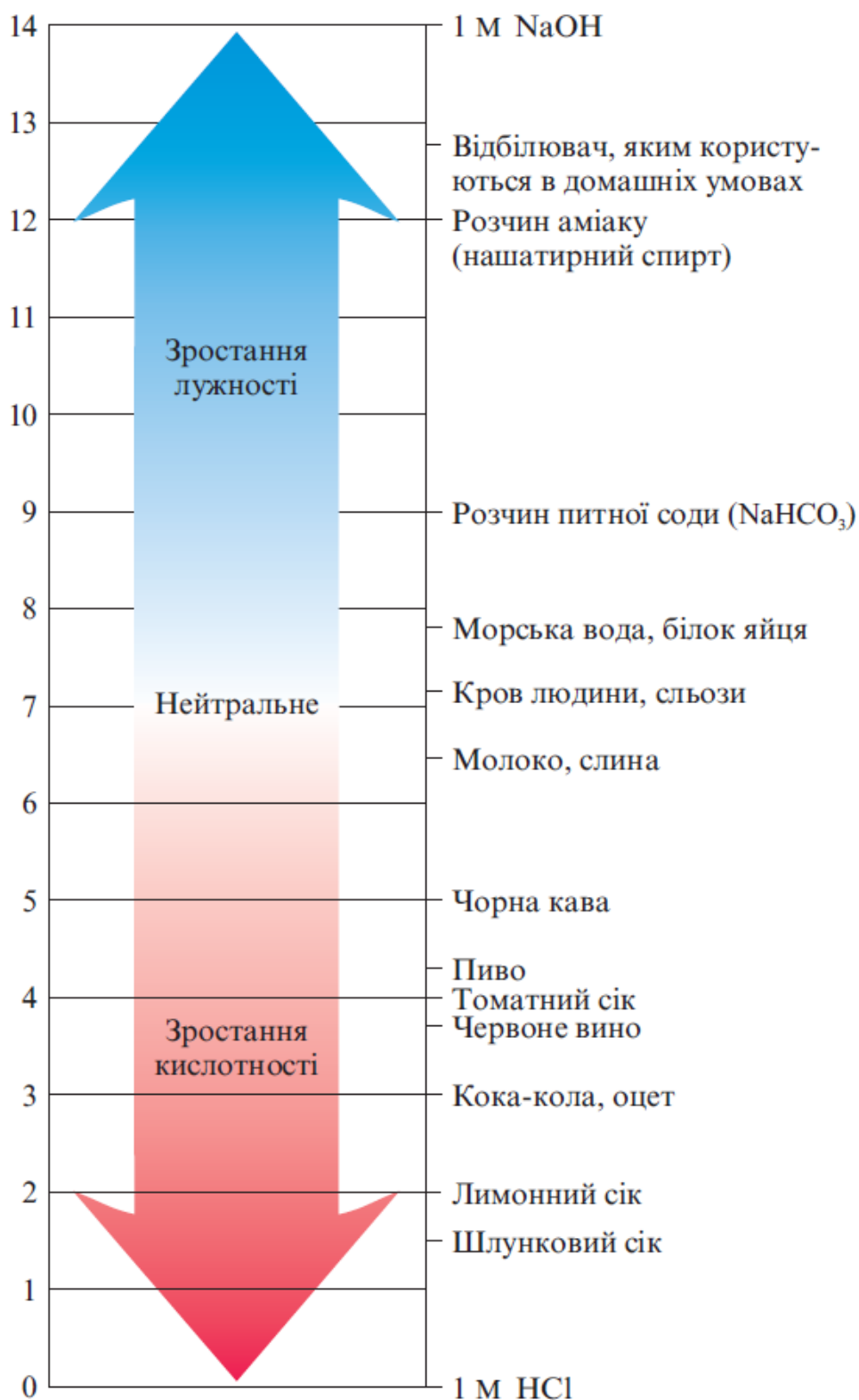


Рис. 12. Значення рН деяких водних розчинів [24]

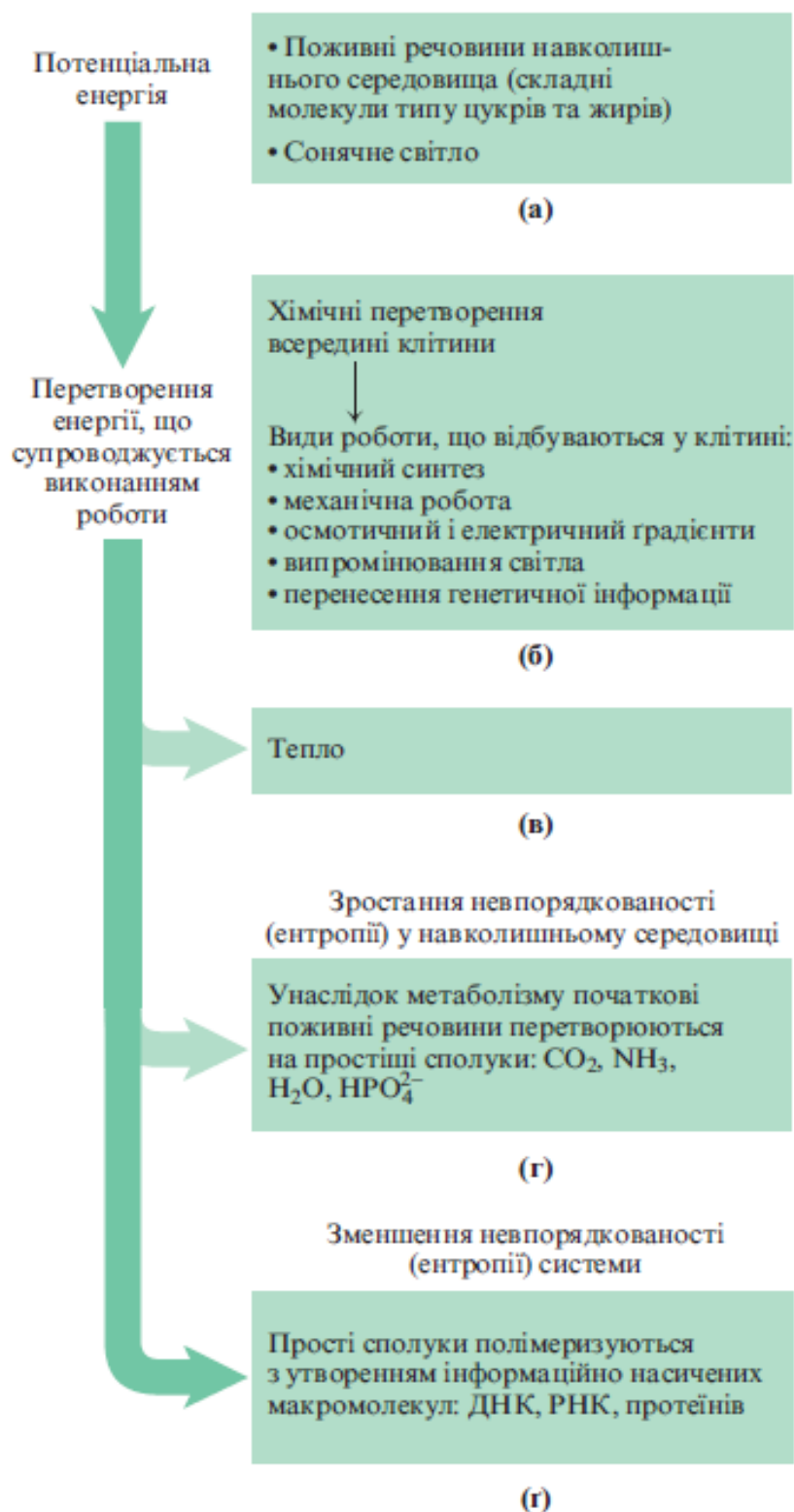


Рис. 13. Шляхи перетворення енергії в живих організмів [24]

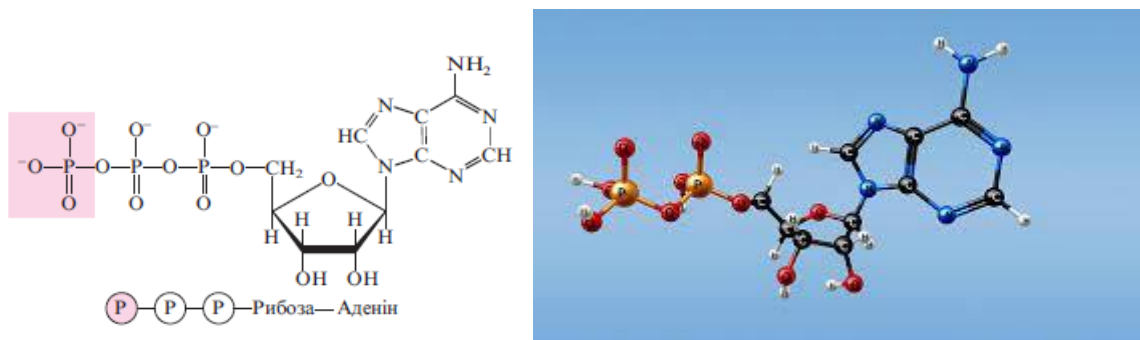


Рис. 14. Структурна формула АТФ [24]

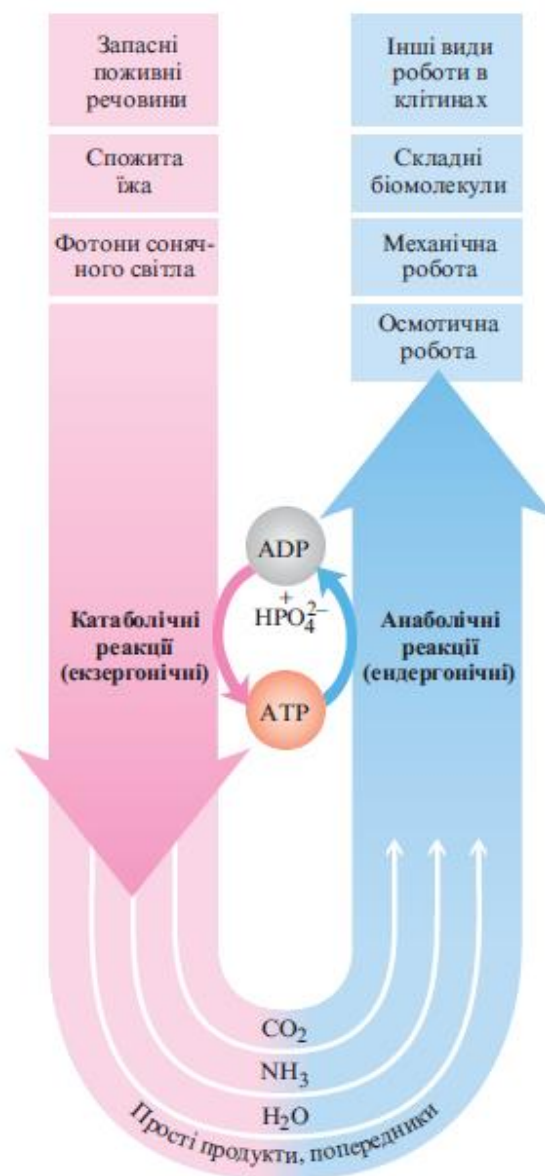


Рис. 15. Роль АТФ у метаболізмі біомолекул [24]

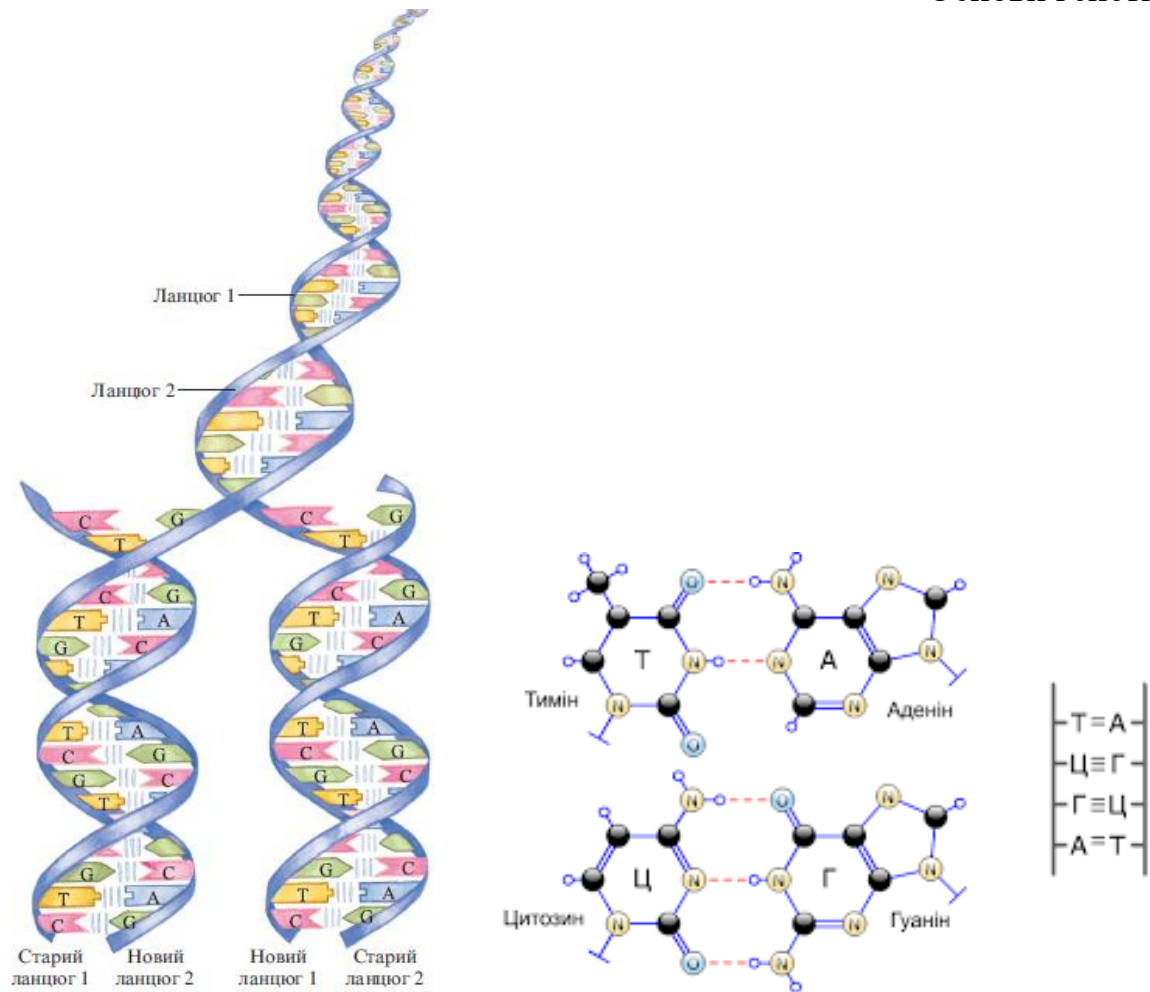


Рис. 16. Комплементарні ланцюги ДНК [25]

Організм	Ромір генома, млн пар нуклеотидів	Біологічні функції
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0,8	Спричиняє запалення легень
<i>Treponema pallidum</i>	1,1	Спричиняє сифіліс
<i>Borrelia burgdorferi</i>	1,3	Спричиняє лаймську хворобу
<i>Helicobacter pylori</i>	1,7	Спричиняє виразку шлунка
<i>Methanococcus jannaschii</i>	1,7	Живе за 85 °C!
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,8	Спричиняє бактеріальний грип
<i>Methanobacterium thermo-autotrophicum</i>	1,8	Належить до Археа
<i>Archaeoglobus fulgidus</i>	2,2	Високотемпературний метаноген
<i>Synechocystis</i> sp.	3,6	Ціанобактерія
<i>Bacillus subtilis</i>	4,2	Поширена ґрунтова бактерія
<i>Escherichia coli</i>	4,6	Деякі штами спричиняють синдром токсичного шоку
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12,1	Одноклітинний еукаріот
<i>Plasmodium falciparum</i>	23	Спричиняє малярію в людей
<i>Caenorhabditis elegans</i>	97,1	Багатоклітинна нематода
<i>Anopheles gambiae</i>	278	Переносник малярії
<i>Mus musculus domesticus</i>	$2,5 \times 10^3$	Лабораторна миша
<i>Homo sapiens</i>	$2,9 \times 10^3$	Людина

Рис. 17. Розшифрований геном організмів [25]

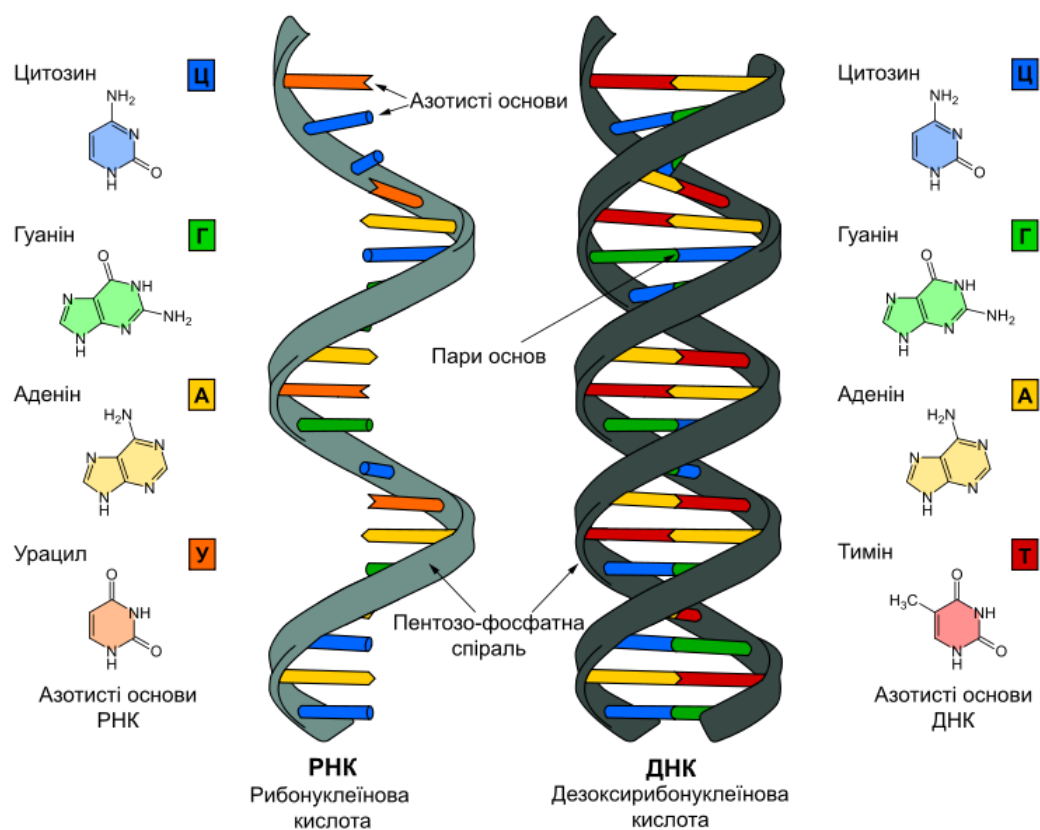


Рис. 18. Структура РНК і ДНК (<https://www.thetech.org/ask-a-geneticist/ask186>)

