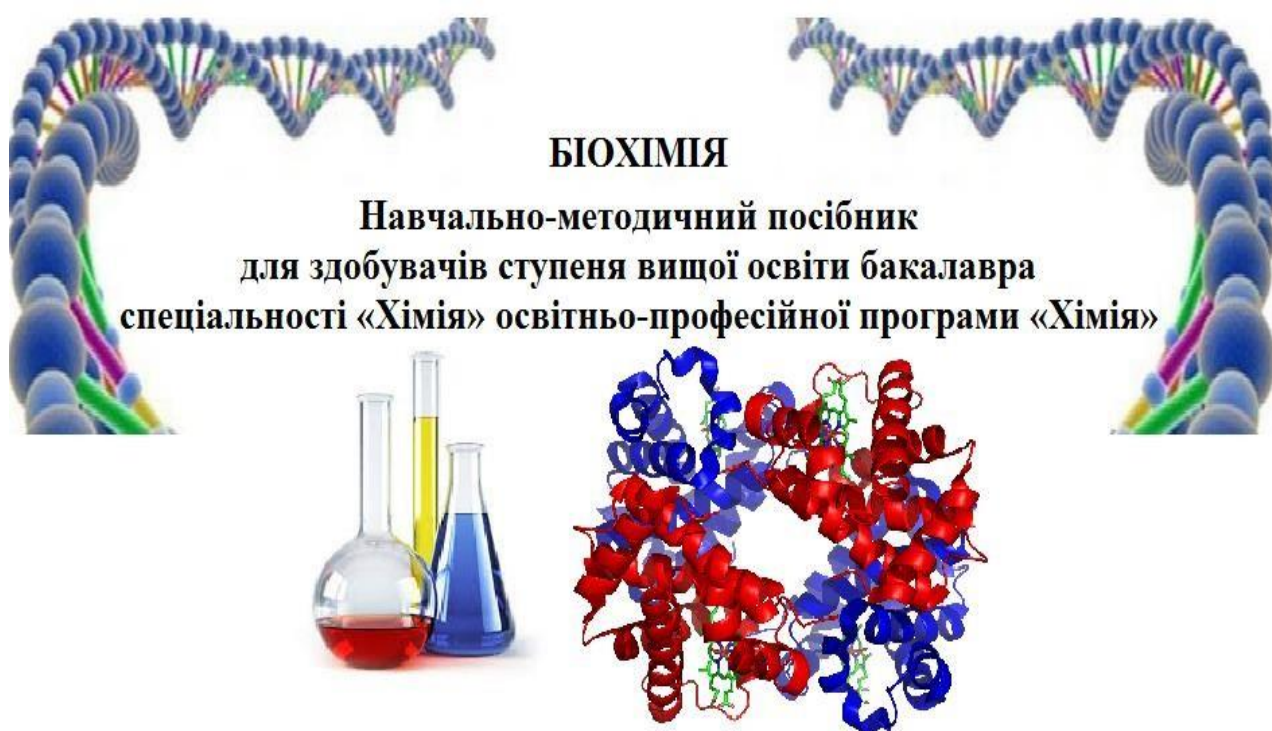


**Міністерство освіти і науки України
Запорізький національний університет**

Л.О. Омелянчик, В.І. Генчева



**Запоріжжя
2022**

**Міністерство освіти і науки України
Запорізький національний університет**

Л.О. Омелянчик, В.І. Генчева

БІОХІМІЯ

**Навчально-методичний посібник
для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Хімія»
освітньо-професійної програми «Хімія»
денної форми здобуття освіти**

**Затверджено
вченою радою ЗНУ
Протокол №2 від 27.09.2022**

**Запоріжжя
2022**

УДК: 576.32/ .36 (075.8)
О – 572

Омельянчик Л.О., Генчева В.І. Біохімія: навчально-методичний посібник для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія» денної форми навчання. Запоріжжя : Запорізький національний університет, 2022. 115 с.

У навчально-методичному посібнику в стислому та систематизованому вигляді викладено теоретичний матеріал до кожної теми дисципліни «Біохімія», наочно проілюстрований достатньою кількістю рисунків, графіків і формул та доповнений питаннями для самоконтролю. Увагу акцентовано на особливостях будови та ролі органел тваринної клітини; розглянуто хімічну будову, властивості, біологічну роль амінокислот, білків, вуглеводів, ліпідів, нуклеїнових кислот, ферментів, вітамінів і гормонів; охарактеризовано особливості виділення, очистки, розділення білків та амінокислот. Подано зміст дев'яти лабораторних робіт (тематику, перелік реактивів та обладнання, принципи біохімічних реакцій, методику проведення дослідів у їх логічній послідовності) з поясненням їх практичного значення, запропоновано завдання для самостійного виконання; описано способи приготування окремих реактивів; рекомендовано основну та додаткову літературу для опрацювання.

Для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Хімія» освітньо-професійної програми «Хімія» денної форми навчання.

Рецензент

Н. В. Новосад, канд. біол. наук, доцент кафедри фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини

Відповідальний за випуск

О. А. Бражко, д-р біол. наук, проф., завідувач кафедри хімії

ЗМІСТ

Передмова	4
Техніка безпеки під час роботи у хімічній лабораторії.....	6
Особливості роботи з автоматичними піпетками.....	9
Особливості роботи з фотоколориметром (КФК-3).....	12
Тема 1. Вступ до біохімії. Клітина – основа структури живих систем.....	16
Тема 2. Амінокислоти та білки.....	27
Виділення, очистка, розділення амінокислот і білків	36
Лабораторна робота № 1. Якісні реакції на амінокислоти та білки.....	43
Лабораторна робота № 2. Властивості білків.....	48
Лабораторна робота № 3. Кількісне визначення загального білка в сироватці крові за допомогою біуретового реактиву.....	51
Тема 3. Будова, властивості та значення вуглеводів.....	52
Лабораторна робота № 4. Реакції з моносахаридами, дисахаридами та полісахаридами.....	57
Тема 4. Ліпіди.....	60
Лабораторна робота № 5. Реакції на жири та жироподібні речовини.....	64
Тема 5. Нуклеїнові кислоти.....	67
Лабораторна робота № 6. Реакції на складові компоненти нуклеопротейдів дріжджів.....	74
Тема 6. Біохімія ферментів.....	76
Лабораторна робота № 7. Загальні властивості ферментів.....	86
Тема 7. Будова та роль вітамінів.....	89
Лабораторна робота № 8. Якісні реакції на водорозчинні та жиророзчинні вітаміни.....	98
Тема 8. Біохімія гормонів.....	100
Лабораторна робота № 9. Якісні реакції на гормони.....//.....	105
Способи приготування реактивів.....	107
Предметний покажчик.....	109
Рекомендована література.....	112

ПЕРЕДМОВА

«Біологічна хімія – це той фундамент, на якому ґрунтується наше уявлення про живу природу, про її вражаючу доцільність і єдність законів, це той матеріалістичний принцип, що допомагає нам зрозуміти сутність, могутність і красу явищ, завдяки яким існує найвеличніше на Землі життя».

Ю. Овчинников

Біохімія, біологічна хімія (грец. *bios* – життя + *chēmia* – хімія) – це наука, яка вивчає хімічний склад живої матерії, хімічні процеси, що відбуваються в живих організмах і лежать в основі їх життєдіяльності. Сучасна біохімія вивчає будову біологічно важливих речовин з точки зору виконуваних ними функцій, їх хімічні перетворення, процеси, що відбуваються в живих організмах на молекулярному рівні. Біохімію ще називають наукою про молекулярну логіку живого. Останніми десятиліттями простежується посилення біохімічного підходу до вирішення багатьох нагальних проблем. Успіхи біохімії є фундаментом для розвитку медицини, фармакології, мікробіології, вірусології, сільського господарства та становлення таких галузей науки, як генетична і клітинна інженерія, біотехнологія.

Мета вивчення навчальної дисципліни «Біохімія» полягає у формуванні у студентів розуміння про хімічну будову макромолекул (біополімерів) у клітинах живих організмів, їх фізико-хімічні властивості та біологічну роль.

Основним завданням вивчення навчальної дисципліни «Біохімія» є засвоєння теоретичних основ статичної біохімії та набуття навичок практичного застосування знань.

Очікувані результати навчання (компетентності), яких має досягти студент згідно з вимогами освітньо-професійної програми:

- здатність оперувати знаннями про основні субклітинні компоненти (амінокислоти, білки, вуглеводи, ліпіди, нуклеїнові кислоти, ферменти, вітаміни, гормони);
- здатність встановлювати взаємозв'язок між структурою біополімерів та їх функцією;
- здатність виявляти властивості біологічно активних речовин (ферментів, вітамінів, гормонів);
- здатність проводити якісні реакції на амінокислоти, моносахариди, полісахариди, на складові компоненти ліпідів, нуклеїнових кислот;
- здатність застосовувати набуті знання для постановки та проведення експериментальних досліджень;
- здатність проводити експерименти в межах лабораторного практикуму зі статичної біохімії;
- здатність зіставляти дані біохімічних досліджень з теоретичними положеннями;

- здатність вільно користуватися хімічною мовою;
- здатність критично аналізувати довідкову, навчальну й наукову літературу, самостійно знаходити джерела інформації;
- готовність до майбутньої професійної діяльності.

У результаті вивчення дисципліни студент повинен засвоїти основні поняття біохімії; отримати міцні та ґрунтовні знання про склад, хімічну будову, властивості та функції амінокислот, білків, вуглеводів, ліпідів, нуклеїнових кислот, ферментів, вітамінів, гормонів; усвідомити сутність біохімічних процесів і механізми перебігу біохімічних реакцій; оволодіти методикою проведення біохімічних лабораторних досліджень; поглибити навички роботи з хімічними реактивами, посудом та обладнанням; розвинути логічне мислення, вміння аналізувати, робити аргументовані висновки та узагальнювати результати проведених досліджень.

Базовими для успішного засвоєння курсу «Біохімія» є знання, отримані студентами в результаті вивчення таких дисциплін, як «Техніка експерименту», «Неорганічна хімія», «Аналітична хімія», «Органічна хімія».

Своєю чергою біохімія є основою для вивчення дисципліни «Хімічні процеси в живих організмах» і спецкурсів «Біологічно активні речовини», «Штучні продукти харчування», «Фізична хімія біополімерів», «Фізика та хімія молока і м'ясо-молочних продуктів».

Запропонований авторами посібник сприятиме засвоєнню теоретичних основ статичної хімії, підготовці до лабораторних робіт та успішному проведенню дослідів. Поданий навчальний матеріал систематизований і чітко структурований: короткі теоретичні відомості з кожної теми, питання для самоконтролю, зміст лабораторних робіт з інструкціями до проведення дослідів і оформлення звітів, завдання для домашнього виконання. Крім того, у виданні описуються способи приготування окремих реактивів.

Обов'язковою умовою допуску студента до виконання завдань лабораторного практикуму є ознайомлення з вимогами техніки безпеки, правилами роботи у біохімічній лабораторії (проходження інструктажу засвідчується підписом). Лабораторне заняття складається з двох частин: перша частина – теоретична – спрямована на актуалізацію знань і перевірку готовності до виконання завдань лабораторної роботи, друга частина – експериментальна – передбачає виконання дослідів лабораторної роботи та оформлення звіту у вигляді таблиці. Відтак лабораторні заняття спрямовані на закріплення та поглиблення теоретичних знань, набуття вмінь, навичок і практичного досвіду, необхідних студентам для успішного здійснення професійної діяльності в майбутньому.

Кожна лабораторна робота має бути запротокольована в робочому зошиті. Записи необхідно вести за такою схемою: дата виконання лабораторної роботи, назва теми, короткий опис дослідів, основні механізми реакції, результати спостережень у вигляді таблиці та висновки. Лабораторна робота оформлюється студентом в аудиторний час і надається викладачеві для перевірки наприкінці заняття.

ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ ПІД ЧАС РОБОТИ У ХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

Студенти допускаються до роботи в хімічній лабораторії **тільки в захисному одязі - халаті.**

Сумки та особисті речі потрібно залишити у відведеному для цього місці.

Під час виконання лабораторних робіт студентам необхідно бути максимально уважними і чітко дотримуватися методики виконання дослідів.

З реактивами слід працювати тільки на робочих столах, з концентрованими кислотами, лугами й леткими речовинами – у витяжній шафі, звідки їх категорично забороняється переносити.

Перш ніж використовувати реактиви, необхідно уважно ознайомитися з інформацією на етикетці.

Для досліду слід брати речовини в кількостях, вказаних в інструкціях до лабораторної роботи.

Сухі реактиви потрібно брати чистим шпателем або спеціальною ложечкою; розчини наливати в пробірки в невеликих кількостях (по краплях).

При нагріванні колби чи хімічного посуду на електричній плитці необхідно покласти товстий шар азбестової сітки.

Досліди з легкозаймистими речовинами слід проводити дуже обережно й подалі від вогню.

Під час нагрівання розчинів у пробірках слід використовувати тримачі із зажимами. Пробірку з рідиною при нагріванні необхідно тримати в нахиленому положенні так, щоб її отвір був спрямований в протилежний бік від себе та своїх сусідів.

Завжди потрібно наливати кислоту у воду, а не навпаки.

Працювати з їдкими лугами й концентрованими кислотами слід дуже обережно, уникаючи хімічних опіків і псування одягу.

Залишки концентрованих кислот, основ, солей важких металів, цінних реактивів (наприклад, аргентум нітрат) необхідно зливати тільки в спеціально відведені для цього склянки.

Під час роботи забороняється відволікати увагу тих, хто працює.

Після закінчення роботи всі електронагрівальні прилади слід вимкнути та прибрати своє робоче місце.

У разі виникнення пожежі потрібно використовувати для її гасіння вогнегасники, щільну ковдру, пісок.

З метою уникнення травм, опіків, нещасних випадків **суворо забороняється:**

1) пити воду з хімічного посуду; пробувати хімічні речовини на смак; проливати й розсипати реактиви;

2) користуватися приладами та обладнанням без їх попередньої перевірки на справність та ознайомлення з інструкцією з експлуатації;

3) залишати без нагляду ввімкнені електронагрівальні прилади, палаючі спиртівки;

4) відміряти концентровані кислоти й луги, втягуючи їх ротом у піпетку;

5) зберігати леткі й легкозаймісті речовини поблизу джерел тепла, відкритого вогню, ввімкнених приладів;

6) торкатися руками неізолюваних проводів;

7) вдихати пари отруйних речовин;

8) допускати потрапляння отруйних речовин на шкіру та одяг.

Під час роботи в лабораторії **студенти зобов'язані:**

- дотримуватися правил техніки безпеки та пожежної безпеки;

- чітко виконувати інструкції викладача (лаборанта).

- підтримувати в чистоті та порядку свої робочі місця.

Перша допомога

Перев'язувальні матеріали (вата, бинти, серветки), необхідні розчини та медикаменти знаходяться в аптечці першої медичної допомоги, якою забезпечена кожна лабораторія.

У разі поранень, отруєнь, опіків та інших нещасних випадків потерпілому на місці слід надати першу долікарську допомогу і за необхідності направити його до медичної установи. У разі потреби викликати лікаря на місце пригоди.

При виникненні пожежі в лабораторії необхідно негайно вимкнути всі газові та нагрівальні прилади, прибрати легкозаймісті рідини. Якщо осередок пожежі невеликий, загоряння можна спробувати ліквідувати первинними засобами пожежогасіння: засипати піском або накрити щільною тканиною чи ковдрою, шматком азбесту або ж залити тетрахлорметаном. Для припинення інтенсивного горіння слід скористатися вогнегасником. Не можна задувати палаючу рідину або заливати її водою.

Якщо загорівся одяг, потерпілого необхідно негайно повалити на підлогу та намагатися збити полум'я, накинувши на нього мокру тканину.

Дерев'яні предмети, охоплені полум'ям, потрібно гасити водою або вогнегасником.

Під час роботи в хімічній лабораторії найбільш можливими є порізи склом, термічні та хімічні опіки, а також інгаляційне ураження парами токсичних речовин.

При теплових опіках роблять примочку з розчином 2%-го калій манганату або етанолу, а потім наносять мазь від опіків.

При хімічних опіках шкіри необхідно насамперед видалити відповідним розчинником речовину, яка стала їх причиною, а потім обробити уражену ділянку етанолом і змазати маззю від опіків.

При опіках кислотами уражену ділянку насамперед треба промити сильним струменем проточної води, а потім обробити 3%-им розчином натрій

гідрогенкарбонату; при опіках їдкими лугами – промити водою, обробити 3%-им розчином оцтової або борної кислоти, а потім знову обполоснути водою.

При опіках очей кислотою необхідно промити їх великою кількістю води, потім обробити тампоном, змоченим у 3%-му розчині натрій гідрогенкарбонату, і знову промити водою; при опіках очей лугом – промити їх великою кількістю води, потім обробити тампоном, змоченим у 3%-му розчині борної кислоти, і знову промити водою. Після цього потрібно негайно звернутися до лікаря.

