

Міністерство освіти і науки України  
Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій  
імені С. З. Гжицького

**ЛАБОРАТОРНИЙ ПРАКТИКУМ  
З ЕКОЛОГІЧНОЇ БІОХІМІЇ**

УДК 577.1

Автори: Н. М. Параняк, к. с. - г. н., с. н. с.; С. С. Грабовський, д. б. н., доцент; В. Л. Галяс, к. б. н., професор; О. М. Федець, к. с. - г. н., доцент

Б63 Лабораторний практикум з екологічної біохімії : Навчально-методичний посібник для лабораторних занять та самопідготовки студентів другого (магістерського) рівня вищої освіти спеціальності 101 «Екологія». – Львів : Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, 2019. – 35 с.

Розглянуто і схвалено на засіданні кафедри біологічної та загальної хімії  
Протокол №      від      2019 року

Допущено до друку методичною комісією факультету харчових технологій та біотехнології Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького

Протокол №      від      2019 року

Посібник включає лабораторні роботи з основних розділів екологічної біохімії, а також завдання для самоконтролю знань студентів та самостійної роботи. Основне завдання посібника – закріплення теоретичних знань студентів та формування практичних вмінь і навичок на основі застосування досягнень сучасної екологічної біохімії, які можуть бути використані для виконання курсових і дипломних робіт, а також для роботи за обраною спеціальністю.

## ЗМІСТ

Передмова.....	
Правила техніки безпеки під час проведення лабораторних робіт .....	
<b>Тема 1.</b> Екологічні аспекти хімії вітамінів.....	
1. Якісне та кількісне визначення аскорбінової кислоти в капусті .....	
2. Кількісне визначення вітаміну Р в чаї.....	
3. Якісні реакції на жиророзчинні вітаміни Е, А. ....	
<b>Тема 2.</b> Метаболічна регуляція активності ензимів як механізм адаптації організмів до умов оточуючого середовища.....	
1. Вилучення ензиму сахарази із дріжджів та виявлення його дії .....	
2. Специфічність дії амілази слини.....	
3. Термолабільність амілази слини.....	
4. Дослідження активності амілази слини за різних значень рН середовища	
5. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази.....	
6. Визначення ролі поліфенолоксидази у зміні забарвлення овочів та впливу на них гіпосульфїту натрію.....	
<b>Тема 3.</b> Гормональні взаємодії між рослинами і тваринами. ....	
1. Якісні реакції на інсулін.....	
2. Якісна реакція на тироксин.....	
3. Якісна реакція на адреналін .....	
<b>Тема 4.</b> Адаптивні перебудови на ділянках гліколізу .....	
1. Якісне визначення молочної кислоти як метаболіту гліколізу.....	
2. Глюкозооксидазний метод визначення концентрації глюкози в сироватці крові .....	
<b>Тема 5.</b> Катаболізм та анаболізм ліпідів при зміні умов оточуючого середовища.....	
1.Якісна реакція на жовчні кислоти (реакція Петтенкофера).....	
2.Якісні реакції на лецитин.....	
3.Якісна реакція на холестерол (реакція Сальковського) .....	

4.Визначення концентрації загальних ліпідів в сироватці крові.....

5.Визначення кетонів в сечі тварин.....

#### **Тема 6. Екологічні аспекти хімії білків .....**

1.Вивчення кольорових реакцій на амінокислоти.....

2.Фізико-хімічні властивості білків.....

3.Кількісне визначення білка.....

4.Дослідження компонентів складних білків.....

#### **Тема 7. Екологічні аспекти хімії нуклеїнових кислот .....**

1. Визначення вмісту сечової кислоти у біологічному матеріалі .....

#### **Тема 8. Інтеграція процесів обміну в організмі тварин. Взаємозв'язок метаболізму ендogenous органічних сполук і ксенобіотиків .....**

1.Якісне визначення деяких екстрактивних і мінеральних речовин м'язової тканини.....

2.Визначення неорганічного фосфору в сечі тварин колориметричним методом.....

#### **Тема 9. Екологічна оцінка токсинів живих організмів.....**

1.Кількісне визначення вмісту нітратів у овочах та фруктах.....

2.Вивчення впливу термічної обробки на вміст нітратів.....

3.Визначення середньодобового надходження нітратів у організм з продуктами харчування.....

#### **Тема 10. Екологічний контроль якості продукції .....**

1. Тонкошарова хроматографія ліпідів м'язової тканини тварин.....

## ПЕРЕДМОВА

У цьому методичному посібнику описані лабораторні роботи різних рівнів складності, що дозволяють отримати уявлення про структуру та властивості біологічних макромолекул, у тому числі ензимів, про основні біохімічні процеси та особливості перебігу біохімічних реакцій при зміні умов оточуючого середовища, при направленій дії певних екологічних факторів.

Завданнями посібника є вивчення принципів якісного і кількісного аналізу біомолекул, подолання розриву між теоретичними знаннями і практичним творчим використанням сучасних еколого–біохімічних методів.

Лабораторні роботи, викладені у навчально–методичному посібнику для лабораторних занять та самопідготовки студентів другого (магістерського) рівня вищої освіти спеціальності 101 «Екологія» максимально наближені до майбутньої спеціальності студентів, охоплюють основні розділи дисципліни і спрямовані на більш поглиблене засвоєння знань.

У процесі виконання лабораторної роботи студенти повинні закріпити теоретичні знання з даного розділу програми, навчитися працювати з лабораторним посудом та приладами. Робота в лабораторії вимагає осмислення теоретичного матеріалу, з яким пов'язані дослідження, тому студент повинен вивчити теоретичний матеріал з теми лабораторної роботи, який наведений у теоретичному вступі до кожної роботи. Обов'язкові знання студентів з правил техніки безпеки при роботі з приладами і відповідними реактивами, без чого не можна починати практичну частину роботи.

Лабораторна робота подається з відповідним оформленням для захисту.

Посібник допоможе студентам швидко зорієнтуватися у досить великому обсязі наукової інформації під час вивчення екологічної біохімії, а також отримати знання про сучасні методи біохімічних досліджень, оволодіти практичними навичками визначення певних речовин у біологічному матеріалі, умінням узагальнювати, аналізувати й оцінювати результати лабораторних досліджень, що має значення у майбутній професійній діяльності.

## ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ ПІД ЧАС ПРОВЕДЕННЯ ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ

1. Під час виконання лабораторних робіт з екологічної біохімії треба працювати лише у спеціальному одязі (халат, шапочка).
2. У біохімічній лабораторії повинні бути в наявності протипожежні засоби (вогнегасник, пісок, вода), аптечка для надання першої медичної допомоги та засоби особистого захисту (гумові рукавички, захисні окуляри та бки).
3. Необхідно підтримувати чистоту, тишу, порядок.
4. У лабораторії заборонено палити, приймати їжу, пити воду або інші напої.
5. Під час роботи слід бути дуже обережним та акуратним, слідкувати, щоб речовини не потрапили на одяг, шкіру, а також в очі.
6. Недопустимо перевіряти речовини чи розчини на смак. Нюхати речовини, обережно направляючи на себе пару або газ легким рухом руки.
7. На посуді, в якому зберігаються речовини або розчини, повинні обов'язково бути етикетки з назвою речовини або зі складом розчину.
8. Під час роботи з реактивами не можна торкатися обличчя, очей та відкритих ділянок шкіри.
9. Під час нагрівання рідких і твердих речовин у пробірках і колбах не можна направляти їх отвір на себе чи сусіда. Заглядати при цьому зверху в отвір пробірки заборонено.
10. Забороняється виливати в раковину концентровані розчини кислот, лугів, солей важких металів.
11. Досліди з легкозаймистими речовинами (ефір, бензин, ацетон, спирт тощо) проводять подалі від вогню і ввімкнених електроприладів.
12. Для приготування розчинів речовини треба відбирати шпателем, кількісно переносити їх у мірні стакани чи колби. Готові реактиви належить зберігати в закритому посуді з етикетками, на яких позначено назву, формулу сполуки, концентрацію та дату приготування.
13. Перед проведенням досліджень необхідно ретельно вивчити методику та підготувати робоче місце.
14. Перед використанням приладів слід детально ознайомитися з інструкцією.
15. При виникненні пожежі негайно відключити газ, вимкнути електроприлади в лабораторії. Швидко забрати всі горючі речовини подалі від вогню, а полум'я гасити вогнегасником, піском або використовувати протипожежну ковдру. Не можна заливати вогонь водою.
16. При термічних опіках негайно роблять примочки спиртовим розчином таніну, етанолом або розчином перманганату калію.
17. При опіках кислотами необхідно відразу ж промити уражене місце проточною водою, потім 5% розчином гідрокарбонату натрію.
18. При опіках лугами необхідно відразу ж промити уражене місце проточною водою, потім 3% розчином борної або оцтової кислоти.

## Тема 1. Екологічні аспекти хімії вітамінів

### Пояснення до завдання

Вітаміни надходять в організм з продуктами харчування, переважно рослинного походження. При відсутності вітамінів у їжі організм не отримує необхідних речовин, що згубно позначається на здоров'ї як людини, так і тварин.

Антропогенне забруднення довкілля різними поллютантами негативно впливає на фізіолого-біохімічні процеси у живих організмів, зокрема, на надходження окремих вітамінів з кормами або продуктами харчування та їх засвоєння. Біологічна роль більшості вітамінів полягає у тому, що багато з них входять до складу простетичних груп ензимів. Недостатнє надходження вітамінів з їжею, а також порушення їх всмоктування в організмі призводить до розвитку важких порушень обміну речовин: авітамінози і гіповітамінози.

Для збереження вітамінів у їжі слід дотримуватись правил заготівлі, зберігання продуктів, приготування їжі – уникати її переварювання й пересмажування. Наприклад, у пошкоджених овочах і фруктах аскорбінова кислота руйнується внаслідок дії ензимів.