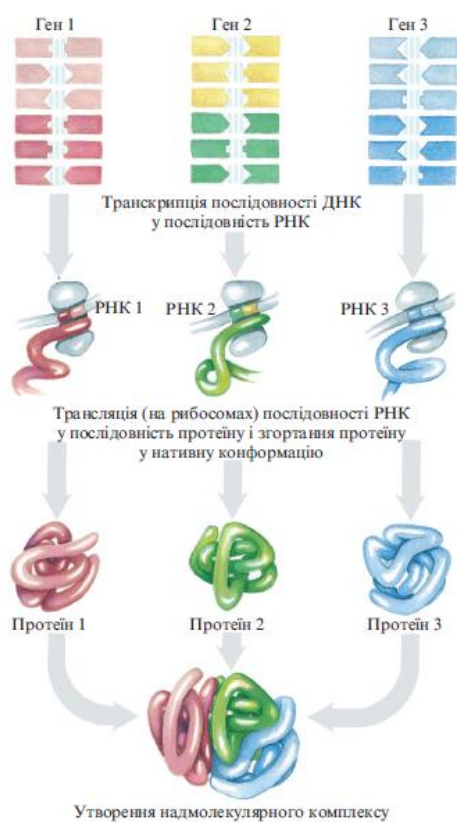


Рис. 19. Від ДНК до РНК і протеїну [25]

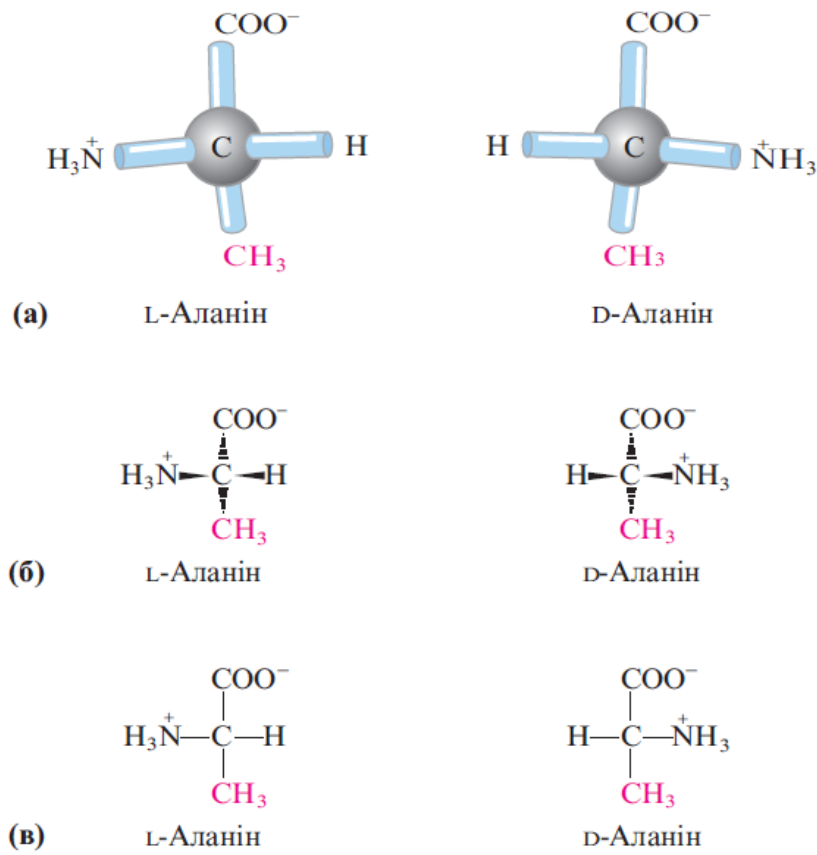


Рис. 20. Стереїзмери амінокислот [24]

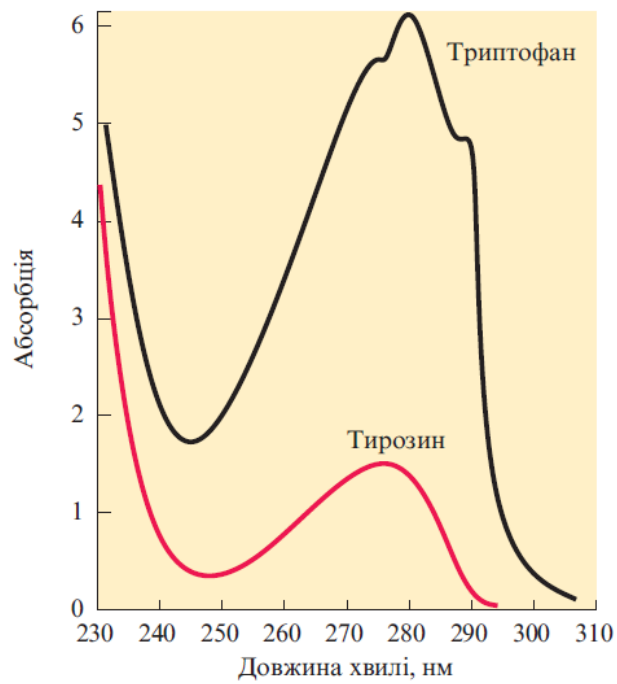


Рис. 21. Спектр поглинання амінокислот [24]

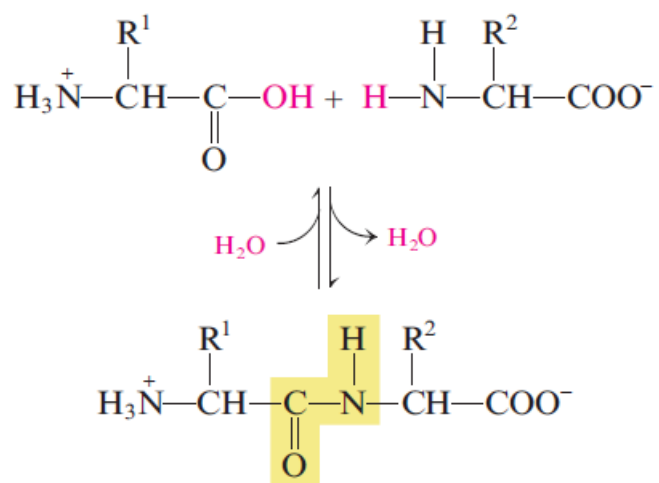
Амінокислота	Скорочення/ символ		M _r	Значення pK _a			pI	Гідропатичний індекс*	Вміст у протеїнах, %†
				pK ₁ , –COOH	pK ₂ , –NH ₃ ⁺	pK _R , R-група			
Неполярні, аліфатичні R-групи									
Гліцин	Gly	G	75	2,34	9,60		5,97	–0,4	7,2
Аланін	Ala	A	89	2,34	9,69		6,01	1,8	7,8
Пролін	Pro	P	115	1,99	10,96		6,48	1,6	5,2
Валін	Val	V	117	2,32	9,62		5,97	4,2	6,6
Лейцин	Leu	L	131	2,36	9,60		5,98	3,8	9,1
Ізолейцин	Ile	I	131	2,36	9,68		6,02	4,5	5,3
Метіонін	Met	M	149	2,28	9,21		5,74	1,9	2,3
Ароматичні R-групи									
Фенілаланін	Phe	F	165	1,83	9,13		5,48	2,8	3,9
Тирозин	Tyr	Y	181	2,20	9,11	10,07	5,66	–1,3	3,2
Триптофан	Trp	W	204	2,38	9,39		5,89	–0,9	1,4
Полярні, незаряджені R-групи									
Серин	Ser	S	105	2,21	9,15		5,68	–0,8	6,8
Треонін	Thr	T	119	2,11	9,62		5,87	–0,7	5,9
Цистеїн	Cys	C	121	1,96	10,28	8,18	5,07	2,5	1,9
Аспарагін	Asn	N	132	2,02	8,80		5,41	–3,5	4,3
Глутамін	Gln	Q	146	2,17	9,13		5,65	–3,5	4,2
Позитивно заряджені R-групи									
Лізин	Lys	K	146	2,18	8,95	10,53	9,74	–3,9	5,9
Гістидин	His	H	155	1,82	9,17	6,00	7,59	–3,2	2,3
Аргінін	Arg	R	174	2,17	9,04	12,48	10,76	–4,5	5,1
Негативно заряджені R-групи									
Аспартат	Asp	D	133	1,88	9,60	3,65	2,77	–3,5	5,3
Глутамат	Glu	E	147	2,19	9,67	4,25	3,22	–3,5	6,3

* Шкала, що поєднує гідрофобність і гідрофільність R-груп: її можна використовувати для визначення тенденції амінокислоти до взаємодії з водним середовищем (від'ємні значення) чи гідрофобним середовищем (додатні значення). Див. розділ 11. За Kyte, J. & Doolittle, R.F. (1982) A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J. Mol. Biol.* **157**, 105–132.

† Усереднений вміст у понад 1150 протеїнах. За: Doolittle, R.F. (1989) Redundancies in protein sequences. *Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation* (Fasman, G.D., ed.), pp.599–623, Plenum Press, New York.

Рис. 20. Властивості амінокислот [24]

(a)



(б)

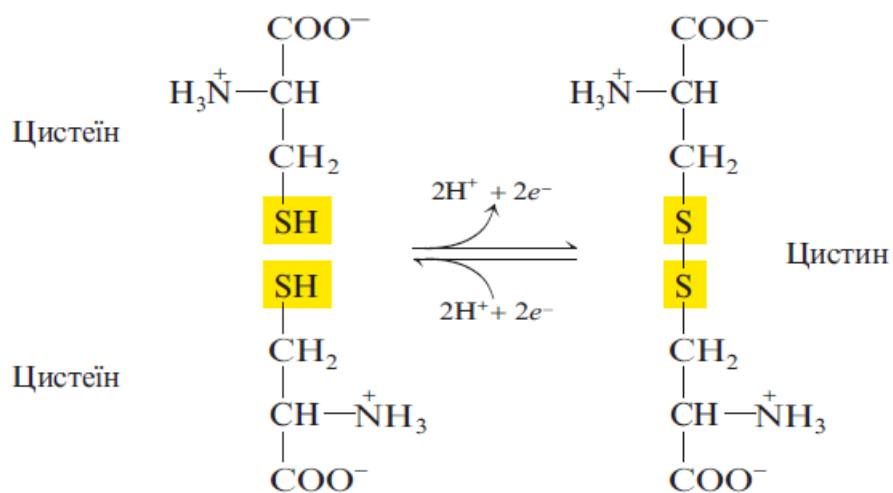
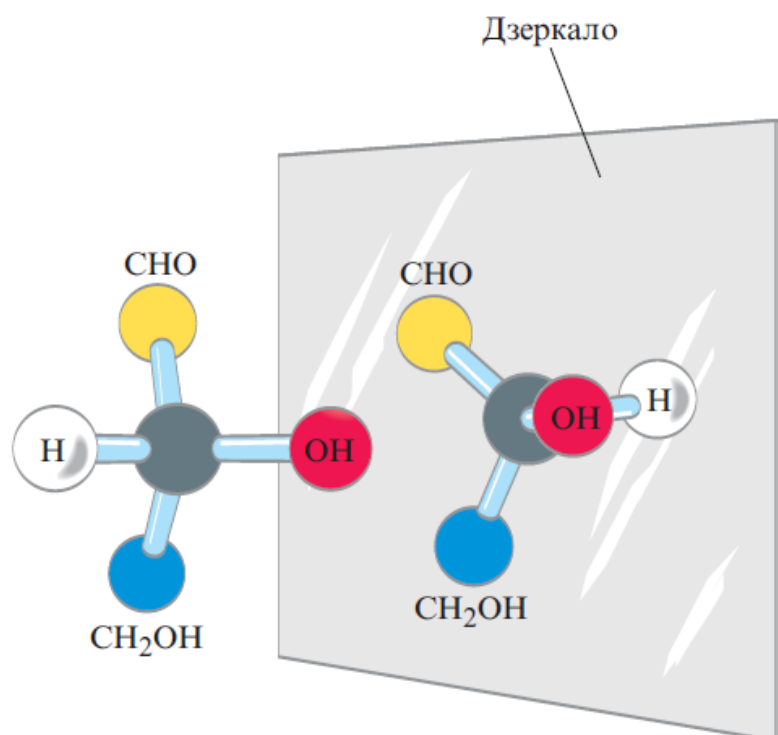
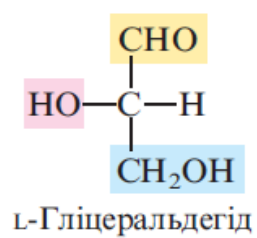
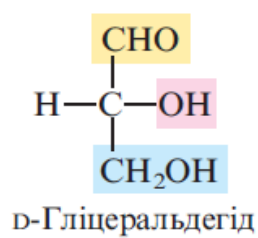


Рис. 22. Утворення пептидного (а) та дисульфідного зв'язку (б) у амінокислот [24]



Кульково-стрижнева модель



Проекційні формули Фішера

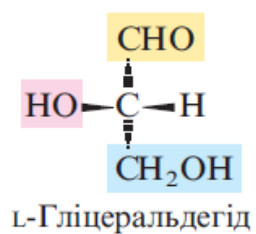
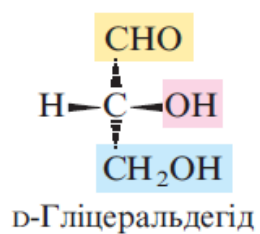


Рис. 23. Stereoізомери гліцеральдегіду[24]

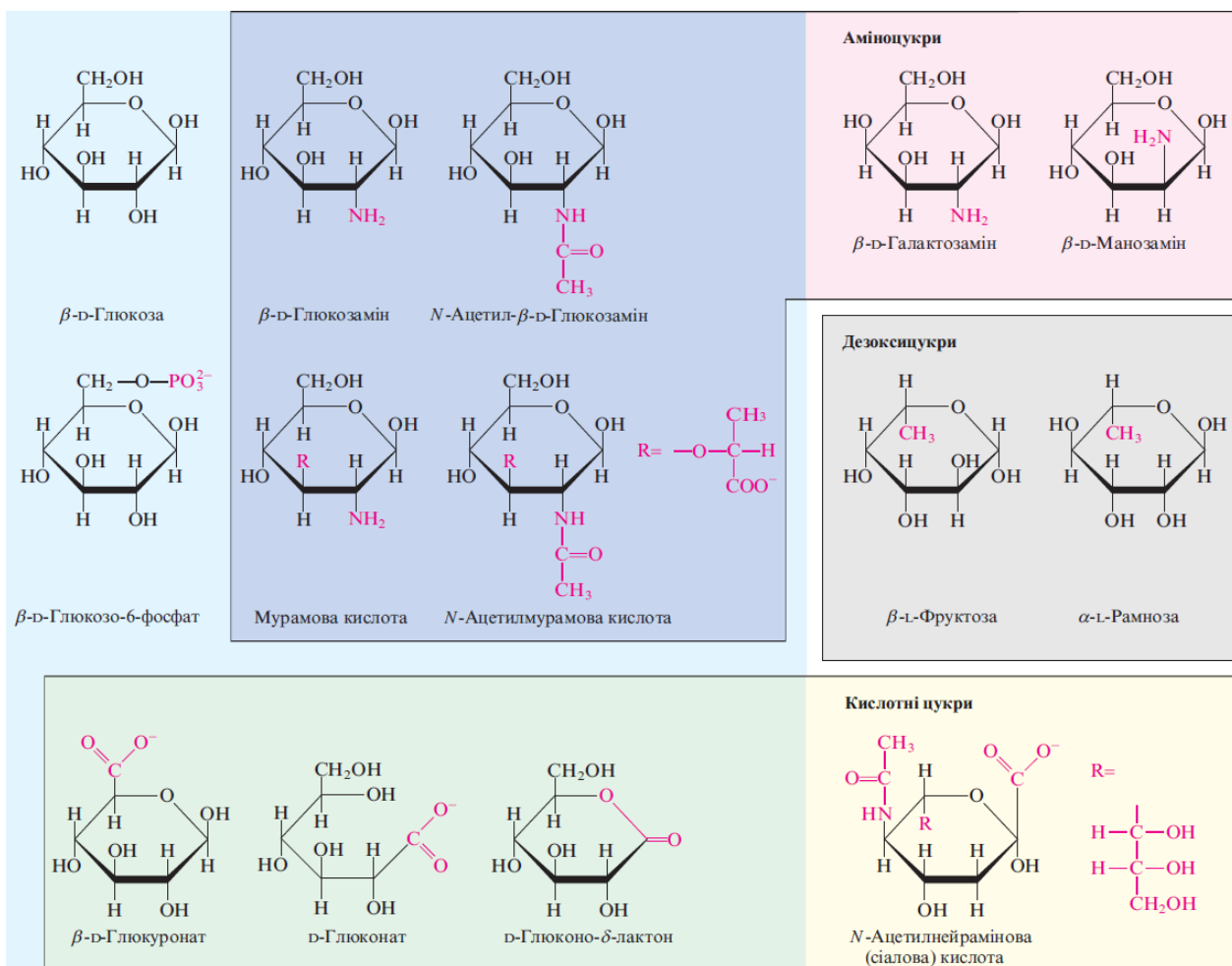


Рис. 24. Похідні гексоз [24]



Рис. 25. Лейкопласти картоплі з гранулами крохмалю
 (<https://www.flickrriver.com/photos/10517539@N07/3912814209/#large>)

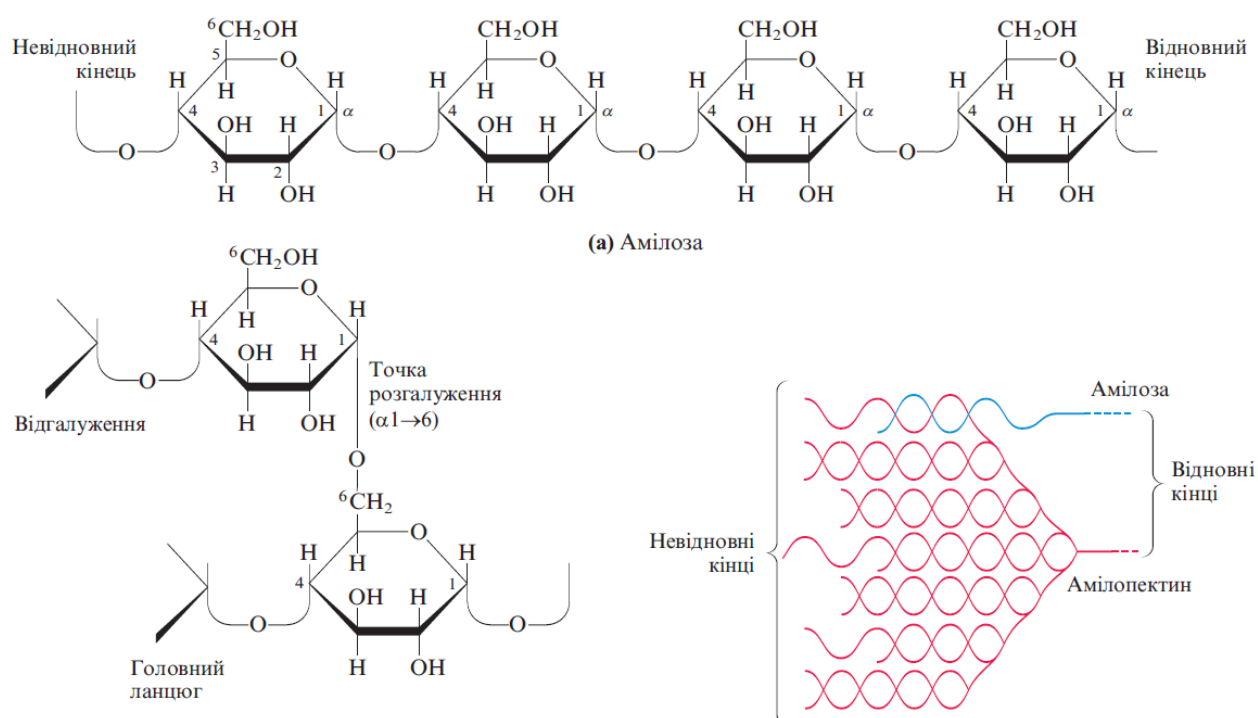


Рис. 26. Структурна формула полісахариду крохмалю [24]