При порізах насамперед необхідно пінцетом, попередньо обробленим спиртом, видалити з рани видимі шматочки скла, промити рану дистильованою водою або протерти тампоном, змоченим в етанолі, після чого змастити 5%-им спиртовим розчином йоду й забинтувати. Невеликі порізи можна заклеїти антисептичним пластиром.

ОСОБЛИВОСТІ РОБОТИ З АВТОМАТИЧНИМИ ПІПЕТКАМИ

На сьогодні в усіх лабораторіях для відмірювання відомої кількості речовини використовують механічні, електронні автоматичні піпетки (рис. 1-2) – пристрої з пневматичним механізмом, дія яких ґрунтується на витісненні рідини повітрям.

Автоматичні піпетки бувають різних видів: починаючи з піпеток із фіксованим об'ємом (сAMPLери) і закінчуючи піпетками з електронним контролем дозування. Ці піпетки мають різні межі дозування – від 1 мкл (0,001 мл) до 50 мл.

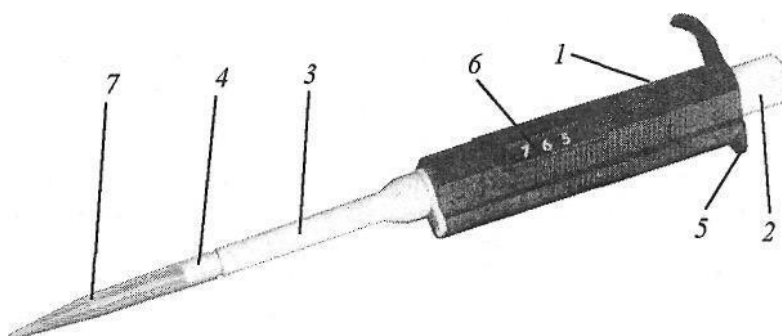


Рисунок 1 – Механічна одноканальна піпетка зі змінним об'ємом (фірма «Лабсистемс», Фінляндія): 1 – рукоятка з гачком, 2 – головка плунжера, 3 – ствольна частина; 4 – нижня частина ствольної частини, 5 – видалювач наконечника; 6 – віконце цифрового індикатора, 7 – змінний наконечник

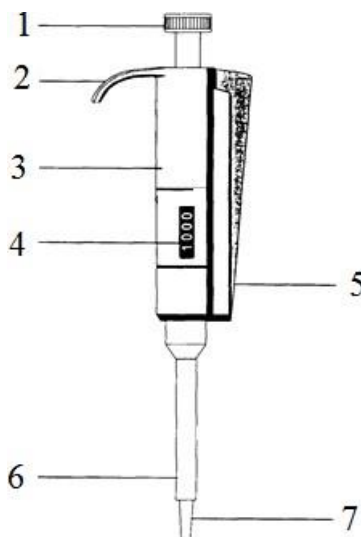


Рисунок 2 – Електронна одноканальна піпетка зі змінним об'ємом (фірма «Лабсистемс», Фінляндія): 1 – операційна кнопка; 2 – упор; 3 – рукоятка; 4 – цифровий дисплей; 5 – штовхач видалювача наконечника; 6 – видалювач наконечників; 7 – конус наконечника

На кінчик кожної піпетки вдягається одноразовий наконечник, через який набирається відповідна речовина (за винятком концентрованих кислот).

Автоматичні піпетки мають суттєві переваги, порівняно зі скляними, завдяки вищій швидкості відбору, удосконаленому механізму регулювання об'єму рідини, точності та відтворюваності, зручності у використанні.

Однак автоматичні піпетки не позбавлені недоліків. Наприклад, більшість цих пристроїв не призначені для відбирання агресивних речовин (концентрованих кислот, лугів, розчинників тощо). Під час роботи з такими речовинами відбувається псування механізму для дозування, що робить піпетку непридатною для подальшого використання

Розрізняють такі автоматичні піпетки:

- 1) механічні та електронні;
- 2) одноканальні та багатоканальні;
- 3) фіксованого та змінного об'єму.

Механічні та електронні піпетки можуть бути одноканальними, багатоканальними, фіксованого та змінного об'єму.

Механічні автопіпетки мають пружинний механізм та пристрій, який дозує об'єм рідини – мікрометричний гвинт (налагоджують вручну). В електронних – пневматичний механізм приводиться в дію електромотором, який управляється мікрокомп'ютером з електроживленням від акумуляторів. Якщо автопіпеткою не користуються, її встановлюють у тримач, який одночасно є живильним пристроєм для її акумуляторів. Тримач підключають до електромережі.

Одноканальні автопіпетки – це універсальні прилади, які використовуються в біохімічних лабораторіях.

Обсяги виробництва багатоканальних автопіпеток значно перевищують одноканальні, але сфера їх використання обмежується вузькоспеціалізованою апаратурою. Наприклад, дев'ятиканальна піпетка для автоаналізаторів «Фінпіпет» фірми «Лабсистемс» (Фінляндія); багатоканальні автопіпетки для імунологічних досліджень, які розраховані на роботу з планшетами визначених параметрів.

Автопіпетки фіксованого об'єму використовуються для вимірювання тільки одного суворо визначеного об'єму рідини.

Автопіпетки змінного об'єму використовуються для вимірювання об'ємів рідини в більшому діапазоні. Наприклад, піпетки фірми «Лабсистемс» (Фінляндія) розраховані на вимірювання об'ємів рідини від 5 до 5000 мкл (0,005 до 5 мл відповідно). Комплект містить автопіпетки для вимірювання об'ємів рідини від 5 до 40 мкл, від 40 до 200 мкл, від 200 до 1000 мкл, від 1000 до 5000 мкл. Такі автопіпетки є найбільш практичними.

Автоматична піпетка: механічна одноканальна автопіпетка зі змінним об'ємом (фірма «Лабсистемс», Фінляндія) виготовляється з механічно пружних і хімічно інертних пластмас. Складається вона з корпусу та пневматичного механізму, який міститься всередині нього (рис. 1). Будова корпусу: рукоятка з гачком у верхній частині 1, головка плунжера 2, стволова частина 3, нижня частина стволової частини 4, видаляч наконечника 5, на рукоятці піпетки є віконце цифрового індикатора об'єму рідини 6. Пневматичний механізм складається з пружини та мікрометричного гвинта, крок якого відповідає суворо визначеному об'єму рідини. Мікрометричний гвинт приводиться в рух

обертанням головки плунжера. При цьому у віконці цифрового індикатора позначається об'єм рідини. Кожна автопіпетка має набір змінюваних наконечників. Вони виготовлені з прозорого поліпропілену. Використовуються 3 типи наконечників залежно від об'єму, який вимірюють піпеткою.

Правила роботи з автопіпеткою.

1. На піпетці встановлюють необхідний об'єм рідини для вимірювання. Це досягається обертанням головки плунжера за годинниковою стрілкою (зменшення об'єму) або проти годинникової стрілки (збільшення об'єму). Кожний крок обертання головки плунжера супроводжується клацанням. Обраний об'єм фіксується у віконці цифрового індикатора. Цифри мають бути на індикаторі автопіпетки.

2. Рукоятку піпетки вкладають в долоню («рукоятка кинджала»), вушко рукоятки навішують на вказівний палець. Цим забезпечується мінімальне напруження кисті руки при роботі з піпеткою. На нижню частину ствольової частини піпетки щільно насаджують відповідний наконечник. Під час роботи автопіпетка повинна знаходитися у **вертикальному положенні**. Відбір і дозування рідини проводять, використовуючи плунжер. За ходом руху плунжера є два натискання.

3. Піпетування можна проводити двома способами – прямим і зворотним. При прямому способі пікетування надавлюють на головку плунжера великим пальцем до першого натискання. Опускають наконечник піпетки в розчин, повільно вивільняючи плунжер. У наконечник набирається необхідний об'єм рідини. Для того щоб злити рідину, повторно надавлюють на головку плунжера, але тепер уже до другого натискання, тобто до упору. При цьому із наконечника видаляють усі залишки рідини. Потім палець піднімають, і плунжер повертається у вихідне положення.

При зворотному способі пікетування натискають на головку плунжера великим пальцем до упору. Опускають наконечник піпетки в розчин а повільно вивільнюють плунжер. Набирається об'єм рідини, але дещо більший від необхідного. Для дозування визначеного об'єму надавлюють на головку плунжера тільки до першого натискання. Частина рідини, яка залишилася в наконечнику, не входить у вимірюваний об'єм. Її необхідно видалити. Для цього повторно натискають на плунжер до упору. Потім піднімають палець, і плунжер повертається у вихідне положення. Зворотний спосіб зручний при дозуванні в'язких рідин і рідин, які легко утворюють піну.

Для того щоб зняти наконечник, натискають на видаляч до упору, після чого він самостійно від'єднується від кінця піпетки. Використаний наконечник потрібно опустити в 6%-й розчин гідроген пероксиду для кращого очищення та знезараження. Після миття та просушування наконечник можна використовувати повторно.

Порядок роботи з механічними багатоканальними автопіпетками аналогічний описаному вище для одноканальних. Багатоканальні піпетки комплектуються відповідними для їх конфігурації змінними блоками наконечників. Точність відтворювання вимірювань, які проводять за допомогою автопіпеток, коливається в межах від $\pm 0,5\%$ до $\pm 3\%$ залежно від їх типу.

ОСОБЛИВОСТІ РОБОТИ З ФОТОЕЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРОМ (КФК-2)

Колориметр фотоелектричний концентраційний (КФК-3) (рис. 3) призначений для вимірювання в окремих діапазонах довжин хвиль (315-980 нм), які виділяються світлофільтрами, визначення коефіцієнта пропускання та оптичної щільності рідких розчинів, твердих тіл, а також концентрації речовин у розчинах методом побудови градуювальних графіків.

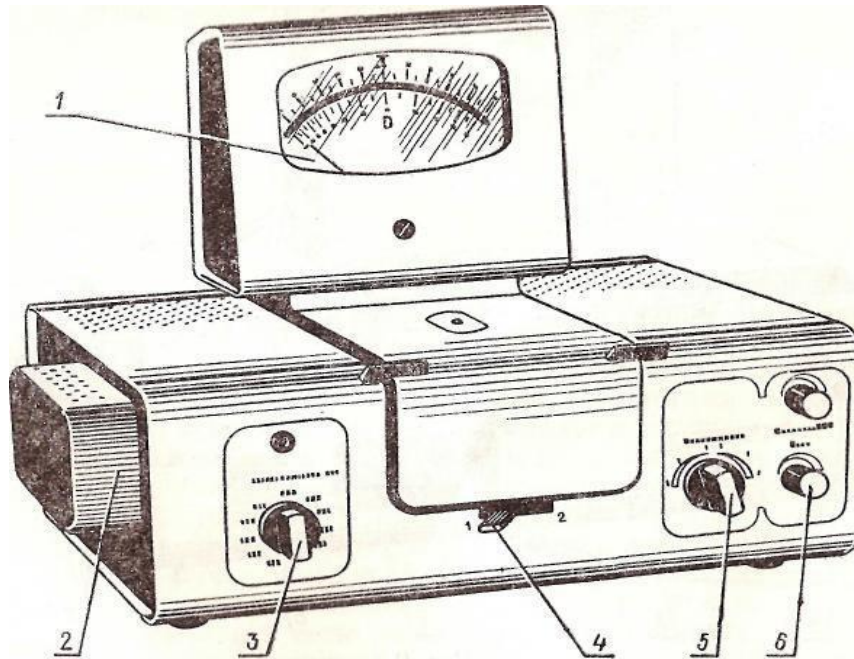


Рисунок 3 – Колориметр фотоелектричний концентраційний КФК-2:
1 – мікроамперметр, 2 – джерело світла, 3 – ручка для введення світлофільтра у світловий пучок, 4 – ручка для переведення кювет у світловому пучку, 5 – включення фотоприймача, 6 – чутливість

Правила експлуатації

1. Якщо колориметр було внесено до приміщення з морозу, тоді його розпакування та розконсервація повинні проводитися не раніше ніж через 12 год..

Після довгого зберігання колориметр необхідно включити та провести тренування протягом 2-5 год.

2. Вимірювання на колориметрі слід проводити при температурі повітря від 10 до 35 °С.

3. При вимірюванні зі світлофільтрами 315, 364, 400, 440, 490, 540 нм, які відмічені на передній панелі колориметра чорним кольором, ручку ЧУТЛИВІСТЬ встановлюють в одне із трьох положень («1», «2», «3»), так само позначених чорним кольором.

При вимірюванні зі світлофільтрами 590, 670, 750, 870, 980 нм, які відмічені на передній панелі колориметра червоним кольором, ручку

ЧУТЛИВІСТЬ встановлюють в одне із трьох положень («1», «2», «3»), так само позначених червоним кольором.

4. Робочі поверхні кювет (рис. 4) перед кожним вимірюванням необхідно протирати спиртово-ефірною сумішшю. При установці кювет у кюветотримач торкатися пальцями робочих установок поверхонь (нижче від рівня рідини в кюветі) забороняється.



Рисунок 4 – Різновиди кювет

Наявність забруднень або крапель розчину на робочих поверхнях кювети призводить до отримання недостовірних результатів вимірювань.

Рідину в кювету необхідно наливати по бічній стінці. Рідина в обмеженому об'ємі кювети в деяких випадках утворює меніск. За капілярами, особливо по кутах кювети, рідина піднімається на значну висоту (на 4-6 мм).

Не треба нахиляти кювету з рідиною при установці в кюветотримач.

5. Після зміни світлофільтра вимірювання починають проводити після 5-хвилинного засвічення фотоприймача.

6. При переключенні світлофільтрів **ЧУТЛИВІСТЬ** повинна знаходитися в положенні «1», а ручка 6 – **УСТАНОВКА 100 ГРУБО** – у крайньому лівому положенні (мінімальна чутливість). Це дозволяє запобігти перевантаженню приладу, який реєструє дані, та його псуванню.

Вказівки щодо заходів безпеки

1. Робота на колориметрі повинна проводитися в чистому приміщенні, в якому немає пилу, парів кислот і лугів.

2. Поблизу колориметра не повинні знаходитися громіздкі вироби, що перешкоджають роботі оператора.

3. Роботи, пов'язані з проникненням усередину колориметра (заміна ламп, несправних деталей тощо), повинні проводитися після від'єднання колориметра від електромережі.

4. При експлуатації колориметр має бути надійно заземлений.

Визначення концентрації речовини в розчині

При визначенні концентрації речовини в розчині необхідно дотримуватися такої послідовності: вибір світлофільтра; вибір кювети;

побудова градувальної кривої для речовини; вимірювання оптичної густини досліджуваного розчину та визначення концентрації речовини в розчині.

1. Вибір світлофільтра.

Наявність у колориметрі наборів світлофільтрів і кювет дозволяє підібрати оптимальне їх поєднання, при якому похибка у визначенні концентрації буде мінімальною.

Вибір світлофільтра проводять таким чином: наливають розчин у кювету і визначають оптичну густину для всіх світлофільтрів.

За отриманими даними будують криву, відкладаючи по осі абсцис (x) довжини хвиль, які відповідають максимуму коефіцієнта пропускання світлофільтрів, а по осі ординат (y) відповідні значення оптичної густини розчину. Відмічають ту ділянку кривої, де:

- оптична густина має максимальну величину;
- хід кривої приблизно паралельний осі абсцис, тобто оптична густина мало залежить від довжини хвиль.

Світлофільтр для роботи обирають так, щоб довжина хвилі відповідала максимуму коефіцієнта пропускання і знаходилася на відміченій вище ділянці спектральної кривої досліджуваного розчину.

2. Вибір кювети. Абсолютна похибка вимірювання коефіцієнта пропускання не перевищує 1%. Відносна похибка визначення концентрації розчину буде різною при роботі на різних шкалах колориметра, досягаючи мінімуму при значенні оптичної густини 0,4. Тому при роботі на колориметрі рекомендується шляхом відповідного вибору кювет працювати, наближаючись до вказаного значення оптичної густини.

Попередній вибір кювет проводять візуально відповідно до інтенсивності забарвлення розчину. Якщо розчин інтенсивно забарвлений (темний), слід користуватися кюветами з малою робочою довжиною. У випадку слабозабарвленого розчину рекомендується працювати з кюветами з більшою робочою довжиною.

У попередньо обрану кювету наливають розчин і вимірюють його оптичну густину, вводячи у хід променів відповідний для даного розчину світлофільтр.

При вимірюванні певної кількості розчинів кювету заповнюють розчином середньої концентрації. Якщо отримане значення оптичної густини становить приблизно 0,3-0,5 – обирають відповідну кювету, призначену для роботи саме з цим розчином. Якщо вказана вище умова не виконується, потрібно перевірити іншу кювету. Якщо величина оптичної густини, яку визначили, перевищує 0,5-0,6, обирають кювету з меншою робочою довжиною. Якщо величина оптичної густини менше 0,2-0,3, обирають кювету з більшою робочою довжиною.