### Порядок виконання дослідів

#### **1. Якісне та кількісне визначення аскорбінової кислоти в капусті**

Принцип методу. Кількісний метод визначення аскорбінової кислоти заснований на здатності вітаміну С відновлювати 2,6-дихлорфеноліндофенол, який у кислому середовищі має червоне забарвлення, в лужному – синє, а при відновленні знебарвлюється. Для запобігання руйнування вітаміну С досліджуваний розчин титрують у кислому середовищі лужним розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу до появи рожевого забарвлення.

Хід роботи: Відважують 1 г капусти, розтирають у ступці з 2 мл 10% розчину HCl і скляним піском, доливають 8 мл води і фільтрують. Відбирають для титрування 2 мл фільтрату, додають 10 крапель 10% розчину HCl і титрують 2,6-дихлорфеноліндофенолом до рожевого забарвлення. Обчислюють уміст аскорбінової кислоти в 100 г капусти.

Для розрахунку вмісту аскорбінової кислоти використовують формулу:

$$C = B \cdot A \cdot 0,088 \cdot G \cdot 100 \cdot X,$$

де X – уміст аскорбінової кислоти в мг на 100 г продукту;

0,088 – уміст аскорбінової кислоти, мг;

A – кількість титранту, мл;

B – обсяг екстракту, взятий для титрування, мл;

V – кількість продукту, узятото для аналізу, г;

G – загальна кількість екстракту;

100 – перерахунок на 100 г продукту.

У 100 г капусти міститься 25 – 100 мг аскорбінової кислоти.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## 2. Кількісне визначення вітаміну Р в чаї

Принцип методу. Рутин здатний окиснюватися перманганатом калію; як індикатор застосовується індигокармін, який вступає в реакцію з перманганатом калію після того, як окисниться весь рутин. Експериментально встановлено, що 1 мл 0,1 н розчину перманганату калію окиснює 6,4 мкг рутину.

### Хід роботи:

Наважку чаю (0,5 – 0,6 г) переносять в конічну колбу, заливають 200 мл киплячої води, колбу закривають корком з повітряним холодильником і продовжують кип'ятіння протягом 5 хв, після чого охолоджують. Вимірюють загальний об'єм водного екстракту.

У велику фарфорову чашку наливають піпеткою 500 мл дистильованої води, 25 мл розчину індигокарміну і 10 мл водного екстракту з листя чаю. Розчин у чашці, забарвлений в синій колір, титрують 0,1 н розчином калію перманганату до появи жовтого забарвлення. Розчин калію перманганату додають невеликими порціями, весь час перемішуючи рідину в чашці скляною паличкою.

Одночасно проводять контрольний дослід: у фарфорову чашку наливають 500 мл дистильованої води, 25 мл розчину індигокарміну і титрують 0,1 н розчином калію перманганату.

Сумарний вміст речовин Р-вітамінної дії в чаї Х% обчислюють за формулою :

$$X = \frac{(a - b) \cdot K \cdot 0,0064 \cdot V_1 \cdot 100}{V_2 \cdot d}, \text{ де}$$

а – кількість 0,1 н розчину  $\text{KmpO}_4$ , витрачена на титрування досліджуваного розчину, мл;

б – кількість 0,1 н розчину  $\text{KmpO}_4$  витрачена на титрування контрольного дослід, мл;

К – поправка на титр 0,1 н розчину калію перманганату;

0,0064 – кількість грамів чайного таніну, що окиснюється 1 мл 0,1 н розчину  $\text{KmpO}_4$ ;

$V_1$  – об'єм водного екстракту з листя чаю, мл;

$V_2$  – кількість водного екстракту, узята для титрування, мл;

d – наважка чаю, г.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## 3. Якісні реакції на жиророзчинні вітаміни Е, А



### 3.1 Якісні реакції на вітамін Е

#### 3.1.1 Реакція з нітратною кислотою

Принцип методу: Взаємодія  $\alpha$ -токоферолу з концентрованою нітратною кислотою зумовлює забарвлення реакційної суміші в червоний колір, оскільки продукт окиснення  $\alpha$ -токоферолу має хіноїдну структуру.

Хід роботи: У суху пробірку вносять п'ять крапель спиртового розчину вітаміну Е, додають 1 мл концентрованої  $\text{HNO}_3$ , інтенсивно перемішують.

Спостерігають поступову появу червоного забарвлення.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

#### 3.1.2 Реакція з хлорним залізом

Принцип методу. Під час взаємодії з хлорним залізом(III)  $\alpha$ -токоферол окислюється до  $\alpha$ -токоферилхінону – сполуки червоного кольору.

Хід роботи: У суху пробірку вносять 0,5 мл спиртового розчину  $\alpha$ -токоферолу, потім 0,5 мл розчину  $\text{FeCl}_3$  й інтенсивно перемішують. Спостерігають появу забарвлення.

### 3.2 Якісні реакції на вітамін А

#### 3.2.1 Реакція з сульфатною кислотою

Принцип методу. В основі реакції лежить здатність сульфатної кислоти віднімати у вітаміну А воду з утворенням кольорових продуктів реакцій.

Хід роботи: У пробірку вносять 2 краплі масляного розчину вітаміну А, 2 краплі хлороформу, 2 – 4 краплі сульфатної кислоти. З'являється синє забарвлення, що переходить в темно-червоне і коричневе.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

### Контрольні запитання

1. Що таке вітаміни?
2. Вітамін С, будова, властивості, стійкість при переробці і зберіганні рослинної сировини, джерела надходження, добова потреба.
3. Способи зберігання вітаміну С в рослинній сировині.
4. Екозалежність захворювань, спровокованих нестачею водорозчинних вітамінів в організмі людини і тварин.
5. Яка роль вітамінів і мікроелементів у життєдіяльності рослин, тварин та мікроорганізмів?
6. Яке значення рослин у забезпеченні тваринного світу вітамінами?
7. Біологічна роль світла в утворенні вітамінів в організмі людини і тварин.
8. Які прояви свідчать про наявність гіповітамінозу А?
9. Які ознаки гіповітамінозу Д?
10. Фізіологічна дія вітамінів К і Е?
11. Наведіть приклади авітамінозів.

12. Вплив світла на збереження вітамінів у продуктах харчування та кормах.
13. Назвіть харчові джерела жиророзчинних вітамінів та вкажіть їх участь у метаболізмі.
14. Вітаміни групи В ( $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_6$ ,  $B_{12}$ ). Джерела надходження, зв'язок з ензимами, добова потреба.
15. Вітамін РР, будова, зв'язок з ензимами, участь в обміні речовин, джерела надходження, добова потреба.
16. Методи збереження вітамінів у продуктах харчування та кормах.
17. Пантотенова кислота ( $B_{15}$ ), будова, зв'язок з коферментом А.
18. Екозалежність захворювань, спровокованих нестачею жиророзчинних вітамінів в організмі людини і тварин.

## **Тема 2. Метаболічна регуляція активності ензимів як механізм адаптації організмів до умов оточуючого середовища**

### Пояснення до завдання

Ензими – біологічні каталізатори білкової природи, які присутні у всіх тканинах, клітинах, внутрішньоклітинних органелах і біологічних рідинах. Завдяки ензімам обмін речовин в живих організмах протікає з великою швидкістю за температури тіла.

Ензими, як біокаталізатори: 1) не викликають будь-яких реакцій, неможливих за термодинамічними законами; 2) збільшують швидкість як прямої, так і зворотної реакції оборотного хімічного процесу; 3) залишаються хімічно незмінними; 4) в дуже малих кількостях здатні перетворювати великі маси субстратів.

Відповідно до сучасних уявлень ензими збільшують швидкість хімічної реакції, знижуючи енергетичний бар'єр цієї реакції. Провідну роль у механізмі ензимного каталізу відіграють проміжні ензим–субстратні комплекси, утворення яких визначається як структурою активного центру, так і унікальною будовою усієї молекули ензиму.

Біотичні, абіотичні та антропогенні фактори навколишнього середовища, що здатні впливати на дію ензимів, істотно підвищуючи їх активність, називають активаторами. Знижують, а то й повністю блокують роботу ензимів – інгібітори. Активаторами ензимів часто є іони мінеральних речовин.

Інгібітори можуть повністю зупинити певний тип реакцій у клітинах рослин та тварин, але частіш за все вони лише знижують швидкість біохімічного процесу, який забезпечується ензимом.

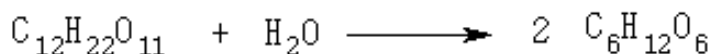
Інгібітори, що пригнічують діяльність ензимів, часто є отрутами. Зокрема, це синильна кислота, важкі метали (свинець, ртуть та ін.).

На основі інгібіторів ензимів синтезують речовини, що використовуються у сільському господарстві або як гербіциди, або для гальмування проростання насіння, коренеплодів та бульб при їх зберіганні.

### Порядок виконання дослідів

## 1. Вилучення ензиму сахарози з дріжджів та виявлення його дії

Принцип методу. Сахараза каталізує гідроліз сахарози до глюкози та фруктози:



Глюкозу, яка утворюється, визначають реакцією Фелінга.

Хід роботи: Розтерти 50 г дріжджів в ступці, нанести їх тонким шаром на скло і висушити у потоці сухого повітря. Висушені дріжджі розтерти до вигляду порошку. До отриманого порошку додати невеликими порціями 200 мл води і залишити у термостаті на 1 год. (25 – 30 °C). Потім масу профільтрувати через складчатий паперовий фільтр. Відфільтрована витяжка містить ензим сахаразу. У дві пробірки внести по 3 мл розчину сахарози і додати в одну 0,5 мл води, в іншу – 0,5 мл розчину сахарози (екстракту дріжджів). Помістити обидві пробірки у водяну баню на 10 хв. (37 °C). Потім додати у кожен пробірочку по 3 мл реактиву Фелінга і нагріти до кипіння. У пробірці з витяжкою ензиму утворюється червоний осад оксиду міді (I), що вказує на присутність глюкози.