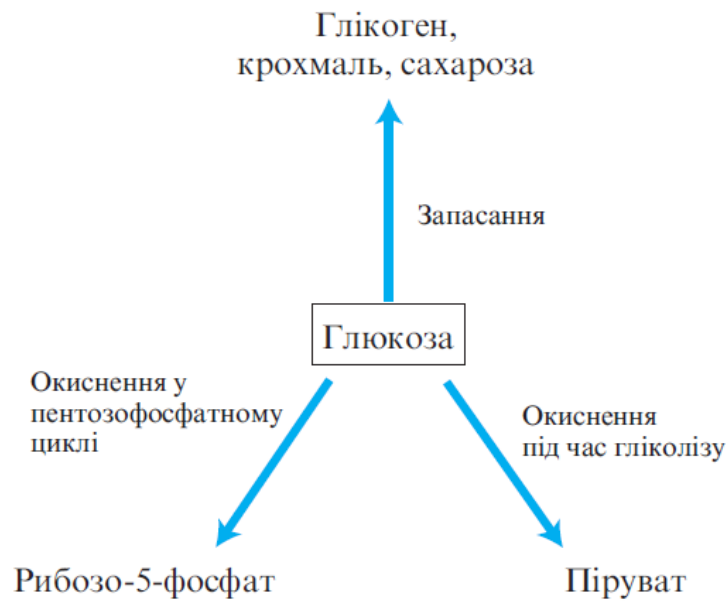


Рис. 27. Шляхи використання глюкози [24]

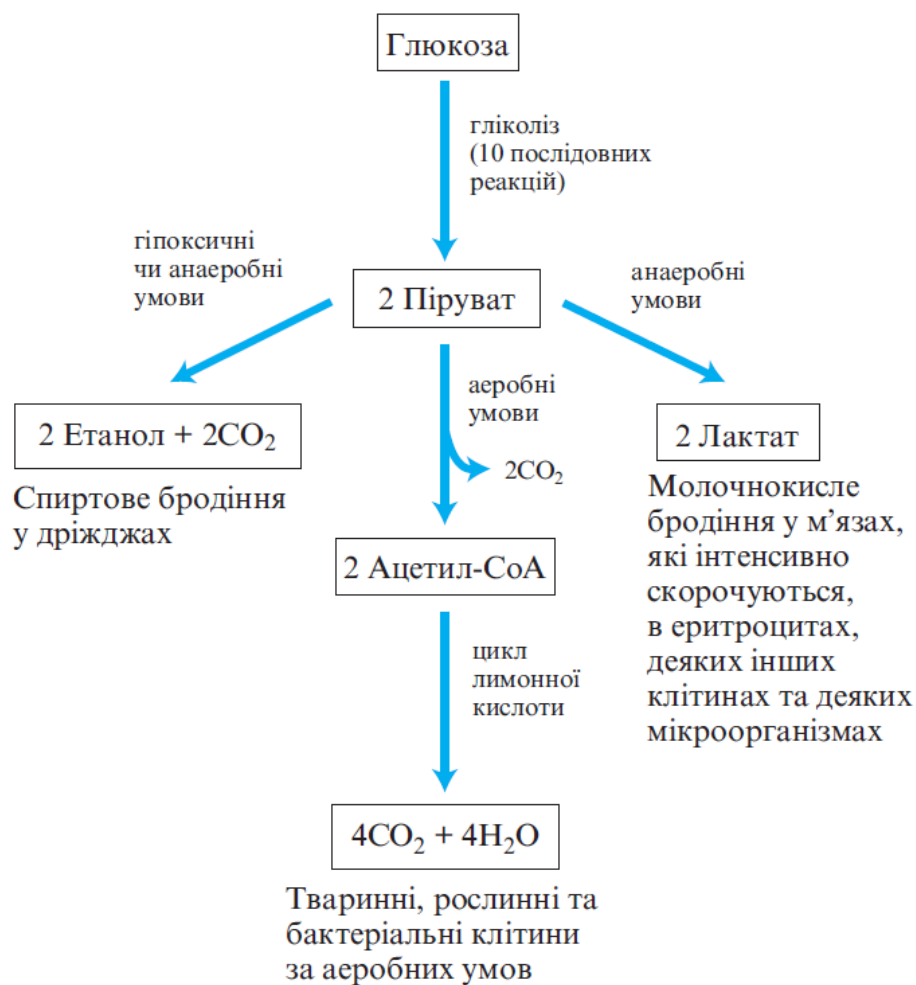


Рис. 28. Катаболізм глюкози [24]

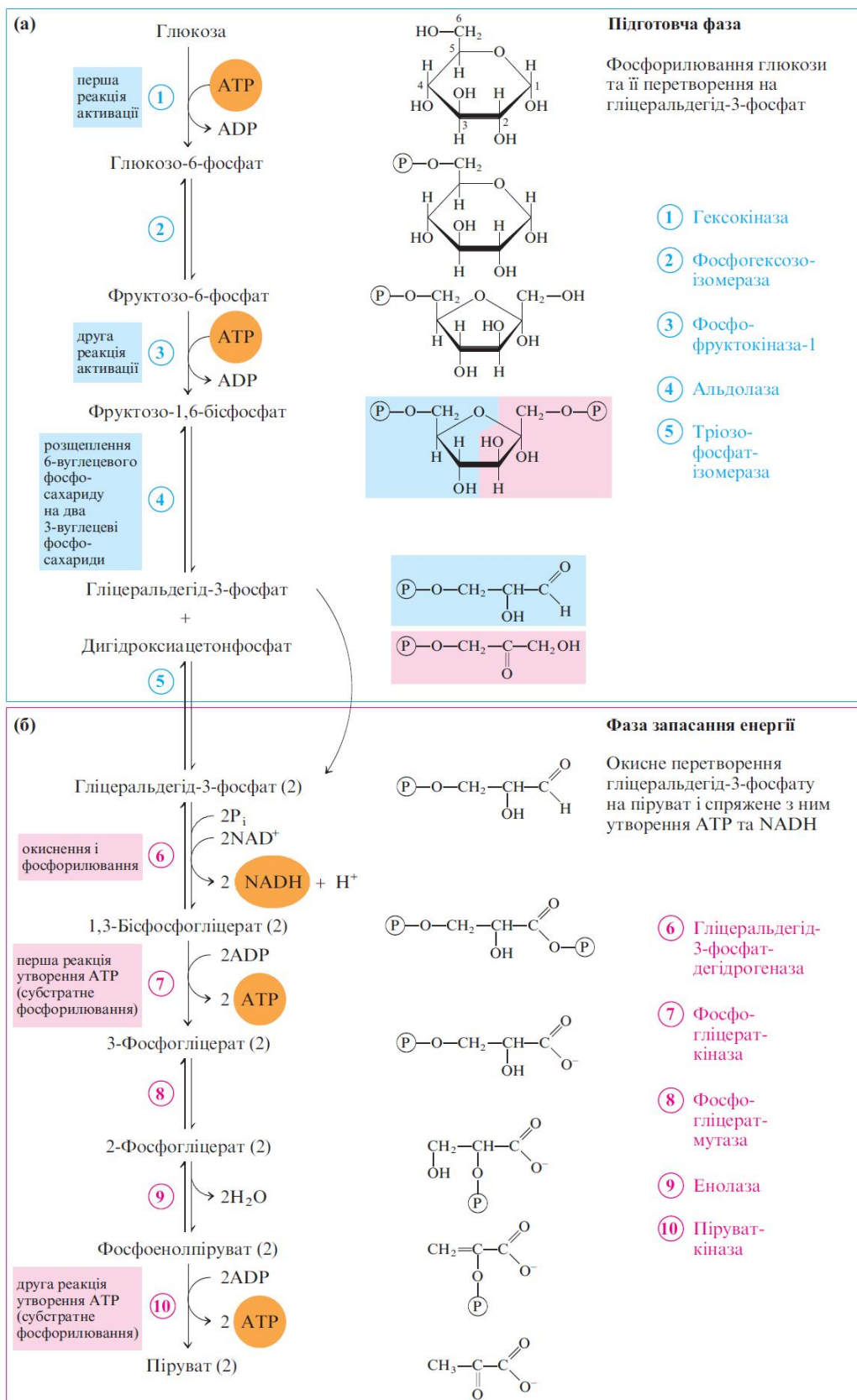
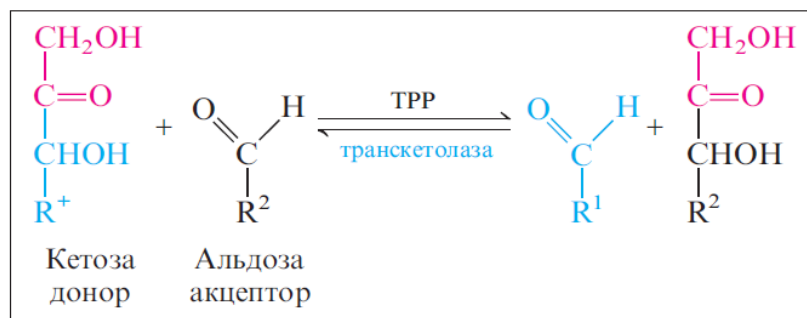
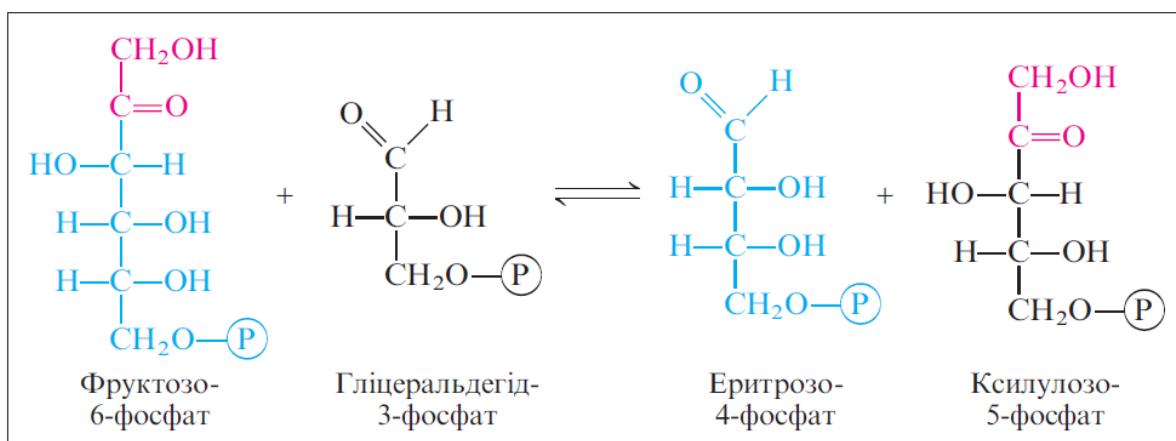


Рис. 29. Перетворення глюкози до піровиноградної кислоти [24]



(а)



(б)

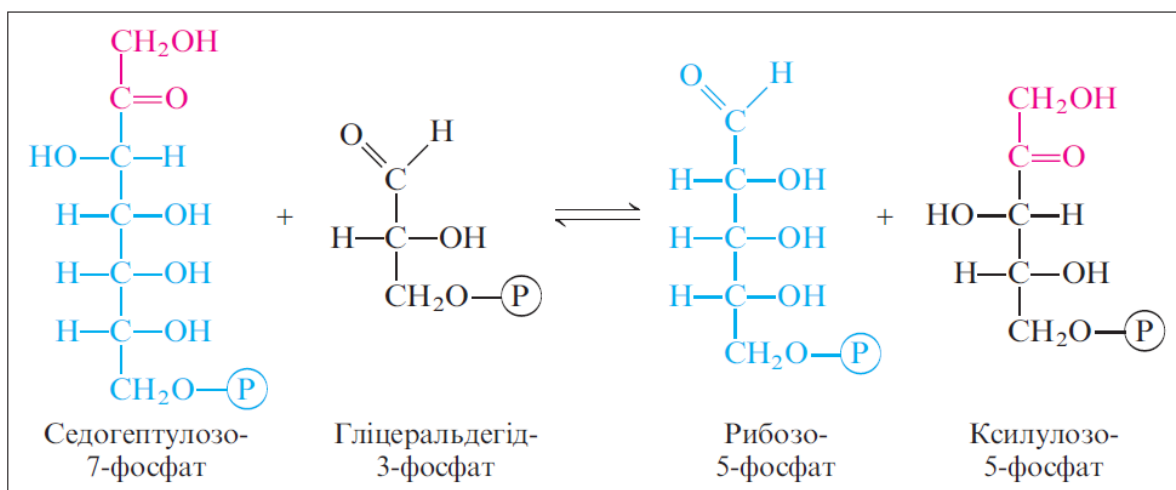


Рис. 30. Цикл Кальвіна [24]

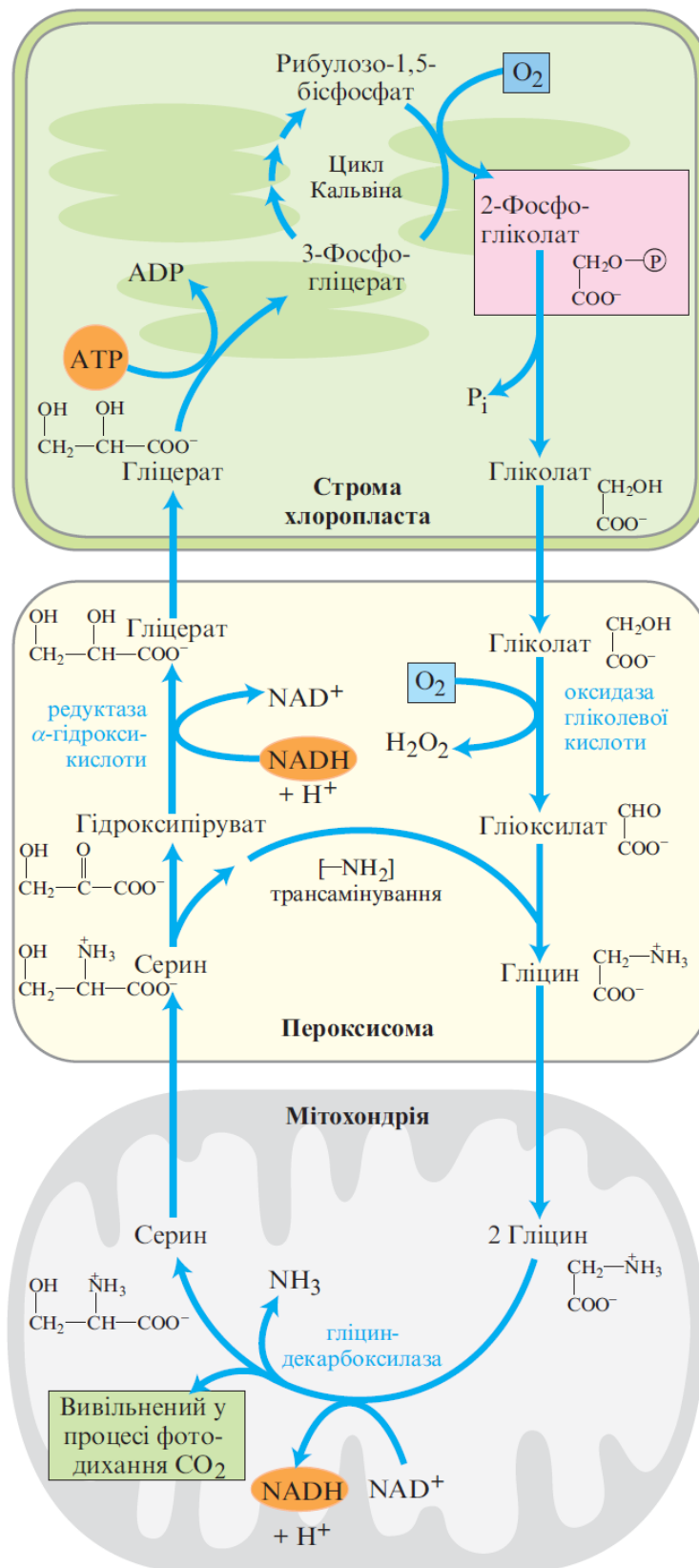


Рис. 31. Гліколатний шлях [24]

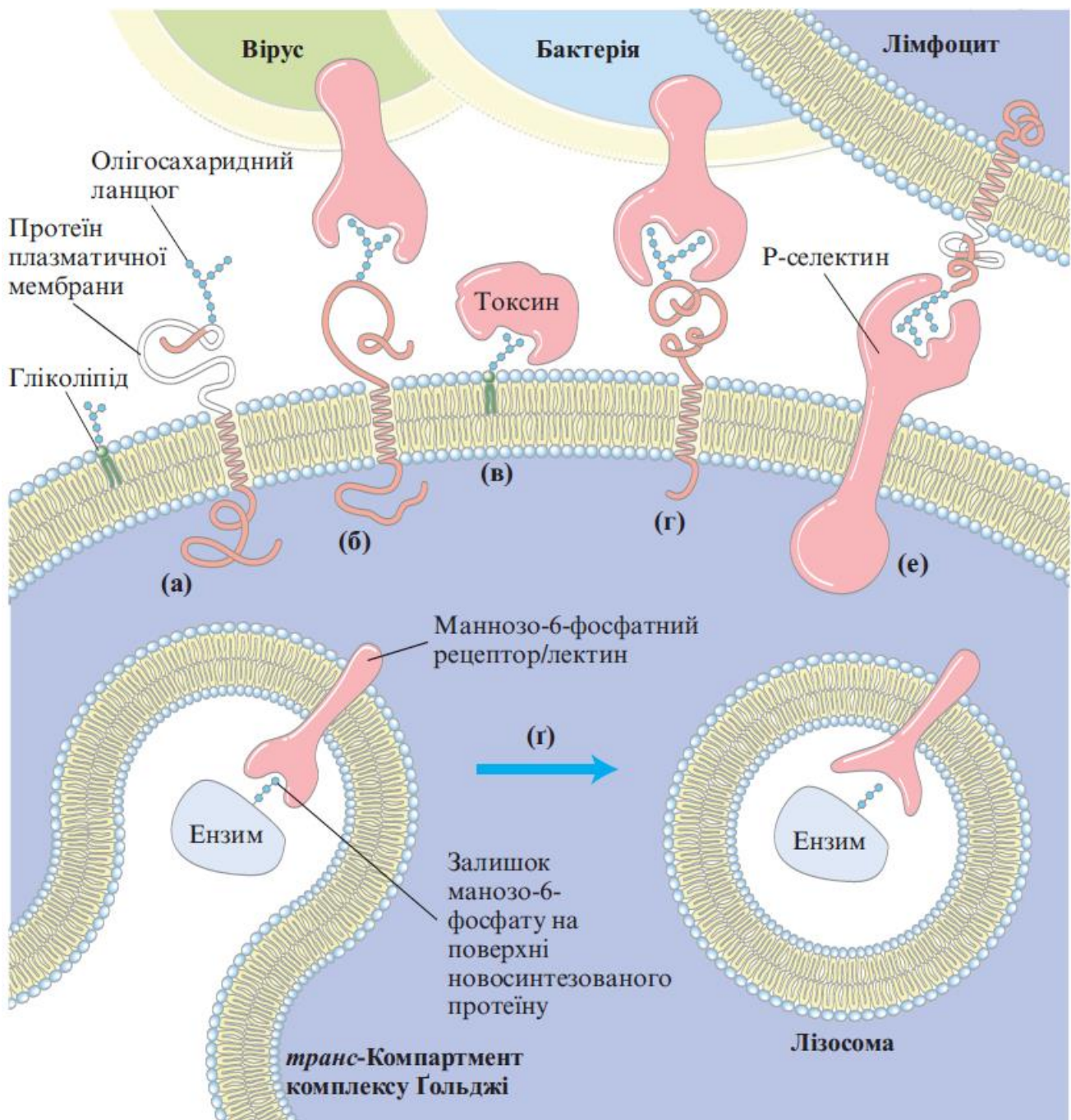


Рис. 32. Участь олігосахаридів у розпізнаванні та адгезії на поверхні клітини [24]