3. Побудова калібрувальної кривої для даної речовини.

Побудова калібрувальної кривої виконується в такій послідовності:

1) Готують розчини визначуваної речовини з відомими концентраціями таким чином, щоб охопити діапазон можливих змін концентрацій у досліджуваному розчині.

2) Вимірюють оптичні густини всіх розчинів.

3) Будують калібрувальну криву, відкладаючи по осі абсцис (x) відомі концентрації, а по осі ординат (y) – відповідні значення екстинкції (або оптичної густини).

4. Визначення концентрації речовини в розчині. За калібрувальною кривою визначають невідому концентрацію речовини в досліджуваному розчині. Для цього розчин наливають у ту саму кювету, для якої побудована калібрувальна крива, вводять той самий світлофільтр і визначають оптичну густину розчину. Потім за калібрувальною кривою знаходять концентрацію, що відповідає значенню оптичної густини (рис. 5); можна використовувати градувальні таблиці, що складаються за даними калібрувальної кривої. Калібрувальну криву час від часу необхідно перевіряти.

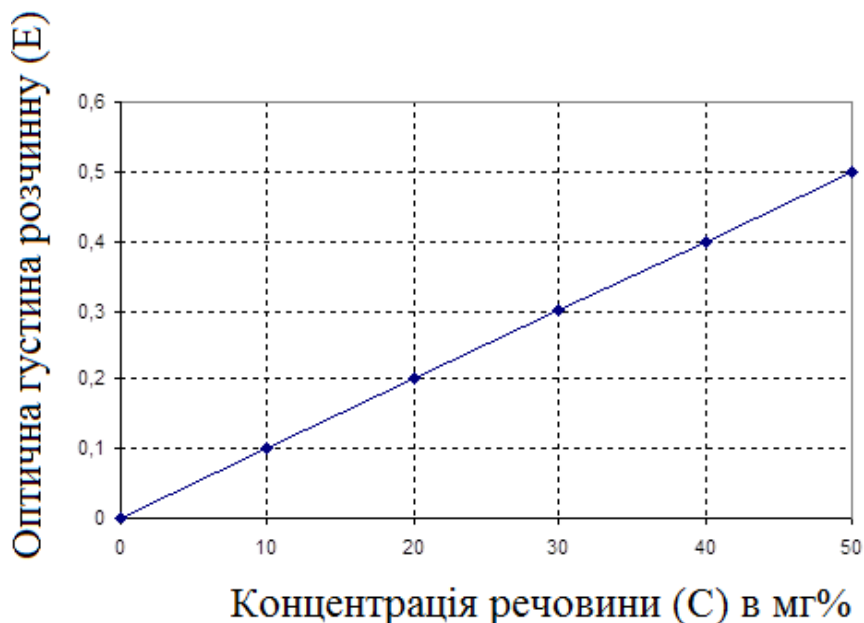


Рисунок 5 – Градувальний графік залежності оптичної густини розчину (E – екстинкції) від концентрації речовини (C) у мг%

? Питання для самоконтролю

1. Сформулюйте правила техніки безпеки в біохімічній лабораторії.
2. Охарактеризуйте особливості роботи з механічними й автоматичними піпетками.
3. Охарактеризуйте особливості роботи із фотоелектроколориметром.

Тема 1

ВСТУП ДО БІОХІМІЇ.

КЛІТИНА – ОСНОВА СТРУКТУРИ ЖИВИХ СИСТЕМ

«У живих організмах є багато різних молекул, серед яких головну роль відіграють білки, ферменти, нуклеїнові кислоти, вітаміни, гормони, вуглеводи й ліпіди, оскільки вони визначають особливості структури, функцій окремих клітин, тканин та органів».

Е.В. Румянцев



Біохімія (біологічна хімія) – наука, яка вивчає хімічний склад і структуру хімічних речовин живої матерії, їх перетворення та фізико-хімічні процеси, що лежать в основі життєдіяльності.

Як самостійна наукова дисципліна біохімія сформувалася в другій половині ХІХ ст., коли в університетах були створені кафедри біохімії, написані підручники, почали виходити друком наукові журнали, та курс «Біохімія» став обов'язковою складовою навчальних планів підготовки фахівців природничого профілю.

Передумовою виділення біохімії в окрему науку стали значні успіхи, яких вдалося досягти в органічній хімії при вивченні численних природних сполук та фізіології при дослідженні процесів, які протікають у тваринних і рослинних організмах (фізіологічна хімія).

Особливо бурхливий розвиток біохімії відбувся в останні десятиліття ХХ ст. Цьому сприяло насамперед активне застосування в біохімічних дослідженнях нових фізико-хімічних методів. Виняткову роль у розширенні можливостей наукового пошуку в біохімії зіграло впровадження в практику біохімічних робіт рентгеноструктурного аналізу, електронної мікроскопії, газової, рідинної, гелевої, капілярної хроматографії, методу мічених атомів, інфрачервоної, ультрафіолетової спектрофотометрії, флуоресцентного та полярографічного аналізу, електрофорезу, методу молекулярних сит, мас-спектрометрії, поділу речовин у гравітаційному полі, ультрацентрифугування, методів електронного парамагнітного резонансу, ядерного магнітного резонансу тощо.

Запровадження нових методичних прийомів щоразу піднімало біохімічну науку на вищий щабель пізнання закономірностей життєдіяльності організмів, відкривало нові рівні дослідження живого. відмітною рисою розвитку біохімії стало широке застосування швидкісних методів аналізу в поєднанні з автоматичним контролем. Це дозволило значною мірою полегшити та прискорити виконання наукових програм.

На сьогодні повністю автоматизовано: кількісне визначення низки сполук – амінокислот у білкових гідролізатах, моно- і дисахаридів у біологічних рідинах (кров, сеча тощо); визначення первинної структури пептидів, білків і нуклеїнових кислот; проведення досліджень кінетики ферментативного каталізу при серійних визначеннях ензиматичної активності; елементний аналіз природних сполук; синтез пептидів, олігонуклеотидів, білків; процедури хроматографічного та гельфільтраційного фракціонування природних сполук; денситометрування хроматограм, електрофореграм тощо.

Залежно від підходу до вивчення живої матерії виокремлюють такі види біохімії:

- 1) **статична біохімія** – біохімія, що досліджує хімічний склад організмів;
- 2) **динамічна біохімія** – біохімія, що вивчає перетворення хімічних сполук, взаємопов'язані з ними перетворення енергії в процесі життєдіяльності;
- 3) **функціональна біохімія** – біохімія, що вивчає зв'язки між будовою хімічних сполук та процесами їх видозміни, функцією субклітинних частинок спеціалізованих клітин, тканин або органів.

Залежно від об'єкта або напрямків досліджень у сучасній біохімії виокремлюють такі самостійні розділи:

- 1) **загальна біохімія** – розділ біохімії, що вивчає закономірності будови, склад, перетворення в процесі життєдіяльності організмів хімічних сполук, характерних для живої матерії в цілому;
- 2) **біоорганічна хімія** – розділ біохімії, що досліджує фізико-хімічні основи функціонування найважливіших систем живої клітини, використовуючи ідеї, методи, прийоми, у тому числі структурний і стереохімічний аналіз, частковий і повний синтез природних сполук, їх аналогів, розробку препаративних природних речовин, їх хімічної модифікації в безпосередньому зв'язку з біологічною функцією;
- 3) **біонеорганічна хімія** – розділ біохімії, що досліджує структуру та функціональну активність комплексів неорганічних іонів з органічними молекулами (лігандами), їх участь у процесах життєдіяльності (вивчення можливості використання координаційних сполук як моделей біологічних систем);
- 4) **біохімія тварин, біохімія рослин, біохімія мікроорганізмів** – розділ біохімії, що вивчає склад цих організмів і перетворення в них речовин та енергії;
- 5) **медична біохімія, ветеринарна біохімія** – розділ біохімії, що досліджує склад, перетворення речовин, енергії в організмі людини, домашніх тварин у нормі та патології;
- 6) **квантова біохімія** – розділ біохімії, що зіставляє властивості, функції, шляхи перетворення в організмі речовин, які мають біологічне значення, з їх електронними характеристиками, отриманими за допомогою квантово-хімічних розрахунків;
- 7) **космічна біохімія** – розділ біохімії, що досліджує біохімічні проблеми, пов'язані з освоєнням людиною космічного простору.



Клітина – основна структурна та функціональна одиниця всіх живих організмів і систем. Клітини тваринних і рослинних організмів різні за розміром, формою, походженням, ступенем організації, а також за своїми функціями.

Незалежно від рівня організації спільним для всіх клітин є наявність білків, вуглеводів, ліпідів, ферментів, мінеральних сполук та води.

До складу тваринних і рослинних клітин входять як спільні, так і відмінні клітинні органели (рис. 6-7).

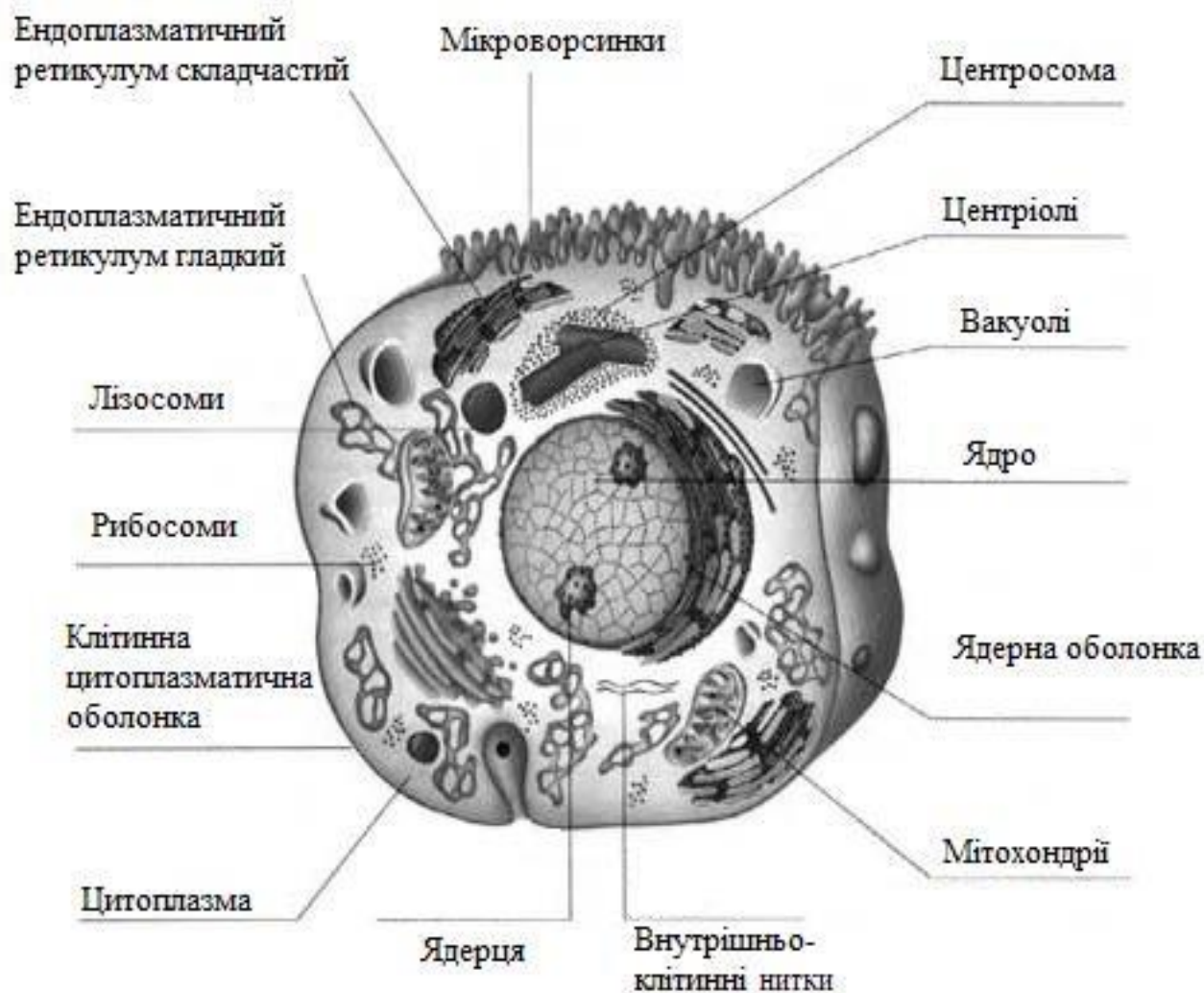


Рисунок 6 – Будова тваринної клітини

Клітинні органели – постійні складові частини клітини живого організму, що мають певну будову та виконують специфічні функції. Вони поділяються на мембранні та немембранні. Клітинні органели мають одну або дві мембрани.

Специфічними ознаками, характерними лише для рослинних клітин, є наявність у них пластид, вакуолей з клітинним соком і міцної целюлозно-пектинової оболонки.

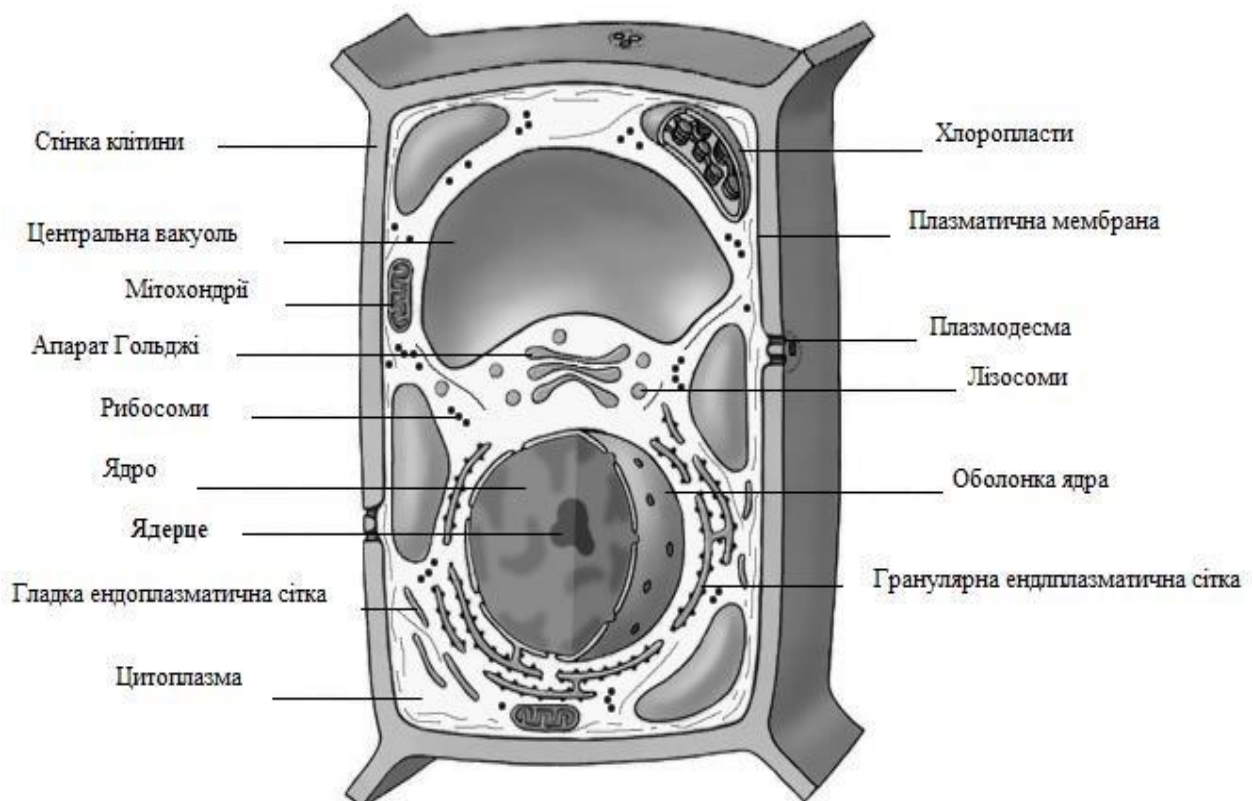


Рисунок 7 – Будова рослинної клітини

Система мембран – складний комплекс внутрішніх мембран, мембрани клітинних органел, зовнішня плазматична мембрана (рис. 8).