Приготування реактиву Фелінга:

1. 40 г мідного купоросу розчиняють у 1 л води;
2. 200 г сегнетової солі розчиняють у воді при нагріванні, додають 160 г їдкого натру і охолоджують, після чого доводять водою до 1 л.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## 2. Специфічність дії амілази слини

Принцип методу. Висока специфічність ензимів визначається тим, що тільки деякі строго визначені функціональні групи, що входять до складу ензимів, можуть приймати участь в утворенні ензим–субстратних комплексів. Ензими специфічні як стосовно типу реакцій, які каталізують, так і стосовно субстратів, на які вони діють.

Амілаза слини, маючи відносну групову специфічність, розщеплює α-1,4-глікозидні зв'язки в полісахаридах і не діє на дисахариди.

Хід роботи: У 2 пробірки наливають по 5 крапель розведеної в 5 разів слини. В першу пробірочку додають 10 крапель 1% розчину крохмалю, в другу – 10 крапель 1% розчину сахарози. Обидві пробірки ставлять у термостат при 38 °C на 10 хвилин. Після цього з умістом пробірок проводять реакцію Троммера.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

### 2.1 Реакція Троммера:

Принцип методу. Продуктом гідролізу крохмалю є глюкоза, наявність якої можна встановити реакцією Троммера.

На підставі результатів реакції Троммера, можна зробити висновок про гідроліз крохмалю під впливом відповідних ензимів до глюкози та відсутність реакції із сахарозою.

Хід роботи: У пробірки вносять по 2 мл досліджуваних розчинів та по 5 крапель 10% розчину NaOH і по 3 краплі 5% розчину  $\text{CuSO}_4$  у кожен. Збовтують уміст пробірок (утворюється яскраво-синій прозорий розчин). Обережно нагрівають пробірки і кип'ятять 1 хвилину.

Очікуваний результат: поява червоного забарвлення вказує на наявність глюкози (продукту гідролізу крохмалю) у пробі.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

### 3. Термолабільність амілази слини

Принцип методу. Температура, за якої спостерігається максимальна швидкість ензимної реакції, називається оптимальною і найчастіше дорівнює  $37-40^\circ\text{C}$ . При підвищенні температури швидкість більшості каталітичних процесів починає зменшуватись. Це пояснюється тепловою денатурацією білкової молекули ензима і втратою каталітичної активності. Про вплив температури на активність амілази слини судять за розщепленням цим ензимом крохмалю до глюкози в різних температурних умовах ( $100^\circ\text{C}$  та  $38^\circ\text{C}$ ). Ступінь розщеплення крохмалю амілазою визначають йодною пробою (позитивна реакція з йодом вказує на відсутність гідролізу крохмалю, а утворення продукту реакції – пробою Троммера).

Хід роботи: Розводять 1–2 мл слини у 5 разів дистильованою водою. Відбирають 3 мл розведеної слини у хімічну пробірку і кип'ятять 5 хв., після чого її охолоджують. У 3 пробірки наливають по 10 крапель 1% розчину крохмалю у кожен. Далі у першу пробірку додають 10 крапель розведеної в 5 разів некип'яченої слини, у другу – 10 крапель кип'яченої слини, у третю – 10 крапель води як контроль. Всі пробірки ставлять у термостат на 10 хв. При  $38^\circ\text{C}$ . Потім уміст кожної пробірки ділять на 2 частини (знадобиться ще 3 пробірки) й проводять якісну реакцію на крохмаль (йодна проба) і на глюкозу (проба Троммера).

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

#### 3.1 Реакція на крохмаль (йодна проба)

Хід роботи: В усі три пробірки наливають по 1 краплі 1% розчину йоду в калію йодиді. Очікуваний результат: в присутності крохмалю з'являється синє забарвлення

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

#### 3.2 Реакція Троммера (див. роботу 2.1)

### 4. Дослідження активності амілази слини за різних значень рН середовища

Принцип методу. Вплив рН на активність ензимів пояснюється тим, що білкова молекула ензиму є амфотерним поліелектролітом і його каталітична активність залежить від ступеня іонізації функціональних груп, які входять до його активного центру. Зміщення рН від оптимуму порушує зв'язок між білковою частиною ензимів та їх простетичними групами, що гальмує зв'язок субстрату з ензимом. рН середовища, за якого активність ензиму є максимальною, називають рН–оптимум. Про вплив рН середовища на активність амілази слини судять за розщепленням цим ензимом крохмалю при різних значеннях рН. Ступінь розщеплення крохмалю визначається йодною пробою.

Хід роботи: Слину розводять у 100 разів. У 6 пробірок наливають по 2 мл фосфатного буферу в кожному з різних значенням рН: 6,0; 6,4; 6,8; 7,2; 7,6; 8,0. Потім доливають по 1 мл 0,5% розчину крохмалю і по 1 мл розведеної слини. Перемішують уміст пробірок і ставлять їх у термостат за температури 38° С на 10 хв. Потім в усі пробірки доливають по 1 краплі розчину йоду, перемішують, спостерігають забарвлення та відзначають оптимум рН. Очікуваний результат: оптимум рН відповідає забарвленню негативної йодної проби.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## **5. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази**

Принцип методу. Інгібітори ензимів дезактивують їх, вступаючи у взаємодію з молекулою ензиму і тим блокуючи її подальшу роботу. Під дією інгібітора знижується активність ензиму й зменшується кількість кінцевого продукту біохімічної реакції. Підвищують активність ензимів активатори.

Хід роботи: Готують три пробірки. У першу наливають 2,5 мл води, у другу – 2 мл води та 0,5 мл розчину NaCl, у третю – 2 мл води та 0,5 мл розчину CuSO<sub>4</sub>. У всі пробірки додають по 2,5 мл слини, розведеної у 5 разів дистильованою водою. Перемішують, вносять по 2,5 мл розчину крохмалю, потім знову перемішують і ставлять у термостат за температури 38 °С. Активатором амілази є NaCl, а інгібітором – CuSO<sub>4</sub>. Вплив цих речовин на активність амілази визначають за ступенем гідролізу крохмалю під впливом ензиму за наявності NaCl і CuSO<sub>4</sub>.

Через 5 хв. Додають по 5 крапель розчину йоду. Рідина в першій пробірці забарвлюється у фіолетовий або червоний колір, у другій – у червоний або жовтий, у третій – у синій.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## **6. Визначення ролі поліфенолоксидази у зміні забарвлення овочів та впливу на них гіпосульфїту натрію**

Принцип методу. Окиснення різних субстратів за рахунок кисню повітря каналізують оксидази. До цієї групи ензимів належить поліфенолоксидаза. Саме дією поліфенолоксидази пояснюється потемніння поверхні розрізаного яблука або картоплини. Цей ензим окиснює полі- і монофеноли, дубильні речовини та інші органічні сполуки з утворенням темнозабарвлених продуктів.

Під впливом поліфенолоксидази з циклічних амінокислот, що входять до складу білків картоплі, утворюються темнозабарвлені сполуки, внаслідок чого вона темніє.

Хід роботи: У дві ступки кладуть по шматочку картоплі (1 – 2 г) і розтирають до однородної маси. Потім в першу ступку додають 2 – 3 мл розчину гіпосульфїту натрію та перемішують. Сполуки залишають на повітрі на 15– 20 хв., потім фіксують зміну забарвлення у кожній ступці.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

### Контрольні запитання

1. Чи витрачаються ензими в процесі каталізу?
2. Яким чином лабільність ензимів дозволяє рослинам зберігати життєздатність у несприятливих умовах існування?
3. Як дія екологічних чинників на фізіологічні процеси в рослинах виражається у їх впливі на ензими (їх стан, активність)?
4. Яка роль ензимів у організмі тварин?
5. Як впливає включення механізму лабільності ензимів на адаптацію рослин до екологічних умов їх зростання?
6. Якими властивостями володіють ензими?
7. Як впливають на активність ензимів фізичні й хімічні фактори?
8. Чим обумовлена специфічність дії ензимів? Види специфічності.
9. Які процеси харчових виробництв засновані на дії ензимів?
10. Назвіть групи ензимів, що приймають участь у біологічному окисненні.
11. Розповісти про роль гемінових ензимів у біологічному окисненні.
12. Теорія біологічного каталізу.
13. Чому при високій температурі каталітична дія ензимів припиняється?
14. Загальні властивості ензимів та небілкових каталізаторів.
15. Загальні уявлення про каталіз. Поясніть механізм каталітичної дії ензимів; вплив ензимів на енергію активації реакції.
16. Відмінності між 14-кислює і неензимним каталізмом.
17. Структура однокомпонентних і двоконпонентних ензимів.
18. Хімічна природа та функції коензимів.
19. Структурно-функціональна організація ензимів. Які центри розрізняють в молекулі ензиму? Їх характеристика. Які амінокислотні залишки найчастіше входять до складу активних центрів ензимів?
20. Механізм дії ензимів. Його етапи, їх характеристика. Теорії, що пояснюють механізм взаємодії ензиму з субстратом.

21. Специфічність дії ензимів, чим вона обумовлена? Види специфічності, їх характеристика, приклади.
22. Кінетика реакцій: залежність швидкості реакції від концентрації ензиму, концентрації субстрату, рН середовища і від температури.
23. Пояснити, яким чином рН середовища впливає на молекулу ензиму. Вказати оптимальну температуру дії ензимів в організмі. Насичення ензиму субстратом.

### **Тема 3. Гормональні взаємодії між рослинами і тваринами**

#### Пояснення до завдання

Регулювання коакційних зв'язків між рослинами і тваринами здійснюється під впливом гормонів.

У тварин гормони синтезуються ендокринними залозами, а потім транспортуються до місця дії системою кровообігу. Більшість гормонів тварин є пептидами або стероїдами. Водночас у рослин багато клітин має здатність синтезувати гормони; місце синтезу змінюється з розвитком рослини. Гормони рослин мають різну хімічну будову – містять пуринові основи (цитокініни), амінокислоти (ауксини), терпеноїди (дорміни, гібереліни). Встановлено, що рослини здатні продукувати ряд гормонів, аналогічних тваринним. До гормонів, які виділяються рослинами, належать жіночі та чоловічі гормони ссавців, у тому числі людини. Одна з їх функцій – здатність запобігати поїданню рослин травоядними.