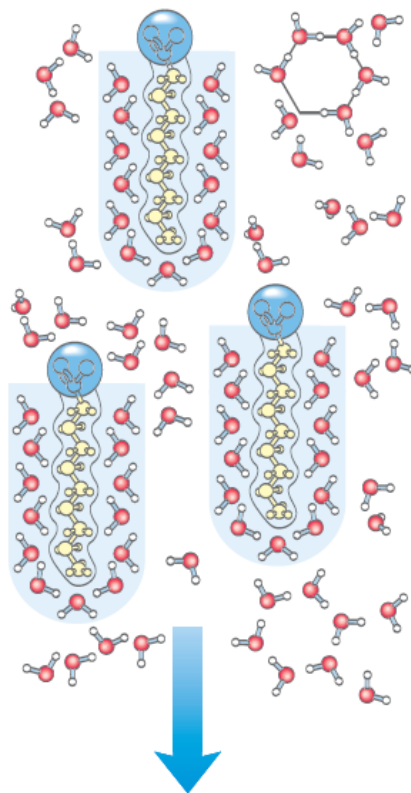


Рис. 33. Дисперсія ліпідів у воді

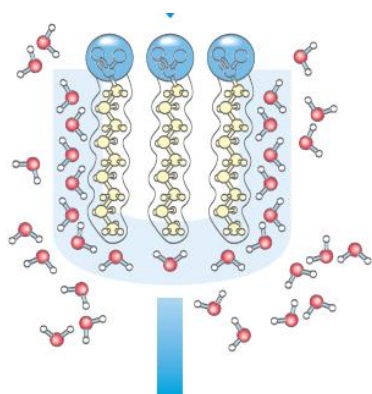


Рис. 34. Кластери ліпідних молекул [24]

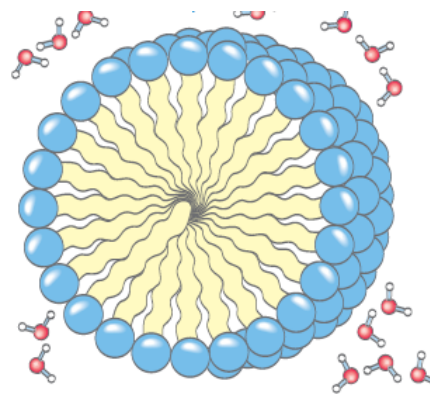


Рис. 35. Міцели [24]

Вуглецевий скелет	Структура*	Систематична назва†	Поширена назва (походження)	Точка плавлення, °C	Розчинність при 30 °C, мг/г розчинника	
					Вода	Бензол
12:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$	<i>n</i> -Додеканова кислота	Лауринова кислота (від лат. <i>laurus</i> – лавр)	44,2	0,063	2600
14:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$	<i>n</i> -Тетрадеканова кислота	Міристинова кислота (від лат. <i>myristica</i> – мускатний горіх)	53,9	0,024	874
16:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$	<i>n</i> -Гексадеканова кислота	Пальмітинова кислота (від лат. <i>palma</i> – пальмове дерево)	63,1	0,0083	348
18:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$	<i>n</i> -Октадеканова кислота	Стеаринова кислота (від гр. <i>stear</i> – твердий жир)	69,6	0,0034	124
20:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$	<i>n</i> -Ейкозанова кислота	Арахідонова кислота (від лат. <i>Arachis</i> – рід бобових)	76,5		
24:0	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$	<i>n</i> -Тетракозанова кислота	Лігноцерінова кислота (від лат. <i>lignum</i> – дерево, <i>cera</i> – віск)	86,0		
16:1(Δ^9)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>цис</i> -9-Гексадеканова кислота	Пальмітоолеїнова кислота	1–0,5		
18:1(Δ^9)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>цис</i> -9-Октадеканова кислота	Олеїнова кислота (від лат. <i>oleum</i> – олія)	13,4		
18:2($\Delta^{9,12}$)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>цис</i> -, <i>цис</i> -9,12-Октадекадієнова кислота	Лінолева кислота (від гр. <i>linon</i> – льон)	1–5		
18:3($\Delta^{9,12,15}$)	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$	<i>цис</i> -, <i>цис</i> -, <i>цис</i> -9,12,15-Октадекатрієнова кислота	α -Ліноленова кислота	–11		
20:4($\Delta^{5,8,11,14}$)	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$	<i>цис</i> -, <i>цис</i> -, <i>цис</i> -, <i>цис</i> -5,8,11,14-Ікозатетраєнова кислота	Арахідонова кислота	–49,5		

Рис. 36. Структура, властивості та назви жирних кислот [24]

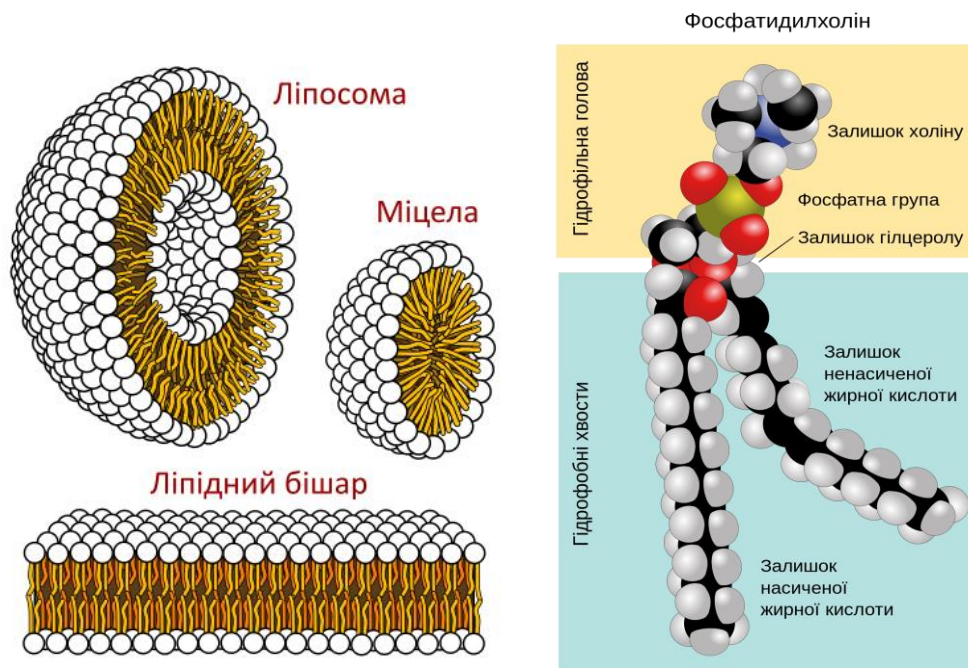


Рис. 37. Фосфоліпіди та їх структури (<https://uk.wikipedia.org/wiki>)

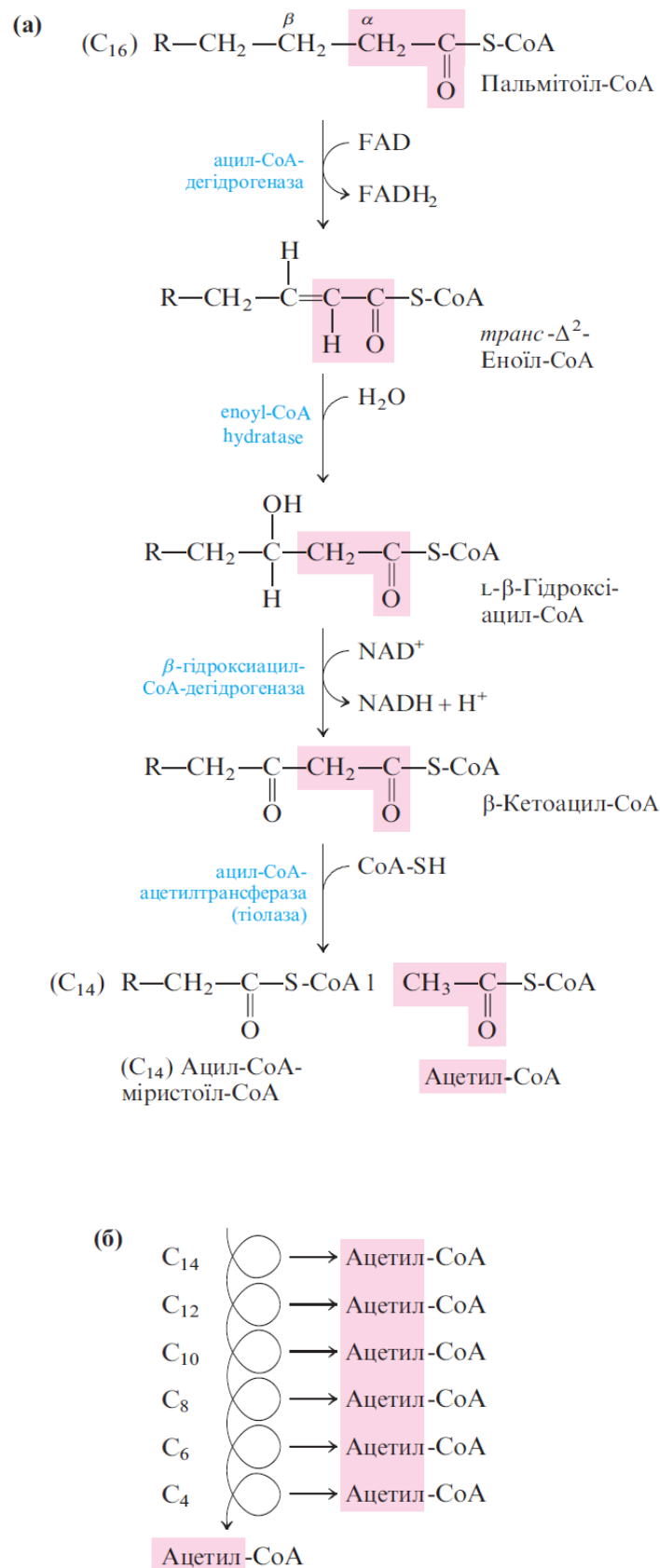


Рис. 38. β -окиснення жирних кислот [24]

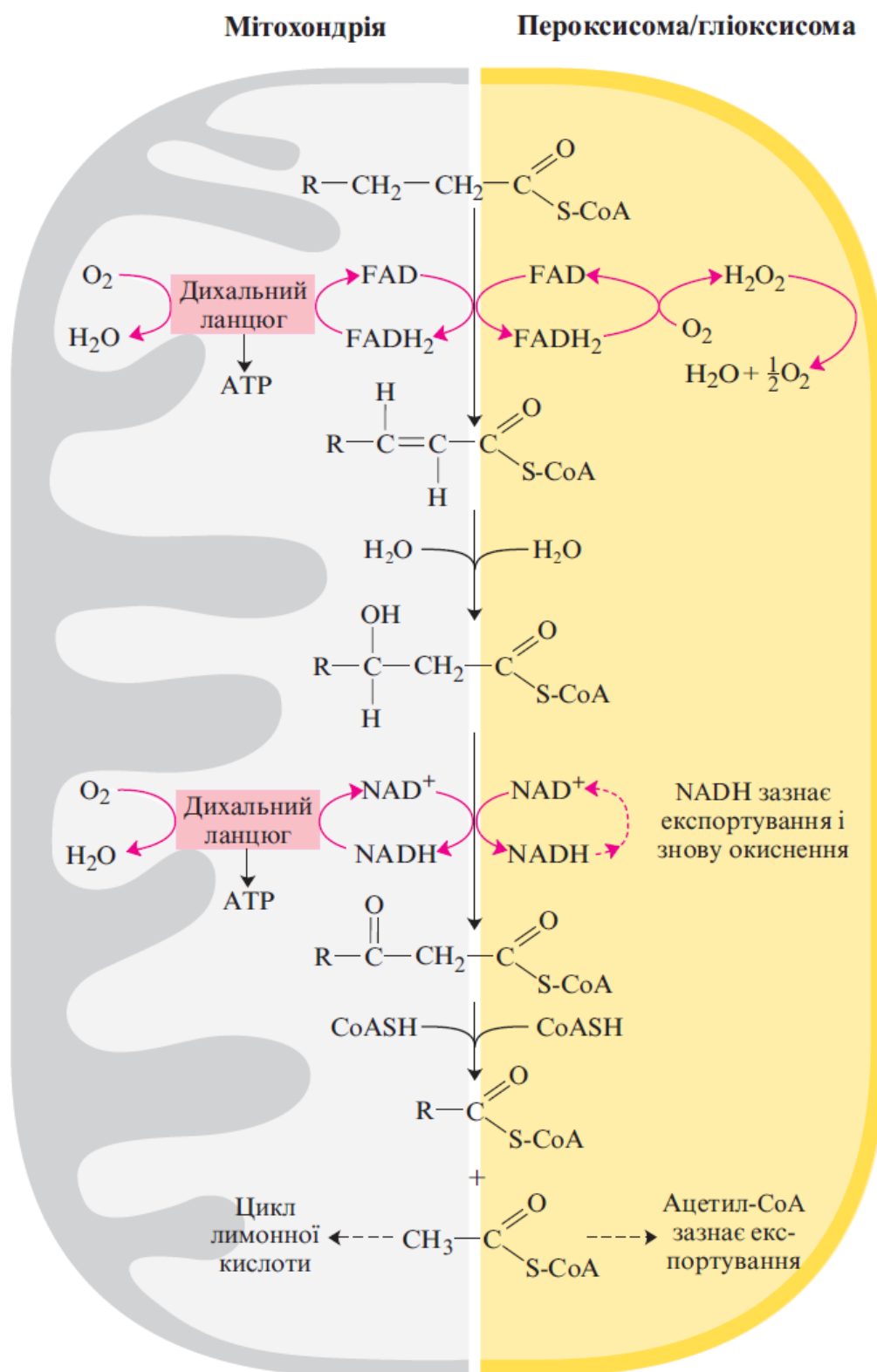


Рис. 39. Порівняльна схема β -окиснення жирних кислот у мітохондріях та пероксисомах і гліоксисомах [24]

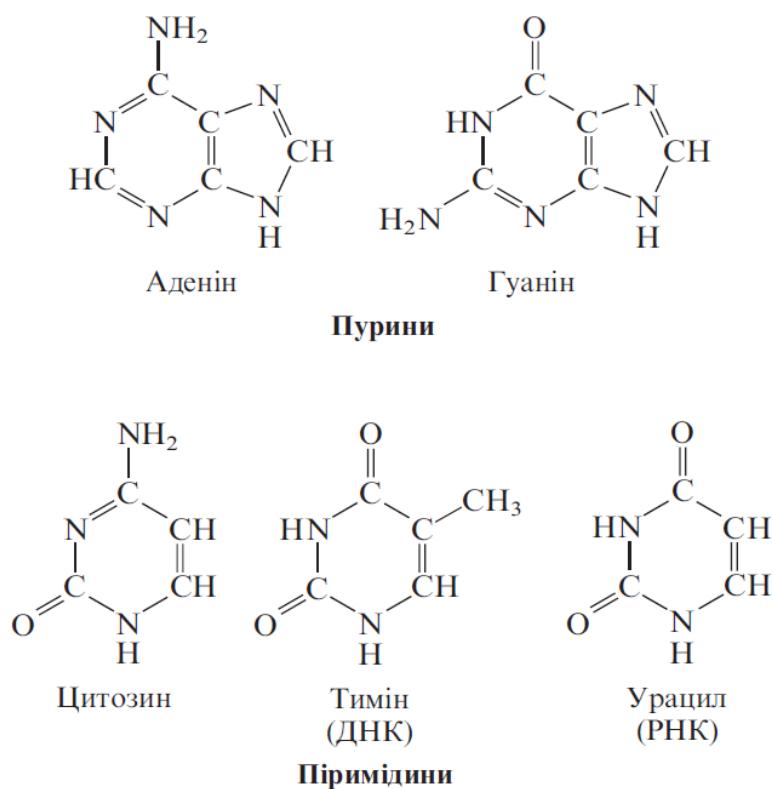


Рис. 40. Структура пуринових і піримідинових основ нуклеїнових кислот [24]

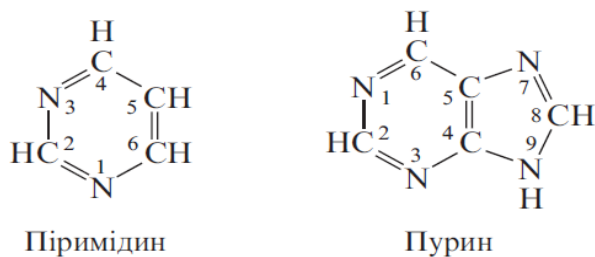
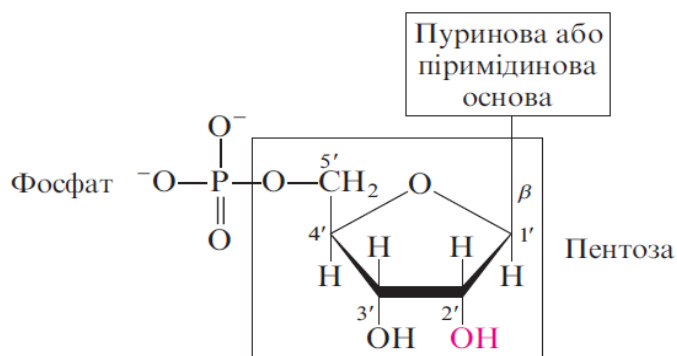
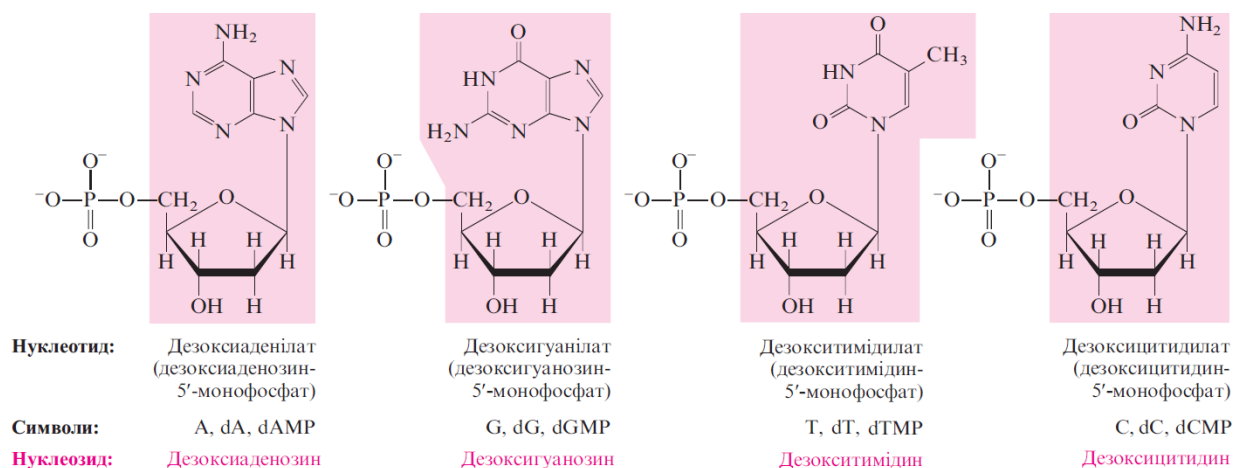
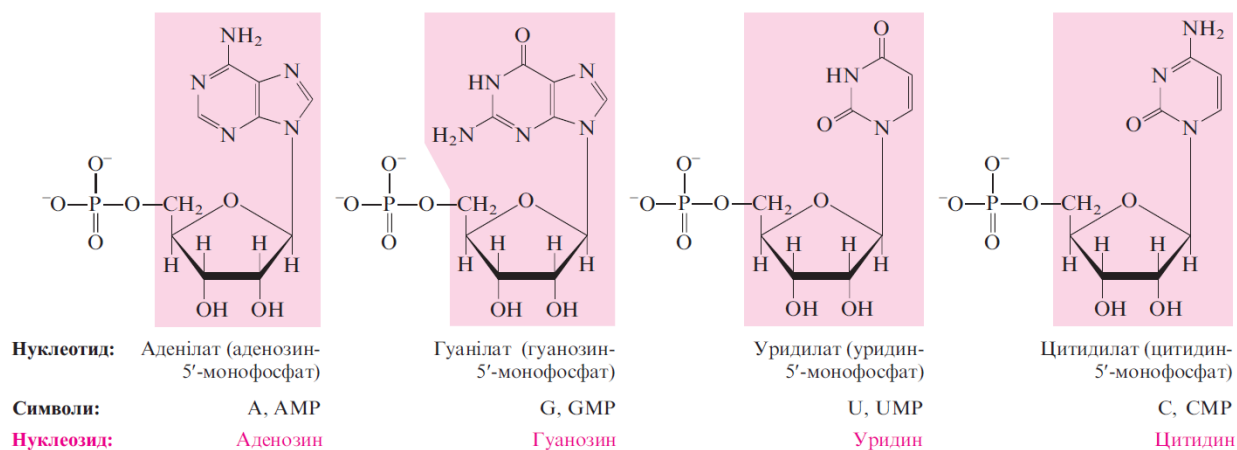