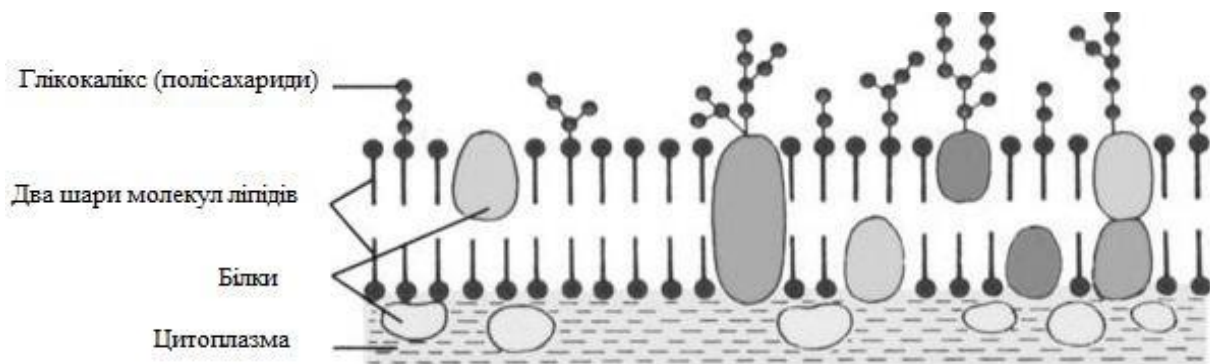


Рисунок 8 – Будова плазматичної мембрани

Мембрана – складне утворення з характерною для нього структурою та функціями. Товщина мембрани становить 6-12 нм. Мембрана має високу стійкість, міцність, гнучкість і лабільність.

Функції системи мембран:

- бере участь в утворенні компартментів клітини (ділянок з різною метаболічною активністю), у формуванні структури клітини, клітинних органел, в енергетичних процесах, у передачі нервових імпульсів.

- відіграє важливу роль у регуляції великої кількості метаболічних процесів;

- регулює транспорт молекул та іонів;

– забезпечує антигенну специфічність.

Одномембранні органели клітини – органели, поверхневий апарат яких складається з однієї мембрани.

До одномембранних органел належать ендоплазматична сітка, комплекс Гольджі, лізосоми й вакуолі.

Ендоплазматична сітка (ЕПС) або ендоплазматичний ретикулум (ЕПР) – система мембранних трубочок, каналців, їх потовщень (бульбашок), сполучених із зовнішньоцитоплазматичною мембраною та зовнішньою ядерною оболонкою (рис. 9). Мембрана ендоплазматичної сітки має численні складки, вигини й утворює одну безперервну поверхню, яка оточує замкнену порожнину. Мембрана ретикулуму безпосередньо переходить у зовнішню ядерну мембрану, утворюючи з нею єдине ціле.

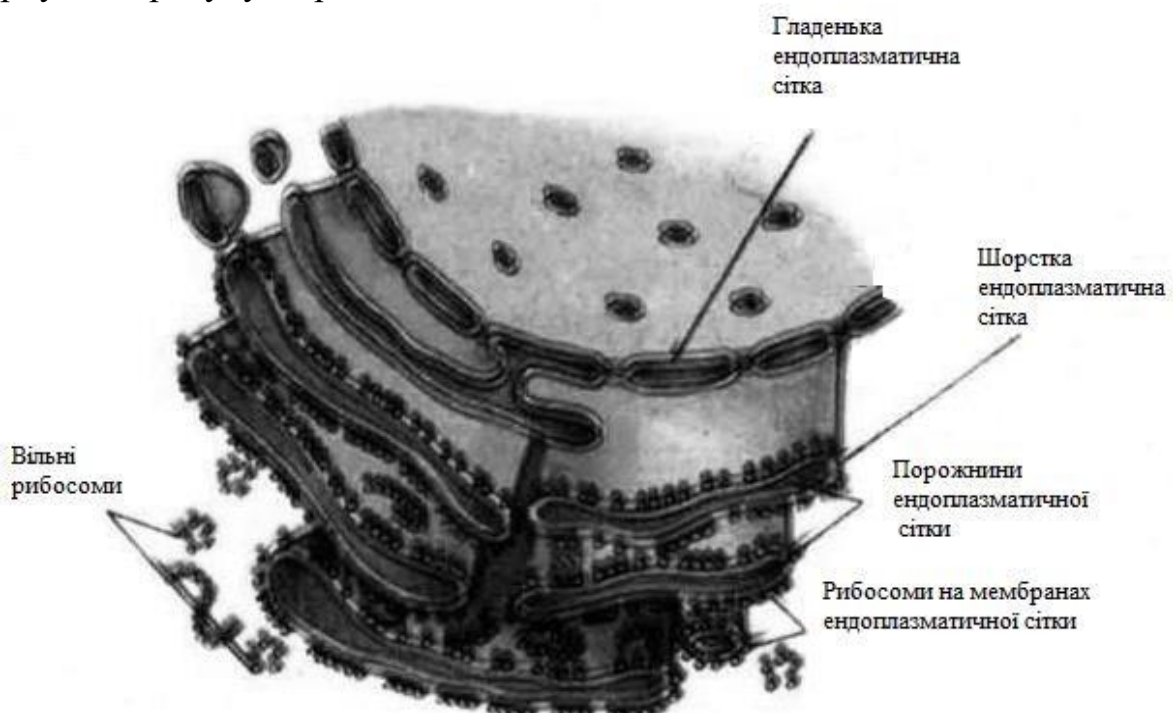


Рисунок 9 – Ендоплазматична сітка (ЕПС)

Відомі два типи ЕПС: 1) *гранулярна (шорстка)* – вкрита рибосомами, розташованими на зверненому до цитоплазми боці мембран; 2) *агранулярна (гладенька)* – частина тієї ж мембрани, але без рибосом.

Гранулярна ЕПС необхідна для транспортування макромолекул у різні ділянки клітини (лізосоми, апарат Гольджі), для синтезу структурних компонентів клітинних мембран (плазмолеми).

Агранулярна ЕПС бере участь у завершальних етапах синтезу ліпідів і деяких внутрішньоклітинних полісахаридів. Агранулярна ЕПС добре розвинена також у м'язових волокнах, оскільки здатна поглинати іони Ca^{2+} з цитозоллю, що зумовлює розслаблення м'язів під час кожного акту м'язового скорочення.

ЕПС – транспортна сітка клітини, що сполучає між собою основні її органели і, крім того, розділяє цитоплазму на компартменти, в яких відбуваються різноманітні метаболічні процеси.

Функції ендоплазматичної сітки:

- синтез білків (на шорсткій ЕПС);
- дозрівання та накопичення білків;
- синтез ліпідів, гормонів ліпідної природи, вуглеводів, обмін глікогену (на гладенькій ЕПС);
- перенесення поживних речовин у клітину завдяки транспортуванню;
- розщеплення токсинів – на мембранах гладенької ЕПС клітин печінки;
- розслаблення міофібрил при м'язовому скороченні – гладенька ЕПС м'язових клітин поглинає іони Ca^{2+} з цитоплазми.

Апарат Гольджі (комплекс Гольджі) – це група мембранних мішечків (цистерн) та система пухирців (пухирців Гольджі), локалізованих поблизу клітинного ядра (рис. 10).

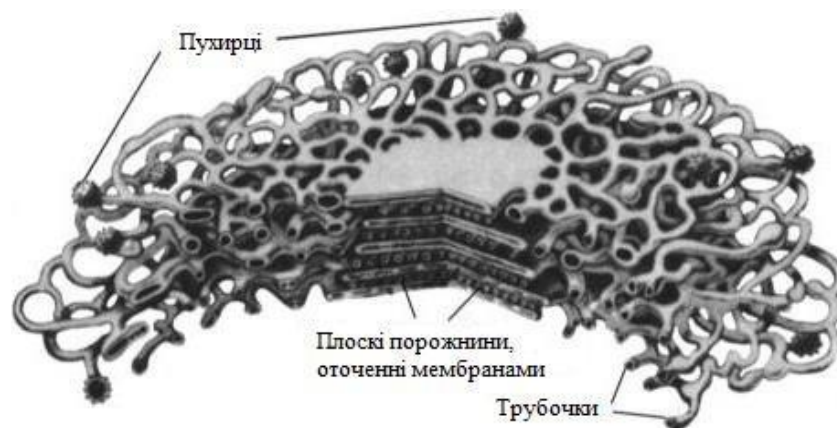


Рисунок 10 – Апарат Гольджі

Комплекс Гольджі – найбільш рухлива органела, що складається із мембранних мішечків (диктіосом – 3-12), поєднаних із ними трубочок із пухирцями на кінцях. Диктіосоми полярні – від одного із полюсів постійно надходять пухирці з ендоплазматичної сітки і містять речовини, що в ній утворилися, а від іншого полюса відходять уже дозрілі пухирці, які транспортуються в інші ділянки клітини та виводяться з неї. Кількість диктіосом у клітині варіюється від однієї до десятків, сотень залежно від типу клітини та фази її розвитку. Комплекс Гольджі міститься навколо клітинного ядра.

Функції комплексу Гольджі:

- бере участь у накопиченні та дозріванні речовин метаболізму, що синтезуються в ЕПС, їх перерозподілі у клітині й виведенні; у постачанні хімічних компонентів для побудови клітинної стінки в рослин; в утворенні первинних лізосом і вакуолей; у концентрації речовин, які надходять до клітини ззовні та повинні бути виведені з неї (наприклад, барвники).

Лізосоми – похідні комплексу Гольджі. Дрібні сферичні органели клітини, близько 1 мкм у діаметрі, обмежені щільною плазматичною мембраною. Усередині містять однорідну речовину та приблизно 40 ферментів, які розщеплюють білки, жири, вуглеводи, нуклеїнові кислоти. Всі вони – гідролітичні ферменти (кислі гідролази) із найбільшою активністю при $\text{pH} = 5$. Кисле середовище необхідне для оптимальної активності ферментів. За

нормальних умов мембрана лізосом непроникна для ферментів. В організмі під впливом ферментів відбувається травлення двох типів – внутрішньоклітинне й порожнинне (у шлунку). Лізосоми виявлені тільки у клітинах тварин і грибів. У кожній клітині є кілька десятків лізосом. Мембрана дає можливість кінцевим продуктам розщеплення макромолекул легко виходити назовні. Вони можуть потім або виділятися з клітини, або використовуватися всередині неї.

Лізосомальні ферменти синтезуються на шорсткій ЕПС і транспортуються до апарату Гольджі. Потім від апарату Гольджі відгалужуються пухирці, які й перетворюються на лізосоми. Такі первинні лізосоми зливаються з вакуолями, що утворилися під час ендоцитозу. При цьому формується вторинна лізосома. Лізосомальні ферменти перетравлюють вміст вакуолі, а неперетравлені рештки виводяться шляхом екзоцитозу. Дуже важливо, що мембрана лізосом стійка до дії цих ферментів.

Типи лізосом:

- первинні лізосоми, які утворюються за участі комплексу Гольджі;
- вторинні лізосоми, які утворюються з первинних, шляхом злиття із фагоцитозними й піноцитозними пухирцями;
- аутолізосоми беруть участь у перетравленні окремих компонентів клітини, цілих клітин або їх груп (знищення дефективних органел, мертвих клітин, хвоста у пуголовків тощо).

Функції лізосом:

- беруть участь у розщепленні білків, жирів, вуглеводів за допомогою комплексу ферментів; у перетравленні частинок, які потрапили до клітини за рахунок фагоцитозу та піноцитозу; у видаленні відмерлих органів, клітин та органел;
- лізосоми є дуже ефективним засобом знищення антигенів – хвороботворних мікроорганізмів, які фагоцитуються макрофагами. Деякі мікроорганізми уникають злиття з лізосомами (туберкульозна бацила) або виявляються стійкими до лізосомного руйнування (збудник лепри (прокази)). Інші уникають руйнування, розщеплюючи мембрану лізосом за допомогою ендотоксинів.

Вакуолі – клітинні «резервуари води», в яких містяться розчинені речовини; виконують різні фізіологічні функції. Вони утворюються із пухирчастих розширень ендоплазматичної сітки (у рослин) або із пухирців комплексу Гольджі (у тварин).

У рослинних клітинах є центральна крупна вакуоля, що становить до 90% об'єму клітини та заповнена клітинним соком. Клітинний сік – консервований водний розчин органічних і неорганічних сполук, зокрема продуктів обміну речовин (пігментів, танінів, алкалоїдів, отруйних речовин, кінцевих продуктів життєдіяльності клітини).

У тваринних клітинах – вакуолі тимчасові (травні, скоротливі, видільні); становлять до 5% об'єму. Спостерігаються рідко, переважно у найпростіших і тільки в деяких клітинах хордових тварин (у клітинах печінки).

Травні вакуолі (вторинні лізосоми) заповнені ферментами; виконують травну функцію (у клітинах найпростіших і безхребетних тварин). Травні вакуолі є в особливих клітинах вищих тварин – фагоцитах.

Скоротливі вакуолі регулюють (у клітині) осмотичний тиск, беруть участь у виведенні з неї деяких розчинених продуктів обміну, сприяють надходженню до клітини води з киснем.

Функції центральної вакуолі рослинних клітин:

- накопичувальний простір для вмісту проміжних продуктів обміну;
- місце для відокремлення кінцевих продуктів обміну;
- осмотичний простір, що створює осмотично обумовлений тургорний тиск;
- постачає воду, необхідну для фотосинтезу.

Ендоплазматична сітка, комплекс Гольджі, лізосоми, вакуолі утворюють єдину вакуолярну систему клітини.

Двомембранні органели клітини – органели, поверхневий апарат яких складається з двох мембран.

До двомембранних органел належать ядро, мітохондрії, пластиди. Між їхніми мембранами – міжмембранний простір. Просторово мембрани цих органел не пов'язані з іншими органелами.

Ядро (від лат. *nucleus* – ядро) – клітинна органела еукаріотів, що містить ядерні гени, які становлять більшу частину генетичного матеріалу. Ядро виконує дві первинні функції: керування хімічними реакціями в межах цитоплазми та збереження інформації, потрібної для поділу клітини.

У ядрі містяться білки, які регулюють зчитування генетичної інформації. Зчитування гена на ядерному рівні залучає складні процеси транскрипції, обробки первинної мРНК і експорт зрілої мРНК до цитоплазми. Ядро звичайно має розмір 8-25 мкм у діаметрі. Воно оточено подвійною мембраною, яка називається ядерною оболонкою. Крізь внутрішню та зовнішню мембрани проходять ядерні пори. Ядерна оболонка регулює та полегшує процес транспортування між ядром і цитоплазмою, виокремлюючи хімічні реакції, що відбуваються в цитоплазмі або в межах ядра.

Внутрішня частина ядра містить одне або декілька ядерець, оточених матрицею, яка називається **нуклеоплазмою**. Нуклеоплазма (каріолімфа, ядерний сік, каріоплазма) являє собою гелеподібну рідину (подібну до цитоплазми), в якій розчинено багато речовин. Ці речовини включають нуклеотидтрифосфати, сигнальні молекули, ДНК, РНК і білки.

Генетичний матеріал наявний у ядрі у вигляді хроматину або комплексу білка та ДНК. Є два види хроматину – еухроматин і гетерохроматин.

Ядерце – маленьке щільне тільце шароподібної форми діаметром 1-5 мкм. Формування ядерця відбувається на специфічній ділянці хромосоми. Найчастіше це буває на вторинних перетяжках хромосом, де розташовані гени, які кодують синтез рибосомальних РНК. Ядерце є найбільш щільною частиною ядра, яка добре забарвлюється основними барвниками.

Функції ядерець:

- синтез рРНК;
- утворення субодиниць рибосом;
- синтез ядерних білків (гістонів).

Мітохондрія (від грец. *mitos* – нитка та *khondrion* – гранула) – двомембранна органела клітини (рис. 11). Мітохондрії називають «клітинними електростанціями», оскільки вони перетворюють молекули поживних речовин на енергію у вигляді аденозинтрифосфornoї кислоти (АТФ) унаслідок процесу, відомого як окиснювальне фосфорилування. Еукариотична клітина містить близько 2 тис. мітохондрій, які займають приблизно 1/5 її повного об'єму. Мітохондрії містять мітохондріальну ДНК, незалежну від ДНК, розташованої у ядрі клітини. Мітохондрія оточена внутрішньою та зовнішньою мембранами, що складаються з подвійного шару фосфоліпідів і білків. Ці дві мембрани мають різні властивості. Зовнішня мембрана гладенька, вона не утворює ніяких складок і виростів. Внутрішня мембрана утворює численні складки – кристи, спрямовані в порожнину мітохондрії. Внутрішній простір заповнений напіврідкою речовиною – **матриксом**. Розмір мітохондрій коливається в межах має від 1 до 10 мікрон.