У тварин гормональна система ретельно збалансована. Тому екзогенне надходження гормонів може серйозно впливати на їх розмноження. Цю властивість рослинних гормонів використовують у боротьбі з комахами.

Такі гормони у рослин іноді можуть утворюватися випадково як продукти метаболізму, що призводять до синтезу стеролів рослин; їх роль пов'язана з процесами розвитку, цвітіння та проявів статі у рослин. Найпереконливіші докази гормональної взаємодії між рослинами та тваринами отримано при дослідженні знайдених у рослинах гормонів линяння та ювенільних (лат. Juvenalis — статевонезрілий) гормонів.

Фітогормони, які надійшли з їжею, зазнають подальшого гідроксилювання або гідрогенізації, відщеплення бокових ланцюгів, утворень кон'югатів тощо, що викликає їх детоксикацію.

#### Порядок виконання дослідів

### **1. Якісні реакції на інсулін**

#### **1.1 Біуретова реакція**

Принцип методу. Інсулін є простим білком і дає характерні кольорові реакції на білок.

Хід роботи: До 10 крапель інсуліну додають 5 крапель 10 %-го розчину NaOH і краплю розчину CuSO<sub>4</sub>. Рідина забарвлюється у фіолетовий колір.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## 1.2 Реакція Фоля

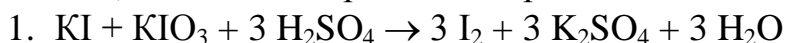
Принцип методу. Сірковмісні амінокислоти, особливо цистеїн і цистин, при кип'ятінні з лугом втрачають сірку, яка відщеплюється у вигляді сірководню. Сірководень, взаємодіючи з лугом, утворює сульфід, які можна виявити при додаванні плюмбуму ацетату (реактиву Фоля). Сульфід утворюють з ним коричневий або чорний осад плюмбуму сульфід.

Хід роботи: До 5 крапель інсуліну додають 5 крапель реактиву Фоля і кип'ятять. Через 1–2 хвилини після відстоювання утворюється бурий або чорний осад сульфід свинцю.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## 2. Якісна реакція на тироксин

Принцип методу. При руйнуванні молекули тироксину утворюється йодид калію, з якого йод легко витісняється йодатом калію. Йод, який виділився, дає синє забарвлення з крохмалем.



I<sub>2</sub> + крохмаль → синє забарвлення

Хід роботи: До 24 крапель охолодженого гідролізату тироксину додають 10 % розчину H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> до кислої реакції на лакмус. Після підкислення додають 3 краплі 10 % розчину йодату калію (не потрібно додавати надлишок). Йод, який виділився, дає синє забарвлення з крохмалем.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## 3. Якісна реакція на адреналін з хлорним залізом

Принцип методу. Адреналін легко окиснюється на повітрі з утворенням адренохрому, який дає смарагдово-зелене забарвлення із феруму хлоридом.

Хід роботи: До 3 крапель розчину адреналіну додають 1 краплю розчину феруму хлориду. Рідина забарвлюється в смарагдово-зелений колір. При додаванні аміаку спостерігається зміна забарвлення у червоне, а потім – коричневе.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_



1. Чим обумовлена токсична дія фітоестрогенів на організм людини і тварин?
2. Перерахуйте функції гормонів линяння і ювенільних гормонів.
3. У чому полягає практичне використання фітогормонів?
4. Які шляхи детоксикації фітогормонів у організмі ссавців?
5. Значення гормонів і їх основні властивості.
6. Механізм дії гормонів залежно від їх структури. Рецептори мембран, внутрішньоклітинні рецептори. Вторинні посередники.
7. Функції ендокринних залоз.
8. Тканинні гормони: місця синтезу та фізіологічне значення.
9. Шляхи регуляції утворення гормонів.
10. Сутність гуморальної регуляції.
11. Вплив окремих продуктів харчування на функції нейрогуморальної системи.
12. Які основні властивості гормонів?

#### **Тема 4. Адаптивні перебудови на ділянках гліколізу**

##### Пояснення до завдання

Під впливом екологічних факторів змінюється парціальний тиск кисню в крові, внаслідок чого відбуваються певні біохімічні зміни окремих ланок метаболізму в організмі людини і тварин. Цей вплив торкається процесів окиснювального та субстратного фосфорилування, зокрема, процесів катаболізму вуглеводів.

Анаеробне розщеплення вуглеводів проходить у різних органах і тканинах, в основному, у м'язовій тканині вищих організмів, а також у клітинах бактерій та мікроорганізмів. Основним субстратом для цього процесу є глюкоза і глікоген. В умовах недостатнього надходження до м'язів кисню у них накопичується молочна кислота.

##### Порядок виконання дослідів

#### **1. Якісне визначення молочної кислоти як метаболіту гліколізу**

Принцип методу. Молочна кислота, взаємодіючи з хлорним залізом, яке міститься в реактиві Уффельмана, дає зелено-жовте забарвлення внаслідок утворення молочнокислого заліза.

У м'язовій тканині містяться всі ензими, які супроводжують гліколітичні реакції. Тому, створивши анаеробні умови, рН 8,0, температуру 37 °С, у дослідній пробірці буде відбуватися гліколіз із утворенням молочної кислоти, на що вказуватиме інтенсивна реакція з реактивом Уффельмана (забарвлення розчину в оливковий колір).

Хід роботи: У дві пробірки поміщають по 1 г свіжо приготованих гомогенізованих м'язових волокон і додають 5 мл фосфатного буфера (рН 8,0). У першу пробірку (контрольну) доливають 1 мл 10% розчину ТХОК для денатурації ензимів. Після цього в обидві пробірки доливають по 1 мл 1% розчину крохмалю і добре збовтують. У кожну пробірку додають (нашаровують) по 10 крапель вазелінової олії для створення безкисневих (анаеробних) умов. Пробірки поміщають в термостат з температурою 37 °С на 1 год. Після години інкубації виймають обидві пробірки. У дослідну доливають 1 мл 10% розчину ТХОК для денатурації ензимів і припинення реакції.

Вміст обох пробірок відфільтровують у чисті пробірки (контрольну і дослідну). В обидві пробірки додають по 0,5 г оксиду кальцію і по 0,5 мл 20% розчину сірчаної кислоти для осадження вільних вуглеводів. Пробірки збовтують 1–2 хв і знову піддають фільтрації. З фільтратами виконують якісну реакцію на молочну кислоту, додаючи по 1 мл реактиву Уфельмана до кожної пробірки.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## **2.Глюкозооксидазний метод визначення концентрації глюкози в сироватці крові**

Принцип методу. Глюкозооксидазний метод визначення глюкози в крові заснований на реакції окиснення глюкози киснем повітря в присутності ензиму глюкозооксидази з утворенням в ході реакції глюконової кислоти та гідроген пероксиду (перекису водню). Глюкозооксидаза – це флавопротеїн, простетичною групою якого є ФАД. Перенос двох атомів гідрогену на ФАД призводить до його відновлення, а потім ФАДН<sub>2</sub> передає їх на молекулярний кисень з утворенням гідроген пероксиду. Утворений гідроген пероксид в присутності ензиму пероксидази окиснює орто–толуїдин. Відновлений орто–толуїдин безбарвний, а окиснений – блакитно–синього кольору. Інтенсивність утвореного забарвлення прямо пропорційна концентрації глюкози і визначається на ФЕК (фотоелектроколориметрі).

Хід роботи: У пробірку вносять 1,8 мл 3 % розчину ТХО кислоти і додають до неї 0,2 мл свіжої або стабілізованої натрію фторидом крові. Центрифугують 15 хв. при 1500 об/хв. До 0,5 мл центрифугату додають 4,5 мл орто–толуїдинового реактиву. Пробірки ставлять у киплячу водяну баню (вода має безперервно кипіти) рівно на 8 хв., потім виймають їх, одразу охолоджують проточною водою. Оптичну щільність вимірюють на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 590–650 нм у кюветі з товщиною шару 1 см. Контроль: 0,5 мл ТХО + 4,5 мл орто–толуїдинового реактиву.

Стандартна проба ставиться як і дослідна, але замість крові беруть стандартний розчин глюкози з концентрацією 50–100 мг/100 мл.

Розрахунок проводять за формулою:

$$C_{\partial} = C_{cm} \times \frac{E_{\partial}}{E_{cm}},$$

де:  $C_d$  – концентрація глюкози у пробі, мг/100 мл крові;  $C_{cm}$  – концентрація глюкози у стандарті;  $E_d$  – оптична щільність дослідної проби;  $E_{cm}$  – оптична щільність стандарту.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

### Контрольні запитання

1. Загальна характеристика анаеробного окиснення глюкози.
2. Ключові ензими гліколізу
3. Які кінцеві продукти гліколізу?
4. Значення гліколізу для живих організмів.
5. Гліколітична оксидоредукція: 19убстрат не фосфорилювання та механізми окиснення гліколітичного НАДН.
6. Шляхи утилізації молочної кислоти.
7. Роль коензимів та ензимів у проходженні реакцій гліколізу.
8. Механізми регуляції анаеробного окиснення вуглеводів.
9. Характеристика реакцій гліколізу, що проходять з використанням енергії.
10. Характеристика реакцій субстратного фосфорилювання та гліколітичної оксидоредукції.
11. Енергетична цінність анаеробного окиснення глюкози.

## **Тема 5. Катаболізм та анаболізм ліпідів при зміні умов оточуючого середовища**

### Пояснення до завдання

Техногенне забруднення середовища, зокрема, забруднення важкими металами, засобами захисту рослин, тощо викликає ряд фізіолого–біохімічних змін як у рослин, так і в організмі тварин. Одними з найнебезпечніших серед ксенобіотиків є діоксини, які добре розчиняються у жирах і тому в організм надходять головним чином із м'ясом, рибою та молоком. Вони викликають, зокрема, структурні зміни ліпідного складу біомембран, зміни вмісту ліпідів, їх фракційного складу, активності ензимів ліпідного обміну, компонентного складу вільних жирних кислот у органах і тканинах тварин.