Рис. 41. Структура нуклеотиду[24]



(а) Дезоксирибонуклеотиди



(б) Рибонуклеотиди

Рис. 42. Нуклеотиди нуклеїнових кислот [24]

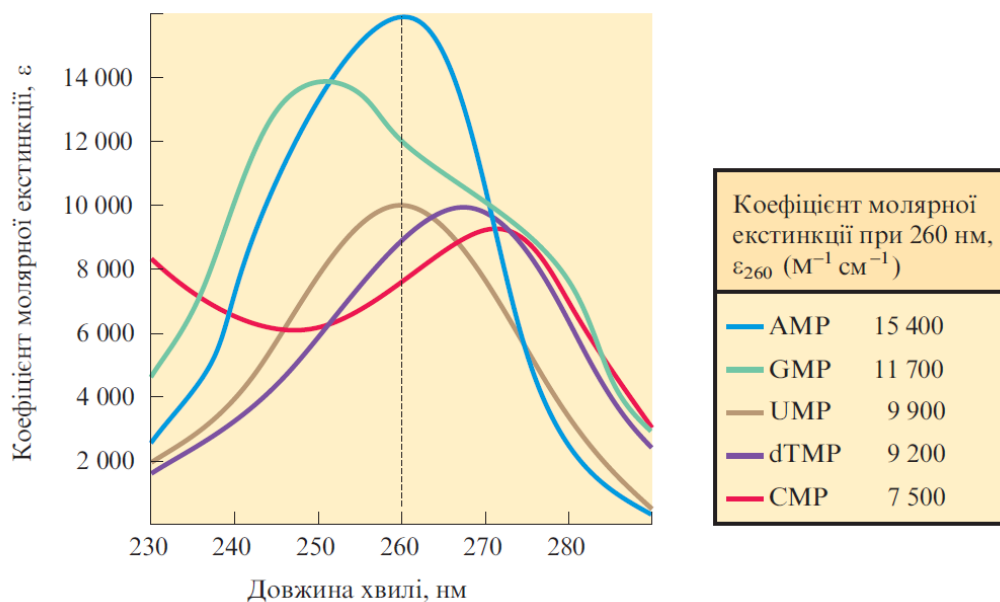


Рис. 43. Спектри поглинання нуклеотидів [24]

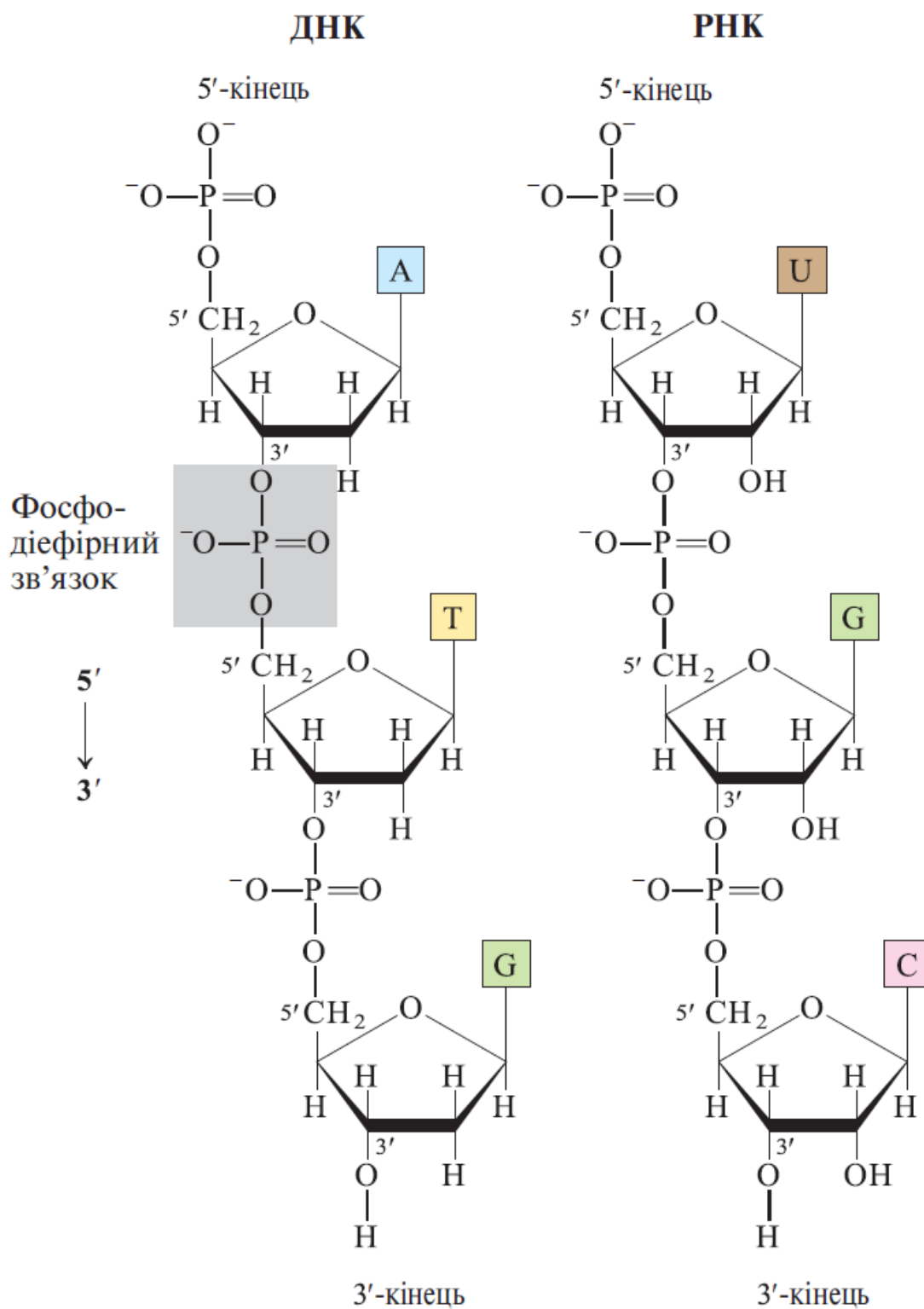
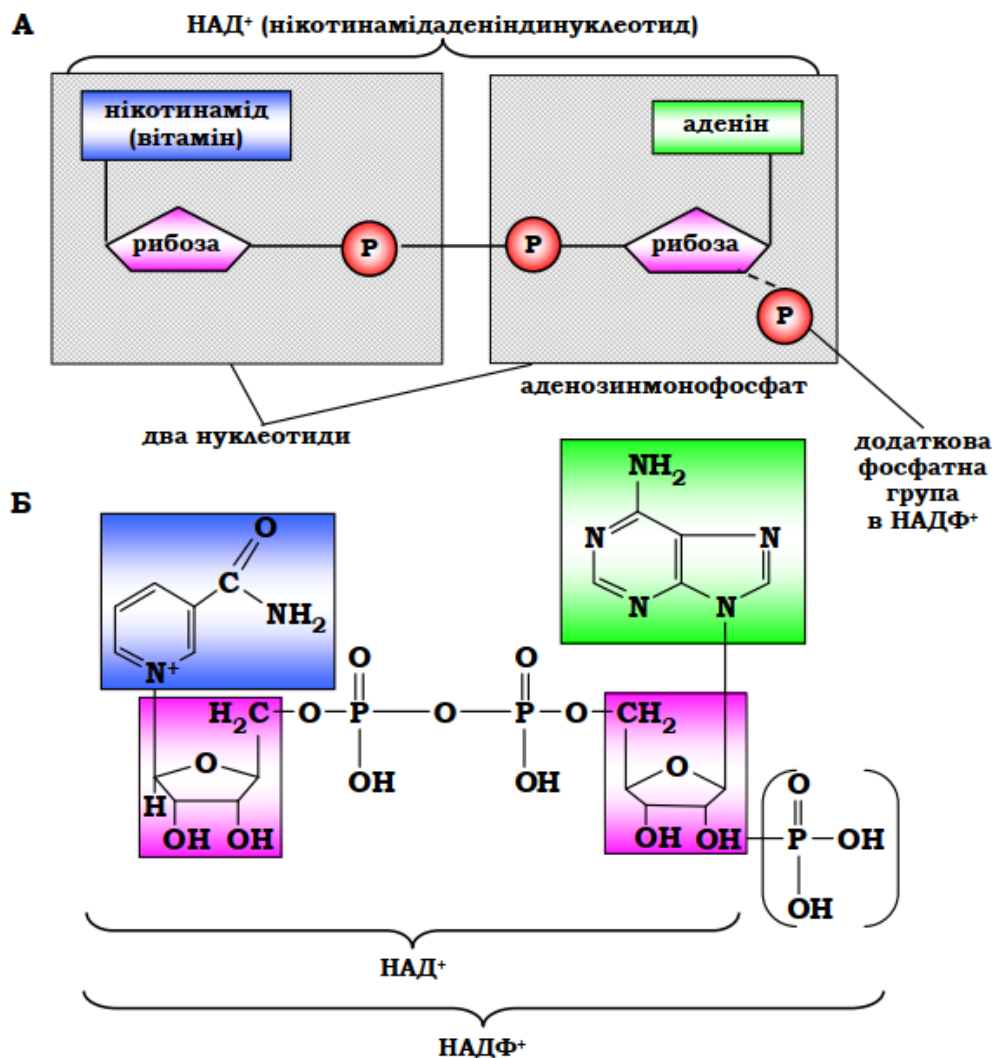


Рис. 44. Фосфодіефірні зв'язки у ланцюгах ДНК і РНК [24]

Коензим	Попередник у їжі ссавців	Приклади хімічних груп, які переносять
Біоцитин	Біотин	CO ₂
Коензим А	Пантотенова кислота та інші сполуки	Ацильні групи
5'-Дезоксиаденозилкобаламін (коензим B ₁₂)	Вітамін B ₁₂	Атоми Н і алкільні групи
Флавінаденіндинуклеотид	Рибофлавін (вітамін B ₁₂)	Електрони
Ліпоат	Попередник не потрібен	Електрони й ацильні групи
Нікотинамідаденіндинуклеотид	Нікотинова кислота (ніацин)	Гідридний іон (:H ⁻)
Піридоксальфосфат	Піридоксин (вітамін B ₆)	Аміногрупи
Тетрагідрофолат	Фолат	Групи з одним атомом вуглецю
Пірофосфат тіаміну	Тіамін (вітамін B ₁)	Альдегіди

Рис. 45. Коензими та групи, які вони переносять [24]

Рис. 46. Структура і хімічна будова НАД⁺ і НАДФ⁺ [6]

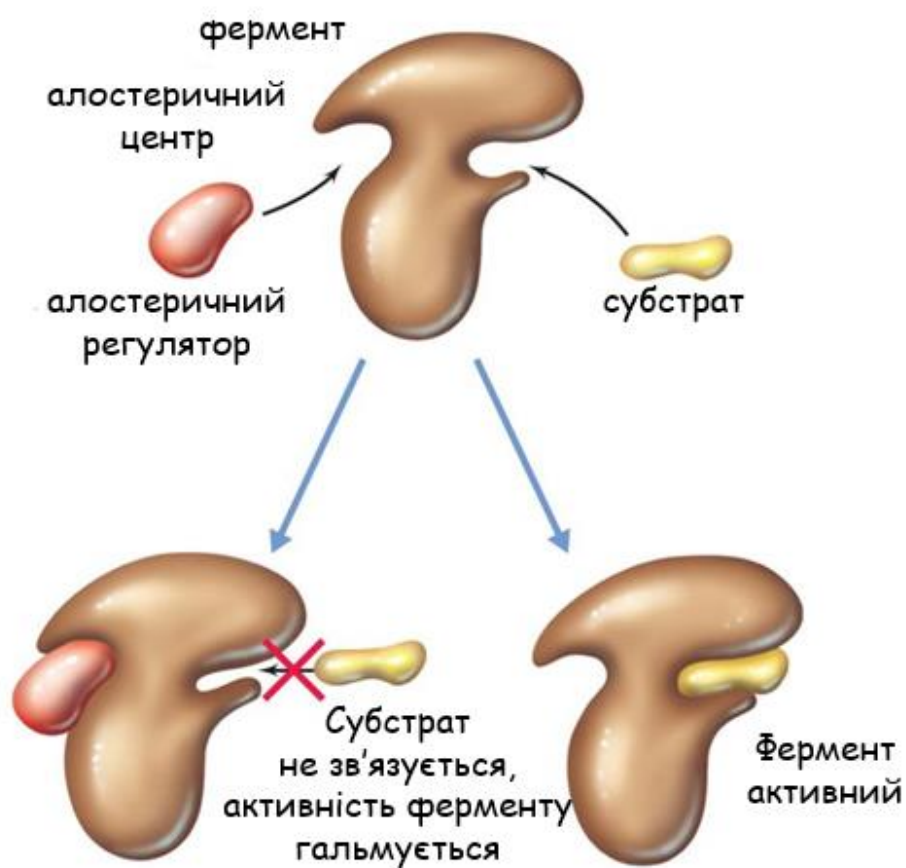


Рис. 47. Алостерична регуляція активності ензимів
(<https://naurok.com.ua/prezentaciya-do-uroku-fermenti-193614.html>)

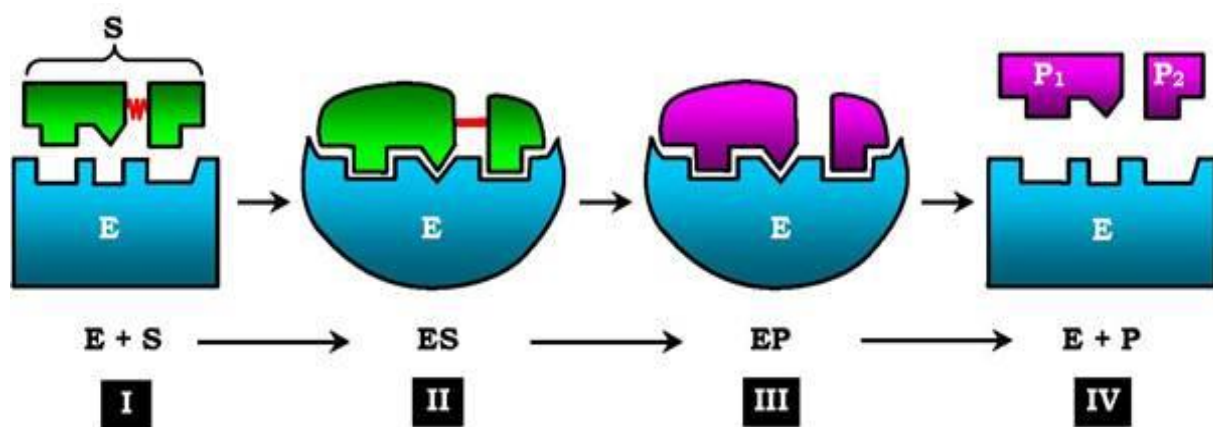


Рис. 48. Етапи ферментативного каталізу [6]

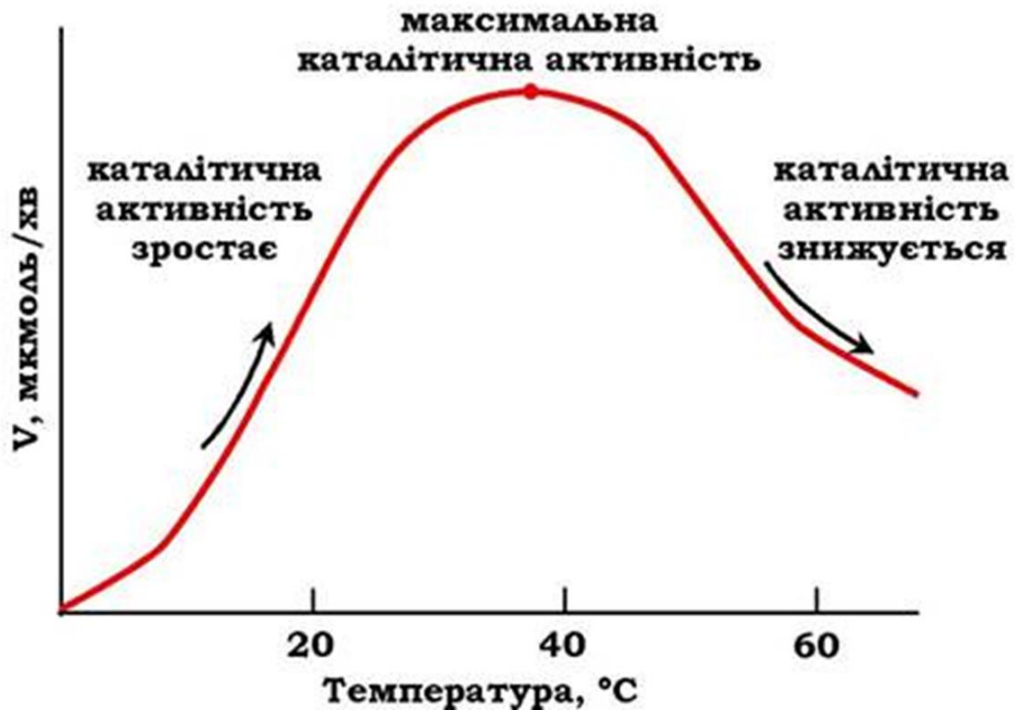


Рис. 49. Залежність каталітичної активності від температури [6]