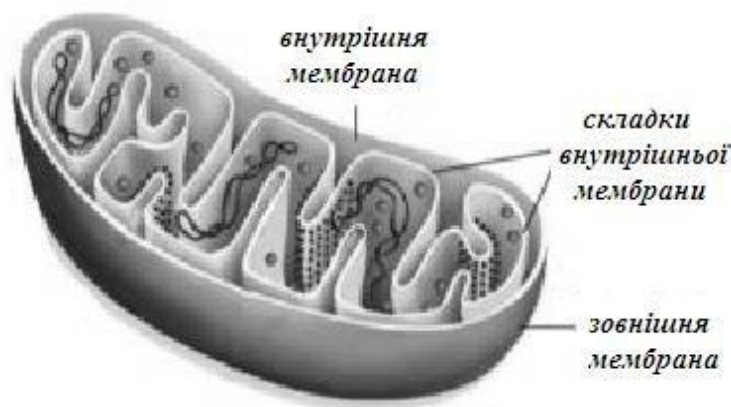


Рисунок 11 – Схема будови мітохондрії за даними електронного мікроскопа

Пластиди (від грец. *plastos* – утворений, оформлений) – основні органели рослин і водоростей. Вони покриті подвійною мембраною та мають у своєму складі багато копій кільцевої ДНК. Пластиди відповідають за фотосинтез, забарвлення частин рослин та зберігання харчових запасів. Залежно від виконуваної у клітині функції пластиди диференціюються на:

лейкопласти – незабарвлені пластиди (від грец. *leicos* – білий), що виконують функцію запасання речовин. Наприклад, у лейкопластах бульб картоплі накопичується крохмаль;

хромопласти – пластиди, забарвлені в жовтий, червоний або оранжевий колір (грец. *chromos* – забарвлений). Забарвлення хромопластів пов'язане з накопиченням у них каротиноїдів. Хромопласти визначають забарвлення осіннього листя, пелюсток квітів, коренеплодів, дозрілих плодів. Форма хромопластів різна: куляста, тригранна, колоподібна;

хлоропласти (від грец. *chloros* – зелений) – пластиди, що містять фотосинтезуючі пігменти (хлорофіли). Для них характерне зелене забарвлення та складна внутрішня структура. Мають вигляд двоопуклої, рідше плоско-опуклої лінзи діаметром 5-8 мкм. Ззовні хлоропласт оточений гладкою ліпопротеїновою

мембраною. Внутрішня оболонка утворює систему паралельних вгинів. Між ними знаходиться внутрішній простір – строма, в якій містяться тилакоїди (від грец. *tylos* – здуття і *eidos* – вигляд). Вони являють собою замкнуті сплюснені мішечки. Великі тилакоїди розташовані поодинокі, а дрібні зібрані у грані, що нагадують купку монет. На мембрані тилакоїдів є АТФ-соми – структури, до складу яких входять ферменти, що забезпечують синтез молекул АТФ.

Немембранні органели клітини – органели, поверхневий апарат яких не містить жодної мембрани.

До немембранних органел належать рибосоми, клітинний центр, мікротрубочки, мікрофіламенти, органели руху.

Рибосоми – сферичні тіลця діаметром приблизно 20 нм, які беруть участь у синтезі білків у клітині (рис. 12). Вони складаються з двох різних за розміром субодиноць – великої та малої. Кожна з них містить рРНК, білки, що взаємодіють між собою.



Рисунок 12 – Схема структури рибосоми

Субодиноці рибосом можуть роз'єднуватися після завершення синтезу білкової молекули та знову сполучатися між собою у місцях синтезу білків.

Структурні компоненти рибосом утворюються в ядрі. Кількість рибосом у клітині залежить від інтенсивності процесу біосинтезу білків. Наприклад, у хребтних тварин найбільше рибосом відзначається у клітинах печінки, червоного кісткового мозку.

До складу клітинного центру входять дві центріолі, розташовані в ділянці цитоплазми, від якої радіально розходяться мікронитки. Центріолі мають вигляд порожнього циліндра, який складається з мікротрубочок.

Центріолі беруть участь у формуванні веретена поділу. Вони розходяться до полюсів клітини, і між ними натягуються нитки з мікротрубочок. Після поділу материнської клітини в кожен з дочірніх потрапляє по одній центріолі. В період між двома поділами клітини ці структури подвоюються.

Центріолі беруть участь у формуванні мікротрубочок цитоплазми, веретена поділу клітини, джгутиків і війок.

До органел руху клітини належать псевдоподії, або несправжні ніжки, джгутики, війки.

Псевдоподії – непостійні вирости цитоплазми клітин деяких одноклітинних (амеб) або багатоклітинних тварин (лейкоцити). Структура псевдоподій та їх форма можуть бути різноманітними. Вони утворюються завдяки руху цитоплазми, яка перетікає в певну ділянку клітини, формуючи виріст. Псевдоподії не лише забезпечують пересування клітини, а й захоплення твердих часточок (процес фагоцитозу).

Джгутики, війки мають вигляд тоненьких виростів цитоплазми діаметром приблизно 0,25 мкм. Вони вкриті плазматичною мембраною. Всередині цих органел розташована складна система з мікротрубочок. Джгутики й війки є у деяких одноклітинних організмів (евглена, інфузорії, хламідомонада), деяких типів клітин багатоклітинних (вищі спорові рослини, епітелій дихальних шляхів ссавців, сперматозоїди тварин тощо).

Рухи війок у цілому нагадують роботу весел і, як правило, скоординовані (інфузорії). Для джгутиків характерний гвинтоподібний або хвилеподібний рух. Джгутики, війки рухаються завдяки енергії, що вивільняється під час розщеплення молекул АТФ. Ці органели забезпечують пересування клітин, надходження часточок їжі до них (рух джгутиків травних клітин гідри). Вони можуть також виконувати чутливу (у війчастих червів) і захисну (війки епітелію носової порожнини) функції.

? Питання для самоконтролю

1. Назвіть та охарактеризуйте види біохімії.
2. Розкрийте історію розвитку біохімії.
3. Охарактеризуйте особливості будови тваринної та рослинної клітин.
4. Охарактеризуйте особливості будови та функції органел тваринної клітини.

Під час самостійного вивчення теми № 1 необхідно ознайомитися з історією розвитку біохімії (проаналізувати чотири основні етапи), основними відкриттями в біохімії, усвідомити їх значення; розглянути особливості будови одномембранних, двомембранних і немембранних органел та засвоїти їх основні функції.

Завдання для домашнього виконання

1. Заповніть таблицю 1:

Таблиця 1

Основні органели тваринної клітини

Назва органели	Особливості будови органели	Функції органели
1	2	3

АМІНОКИСЛОТИ ТА БІЛКИ

«У всіх живих організмах міститься речовина, яка, безсумнівно, є найбільш важливою з усіх відомих речовин живої природи і без якої життя на нашій планеті було б неможливим. Цю речовину я назвав протеїном».

Г. Мульдер



Амінокислоти – речовини, які є мономерами білків. Їх можна розглядати як похідні карбонових кислот; молекула яких містить карбоксильну групу (-COOH) та аміногрупу (-NH₂) біля α-атома Карбону (рис. 13).

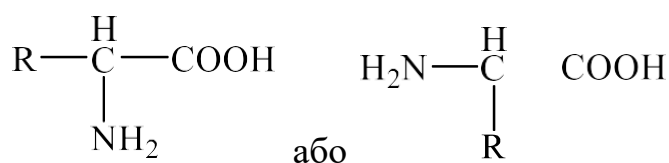


Рисунок 13 – Загальна формула структури α-амінокислот, де R – радикал (-H, -CH₃, -C₆H₅; структури гліцину, аланіну, фенілаланіну відповідно)

У природі налічується близько 150 амінокислот, серед них 20 (22) α-амінокислот входять до складу білків (гліцин, аланін, валін, лейцин, ізолейцин, серин, треонін, цистеїн, цистин, метіонін, аспарагінова кислота, глутамінова кислота, аспарагін, глутамін, лізин, аргінін, фенілаланін, тирозин, триптофан, гістидин, пролін, оксипролін). Амінокислоти відіграють важливу роль в обміні нітрогеновмісних сполук у живих організмах. З них утворюються необхідні для життєдіяльності речовини: білки, пептиди, ферменти, гормони тощо.

Види класифікації амінокислот:

1. За кількістю аміногруп і карбоксильних груп у структурі амінокислот:

1.1 моноаміномонокарбонові амінокислоти (гліцин, аланін, валін, лейцин, ізолейцин);

1.2 моноамінодикарбонові амінокислоти (аспарагінова кислота, глутамінова кислота);

1.3 діаміномонокарбонові амінокислоти (лізин, аргінін);

1.4 діамінодикарбонові амінокислоти.

2. За особливостями будови радикала (R) у структурі амінокислот (хімічна класифікація):

2.1 ациклічні (гліцин, аланін, валін, лейцин, ізолейцин, серин, треонін, цистеїн, цистин, метіонін, аспарагінова кислота, глутамінова кислота, аспарагін, глутамін, лізин, аргінін);

2.2 циклічні

2.2.1 ароматичні (карбоциклічні) (фенілаланін, тирозин);

2.2.2 гетероциклічні

2.2.2.1 амінокислоти з первинною -NH_2 групою в бічному ланцюзі (триптофан, гістидин);

2.2.2.2 імінокислоти (пролін, оксипролін).

3. За властивостями радикала (R) у структурі амінокислот:

3.1 на основі полярності радикала (R)

3.1.1 полярні (гідрофільні) амінокислоти: іоногенні (тирозин, цистеїн, аспарагінова кислота, глутамінова кислота, лізин, аргінін, гістидин); неіоногенні (серин, треонін, аспарагін, глутамін);

3.1.2 неполярні (гідрофобні) амінокислоти (гліцин, аланін, валін, лейцин, ізолейцин, метіонін, фенілаланін, триптофан, пролін);

3.2 на основі кислотності радикала (R)

3.2.1 кислі (негативно заряджені амінокислоти): аспарагінова кислота, глутамінова кислота;

3.2.2 основні (позитивно заряджені амінокислоти): аргінін, лізин, гістидин.

4. За можливістю синтезу та відсутністю синтезу в організмі людини (біологічна класифікація):

4.1 **замінні** – амінокислоти, які можуть синтезуватися в організмі тварин та людини з інших амінокислот або небілкових компонентів (гліцин, аланін, серин, цистеїн, аспарагін, глутамін, аспарагінова кислота, глутамінова кислота, тирозин, пролін);

4.2 **незамінні («есенціальні»)** – амінокислоти, які не синтезуються в організмі людини та повинні обов'язково надходити з їжею (валін, лейцин, ізолейцин, метіонін, треонін, лізин, фенілаланін, триптофан).

Аргінін, гістидин належать до **частково незамінних**.

Амінокислоти – це безбарвні нелеткі кристалічні речовини з високими температурами плавлення ($220\text{--}315\text{ }^{\circ}\text{C}$), розчинні у воді, оптично активні (крім гліцину, який не має асиметричного атома Карбону), належать до L-ряду. L-Амінокислоти мають солодкий смак, D-амінокислоти не мають смаку або гіркі. Амінокислоти D-ряду – складові елементи деяких антибіотиків і білків оболонок мікроорганізмів (рис. 14).

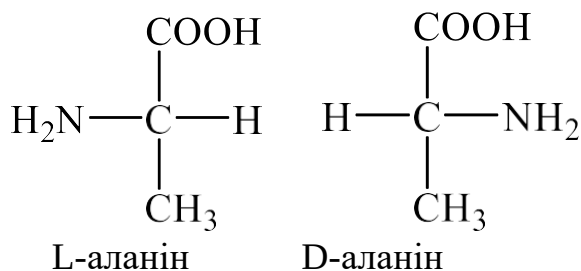


Рисунок 14 – Структура L-аланіну, D-аланіну

Амінокислоти здатні утворювати біполярний іон – цвітер-іон (рис. 15).

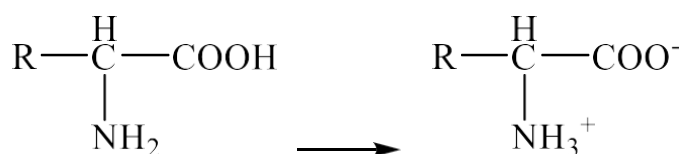


Рисунок 15 – Схема утворення біполярного іона (цвітер-іона) амінокислоти

Залежно від рН середовища вони можуть мати кислі чи основні властивості; мають сумарний нульовий, позитивний або негативний заряд.

Амінокислоти – амфотерні сполуки, які містять дві протилежні за властивостями функціональні групи; амінокислоти можуть утворювати різні солі, реагуючи як з основами, так і з кислотами (рис. 16).

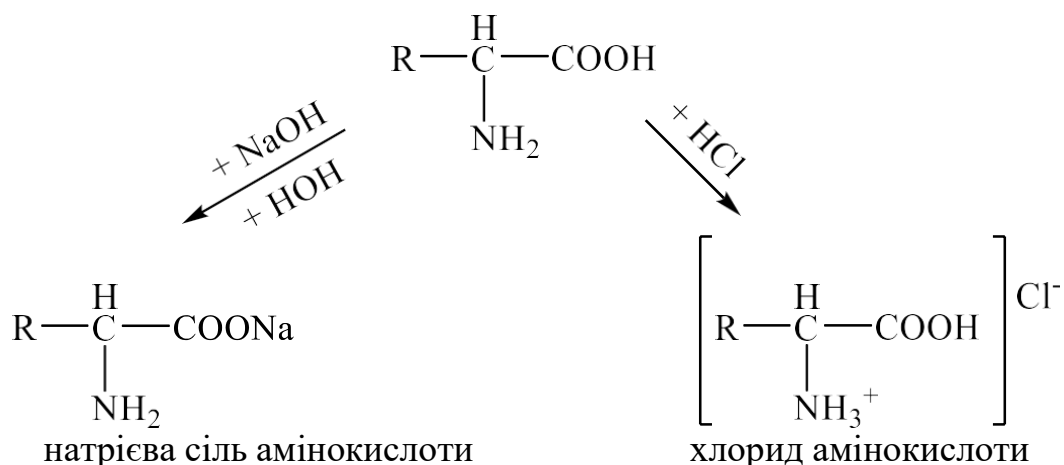


Рисунок 16 – Схема утворення натрієвої солі амінокислоти, хлориду амінокислоти

Амфотерні властивості амінокислот використовуються при їх розподілі та ідентифікації за методом іонообмінної хроматографії та електрофорезу.

Значення рН, при якому сумарний заряд амінокислоти дорівнює нулю та амінокислоти не здатні рухатися в електричному полі ні до анода, ні до катода, називається **ізоелектричною точкою (ІЕТ)** та позначається рІ.

Ізоелектричну точку амінокислоти (рІ) можна знайти із співвідношення: якщо ми знаємо значення рК₂ зарядженої амінокислоти (звичайно в межах від 1 до 3) та значення рК₁ біполярного іона (значення знаходиться в межах 9-10):

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

Наприклад, у глутамінової кислоти рІ = 3,2; у аланіну рІ = 6,02; у валіну рІ = 5,95; у лізину рІ = 9,8.

В інтервалі рН від 4 до 9 майже всі амінокислоти існують переважно у формі цвітер-іонів з протонованою аміногрупою та дисоційованою карбоксильною групою.

Ізоелектрична точка білка залежить від кількості та природи заряджених груп у молекулі. Білкова молекула заряджена позитивно, якщо рН середовища нижче від рІ, та негативно, якщо рН середовища вище від рІ.

Білки – високомолекулярні полімерні природні сполуки; мономерами яких є α-амінокислоти. Білки синтезуються на рибосомах з α-амінокислот і транспортних РНК (тРНК). Цей комплекс називається «аміноацил-тРНК».

Існують 4 рівні організації білка (структури білка):

Первинна структура білка – лінійна послідовність залишків α-амінокислот у ланцюзі, зв'язаних між собою пептидним (амідним ковалентним) зв'язком (рис. 17), утвореним при взаємодії карбоксильної групи однієї α-амінокислоти й аміногрупи іншої α-амінокислоти (лінійний поліпептидний ланцюг).

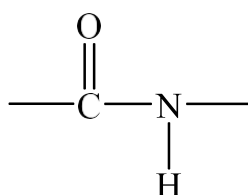


Рисунок 17 – Пептидний зв'язок (амідний ковалентний зв'язок)

Залежно від числа з'єднаних пептидним зв'язком α-амінокислот розрізняють дипептиди, трипептиди і т.д. та поліпептиди. На одному кінці поліпептидного ланцюга є вільна аміногрупа (N-кінець), а на іншому – вільна карбоксильна група (C-кінець) (рис. 18).