Ліпіди є сполуками адаптації при компенсації рослинами несприятливих дій навколишнього середовища, їм належить функція біохімічного пристосування до змінених умов.

Зміни вмісту та складу ліпідів розкривають механізми дії комплексного забруднення та впливу токсикантів на фізіолого–біохімічні процеси як у рослин, так і тварин.

### Порядок виконання дослідів

#### **1.Якісна реакція на жовчні кислоти (реакція Петтенкофера)**

Принцип методу. Метод базується на здатності жовчних кислот давати яскраво–червоне забарвлення (утворення забарвлених продуктів конденсації) при взаємодії з оксиметилфурфуролом, який утворюється з фруктози, що є продуктом гідролізу внаслідок додавання до сахарози концентрованої сульфатної кислоти.

Хід роботи: У пробірку наливають 10 крапель жовчі, додають 10 крапель свіжоприготовленого розчину сахарози і обов'язково струшують. На розчин, що містить жовч, обережно, по стінках, нашаровують приблизно 1 мл концентрованої сульфатної кислоти. Через 5 – 10 хв. На межі розподілу рідин утворюється осад жовчних кислот і з'являється червоно–фіолетове кільце. У разі легкого струшування рідина набуває вишнево–червоного забарвлення.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

#### **2.Якісні реакції на лецитин**

Принцип методу. Фосфоліпід лецитин не розчиняється у ацетоні, викликаючи його помутніння; з водою утворює стійку емульсію. З хлоридом кадмію утворює нерозчинну комплексну сполуку, яка випадає в осад у вигляді пластівців.

Хід роботи: В хімічну склянку кладуть 200 мг сухого розтертого яєчного жовтка, додають 5 мл гарячого спирту, перемішують. Через 10–15 хв. Суміш охолоджують і фільтрують у суху пробірку.

У 3 пробірки наливають по 1 мл спиртового розчину лецитину. У першу пробірку додають 1 мл води, у другу – 0,5 мл розчину хлориду кадмію, у третю – 1 мл ацетону.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

#### **3.Якісна реакція на холестерол (реакція Сальковського)**

Принцип методу. Холестерол під дією концентрованої сульфатної кислоти з вторинного спирту перетворюється у ненасичений вуглеводень. Останній дає специфічні кольорові реакції.

Хід роботи: В суху пробірку додати 1 мл спиртового розчину жовтка (див. дослід 2). Обережно по стінках пробірки додати 0,5 мл концентрованої  $H_2SO_4$ . На межі розподілу рідин з'являється червоне кільце.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

#### **4.Визначення концентрації загальних ліпідів в сироватці крові**

Принцип методу. Після екстрагування ліпідів із сироватки крові сумішшю спирт–ефіру (3:1) при взаємодії екстракту з сульфатною кислотою утворюється мутна емульсія, оптичну щільність якої вимірюють на фотоелектроколориметрі.

Хід роботи: у пробірку наливають 0,2 мл сироватки крові, додають 3,8 мл суміші спирт-ефіру, змішують і поміщають пробірку на водяну баню (50 – 60 °С), доводячи її вміст до кипіння. Після охолодження пробірки під струменем води вміст фільтрують через паперовий фільтр в мірну пробірку. Об'єм пробірки доводять екстракційною сумішшю до 4 мл. До 2 мл одержаного екстракту (0,1 мл сироватки) додають 10 мл 1 % розчину сульфатної кислоти, ставлять на киплячу водяну баню на 1 хв., охолоджують і визначають оптичну щільність при довжині хвилі 630 нм (червоний світлофільтр) на фотоелектроколориметрі. Кількість загальних ліпідів визначають за формулою:

$$\text{Загальні ліпіди (г/л)} = (E_{\text{досл.}} \cdot C_{21\text{ло.}}) \cdot E_{\text{ст.}}$$

$E$  – екстинція дослідних і стандартних проб;

$C$  – концентрація основного стандартного розчину.

Коефіцієнт для перерахунку в г/л 0,01.

Загальні ліпіди в сироватці крові складають 4 – 8 г/л (400 – 800 мг/%)

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## 5.Визначення кетонових тіл в сечі тварин

Принцип методу. Нітропрусид натрію в лужному середовищі реагує з кетоновими тілами, утворюючи комплекс, забарвлений у рожево–бузковий, бузковий або фіолетовий колір. До кетонових тіл відносяться ацетон, ацетооцтова кислота і бета–оксимасляна кислота.

Хід роботи:

До 15 мл сечі додають 1 мл оцтової кислоти і 0,5 мл 10 % розчину нітропрусиду натрію. Потім нашаровують аміак. При наявності кетонових тіл на межі двох рідин протягом 2 – 3 хв. Утворюється фіолетове кільце.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## Контрольні запитання

1. Які ліпіди відкладаються у жирових депо? Напишіть загальну структурну формулу таких ліпідів.
2. Які ліпіди є головним структурним компонентом біологічних мембран?
3. Які ви знаєте транспортні форми ліпідів? Із яких структурних компонентів вони складаються? Яке значення має кожна з транспортних форм?
4. Які вітаміни необхідні для метаболізму ліпідів?
5. Розщеплення ліпідів у шлунково–кишковому тракті.
6. Регуляція ліпідного обміну.
7.  $\beta$ –окиснення. Енергетичний ефект  $\beta$ –окиснення.
8. Ензимне перетворення ліпідів у травному тракті людини і тварин.
9. Роль жовчі у процесах розщеплення ліпідів.
10. Обмін кетонових тіл. Нормальні та аномальні продукти обміну.

## 11. Макроергічні сполуки в організмі людини і тварин.

### Тема 6. Екологічні аспекти хімії білків

#### Пояснення до завдання

У наш час дедалі більших розмірів набуває антропогенне забруднення атмосфери, водоймищ та ін.. Зростання надходжень токсичних речовин у навколишнє середовище, з одного боку, погіршує якість продуктів сільського господарства, з іншого – спричиняє різну токсичну дію на організм людини. Оксиди вуглецю, сірки, азоту, вуглеводні, з'єднання свинцю, пил та ін., що поступають в атмосферу, впливають як на якісний склад білків, так і на їх організаційну структуру. Сполуки важких металів виявляють токсичну дію на білки, порушуючи цим відповідні функції організму. Під їх впливом проходить денатурація білка – процес дестабілізації нативної структури, відбуваються конфірмаційні переходи в білках. Зміни структури та активності білків, зокрема, відбуваються у білках системи згортання крові (конфірмаційні зміни фібриногену, тромбіну та тромбопластину). Змінюються процеси регуляції процесу оксигенації (приєднання до кисню) гемоглобіну.

#### Порядок виконання дослідів

### **1. Вивчення кольорових реакцій на амінокислоти**

#### **1.1 Реакція Адамкевича**

Принцип методу: Ця реакція характерна для триптофану, який містить у своєму складі індольне кільце. При додаванні до розчину триптофану концентрованої оцтової кислоти (яка завжди має залишок гліоксалевої кислоти) і концентрованої сульфатної кислоти на межі двох рідин утворюється червоно-фіолетове кільце. Позитивну реакцію Адамкевича дають усі білки, які містять триптофан.

Хід роботи: У пробірку вливають 5 крапель розчину триптофану (або білка), додають 5 крапель концентрованої оцтової кислоти і, нахиливши пробірку, обережно по стінці пробірки вливають 5 крапель сульфатної кислоти. Через деякий час на межі двох рідин утворюється червоно-фіолетове кільце. Цей процес можна прискорити, якщо поставити пробірку на киплячу водяну баню.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

### **2. Фізико-хімічні властивості білків**

#### **2.1 Вивчення денатурації білка (сульфосаліцилова проба)**

Принцип методу: Сульфосаліцилова кислота денатурує білки, утворюючи з ними нерозчинний комплекс білого кольору.

Хід роботи: до 1 мл досліджуваної рідини додають 3 краплі 23лор срібний23ивний23 20% розчину сульфосаліцилової кислоти. Очікуваний результат: Спостерігають утворення білого осаду (або каламуті), кількість якого залежить від концентрації білка.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

### **3. Кількісне визначення білка**

#### **3.1 Кількісне визначення білка в сироватці крові біуретовим методом**

Принцип методу: Біуретова реакція – характерна реакція на сполуки, що містять в своєму складі не менше двох пептидних зв'язків. Такі сполуки в лужному середовищі утворюють з купруму сульфатом (мідним купоросом) комплекс, забарвлений у рожево-фіолетовий колір. В утворенні цього комплексу беруть участь пептидні зв'язки в енольній формі. Біуретова реакція служить доказом наявності пептидних зв'язків у білках та пептидах.

Інтенсивність забарвлення відповідає концентрації білка в досліджуваній пробі і є прямо пропорційною оптичній щільності дослідної проби, що вимірюється на фотоелектроколориметрі.

Хід роботи: у першу пробірку вміщують 0,1 мл сироватки крові (дослідна проба), в другу – 0,1 мл стандартного розчину білка (стандартна проба), у третю – 0,1 мл 0,9% розчину хлориду натрію (контрольна). В усі пробірки додають по 5 мл біуретового реактиву, вміст пробірок обережно перемішують і через 30 хв. визначають екстинкцію за допомогою фотоелектроколориметра у кюветах на 10 мл при зеленому світлофільтрі (540 нм) проти контрольного розчину. Розрахунок роблять за формулою

$$C_d = (E_d \cdot C_{ст}) : E_{ст},$$

де  $C_d$  – вміст білка в досліджуваній сироватці крові, г/л;  $E_d$  – екстинкція досліджуваної сироватки крові;  $C_{ст}$  – концентрація білка в стандартному розчині, г/л;  $E_{ст}$  – екстинкція стандартного розчину білка.

(Уміст загального білка в сироватці крові – 6,5–8,5 г%; 65–85 г/л).