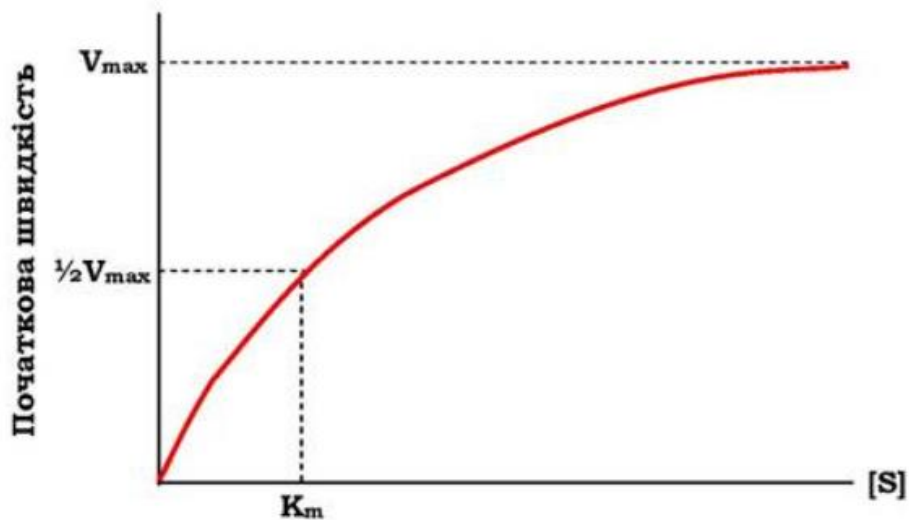


Рис. 50. Залежність швидкості реакції від концентрації субстрату (S) [6]

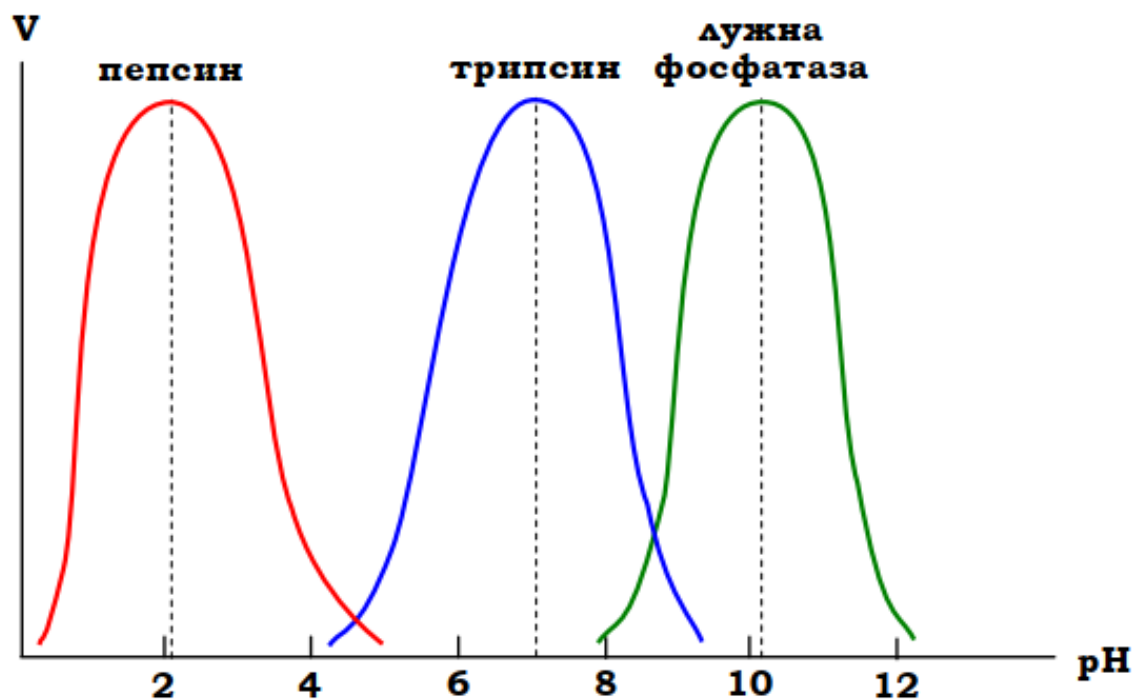


Рис. 51. Залежність швидкості ферментативної реакції від pH середовища [6]

Оптимальні значення pH для деяких ферментів

Фермент	Оптимальне значення pH
Пепсин	1,5–2,0
Піруваткарбоксилаза	4,8
Каталаза	6,8–7,0
Фумараза	6,5
Уреаза	6,8–7,2
Карбоксипептидаза	7,5
Трипсин	6,5–7,5
Аргіназа	9,5–9,9

Рис. 52. pH-оптимум активності окремих ензимів [6]

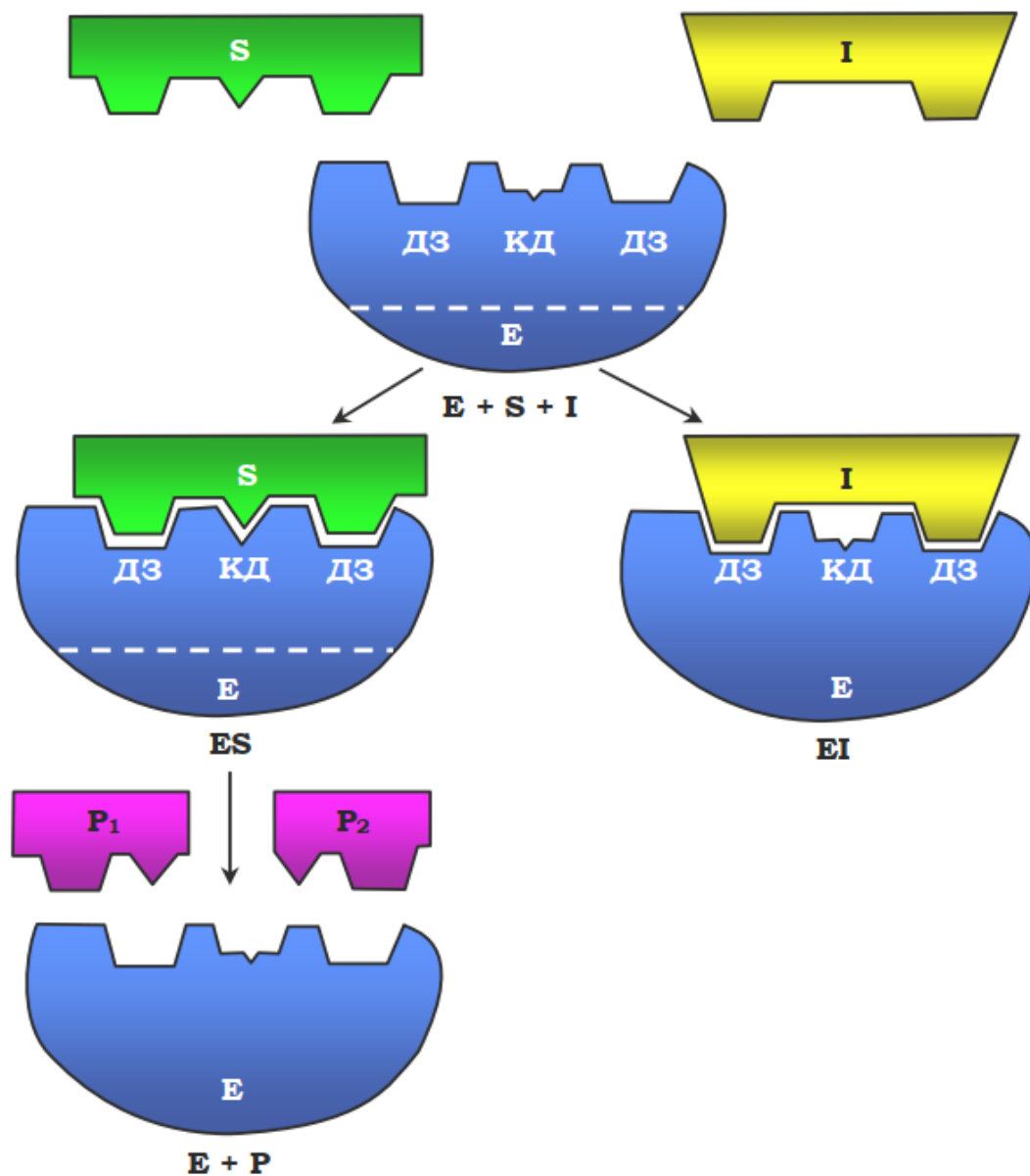


Рис. 53. Конкурентне інгібування активності ензимів [6]
(ДЗ – ділянка зв'язування; КЗ – каталітична ділянка)

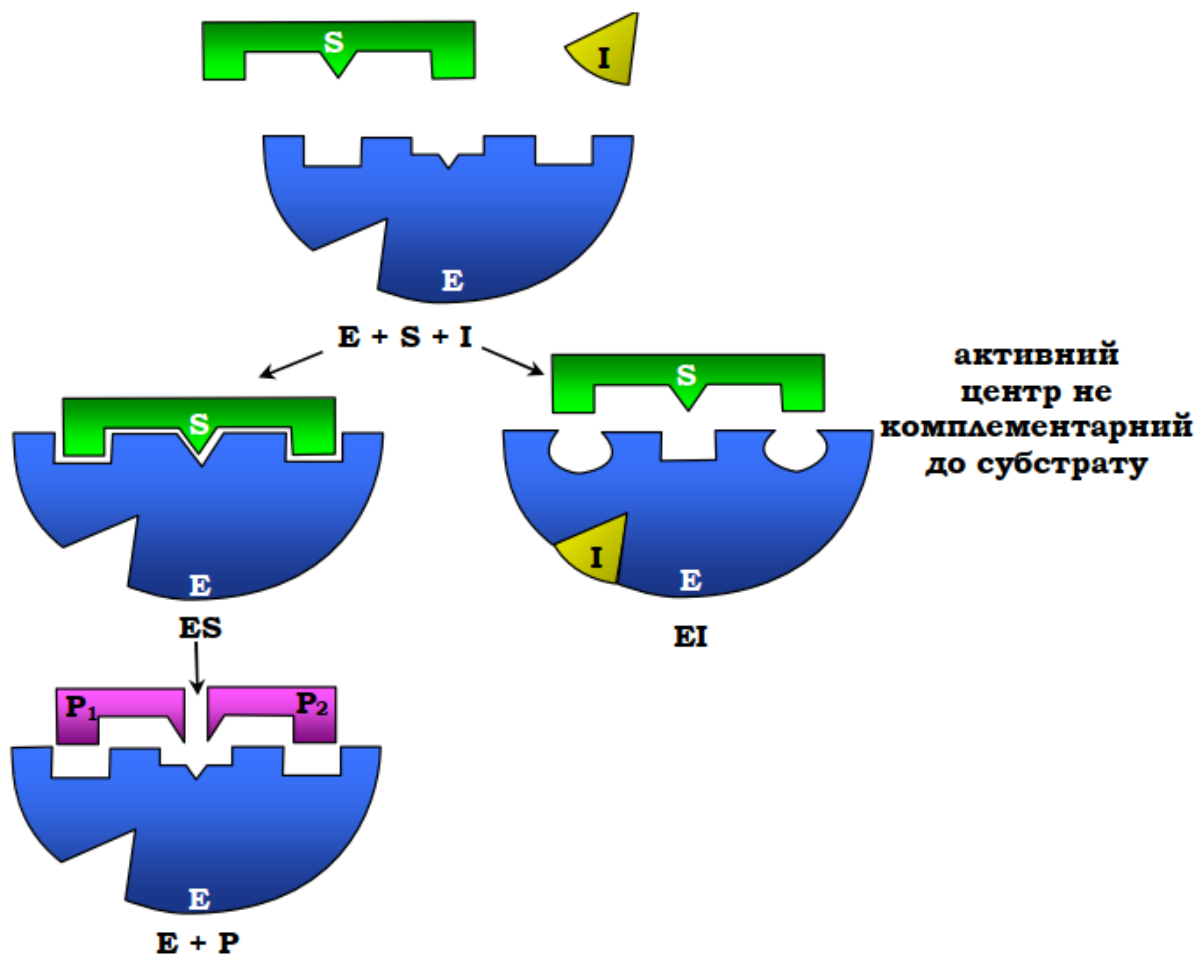


Рис. 54. Неконкурентне інгібування активності ензимів [6]

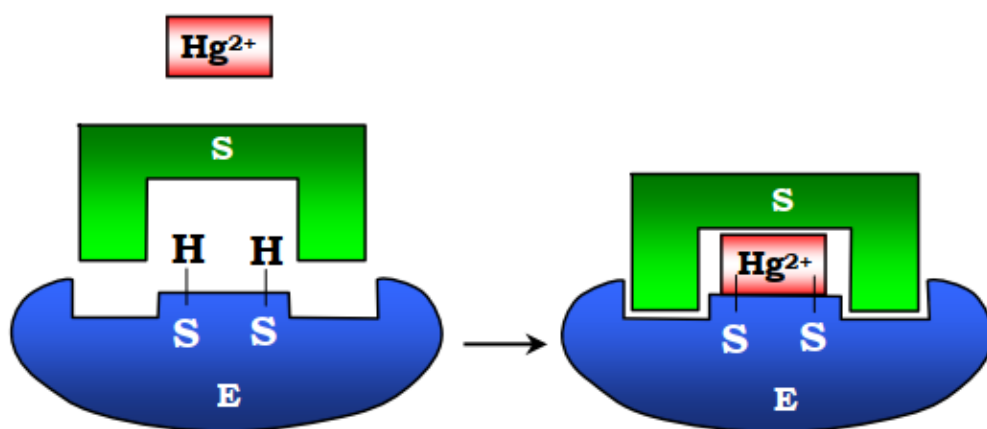


Рис. 55. Необоротне інгібування ензиму іонами ртуті [6]

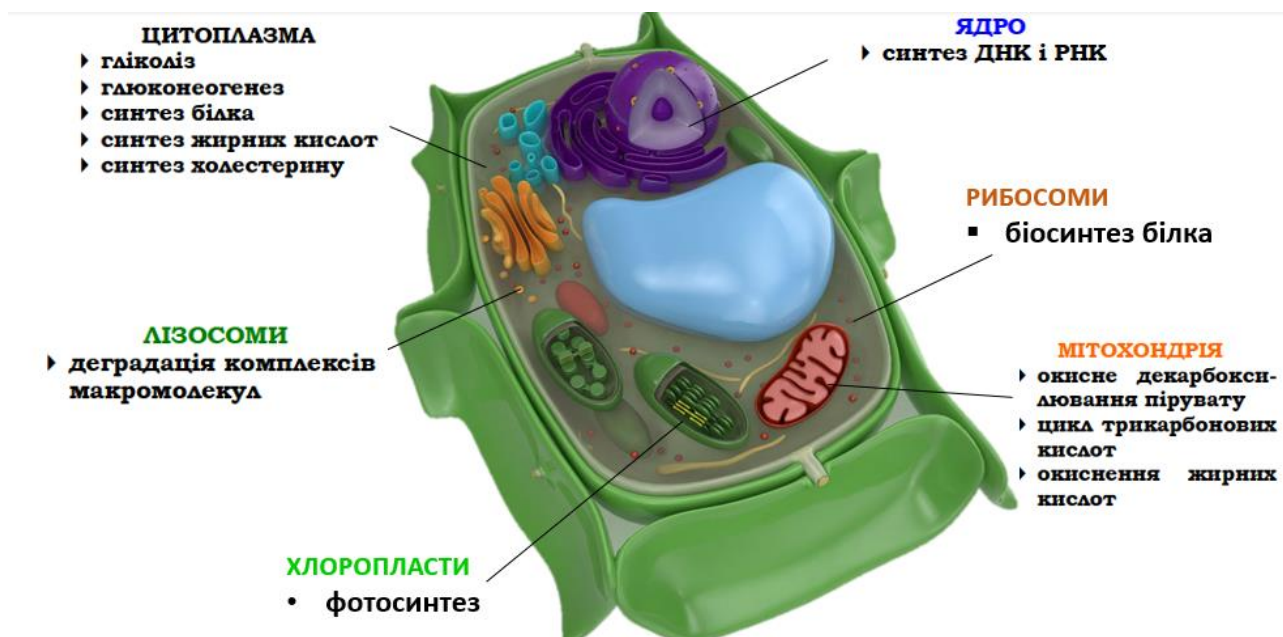


Рис. 56. Локалізація ензимів в клітині

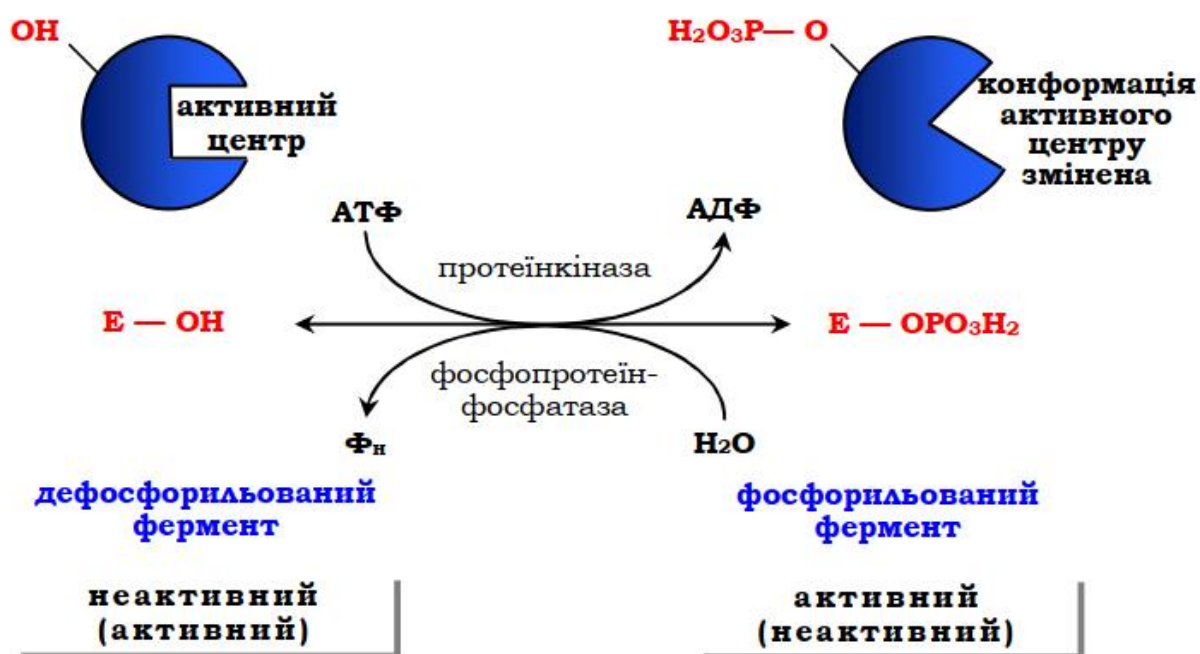


Рис. 57. Регуляція активності езимів шляхом фосфорилювання/дефосфорилювання [6]