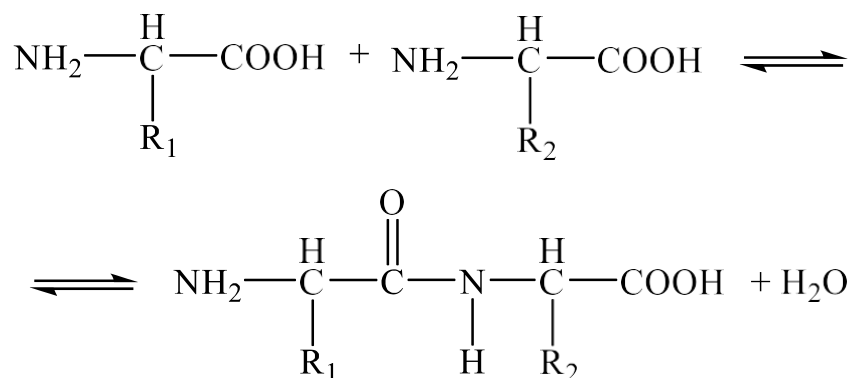


Рисунок 18 – Схема утворення дипептиду на прикладі 2-х амінокислот

Приклади білків, які мають первинну структуру: глутатіон, інсулін, окситоцин, вазопресин, рибонуклеаза тощо.

Вторинна структура білка – впорядкована просторова конформація поліпептидного ланцюга. Вона утворюється за рахунок водневих зв'язків між пептидними групами в одному поліпептидному ланцюзі або між сусідніми

поліпептидними ланцюгами. При цьому конформація може набувати вигляду α -спіральних, β -складчастих і нерегулярних (змішаних) структур (рис. 19 а, б).

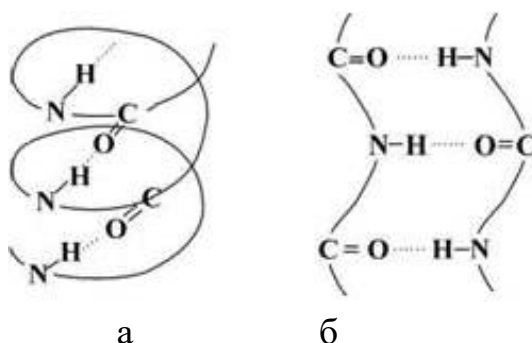


Рисунок 19 – Схематичне зображення вторинної структури білка: а – α -спіраль (правозакручена), б – β -складчаста структура

У природних білках виявлено тільки правозакручені α -спіралі.

Приклади білків, які мають вторинну структуру: фіброїн (білок шовку), β -кератин (білок сполучної тканини), хімотрипсин тощо.

Третинна структура білка – просторове розташування вторинних структур білка, або форма упаковки білкової молекули у просторі (рис. 20). Третинна структура стабілізується завдяки взаємодіям між залишками амінокислот.

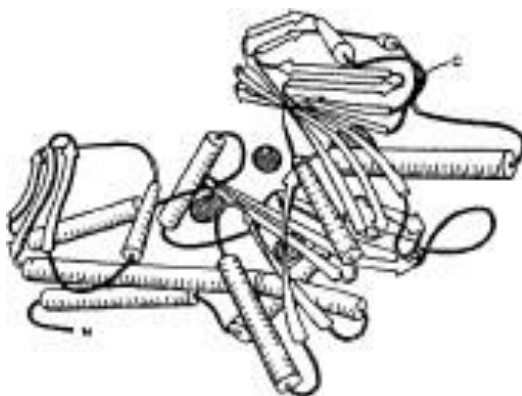


Рисунок 22 – Схематичне зображення третинної структури білка (ферменту гексакінази)

У формуванні просторової структури білків, окрім ковалентних зв'язків (пептидних і дисульфідних), основну роль відіграють нековалентні зв'язки: водневі, іонні, вандерваальсові сили, гідрофобна взаємодія тощо.

Для всіх білків із третинною структурою характерна «мозаїчна будова поверхні білка». Поверхня білка в основному гідрофільна, але містить невеликі неполярні ділянки. Саме через мозаїчну структуру поверхні білка зв'язування ферменту з його субстратом або коферментом завжди відбувається за допомогою невеликої гідрофобної ділянки на поверхні білка. Ця ділянка негідратована та створює умови для виникнення гідрофобної взаємодії.

За формою третинної структури білки поділяють на **глобулярні** (альбуміни, глобуліни, гістони) та **фібрилярні** (колаген, еластин, α -кератин). Глобулярні білки мають еліпсоїдну форму, а фібрилярні – видовжену (палички, нитки). Більшість білків у нативному стані має компактну структуру.

Кератини – білки волосся та шерсті, які за третинною структурою належать до фібрилярних білків, мають фібрилярну конформацію четвертинної структури.

Для вивчення третинної структури білка найчастіше застосовують метод рентгеноструктурного аналізу та електронної мікроскопії.

Приклади білків, які мають третинну структуру: гексокіназа, α -кератин опорних тканин тощо.

Четвертинна структура білка – спосіб об'єднання та взаємного розташування у просторі кількох (найчастіше чотирьох) молекул білка або поліпептидних ланцюгів (рис. 21). Четвертинна структура є вищим рівнем організації.

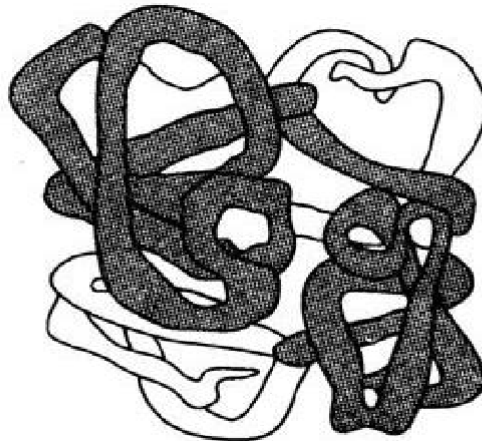


Рисунок 21 – Схематичне зображення четвертинної структури білка

Четвертинна структура стабілізується та підтримується в нативному стані в основному за рахунок слабких нековалентних зв'язків (іонних і водневих) та гідрофобних взаємодій, які виникають між різними функціональними групами, розташованими на поверхні субодиниць.

Білки, які мають четвертинну структуру, називаються **олігомерними**.

Кожний окремий поліпептидний ланцюг у складі олігомерного білка називається **протомером** (або **субодиницею**). Він може бути представлений як одним протомером, так і декількома. Наприклад, у білка із чотирьох однакових субодиниць (A₄) протомером є мономер А, а білок із двох типів субодиниць (A₂B₂) має 2 протомери складу АВ.

Олігомерні білки найчастіше складаються з парної кількості протомерів – від 2 до 4 (димери, тетрамери), рідше від 6 до 8, 10, 12 і більше з молекулярною масою в межах від декількох тисяч до 100000 дальтон.

Дальтон – одиниця вимірювання маси атомів, молекул, а також вірусів, клітин та їх структур (хромосом, рибосом, мітохондрій тощо), що дорівнює 1/12 маси атома Карбону (^{12}C), або $1,661 \cdot 10^{-24}$ м.

Приклад білка, який має четвертинну структуру: гемоглобін.

Гемоглобін – білок, який складається із чотирьох субодиниць. Кожна із субодиниць – глобулярний білок.

4 структури білка наглядно представлено на рис. 22 а, б, в, г:

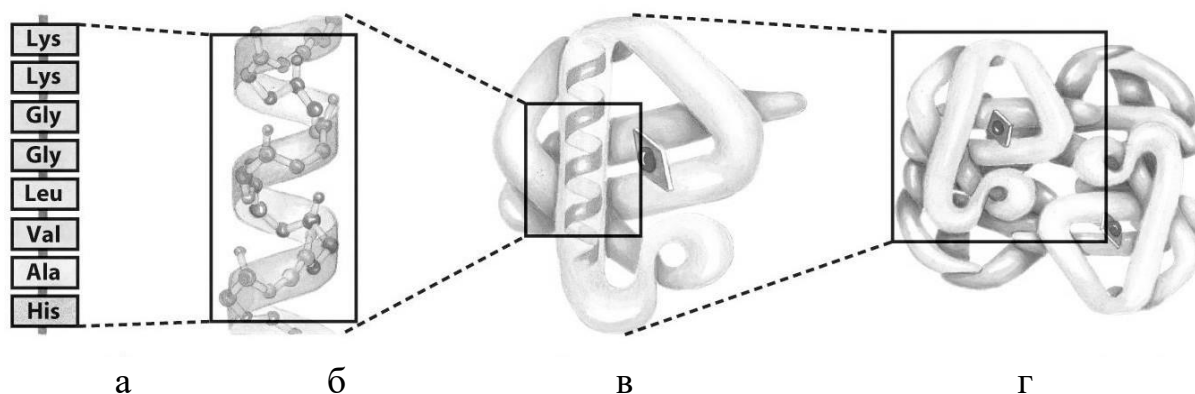


Рисунок 22 – Структури білка: а – первинна (залишки α -амінокислот); б – вторинна (α -спіраль); в – третинна (глобула); г – четвертинна (протомери або субодиниці)

Класифікація білків

Залежно від особливостей будови розрізняють: 1) **прості білки (протеїни)**, які містять тільки залишки α -амінокислот; 2) **складні білки (протеїди)**, які містять, окрім залишків α -амінокислот, ще і простетичну групу.

До простих білків (протеїнів) можна віднести: альбуміни, глобуліни, гістони, протаміни, колаген, еластин, кератин.

До складних білків (протеїдів) можна віднести: глікопротеїди (імуноглобулін G); ліпопротеїди (ліпопротеїд крові), фосфопротеїди (казеїн молока), нуклеопротеїди, гемопротеїди (гемоглобін), металопротеїди (феритин, алкогольдегідрогеназа, кальмодулін, динітрогеназа), флавопротеїди (сукцинатдегідрогеназа).

Функції білків

Функції білків:

1) **енергетична** – при розкладанні білка виділяється енергія (1 г білка утворює 17 кДж);

2) **каталітична** – усі біологічні каталізатори – ферменти (глобулярні білки); вони визначають швидкість хімічних реакцій у біологічних системах. Наприклад, рибонуклеаза, трипсин;

3) **запасна** – резервні білки виконують функцію живлення, є джерелом розвитку плоду. Наприклад, білок молока (казеїн), гліадин (пшениця), яєчний овальбумін (яйце), феритин;

4) **захисна** – функцію захисту в організмі виконує імунна система, яка забезпечує синтез специфічних захисних білків-антитіл у відповідь на потрапляння в організм бактерій, токсинів або вірусів. Наприклад, антитіла, фібриноген, тромбін, ботулінічний токсин, дифтерійний токсин, зміїна отрута, рицин;

5) **скорочувальна** – у акті м'язового скорочення та розслаблення беруть участь білкові речовини. Наприклад, актин, міозин, тубулін, динеїн;

6) **структурна** – найважливішу роль відіграє колаген у сполучній тканині, кератин – у волоссі, нігтях, шкірі, еластин – у судинній стінці та ін. Наприклад, кератин, фіброїн, колаген, еластин, протеоглікани, мукопротеїни;

7) **гормональна** – обмін речовин в організмі регулюється різноманітними механізмами. У цій регуляції важливе значення мають гормони (білкової чи пептидної природи), які виробляються залозами внутрішньої секреції. Наприклад, інсулін, гормон росту, кортикотропін;

8) **сигнальна** – через білки передаються сигнали та спрямовуються у внутрішньоклітинні центри. При цьому подразники (хімічні чи механічні) обумовлюють певні зміни у структурі білків, що є своєрідною реакцією на зовнішнє подразнення (принцип діяльності нервової системи). Наприклад, родопсин;

9) **транспортна** – дихальна функція крові, зокрема перенесення кисню, здійснюється молекулами гемоглобіну. У транспортуванні ліпідів бере участь альбумін сироватки крові. Наприклад, гемоглобін, сироватковий альбумін, міоглобін, β_1 -ліпопротеїн.

Якісні (кольорові) реакції

Наявність білка в досліджуваному матеріалі можна виявити за допомогою кольорових реакцій. Ці реакції можна розподілити на дві групи: 1) *загальні*, що обумовлені наявністю пептидного зв'язку, вільних α -амінних груп; 2) *специфічні*, що обумовлені наявністю у білках окремих амінокислот, здатних давати кольорові реакції (див. лабораторну роботу №1).

Індивідуальні білки розрізняються за фізико-хімічними властивостями, такими як: форма молекули; молекулярна маса; сумарний заряд, величина якого залежить від співвідношення аніонних і катіонних груп амінокислот; співвідношення полярних і неполярних радикалів амінокислот на поверхні молекул; ступінь стійкості до впливу різних агентів, що викликають денатурацію.

Розчинність білків залежить: від указаних вище властивостей білків; від складу середовища, в якому білок розчиняється (значення рН, сольового складу, температури, наявності інших органічних речовин, здатних взаємодіяти з білком).

Реакції осадження білків

Висолювання білків – це зворотний процес коагуляції та осадження білків іонами солей лужних і лужноземельних металів. Використовують NaCl, Na₂SO₄, (NH₄)₂SO₄, CaCl₂, MgSO₄. Різні білки випадають в осад при різних

концентрації солі в розчині. Поступово підвищуючи концентрацію солі, можна отримати низку окремих фракцій із вмістом білка. Білки з найменшою розчинністю випадають в осад при невеликій концентрації солей.

У водному розчині білкові молекули заряджені та гідратовані, що забезпечує стійкість білкових розчинів. При високій концентрації солей, іони яких також гідратовані, відбувається руйнування водних оболонок білкових молекул у результаті конкуренції за воду іонів солей. Окрім того, іони солей з протилежним, ніж у білка, зарядом адсорбуються на поверхні білкової молекули, внаслідок чого частинки білка стають електронейтральними, що знижує їх стійкість у розчині. При розбавленні водою білкових розчинів, які коагулювали під впливом солей лужних металів, отримані за допомогою висолювання, можуть бути знову розчинені після зменшення концентрації солей. Отже, висолювання білків є **оборотним процесом**.

Метод висолювання широко застосовується для фракціонування суміші білків, коли треба відокремити один білок від іншого (наприклад, альбуміни від глобулінів). Грубодисперсні білки – глобуліни – висолюються значно легше, ніж альбуміни, напівнасиченим розчином амоній сульфату, тоді як альбуміни – насиченим розчином амоній сульфату.

Денатурація білків – це незворотний процес коагуляції та осадження білків. Найчастіше всього використовують ацетон, етанол, хлороформ. Денатурація супроводжується руйнуванням четвертинної, третинної, а іноді і вторинної структури білкової молекули, що виникає при руйнуванні дисульфідних і слабких типів зв'язків, які беруть участь в утворенні цих структур. Первинна структура при цьому зберігається, оскільки вона сформована міцними ковалентними зв'язками. Руйнування первинної структури може відбутися тільки в результаті гідролізу білкової молекули тривалим кип'ятінням у розчині кислоти чи лугу.

Денатурацію білків зумовлюють фізичні та хімічні чинники:.

Фізичні чинники:

1) високі температури: для різних білків характерна різна чутливість до теплового впливу. Частина білків піддається денатурації вже при 40-50 °С. Такі білки називають **термолабільними**. Інші білки денатують при набагато вищих температурах, вони є **термостабільними**;

2) механічний вплив (вібрація);

3) рентгенівське, радіоактивне опромінення;

4) ультразвук;

5) ультрафіолетове опромінення.

Хімічні чинники:

1) концентровані кислоти: трихлороцтова кислота, нітратна кислота, хлоридна кислота; луги.

2) органічні розчинники (ацетон, етанол, хлороформ);

3) рослинні алкалоїди;

4) сечовина у високих концентраціях;

5) солі важких металів (купрум сульфат, плюмбум ацетат).

Величина заряду білків – чинник, що підвищує розчинність білків. При втраті заряду в ізоелектричній точці білки легше агрегують і випадають в осад, що особливо характерно для денатурованих білків, у яких на поверхні з'являються гідрофобні радикали амінокислот.

На поверхні білкової молекули є як позитивно, так і негативно заряджені радикали амінокислот. Кількість цих груп, а також сумарний заряд білків залежить від рН середовища, тобто зі співвідношення концентрації H^+ та OH^- груп.

У кислому середовищі збільшення концентрації H^+ призводить до пригнічення дисоціації карбоксильних груп $\text{COO}^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{COOH}$ і зменшення негативного заряду білків.

У лужному середовищі зв'язування надлишку OH^- із протонами, які утворюються при дисоціації аміногруп $-\text{NH}_3^+ + \text{OH}^- \rightarrow \text{NH}_2 + \text{H}_2\text{O}$

з утворенням води, обумовлює зменшення позитивного заряду білків.

Білки кислого характеру (альбуміни, глобуліни) у водному розчині несуть негативний заряд; **білки основного характеру** (протаміни, гістони) – позитивний заряд. Наявність заряду на макромолекулі білка стабілізує його в розчині, тому перешкоджає злипанню білкових часток та випаданню їх в осад.

Для збереження нативності білкової молекули її заряд можна усунути тільки одним способом: наблизити рН середовища до ізоелектричної точки білка (ІЕТ), яка для більшості білків організму людини знаходиться у слабкокислому середовищі.

Ізоелектрична точка (ІЕТ) – значення рН, при якому білок має сумарний нульовий заряд, тобто є електронейтральним. В ІЕТ кількість позитивно та негативно заряджених груп однакова, тобто білок знаходиться в ізоелектричному стані.