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

### **4. Дослідження компонентів складних білків**

#### **4.1 Виявлення пептидних зв'язків у гідролізаті нуклеопротейнів дріжджів**

Принцип методу: дослідження складу нуклеопротейдів дріжджів виконується після їх гідролізу, у результаті якого від білків відокремлюються компоненти нуклеїнових кислот. В результаті у гідролізаті можна виявити наявність поліпептидів (джерелом є білки нуклеопротейдів).

Хід роботи: Для вивчення складу нуклеопротейнів дріжджів проводять їх кислотний гідроліз: до 2,5 г дріжджів додають 20 мл 10% розчину сульфатної кислоти. Суміш переносять у круглодонну колбу на 100 мл з

повітряним холодильником. Гідроліз проводять протягом 1 год. (В результаті утворюються низькомолекулярні поліпептиди).

Виявлення поліпептидів у гідролізаті: до 1 мл гідролізату додають 2 мл 10 % NaOH і 0,5 мл 5 % розчину сірчаноокислої міді. Спостерігається поява фіолетового забарвлення, що свідчить про наявність пептидних зв'язків.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

#### Контрольні запитання

1. Які фізико–хімічні властивості притаманні білкам?
2. Які фактори підтримують молекули білка у розчині?
3. Які зміни структури білкових молекул відбуваються при денатурації?
4. Як використовується денатурація білка в практиці приготування продуктів харчування?
5. Опишіть рівні структурної організації білкової молекули.
6. Поясніть біологічну роль білків.
7. Які основні біологічні функції білків?
8. У чому полягає захисна функція білків?
9. Захисна функція білків для мікроорганізмів.
10. Чим визначається рухова функція білків?
11. Мембранні транспортні білки – трансмембранні білки.
12. Білки везикулярного транспорту – білки, пов'язані з переносом везикул.
13. Водорозчинні переносники малих молекул – білки, здатні переносити нерозчинні молекули через рідини організму.
14. Структурна роль білкових молекул.

### **Тема 7. Екологічні аспекти хімії нуклеїнових кислот**

#### Пояснення до завдання

Нуклеїнові кислоти – поліфункціональні сполуки, що містять велику кількість реакційноздатних груп. Реакційна здатність мономерних структур у складі полімеру (ДНК, РНК) в значній мірі змінюється під впливом просторових факторів. При дії різних реагентів (хімічних, токсикологічних, фізичних та ін.) в них можуть модифікуватися всі компоненти: гетероциклічні основи, вуглеводні залишки і залишки фосфорної кислоти.

Основні хімічні реакції нуклеїнових кислот та їх компонентів дозволяють отримати уявлення про розмаїття хімічних перетворень, в яких беруть участь нуклеїнові кислоти *in vivo* та *in vitro*. Найбільше значення мають методи селективної модифікації, що широко застосовуються при дослідженні первинної і просторової структури нуклеїнових кислот, введенні штучних мутацій і вивченні зв'язку між будовою і біологічною функцією.

#### Порядок виконання дослідів



### 1.Визначення вмісту сечової кислоти у біологічному матеріалі

Принцип методу: Сечова кислота є кінцевим продуктом розпаду пуринових азотистих основ, що вивільнюються з нуклеїнових кислот, які надходять з їжею, або власних нуклеїнових кислот клітин організму.

Метод базується на здатності сечової кислоти відновлювати фосфатвольфраматний реактив з утворенням сполуки блакитного кольору, оптична густина якої за довжини хвилі 640 нм є пропорційною концентрації сечової кислоти у сироватці крові.

Кількість утвореної фосфатвольфраматної сині визначають спектрофотометрично.

#### Хід роботи:

1. У центрифужні пробірки ємністю 10 мл вносять дистильовану воду, сироватку або добову неохолоджену сечу, розведену дистильованою водою у 10 разів, калібрувальний розчин сечової кислоти (містить 5,04 мг%, або 300 мкмоль/л), розчин каталізатора (0,35 М сульфатна кислота), 0,3 моль/л вольфрамат натрію в об'ємах, вказаних у табл.1

Таблиця 1.

*Об'єми реактивів для приготування проб для визначення вмісту сечової кислоти у біологічних рідинах*

Об'єм реагенту, мл, мл	Проба		
	Дослідна	Калібрув.	Холоста
Дистильована вода	4,00	4,00	4,50
Сироватка або розведена сеча	0,50	-	-
Калібрувальний розчин сечової кислоти	-	0,50	-
Розчин каталізатора	0,25	0,25	0,25
Вольфрамат натрію	0,25	0,25	0,25

2. Уміст пробірок перемішують, інкубують 10 хв. При кімнатній температурі та центрифугують за швидкості 2000–5000 об/хв. Упродовж 10 хв. (замість центрифугування уміст пробірок можна профільтрувати).

3. Відбирають 25лор срібни рідину чи фільтрат, додають насичений розчин карбонату натрію та фосфорновольфрамовий реактив (0,12 моль/л  $\text{Na}_2\text{WO}_4$ , 0,47 моль/л  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , 0,29 моль/л 200  $\text{Li}_2\text{SO}_4$ ). Зазначені реагенти вносять вносять за схемою, наведеною у 25таблиці 2.

Таблиця 2.

*Об'єми реактивів для проведення реакції з фосфорновольфрамовим реактивом для визначення вмісту сечової кислоти у біологічних рідинах*

Об'єм реагенту, мл, мл	Проба		
	Дослідна	Калібрув.	Холоста
Надосадова рідина (фільтрат)	2,0	2,0	2,0

Розчин карбонату натрію	1,0	1,0	1,0
Фосфорновольфрамівий реактив	0,6	0,6	0,6

4. Вміст пробірок перемішують, інкубують 30 хв при кімнатній температурі та вимірюють оптичну густину за довжини хвилі 650 (620–700) нм дослідної ( $E_{\text{досл}}$ ) й калібрувальної проб ( $E_{\text{кал}}$ ) проти холостої проби. Забарвлення стабільне протягом 30 хв. Вміст сечової кислоти в пробі розраховують за формулою:

$$C = (E_{\text{досл}}/E_{\text{кал}}) \times 5,04 (300),$$

де  $C$  – концентрація сечової кислоти в пробі (мг% або ммоль/л); 5,04 (300) – калібрувальна концентрація сечової кислоти (мг% або ммоль/л, відповідно);  $E_{\text{досл}}$  – оптична густина дослідної проби;  $E_{\text{кал}}$  – оптична густина калібрувальної проби. Для розрахунку концентрації сечової кислоти в сечі отримане значення слід помножити на коефіцієнт розведення, який дорівнює 10. Розрахунок вмісту сечової кислоти у сироватці крові або в сечі та отриманий результат записують у зошит, порівнюють із нормальними показниками і роблять висновок.

Норма вмісту сечової кислоти в крові становить для дорослих 4,4–7,6 мг/100 мл, або 262–452 ммоль/л (чоловіки) і 2,3–6,6 мг/100 мл, або 137–393 ммоль/л (жінки), у сечі – в середньому 250 – 750 мг/добу, або 1,48 – 4,43 ммоль/добу.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

### Контрольні запитання

1. Якими є кінцеві продукти катаболізму пуринових і піримідинових основ у людини?
2. Які сполуки є джерелами атомів азоту і карбону при біосинтезі пуринових і піримідинових нуклеотидів?
3. Які ензими здійснюють біосинтез нуклеїнових кислот?
4. Чим можуть бути зумовлені гіперурікемія й гіперурікозурія?
5. З якою метою при визначенні сечової кислоти в сечі використовують фосфорновольфрамівий реактив?

## **Тема 8. Інтеграція процесів обміну в організмі тварин. Взаємозв'язок метаболізму ендогенних органічних сполук і ксенобіотиків**

### Пояснення до завдання

Крім поживних речовин в організм людини з харчовими продуктами, повітрям, питною водою або крізь шкіру можуть потрапити й чужорідні хімічні речовини (ксенобіотики). До них належать діоксини, ліки, наркотичні речовини, пестициди, мінеральні добрива, мийні засоби, радіонукліди, синтетичні барвники та інші.

Найнебезпечнішими у цій групі є діоксини, пестициди, сполуки важких металів, нітрати. Вони виявляють мутагенну, канцерогенну або іншу негативну дію на живу природу і людину.

Висока потенційна небезпека забруднення важкими металами значною мірою пов'язана з їх здатністю до накопичення.

Особливої уваги у зв'язку з надлишковим вмістом у живій речовині потребують нітрати. Самі нітрати не є отруйними, але в організмі людини вони перетворюються на нітроти, які взаємодіють з гемоглобіном крові. В організмі порушується тканинне дихання, внаслідок чого розвивається хвороба метгемоглобінемія.

Психоактивні речовини — речовини, що спричиняють звикання та залежність за умов систематичного їх вживання, внаслідок чого змінюється поведінка людини. До цієї групи речовин належать алкоголь, нікотин, опіоїди, кокаїн, снотворні, барбітурати та ін.. Багато шкідливих речовин, потрапивши в організм людини, зазнають знешкодження і виділяються у вигляді метаболітів.

В організмі також знешкоджуються кінцеві продукти метаболізму, що мають потенційно токсичні властивості (жовчні пігменти, амоніак), продукти гниття білків у товстій кишці (феноли, індоли, скатоли).

В організмі людини знешкодження небезпечних сполук здійснює печінка за участі спеціальних ферментів і мембранних рецепторів, які регулюють їхню активність. Знешкоджені сполуки видаляються з організму із сечею або жовчю. Біотрансформація ксенобіотиків відбувається у дві фази:

1-ша фаза: модифікація — це окисно-відновні та гідролітичні реакції, що каталізуються ензимами ЕПС (цитохром Р450, епоксидгідролаза). Молекула ксенобіотика збагачується функціональними групами (-ОН, -COOH, -SH, -NH<sub>2</sub>), що робить її розчинною у воді.

2-га фаза: кон'югація — реакції синтезу за участі ензимів трансфераз. До проміжних продуктів метаболізму приєднуються ендogenous молекули (глюкуронова кислота, сульфатна кислота, глутамін), у результаті чого утворюються полярні сполуки для видалення з організму.