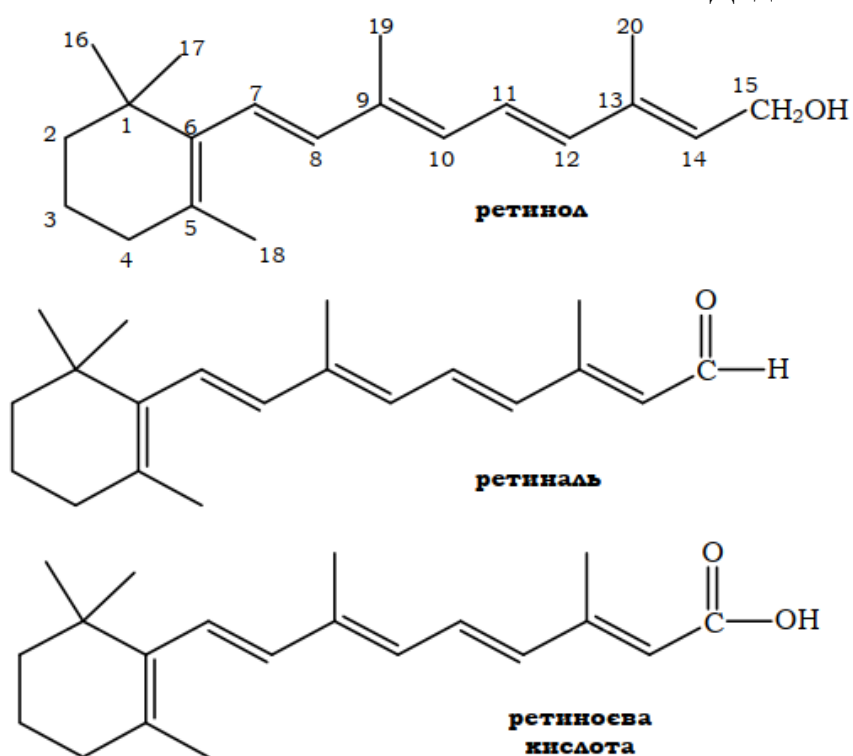


Рис. 58. Хімічна структура вітаміну А

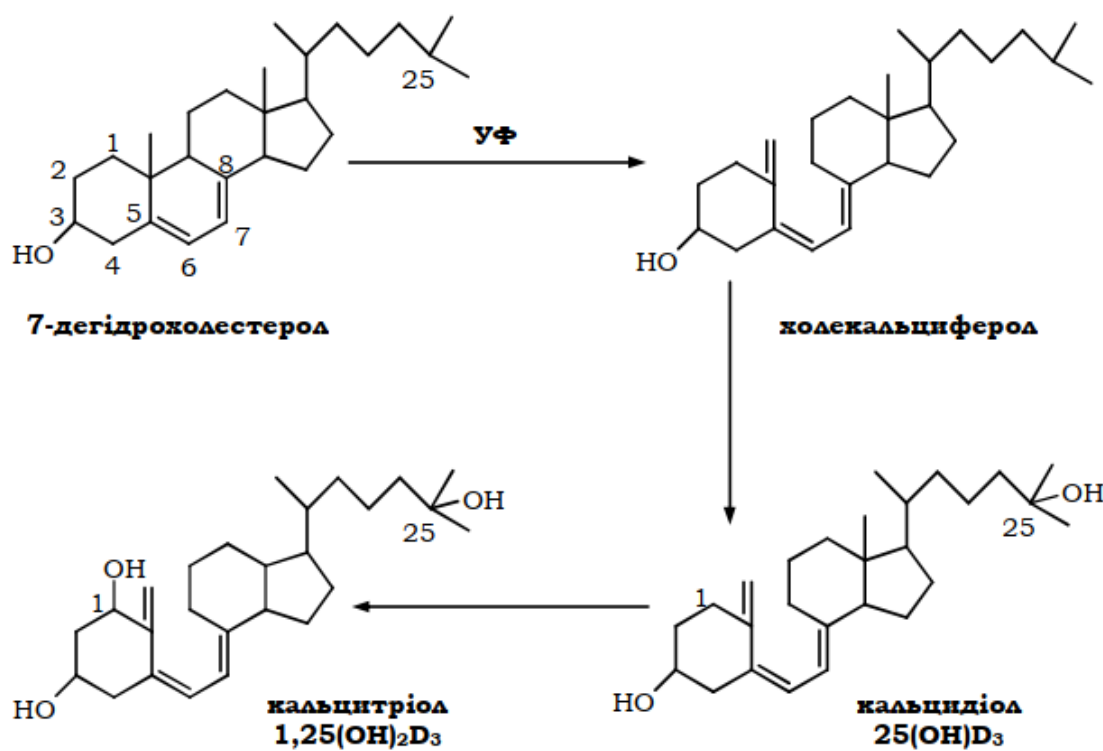


Рис. 59. Синтез кальцитріолу

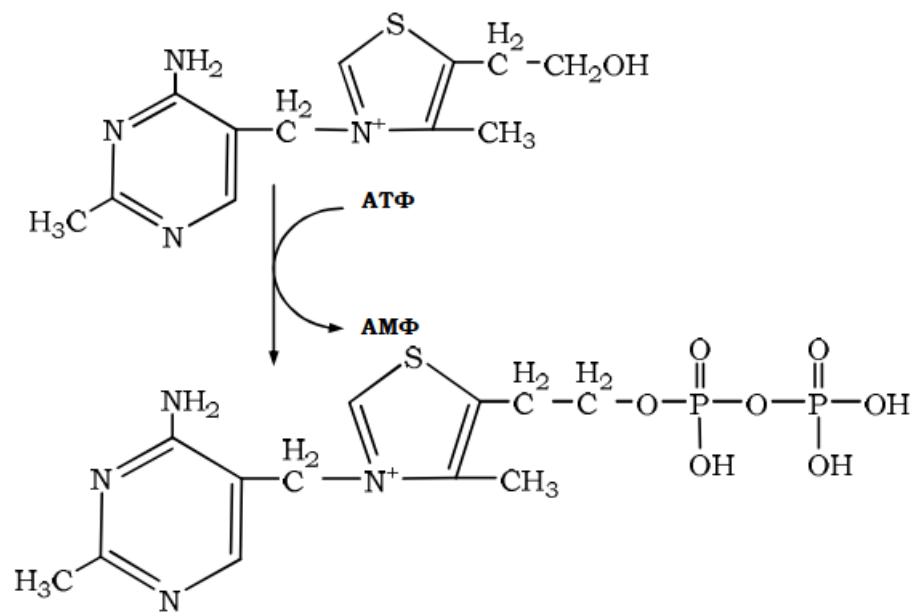


Рис. 60. Реакції синтезу тіамінпірофосфату

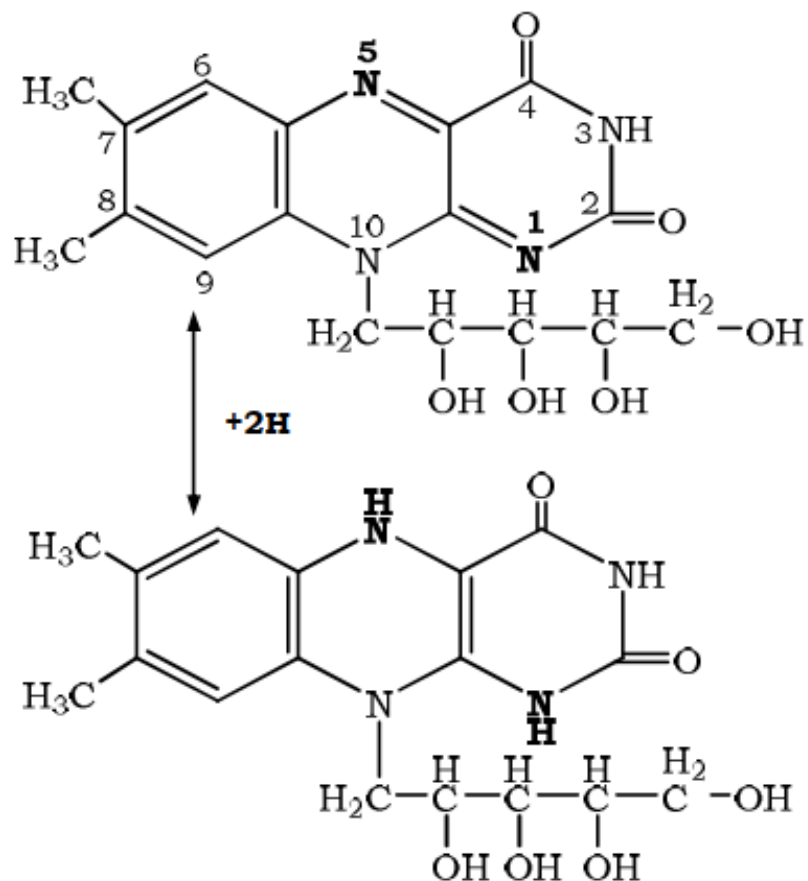


Рис. 61. Рибофлавін/дигідрорибофлавін

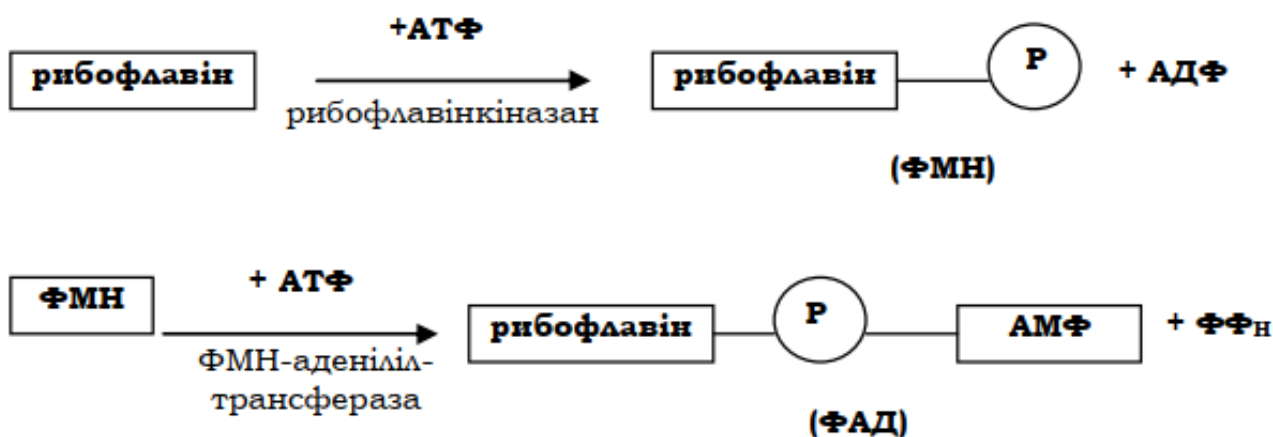


Рис. 62. Синтез коферменту ФАД і ФМН

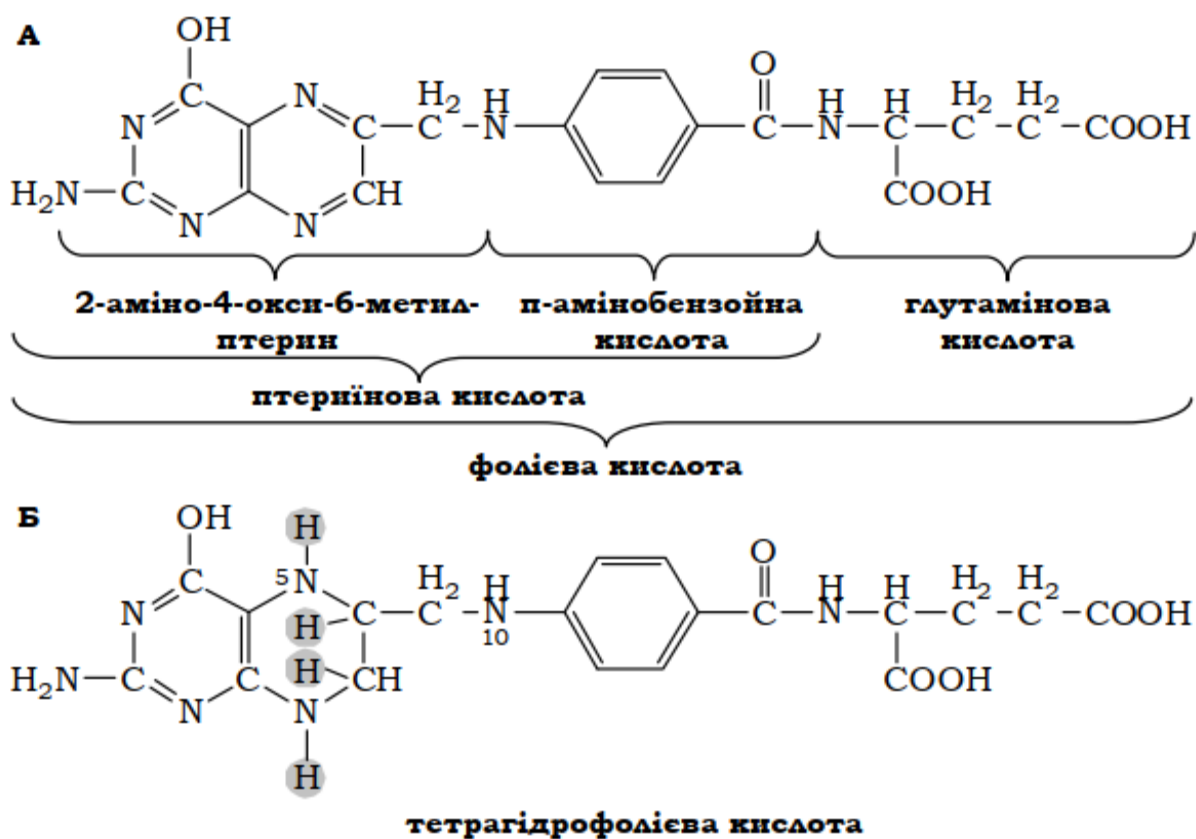


Рис. 63. Хімічна структура фолієвої і тетрагідрофолієвої кислот

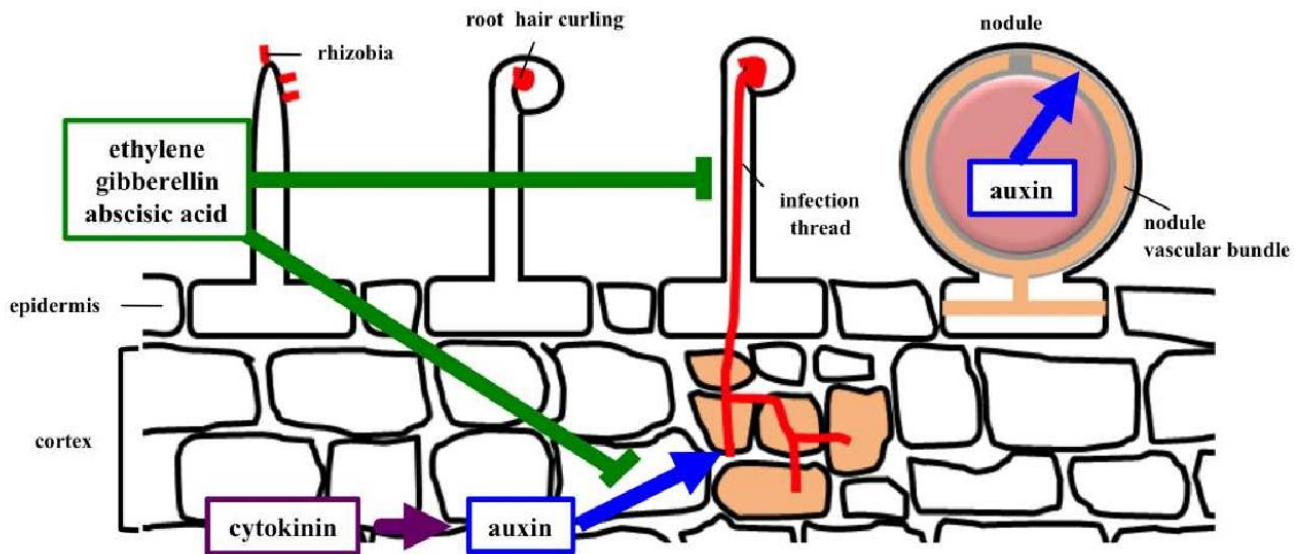


Рис. 64. Дія фітогормонів на нодуляційний процес у бобових рослин (<https://www.semanticscholar.org/paper/Effects-of-Phytohormones-on-Nodulation-and-Nitrogen-Nagata-Suzuki/d68f4ce567a8cc56552e3db84b6b669e568e2a01/figure/0>)

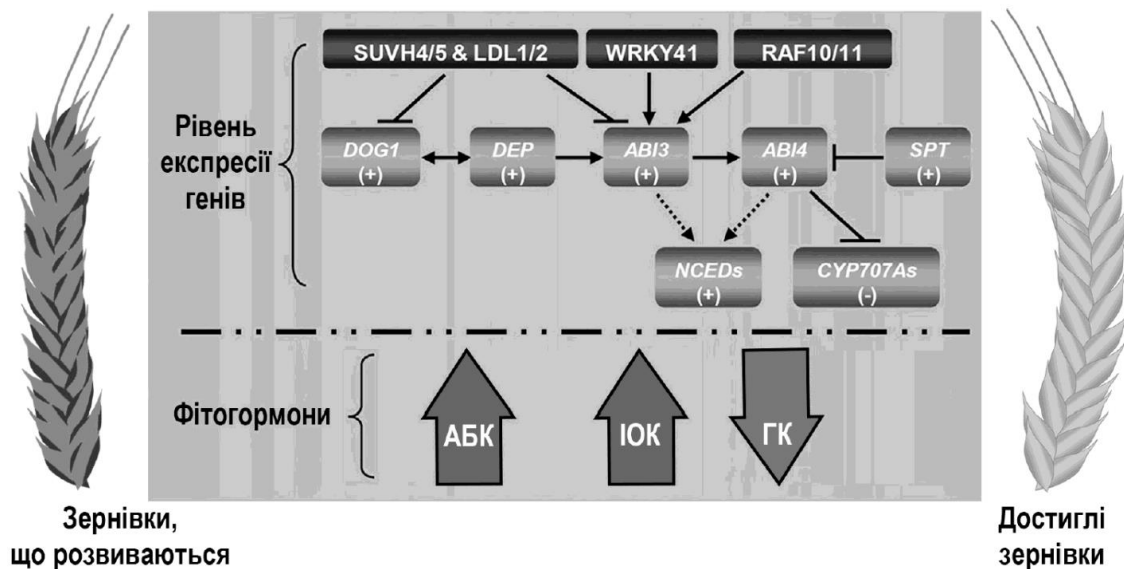


Рис. 65. Акумуляція фітогормонів та експресія генів у насінні, що дозріває (<https://www.frg.org.ua/articles/51030187a.pdf>)