ВИДІЛЕННЯ, ОЧИСТКА, РОЗДІЛЕННЯ АМІНОКИСЛОТ І БІЛКІВ

«Світ найбільш складного – життя».

М.М. Семенов



Для дослідження фізико-хімічних, біологічних властивостей білків, вивчення їх хімічного складу, структури необхідною умовою є отримання білків у хімічно чистому, гомогенному стані.

Послідовність операцій із виділення білків:

- 1) подрібнення біологічного матеріалу (гомогенізація);
- 2) виділення білків з гомогенату (перехід їх у розчинений стан);

3) виділення досліджуваного білка із суміші інших (очистка та розділення індивідуального білка).

Операції із виділення білків проводять у «м'яких» умовах при низькій температурі (не вище 4 °С). При підвищенні температури білки піддаються денатурації (втрачають нативні властивості, зокрема розчинність і біологічну активність).

Виділення індивідуальних білків є ступінчастим процесом, тому на перших етапах очистки фракції містять безліч домішок. На кожному етапі поділу має утворюватися фракція, яка містить більшу кількість необхідної речовини, ніж попередня. Такий процес називається **фракціонуванням**.

На кожній стадії розділення білок повинен перебувати або у вигляді розчину, або у вигляді осаду.

Для осадження за допомогою дегідратації необхідно знизити розчинність білка. Вона залежить від здатності білків до гідратації. У глобулярних водорозчинних білках високий рівень гідратації забезпечується розміщенням гідрофільних груп на поверхні. Додавання органічних розчинників знижує ступінь гідратації та зумовлює осадження білка. Як розчинник використовують ацетон. Осаджують білки також за допомогою солей (наприклад, амоній сульфату). Цей метод ґрунтується на тому, що при підвищенні концентрації солі в розчині відбувається стиснення іонних атмосфер, утворених противоіонами білка, що сприяє зближенню їх до критичної відстані. Це зумовлює злипання білкових частинок та їх випадання в осад.

Діаліз – метод очистки білків від низькомолекулярних домішок (солей). Він ґрунтується на використанні мембран, проникних для води та низькомолекулярних речовин (солей), але непроникних для білків. Найчастіше з цією метою використовують плівки з целофану – нітрат целюлозу (рис. 23 а).

Розчин білка поміщають у мішок з целофану та занурюють у посуд з водою (рис. 23 б). Безперервний струм води пропускають крізь посуд з білком. Білок залишається всередині целофанового мішечка, а домішки – в буферному розчині.

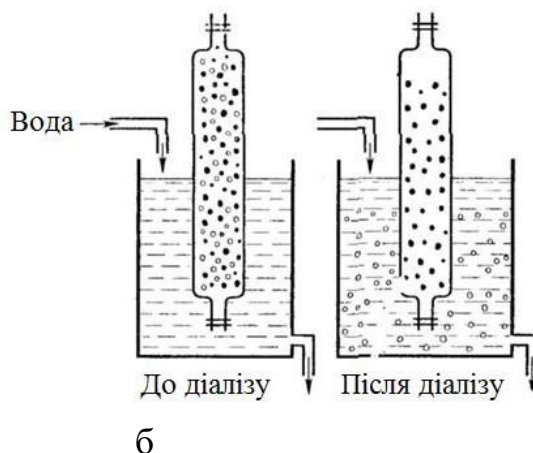
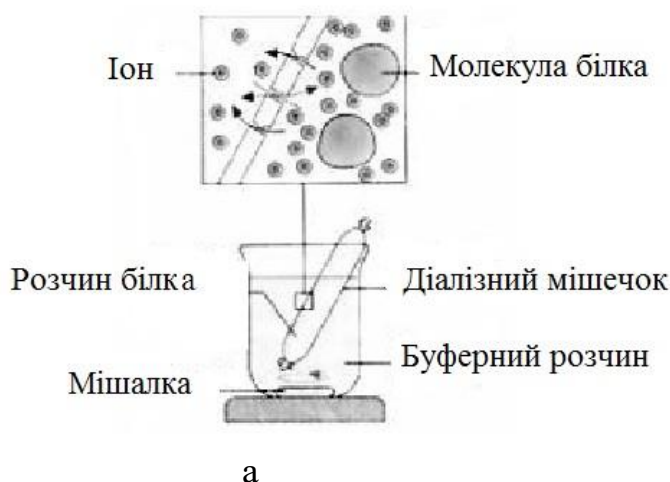


Рисунок 23 – Діаліз: а – схема діалізу; б – особливості процесу очистки розчину білка до і після діалізу

Гель-фільтрація – метод молекулярного просіювання молекул білка крізь гранули сефадексу, що збільшуються в об'ємі (тримірні полісахаридні ланцюги декстрану, які мають пори).

Швидкість проходження білків крізь колонку, заповнену сефадексом, залежатиме від їх молекулярної маси (рис. 24 а, б, в).

Через колонку, заповнену гранулами сефадексу, пропускають суміш високомолекулярних і низькомолекулярних білків (рис. 24 а).

Низькомолекулярні білки проникають у гранули сефадексу, висомолекулярні проходять між гранулами. Крупні молекули білка не проникають усередину гранул (рис. 24 б).

На останньому етапі відбувається розділення білків на фракції (рис. 24 в).

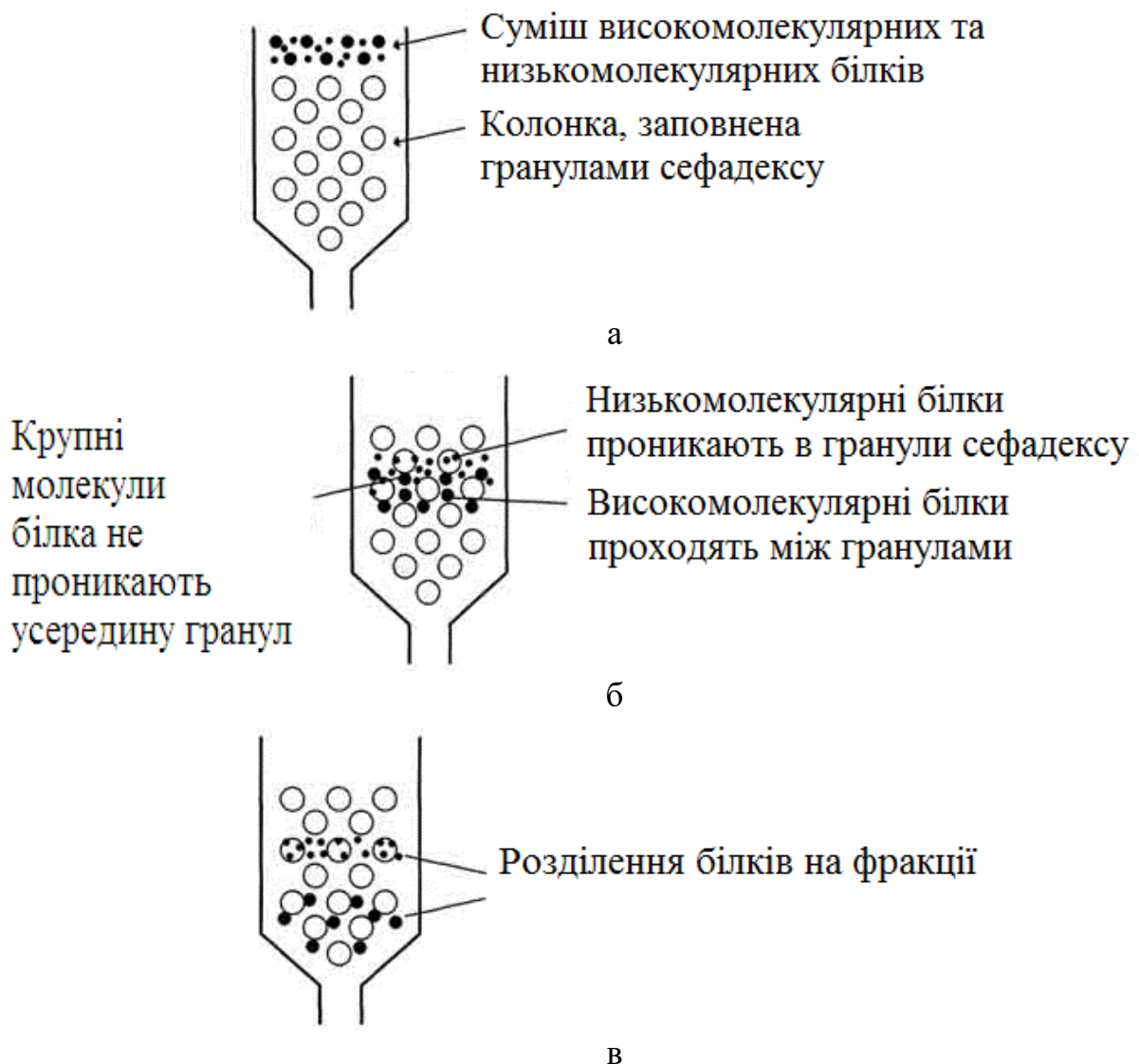


Рисунок 24 – Гель-фільтрація на колонці із сефадексом: а – I етап; б – II етап; в – III етап

Центрифугування – метод розділення білків за молекулярною масою фракцій білків під час центрифугування (рис. 25).

При обертанні ротора центрифуги швидкість зсідання білків пропорційна їх молекулярній масі: більш важкі білки утворюють фракції на дні пробірки, більш легкі – на поверхні.

При центрифугуванні осад білка, який випав, можна виділити фільтруванням.

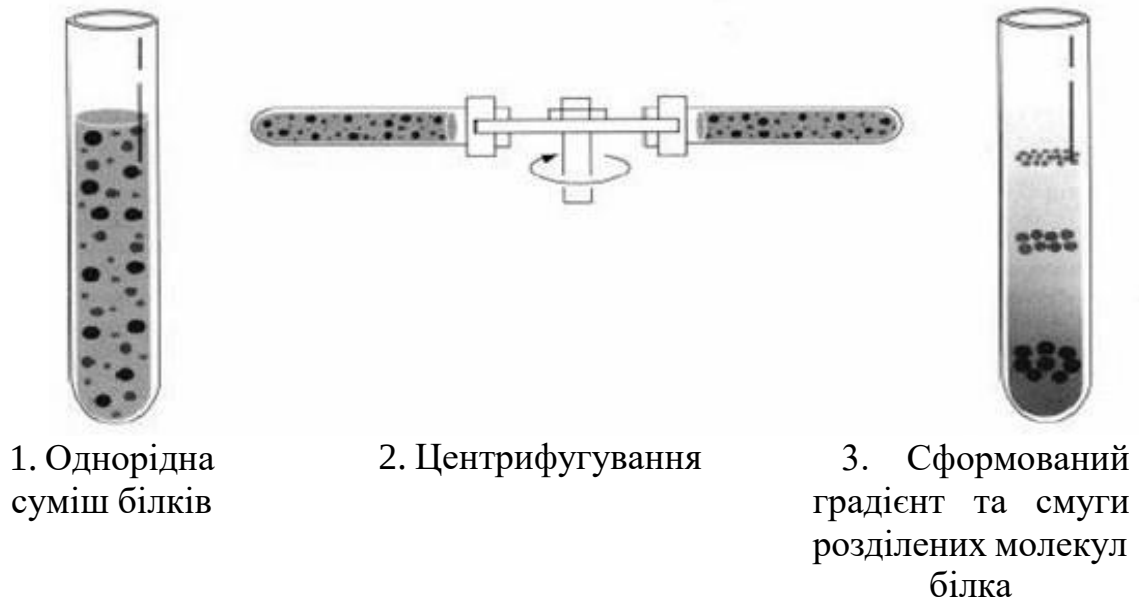


Рисунок 25 – Центрифугування суміші білків

Електрофорез – метод, в основі якого лежить різниця у швидкості руху білків в електричному полі. Електрофорез білків проводять на папері (швидкість руху білків пропорційна тільки їх заряду) або в поліакриламідному гелі, що має пори певного розміру (швидкість руху білків пропорційна їх заряду та молекулярній масі) (рис. 26).

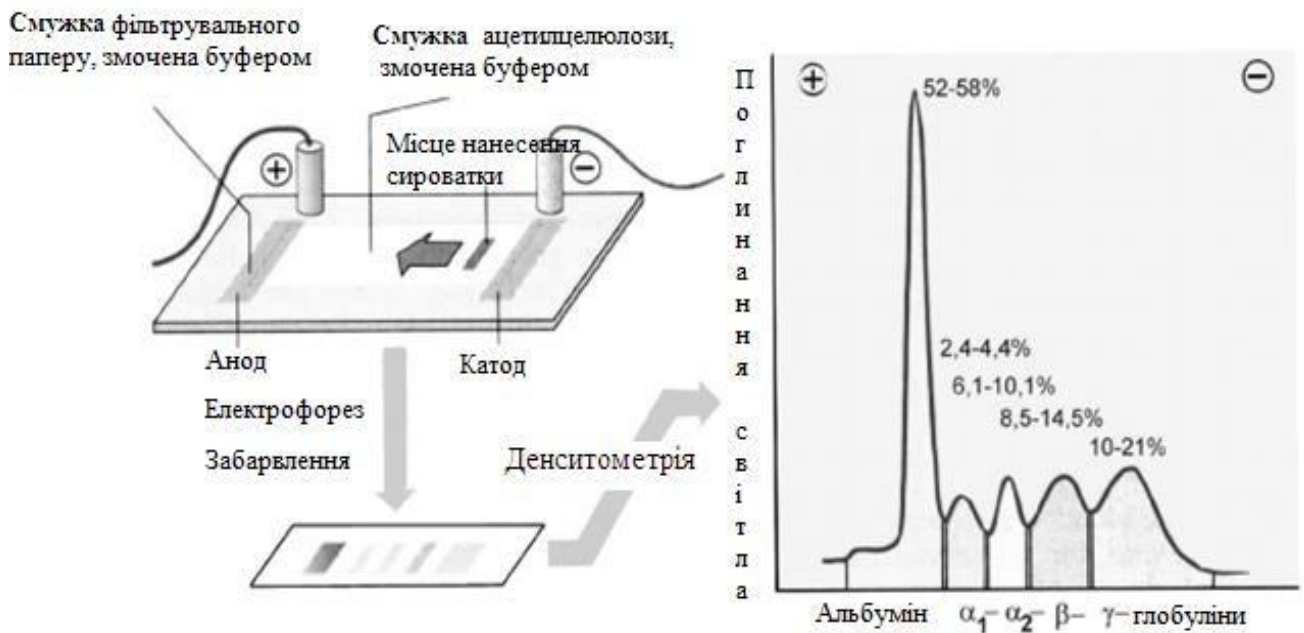


Рисунок 26 – Електрофорез білків сироватки крові

Тонкошарова хроматографія – метод розділення суміші білків або суміші амінокислот на хроматографічному папері; метод ідентифікації амінокислот, які знаходяться в розчині.

Суміш амінокислот наносять на смужку хроматографічного паперу (нерухома фаза), кінець якого занурюють у буферну систему – суміш бутанол : оцтова кислота : вода – 4 : 1 : 5 (рухома фаза) (рис. 27, а). Буферна система піднімається вздовж хроматографічного паперу від лінії старту до лінії фінішу; розчиняє нанесені на хроматографічний папір амінокислоти та захоплює їх за собою.

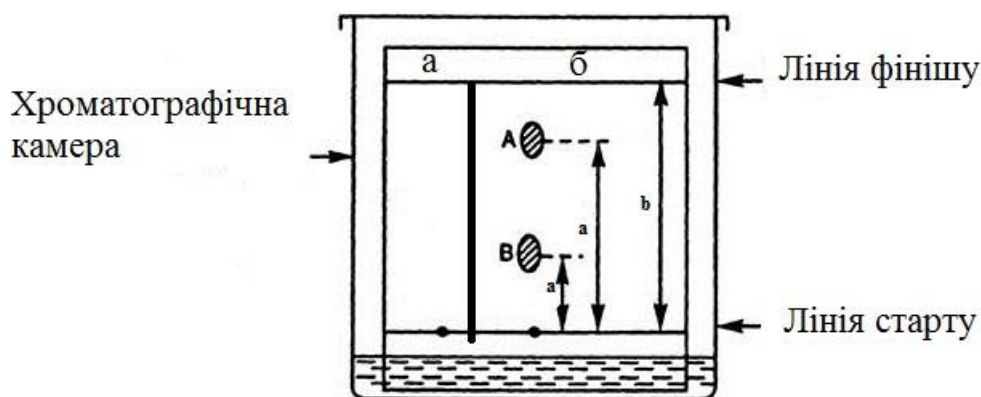


Рисунок 27 – Тонкошарова хроматографія (а – до експерименту, б – після експерименту): А, В – плями, а – відстань від лінії старту до середини плями (мм); b – відстань від лінії старту до лінії фінішу (мм)

Під час протікання тонкошарової хроматографії буферна система (бутанол : оцтова кислота : вода – 4 : 1 : 5) піднімається вздовж хроматографічного паперу від лінії старту до лінії фінішу. При цьому відбувається процес розділення суміші амінокислот (рис. 27, б).