## **1.Якісне визначення деяких екстрактивних і мінеральних речовин м'язової тканини.**

### **1.1 Виявлення креатину і креатиніну.**

Принцип методу: Метод ґрунтується на кольоровій реакції Яффе. Її суть полягає у здатності креатиніну утворювати із пікриновою кислотою у лужному середовищі забарвлену в помаранчево-рожевий колір таутомерну форму пірату креатиніну, що визначається колориметрично. Основною відмінністю цих методів є використання різних речовин для осадження білків: трихлороцтової кислоти, вольфрамату натрію або самої пікринової кислоти. Найбільш специфічним із них вважається останній, тоді як на точність інших можуть значно впливати неспецифічні хромогени (глюкоза, піровиноградна кислота тощо).

Хід роботи: 1. Підготовка матеріалу для дослідження: м'яз звільнити від жиру, сполучної тканини і добре подрібнити. Подрібнену кашку (6–8 г) помістити у фарфорову ступку, залити 30 мл дистильованої води і старанно розтерти товкачиком. Через 10 хв. рідину профільтрувати через подвійний шар марлі в колбу і отримати водний білковий екстракт.

2. Отримання безбілкового екстракту: 15 мл водного екстракту підкислити 5 краплями 10% розчину оцтової кислоти і нагріти до кипіння для осадження білків. Після цього рідину профільтрувати через паперовий фільтр у велику пробірку.

У дві пробірки налити по 1 мл безбілкового екстракту. В першу додати 1 мл 5% розчину сульфатної кислоти і нагрівати впродовж 10 хв. у киплячій водянній бані, після чого рідину профільтрувати і обережно нейтралізувати (за індикатором) 10% розчином їдкого натру. Потім у дві пробірки налити по 3 мл 10% їдкого натру і по 5–8 крапель насиченого розчину пікринової кислоти. В обох пробірках з'являється помаранчево–червоне забарвлення, інтенсивніше у першій пробірці.

Креатин, який міститься у фільтраті першої пробірки, при нагріванні з кислотою перетворюється в креатинін, що приводить до його збільшення у фільтраті. У другій пробірці перетворення креатину в креатинін не відбувається. Креатинін, взаємодіючи з енольною формою пікринової кислоти, утворює пікрат креатиніну, який в лужному середовищі перетворюється в свою таутомерну форму і має помаранчево–червоне забарвлення. У кислому середовищі реакція проходить у протилежному напрямку і забарвлення зникає.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## **2. Визначення неорганічного фосфору в сечі тварин колориметричним методом**

Принцип методу: неорганічний фосфор утворює з молібдатом амонію в кислому середовищі фосфомолібдатний комплекс. Оптична щільність комплексу, що утворився, прямо пропорційна концентрації неорганічного фосфору в пробі і вимірюється при довжині хвилі 340 нм на фотоелектроколориметрі.

Хід роботи: До 0,1 мл дослідної проби сечі додають 3,0 мл молібденового реактиву. Суміш перемішують. Витримують 20 хв. при кімнатній температурі і колориметрують при довжині хвилі 340 нм на фотоелектроколориметрі проти контролю у кюветі з товщиною робочого шару 10 мм.

Аналогічно досліджують і стандартний розчин фосфору.

Контроль: до 0,1 мл дистильованої води додають 3,0 мл молібденового реактиву. Забарвлення стабільне протягом 1 год.

Вміст неорганічного фосфору визначають за формулою:

$$P, \text{ мкг / мл} = \frac{E_{\text{досл}} \times 50 \text{ мкг / мл}}{E_{\text{ст}}},$$

де:  $E_{\text{досл}}$  і  $E_{\text{ст}}$  – поглинання відповідно дослідної проби та стандартного розчину; 50 мкг/мл – концентрація фосфору у стандартному розчині

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

### Контрольні запитання

1. Білки, вуглеводи і ліпіди як попередники і продукти взаємоперетворення.
2. Загальні кінцеві продукти обміну речовин.
3. Енергетичне забезпечення процесів катаболізму і анаболізму.
4. Загальні попередники і проміжні продукти обміну.
5. Загальний кінцевий шлях метаболізму.
6. Роль печінки у перерозподілі потоків поживних речовин між різними органами і тканинами.
7. Взаємозв'язок між обміном речовин і енергії. Цикл АТФ – АДФ.
8. Механізм окислювального фосфорилування.
9. Загальний шлях катаболізму.
10. Анаболічні функції загального шляху катаболізму.
11. Регуляція енергетичного обміну.
12. Катаболізм глюкози. Аеробний та анаеробний гліколіз. Глюконеогенез.
13. Роль ацетил-кофермента А в обмінних процесах.
14. Обмін води і мінеральних речовин.

## **Тема 9. Екологічна оцінка токсинів живих організмів**

### Пояснення до завдання

В основі токсичної дії, тобто дії речовин, що приводить до порушення функцій біологічних систем, лежить взаємодія речовини з біологічним об'єктом на молекулярному рівні. Еколого – токсикологічна оцінка хімічних речовин ґрунтується на всебічній оцінці впливу їх на природне середовище і здоров'я людини і тварин.

Одним з найпоширеніших токсичних забруднювачів природнього середовища є нітрати. Джерелами такого забруднення є нітратні добрива, продукти гниття органічних речовин, промислові й комунально-побутові відходи. Нітрати накопичуються у воді і продуктах харчування, потім надходять до організму тварин і людей. 80 % їх надходить з харчовими продуктами, переважно з рослинними. Надлишкова кількість нітратів, потрапляючи в організм людини, впливає на нього.

Нітратам притаманний широкий спектр токсичної дії на організм людини, особливо дітей, яка полягає у кисневому голодуванні тканин, що розвивається внаслідок порушення транспорту кисню кров'ю. Під впливом ензиму нітратредуктази в живих організмах нітрати відновлюються до нітритів, які взаємодіють з гемоглобіном крові і окиснюють у ньому 2-х валентне залізо у 3-х валентне, внаслідок чого утворюється речовина метгемоглобін, яка вже не здатна переносити кисень. Розвивається метгемоглобінемія. Тому порушується

нормальне дихання клітин і тканин організму (тканинна гіпоксія), внаслідок чого нагромаджується молочна кислота, холестерол, і різко падає кількість білка.

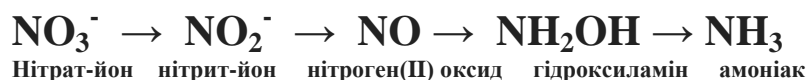
#### Порядок виконання дослідів

### **1. Кількісне визначення вмісту нітратів у овочах та фруктах**

Принцип методу. В основі роботи нітратоміра лежить потенціометричний принцип вимірювання кількості нітратів з використанням вибіркої (селективної) до сполуки нітратів електрохімічної комірки, яка включає в себе 30нітратселективний і 30хлорсрібний електрод. Вимірювальний перетворювач, використовуючи інформацію з пари електродів, розраховує концентрацію нітратів.

Нітрати (солі нітратної кислоти) – природний продукт біохімічного кругообігу сполук азоту в біосфері і основна форма, в якій неорганічний азот міститься у ґрунті. Тому не існує таких харчових продуктів, які б у своєму складі абсолютно не містили нітратів.

У результаті участі ензимів і вуглеводів у рослинах відбувається відновлення нітратів до амоніаку через нітрити:



Амоніак, що утвориться, взаємодіє з органічними кислотами, у результаті утворюються амінокислоти:



У той же час, нітрати є достатньо поширеними токсичними забруднювачами середовища. Тому необхідно знати кількість нітратів у продуктах харчування.

За зовнішнім виглядом овочі та фрукти з підвищеним вмістом нітратів майже не відрізняються від тих, які містять значно менше нітратів, й доволі часто мають більші розміри та гарний товарний вигляд.

Хід роботи: Ознайомтесь з приладом і принципами роботи нітратоміра. Відбір проб проведіть за методом сегментаційного поділу зразка. Підготовлені овочі й плоди розріжте на частини: зону біля плодоніжки, шкірку, периферійну та середню частини, качан (у капусти), листки. За допомогою нітратоміра визначте уміст нітратів у зразках. З кожного зразка зробіть декілька замірів. За одержаними результатами зробіть висновок щодо якості продуктів з точки зору умісту нітратів. Показники запишіть у таблицю 1.

Таблиця 1

*Визначення рівня нітратів у продуктах харчування*

Досліджувана рослина	Частина рослини	Масова частка нітратів, мг/кг		Висновок щодо якості продукту
		У сирій продукції	Після термообробки	

Картопля	Під шкіркою Середина			
Капуста	Жилки Качан Лист			
Огірки				
Яблука				

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## 2. Вивчення впливу термічної обробки на вміст нітратів

Принцип методу. Кулінарна обробка продуктів знижує вміст нітратів: миття продуктів зменшує його на 5 – 15 %. При варінні овочів до 80 % нітратів і нітритів вимивається у відвар. Чим вище відношення кількості води до овочів, тим більше нітратів вимивається. Наприклад, з буряка вимивається 40 %, з капусти – 65 %, з картоплі – 80 % нітратів. Тушкування зменшує вміст нітратів на 10%; підсмажування на жирі – на 40–60%.

Хід роботи: Покладіть овочі у киплячу воду на 10–15 хв., дайте їм охолонути й перевірте на вміст нітратів. Показники занесіть у таблицю.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

## 3. Визначення середньодобового надходження нітратів у організм з продуктами харчування

Принцип методу. Визначаємо середньодобове надходження нітратів у організм з продуктами харчування розрахунковим методом.

Встановлена продовольчою і сільськогосподарською комісією ФАО ООН гранично допустима концентрація (ГДК) споживання нітратів людиною за добу становить 500 мг. Нітрати надходять в організм людини не тільки з овочами, а й з питною водою. Саме у воді вони містяться не у зв'язаному, а у чистому виді, а відтак є набагато небезпечнішими для організму. Припустима концентрація нітратів у воді може сягати 45мг/л. У середньому доросла людина випиває 2 л води за добу. Отже, частка рослинних та інших продуктів із добової дози становить приблизно 235 мг/кг (м'ясо–молочну продукцію можна не враховувати, оскільки вміст нітратів тут незначний).