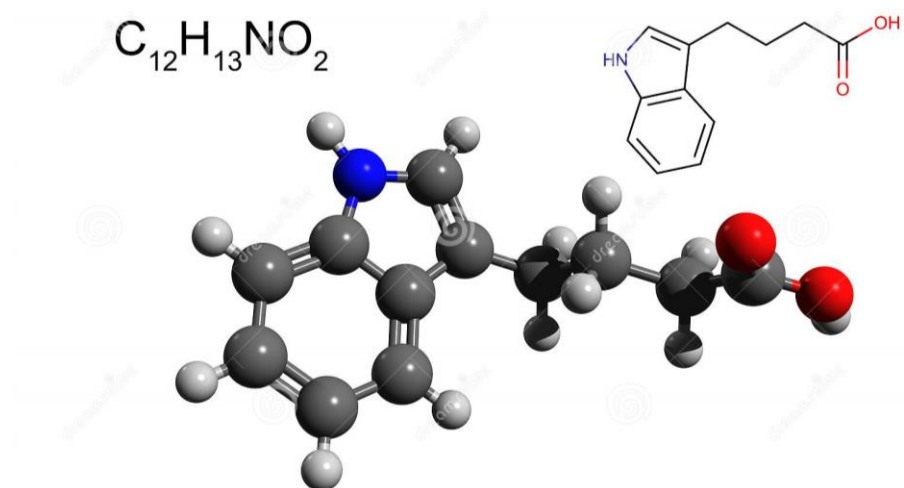


Рис. 66. Хімічна структура ауксину

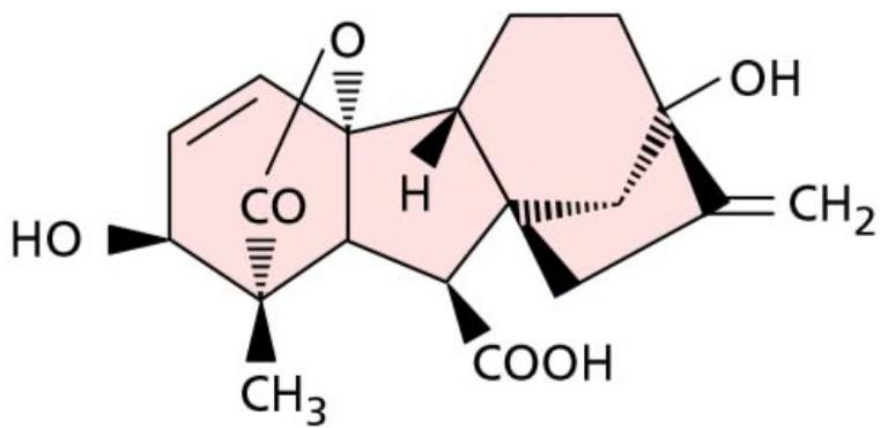


Рис. 67. Гіберелова кислота

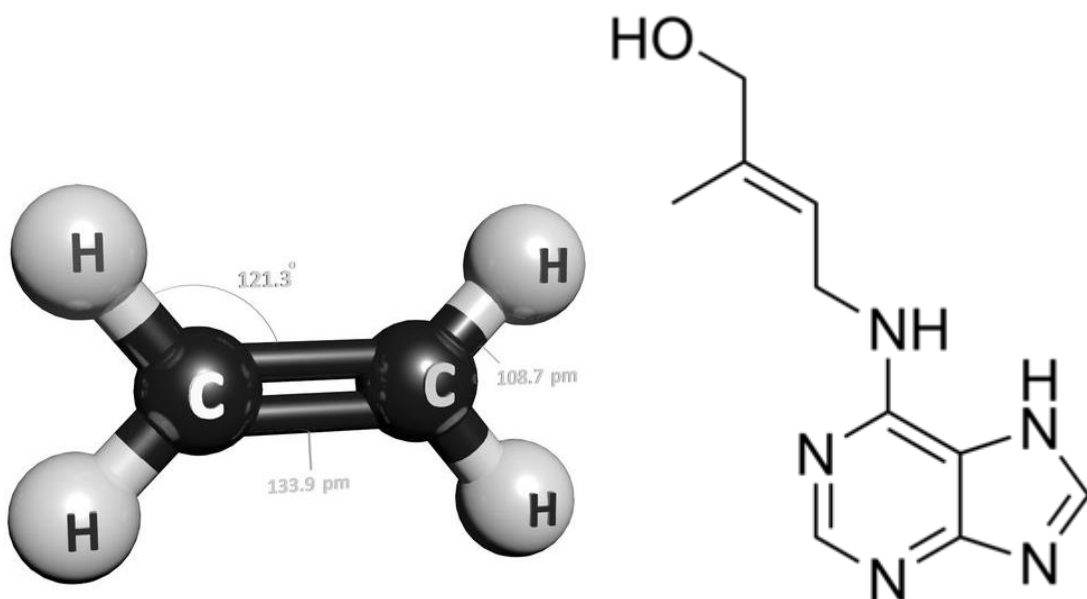


Рис. 68. Етилен

Рис. 69. Зеатин (цитокініни)

Додаток 11.
Основні шляхи розщеплення та
синтезу органічних речовин в живих організмах

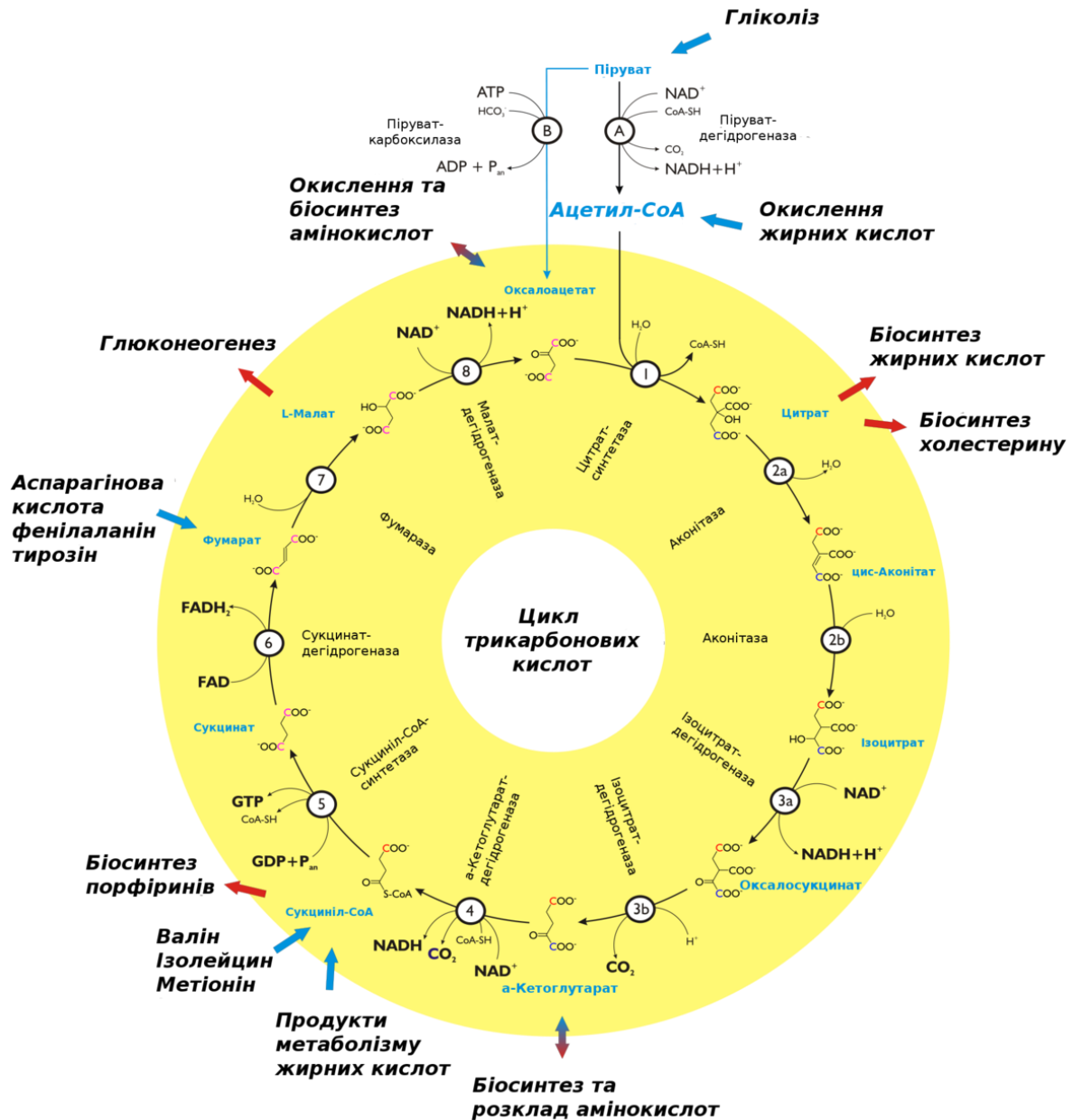


Рис. 69. Цикл трикарбонових кислот

(https://uk.wikipedia.org/wiki/%D0%A6%D0%B8%D0%BA%D0%BB_%D1%82%D1%80%D0%B8%D0%BA%D0%B0%D1%80%D0%B1%D0%BE%D0%BD%D0%BE%D0%B2%D0%B8%D1%85_%D0%BA%D0%B8%D1%81%D0%BB%D0%BE%D1%82)

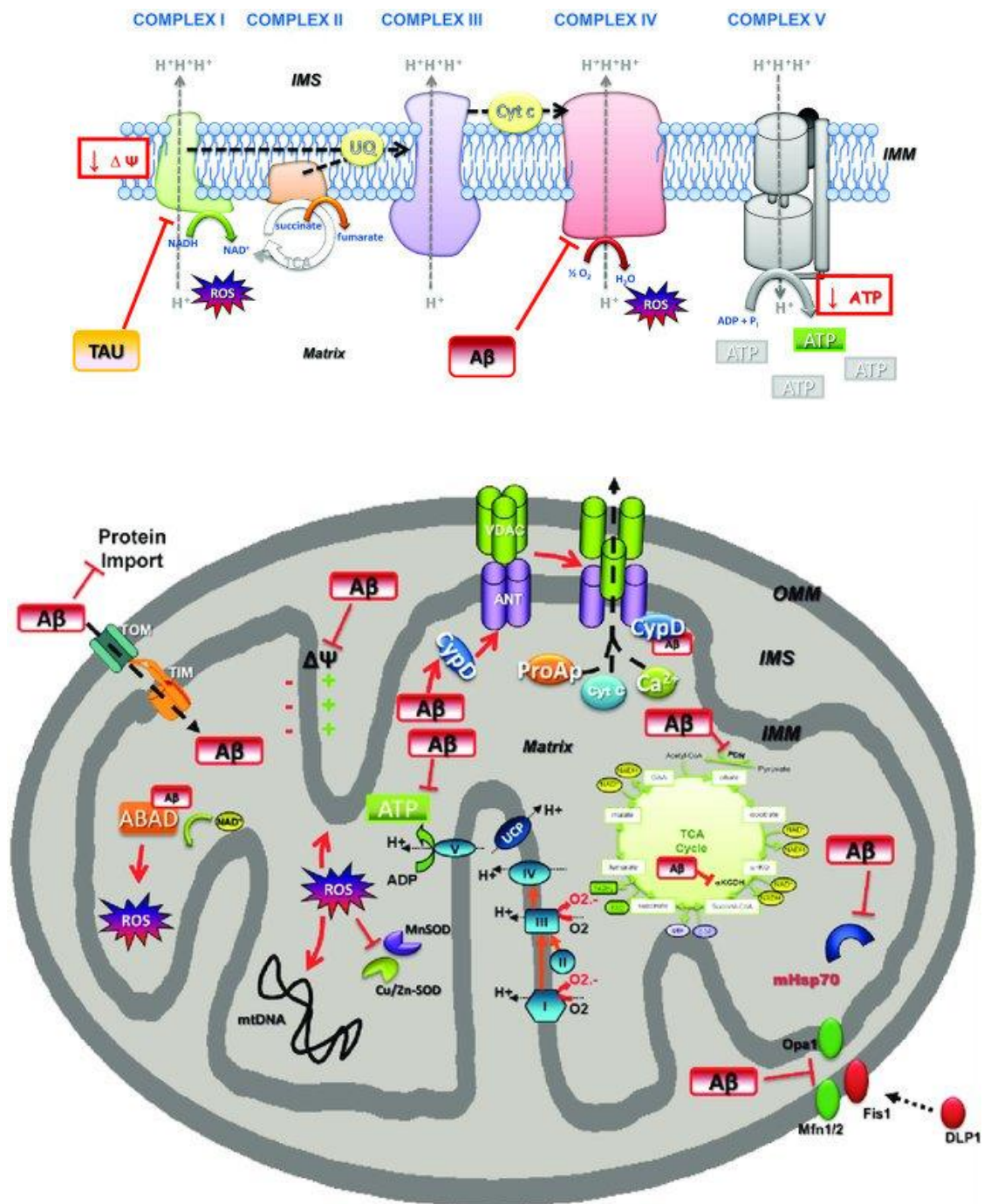


Рис. 71. Електронтранспортний ланцюг мітохондрій
 (https://www.researchgate.net/publication/51101333_Mitochondrial_dysfunction_-_The_beginning_of_the_end_in_Alzheimer%27s_disease_Separate_and_synergistic_modes_of_tau_and_amyloid-toxicity/figures?lo=1)

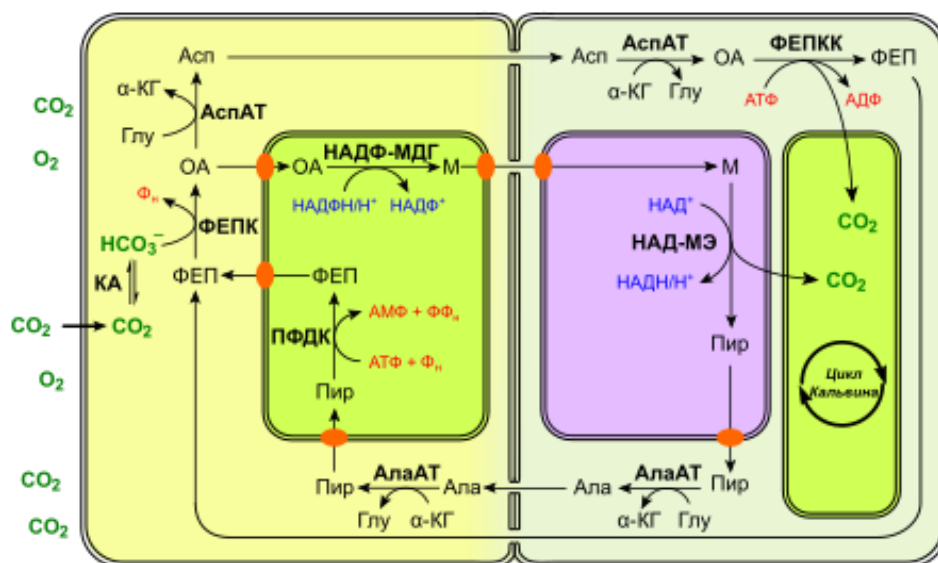


Рис. 72. C4-фотосинтез

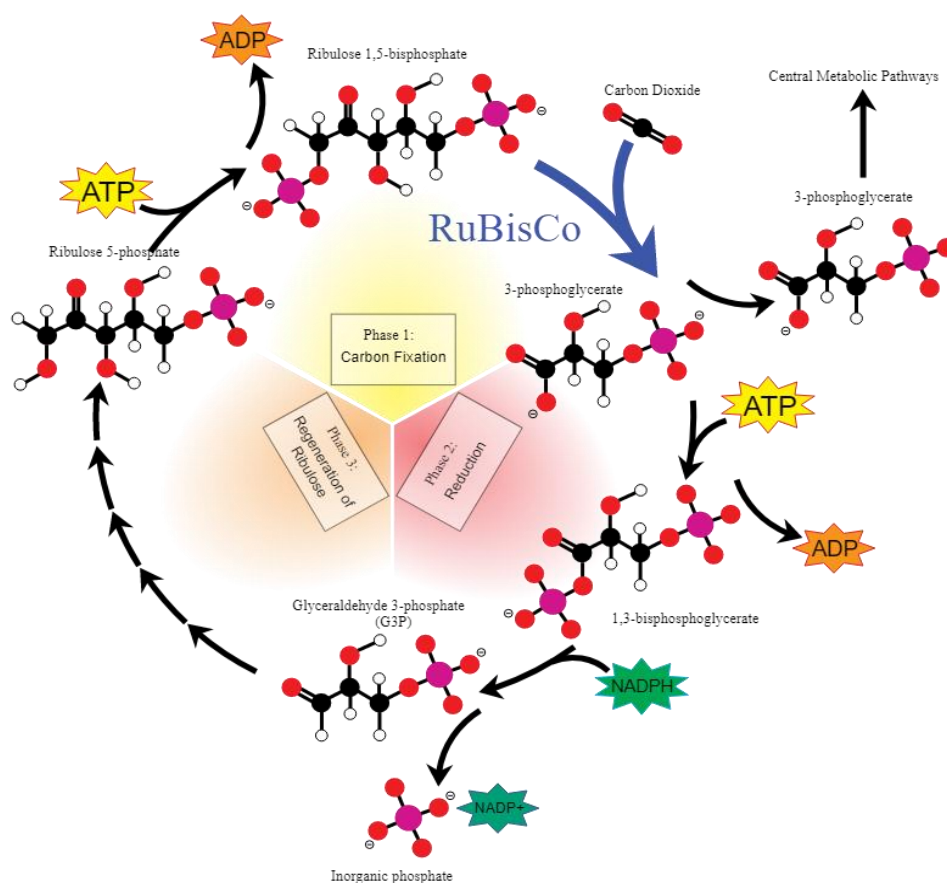


Рис. 73. C3-фотосинтез

(<https://uk.wikipedia.org/wiki/C3-фотосинтез>)

%D1%84%D0%BE%D1%82%D0%BE%D1%81%D0%B8%D0%BD%D1%82%D0%B5%D0%B7)

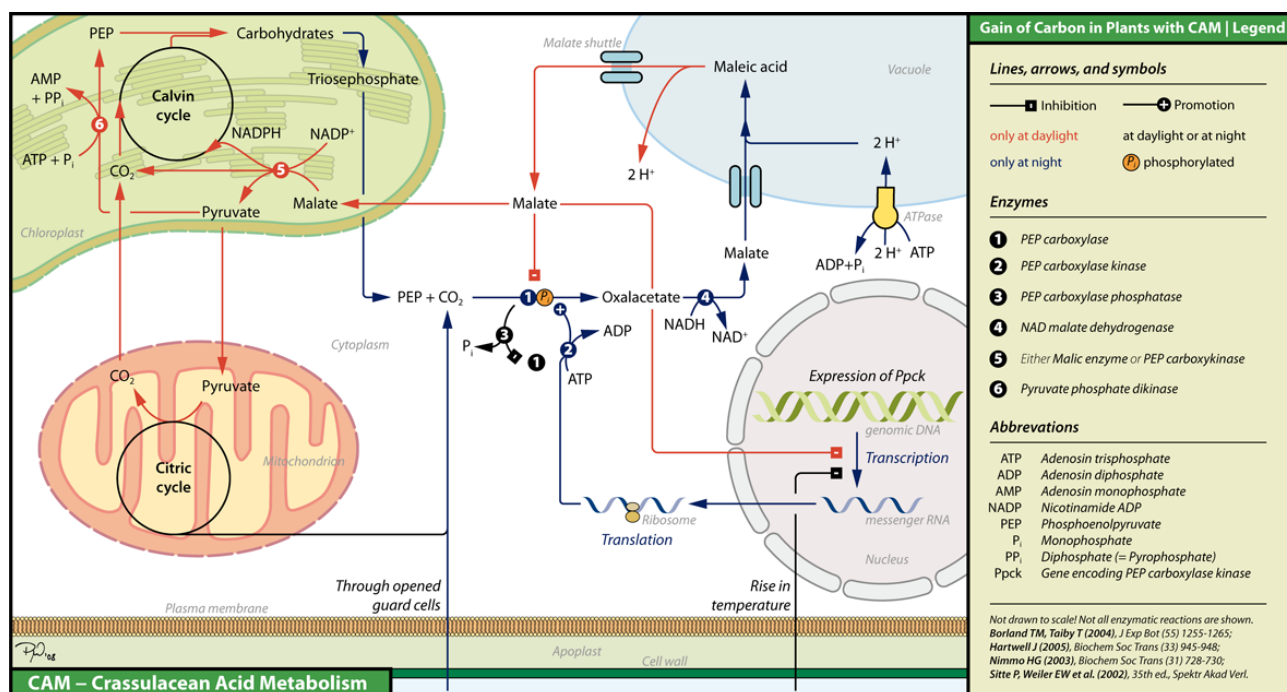


Рис. 74. CAM-фотосинтез (<https://uk.wikipedia.org>)