Для дорослої людини масою 60 кг фактична добова доза дорівнює 0,76 мг/кг маси тіла, для дітей віком від 1 до 4 років вона становитиме 2,0 – 3,0 мг/кг маси тіла, а для 4 – 6-річних дітей – 1,3 – 1,9 мг/кг їхньої маси тіла.

Безпечною добовою дозою нітратів є 150–200 мг. Для дорослої людини гранично допустима добова доза становить 500 мг, а 600 – є токсичною.

Хід роботи: Визначте середньодобове надходження нітратів у Ваш організм з продуктами харчування за результатами спостережень протягом тижня. Виходячи з припустимої добової норми нітратів на добу, власної ваги та використовуючи дані таблиці 2 розрахуйте, яку загальну кількість продуктів Ви можете спожити, не перевищуючи припустиму добову норму нітратів. Для розрахунків використовуйте дані таблиці 2.

Таблиця 2

*Розрахункове середньодобове надходження нітратів в організм людини з продуктами харчування*

Плоди, овочі	Споживання на добу, г	Споживання їстівної частини, г	Масова частка нітратів, мг/кг		Частка нітратів після кулінарної обробки, мг/кг
			Допустима	Фактична	
Картопля	373	269	180	58,4	29,2
Морква	44	36,2	450	15,8	11,1
Капуста	98	78,4	600	47,0	32,9
Буряк	36	28,8	1400	40,3	28,2
Томати	37	35,2	150	5,3	4,8
Огірки	38	35,3	300	10,6	9,5
Баклажани	11	9,9	300	3,0	2,1
Редиска	8	6,4	1200	7,7	7,0
Кабачки	19	17,1	400	6,8	4,8
Перець солодкий	4	3,0	200	6,6	0,5
Цибуля	8	6,4	600	3,8	3,4
Салат	4	3,2	2250	7,2	6,5
Шпинат	4	3,0	2250	6,4	4,9
Кріп	4	3,2	2250	7,2	6,5

Результати та висновки: \_\_\_\_\_

### Контрольні запитання

1. Шляхи та способи виведення токсикантів.
2. Що є основою механізму адсорбції екотоксиканта.
3. Шляхи надходження токсиканта в клітину.
4. Особливості всмоктування речовин у травному каналі.
5. З чим пов'язана швидкість дії токсиканта.
6. Екологічне значення токсинів.
7. Природні джерела токсичних речовин.



## 8. Шляхи перетворення антропогенних токсинів в екосистемах.

### Тема 10. Екологічний контроль об'єктів оточуючого середовища та якості продукції

#### Пояснення до завдання

З метою ефективного здійснення екологічного контролю об'єктів оточуючого середовища та сільськогосподарської продукції використовуються сучасні високотехнологічні методи досліджень, зокрема, методи хроматографічного аналізу. Особливістю хроматографічного методу є можливість ідентифікації і кількісного визначення компонентів сумішей речовин. Метод допомагає розділити багатокомпонентні суміші на окремі компоненти та одночасно дає кількісну характеристику кожного компоненту. Хроматографію використовують в багатьох біологічних галузях, зокрема, у екології для визначення вмісту шкідливих домішок у повітрі, воді, ґрунті та харчових продуктах.

#### Порядок виконання дослідів

#### **1. Тонкошарова хроматографія ліпідів м'язової тканини тварин**

Принцип методу. Метод тонкошарової хроматографії (ТШХ) заснований на відмінності в швидкості переміщення компонентів суміші в плоскому тонкому шарі (товщина 0,1–0,5 мм) сорбенту при їх русі в потоці рухомої фази (елюента). ТШХ є одним з найбільш простих і ефективних експрес-методів розділення і аналізу речовин у харчових продуктах, біологічних рідинах і інших об'єктах, що не вимагають складного устаткування. У той же час метод має високу вибірковість і чутливість (низькою межею виявлення). Цим методом можна визначити 10–20 мкг речовини з точністю методом можна визначити 10–20 мкг речовини з точністю до 5–7 %.

Хід роботи: Охолоджену м'язову тканину ретельно подрібнюють ножицями. У колбу вносять наважку подрібненої тканини (500 – 1000 мг) і хлороформ–метанолову суміш (реактив Фолча) у співвідношенні 1:20 та ретельно збовтують для екстракції ліпідів. Після відстоювання і розшарування нижній шар відкидають, а верхній переливають до колби з притертим корком. Одержаний ліпідний екстракт використовують для визначення кількості і складу загальних ліпідів. На хроматографічну пластинку з шаром силікагелю наносять з допомогою мікрошприца ліпідний екстракт у розрахунку 2 мг ліпідів у 0,05 мл розчинника.

Пластину з нанесеною пробою поміщають у хроматографічну камеру з рухомою фазою (суміш з петролейного і діетилового ефірів у співвідношенні 4:1). Як тільки рухома фаза досягне фінішної мітки, хроматограми виймають з камери. Для проявлення ліпідів хроматограму поміщають в скляну камеру з притертою кришкою, на дно якої поміщають кусочки кристалічного йоду. Час проявлення близько 3 хв. Зони, які містять ліпіди, забарвлюються у світло-

коричневий колір. Їх обколюють голкою. Для видалення парів йоду пластинки залишають на повітрі 20–30 хв.

Для кількісного визначення окремих класів плями ліпідів з хроматограми зішкрябують у центрифужну пробірку і доливають по 5 мл концентрованої сірчаної кислоти. Вміст пробірок ретельно змішують скляною паличкою, після чого їх поміщають на 15 хв. у киплячу водяну баню. Після охолодження проводять центрифугування при 4000 об/хв протягом 20 хв. Інтенсивність забарвлення (бурий колір) вимірюють на фотоелектроколориметрі (довжина хвилі 375 нм).

Розрахунки проводять в відсотковому або абсолютному вираженні.

Результати та висновки: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

### Контрольні запитання

1. Як здійснюється екологічний контроль якості середовища?
2. Метод біоіндикації.
3. Метод біотестування.
4. Токсикологічні ефекти знезараження питної води.
5. Проблеми визначення показників ГДК.
6. Навантаження на природне середовище.

### Список використаної літератури

1. Гарбарець Б. О. Практикум з біологічної хімії / Б. О. Гарбарець, І. Ю. Висоцький, А. А. Качанова. – Суми, 1997. – 415 с.
2. Гонський Я. І. Біологічна хімія: лабораторний практикум / Я. І. Гонський. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2001. – 288 с.
3. Гонський Я. І. Біохімія людини / Я. І. Гонський, Г. П. Максимчук. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2002. – 744 с.
4. Губський Ю. І. Біологічна хімія / Ю. І. Губський. – Київ; Тернопіль : Укрмедкнига, 2000. – 508 с.
5. Губський Ю. І. Біологічна хімія / Ю. І. Губський. – Київ; Вінниця : Нова книга, 2009. – 664 с.
6. Кушманова О. Д. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии / О. Д. Кушманова, Г. М. Ивченко. – М. : Медицина, 1983. – 424 с.

### Список рекомендованої літератури

1. Березов Т.Т. Биологическая химия / Т. Т. Березов, Б. Ф. Коровкин. – М. : Медицина, 2002. – 542 с.
2. Боєчко Л. Ф. Основні біохімічні поняття, визначення та терміни : навч. посіб. / Л. Ф. Боєчко, Л. О. Боєчко. – К. : Вища шк., 1993. – 528 с.
3. Біологічна хімія: тести та ситуаційні задачі / Т. І. Бондарчук, Н. М. Гринчишин, Л. І. Кобилінська та [ін.]; за ред. О. Л. Склярова. – К. : ВСВ «Медицина», 2010. – 360 с.
4. Бышевский А. Ш. Биохимия для врача / А. Ш. Бышевский, О. В. Терсенов. – Екатеринбург : Уральский рабочий, 1994. – 384 с.
5. Губський Ю. І. Биологическая и биоорганическая химия. Часть 1. Биоорганическая химия / Ю. І. Губський. – Вінниця : Нова книга, 2010. – 232 с.
6. Медицинская химия / В. А. Калибабчук, Л. И. Грищенко, В. И. Галинская и [др.]; под ред. В. А. Калибабчук. – К. : Медицина, 2008. – 400 с.
7. Ленинджер А. Основы биохимии : в 3 т. / А. Ленинджер. – М. : МИР, 1985. – 1056 с.
8. Мак-Мюррей У. Обмен веществ у человека / У. Мак-Мюррей. – М. : МИР, 1980. – 368 с.
9. Биохимия человека : в 2 т. / Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл. – М. : МИР, 1993. – Т. 1. – 381 с.; Т. 2. – 414 с.
10. Маршалл В. Дж. Клиническая биохимия / В. Дж. Маршалл. – М. : БИНОМ; Санкт-Петербург : Невский диалект, 2000. – 368 с.

11. Мецлер Д. Биохимия. Химические реакции в живой клетке : в 3 т. / Д. Мецлер. – М. : МИР, 1980. – Т. 2. – 606 с.; Т. 3. – 487 с.
12. Мусил Я. Основы биохимии патологических процессов / Я. Мусил. – М. : Медицина, 1985. – 432 с.
13. Николаев А. Я. Биологическая химия / А. Я. Николаев. – М. : ООО «Медицинское информационное агентство», 1998. – 496 с.
14. Хімія білка / Н. О. Сибірня, М. В. Гончар, І. В. Бородяк [ін.]; за ред. проф. Н. О. Сибірної. – Львів : ЛНУ ім. Івана Франка, 2010. – 393 с.
15. Біохімія ензимів. Ензимодіагностика. Ензимопатологія. Ензимотерапія / О. Склярів, Я. Сольскі, М. Великий та ін. – Львів : Кварт, 2008. – 218 с.
16. Строев Е. А. Биологическая химия / Е. А. Строев. – М. : Высшая школа, 1986. – 479 с.
17. Тюкавкина Н. А. Биоорганическая химия / Н. А. Тюкавкина, Ю. Н. Бауков. – М. : Медицина, 1991.