Амінокислоти, які розчиняються в органічному розчиннику краще, просуваються вздовж хроматографічного паперу далі; ті ж, які розчиняються в ньому гірше, проходять від місця нанесення коротший шлях.

Для кожної амінокислоти характерний свій коефіцієнт швидкості руху – R_f , який легко визначити практично за формулою:

$$R_f = \frac{a}{b},$$

де а – відстань від лінії старту до середини плями (мм);

b – відстань від лінії старту до лінії фінішу (мм).

R_f постійний для цих умов дослідження; використовується при ідентифікації речовин. Для цього порівнюють R_f амінокислот суміші, що досліджують, з R_f відомих стандартних амінокислот. Наприклад, значення R_f для гліцину ($R_f = 0,23$), аланіну ($R_f = 0,3$), валіну ($R_f = 0,51$), лейцину ($R_f = 0,7$).

Іонно-обмінна хроматографія – метод фракціонування, що ґрунтується на зв'язуванні іонізованих груп білків з протилежно зарядженими групами іонно-обмінних нерозчинних полімерів (рис. 28). Міцність зв'язування білка зі

смолою пропорційна його заряду. Білки, адсорбовані на іонно-обмінному полімері, можливо змивати концентраціями NaCl, які збільшуються. Чим менший заряд білка, тим менша концентрація NaCl необхідна, щоб змити білок, прикріплений до іоногенних груп смоли.

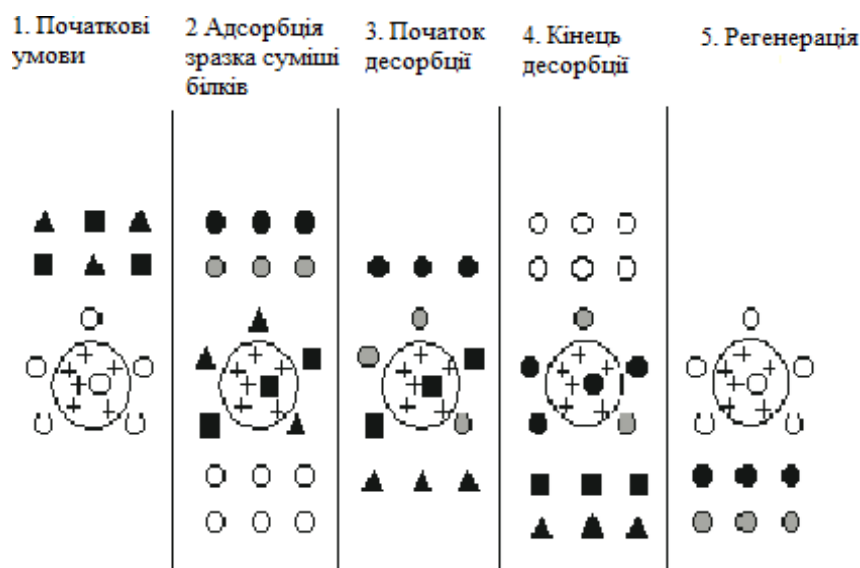


Рисунок 28 – Іонно-обмінна хроматографія: прозорі кружечки – початкові буферні протііони; чорні квадратики та чорні трикутники – суміш білків, яку розділяють; чорні та сірі кружечки – градієнт-іони; 1-5 – етапи іонно-обмінної хроматографії

Афінна хроматографія – специфічний метод виділення індивідуальних білків. До інертного полімеру ковалентно приєднується ліганд будь-якого білка (рис. 29). При пропусканні розчину білків крізь колонку з полімером за рахунок комплементарного зв'язування білка з лігандом на колонці адсорбується тільки специфічний для цього ліганду білок.



Рисунок 29 – Афінна хроматографія

? Питання для самоконтролю

1. Охарактеризуйте особливості будови амінокислот та наведіть їх класифікацію.
2. Охарактеризуйте фізико-хімічні властивості амінокислот.

3. Охарактеризуйте первинну, вторинну, третинну, четвертинну структуру білків. Перелічіть характерні для них типи зв'язків. Наведіть приклади білків.

4. Наведіть класифікацію білків і перелічіть їх функції.

5. Назвіть якісні реакції на амінокислоти. Наведіть їх схеми.

6. Охарактеризуйте фізико-хімічні властивості білків (висолювання білка, денатурація білка, ізoeлектрична точка білка).

7. Назвіть і охарактеризуйте методи виділення білків.

8. Назвіть і охарактеризуйте методи очистки білків.

9. Назвіть і охарактеризуйте методи розділення амінокислот і білків.

Під час самостійного вивчення теми № 2 необхідно ознайомитися із класифікацією білків, їх будовою та властивостями; детально розглянути методи визначення структури білків (аналіз N- та C-кінцевих амінокислотних залишків, фрагментація поліпептидного ланцюга й розділення пептидних фрагментів, визначення амінокислотних послідовностей у пептидах); акцентувати увагу на процесах виділення та фракціонування білків; розглянути хроматографічні методи розділення суміші білків та амінокислот; засвоїти принципи кількісного визначення концентрації білка біуретовим методом, методом Лоурі, методом Бредфорда.

Завдання для домашнього виконання

1. Напишіть реакції, які доводять амфотерність амінокислоти на прикладі валіну чи тирозину.

2. Напишіть реакцію утворення дипептидів – гліцилфенілаланіну, цистеїлсерину. Вкажіть N-кінець (N-кінцеву амінокислоту), C-кінець (C-кінцеву амінокислоту), пептидний зв'язок у структурах дипептидів.

3. Охарактеризуйте прості (протеїни) та складні (протеїди) білки. Наведіть приклади білків. Укажіть їх біологічну роль.

4. Опишіть етапи виділення білка з біологічного об'єкта (матеріалу).

5. Заповніть таблицю 2.

Таблиця 2

Методи очистки, розділення білків

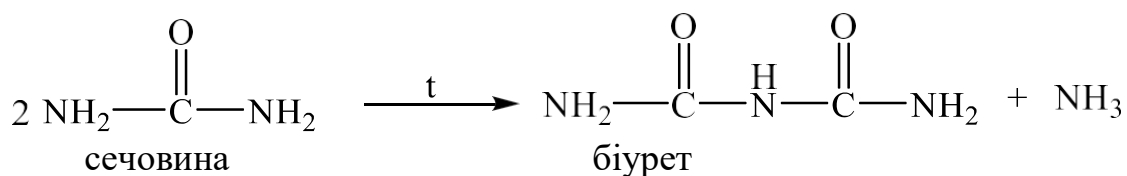
№ з/п	Назва методу	Особливості методу, рисунок
1	Діаліз	
2	Центрифугування	
3	Гель-фільтрація	
4	Електрофорез	
5	Тонкошарова хроматографія	
6	Іонно-обмінна хроматографія	
7	Афінна хроматографія	

6. Опишіть метод Лоурі та метод Бредфорда. Оформіть у вигляді таблиці чи схеми.



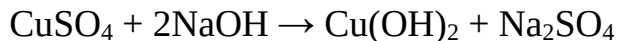
Матеріали та реактиви: штатив для пробірок, пробірки, пробіркотримач, скляні палички, піпетки, сухе пальне, сірники; дистильована вода, 1%-й розчин яєчного білка або концентрований розчин яєчного білка, 10%-й розчин натрій гідроксиду, 1%-й розчин купрум сульфату, розчин нінгідрину, концентрована нітратна кислота, волосся або шматочок нігтя, розчин плюмбум ацетату, розчин натрій нітриту, концентрована оцтова кислота.

Біуретову реакцію вперше було досліджено Данілевським О.Я. Реакція отримала назву від похідного сечовини – біурету. Він утворюється при взаємодії 2-х молекул сечовини внаслідок відщеплення амоніаку, при температурі 180 °С.

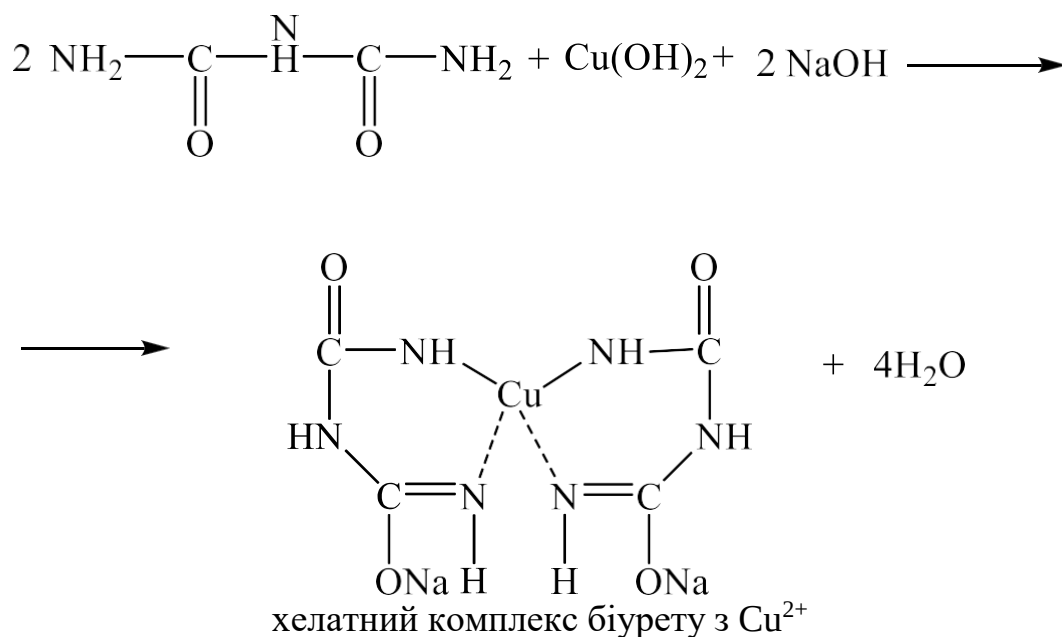

$$\text{NH}_2-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-\overset{\overset{\text{H}}{\mid}}{\text{N}}-\overset{\overset{\text{O}}{\parallel}}{\text{C}}-\text{NH}_2 \rightleftharpoons \text{NH}=\overset{\overset{\text{OH}}{\mid}}{\text{C}}-\overset{\overset{\text{H}}{\mid}}{\text{N}}-\overset{\overset{\text{OH}}{\mid}}{\text{C}}=\text{NH}$$

Дві молекули енольної форми біурету взаємодіють з купрум (II) гідроксидом та утворюють комплекс, у якому координаційні зв'язки утворені за рахунок електронних пар атомів Нітрогену імінних груп.

Купрум (II) гідроксид для проведення біуретової реакції отримують, як правило, в результаті взаємодії купрум (II) сульфату з натрій гідроксидом:



Утворення комплексу біурету з купрум (II) гідроксидом відбувається за схемою:



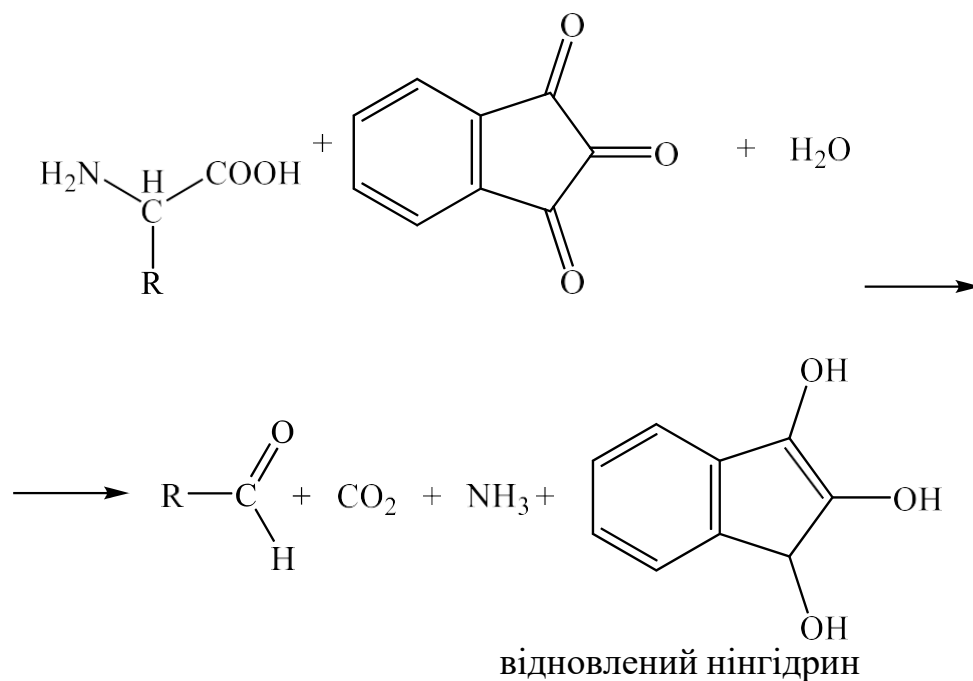
Хід роботи. До 5 крапель 1%-го розчину яєчного білка (або концентрованого яєчного білка) додають 5 крапель 10%-го розчину натрій гідроксиду, 2 краплі 1%-го розчину купрум (II) сульфату та все перемішують. Вміст пробірки набуває *фіолетового забарвлення*.

Примітка. Не можна додавати надлишок купрум (II) сульфату, оскільки маскується характерне *фіолетове забарвлення* біуретового комплексу білка.

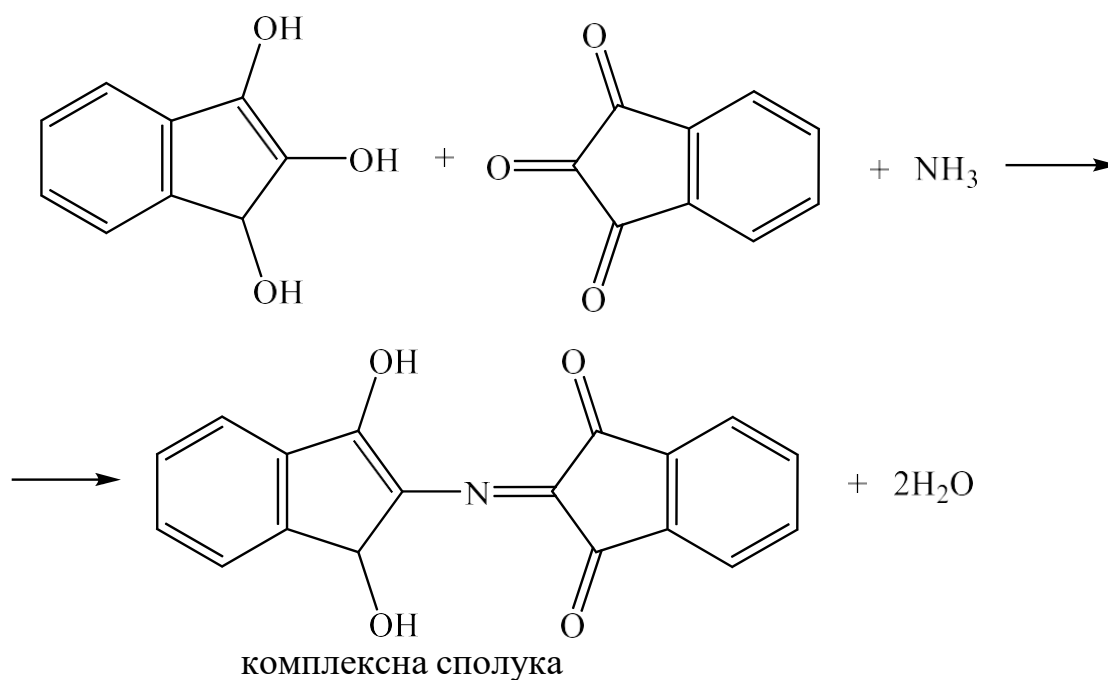
Дослід 2. Нінгідринова реакція

Принцип реакції. Білки, поліпептиди, вільні амінокислоти при нагріванні з нінгідрином дають *рожево-фіолетове забарвлення*. Реакція характерна для $\alpha\text{-NH}_2$ -групи, використовується для виявлення α -амінокислот.

Реакція ґрунтується на окисно-відновних властивостях нінгідрину. Внаслідок нагрівання до 70°C та окиснювального дезамінування та декарбоксилювання від амінокислоти відщеплюється аміногрупа з утворенням амоніаку, виділяється карбон (IV) оксид та утворюється альдегід. Нінгідрин за цих умов відновлюється.



Відновлений нінгідрин конденсується з амоніаком та окисненою формою нінгідрину й утворює комплексну сполуку *рожево-фіолетового кольору*:



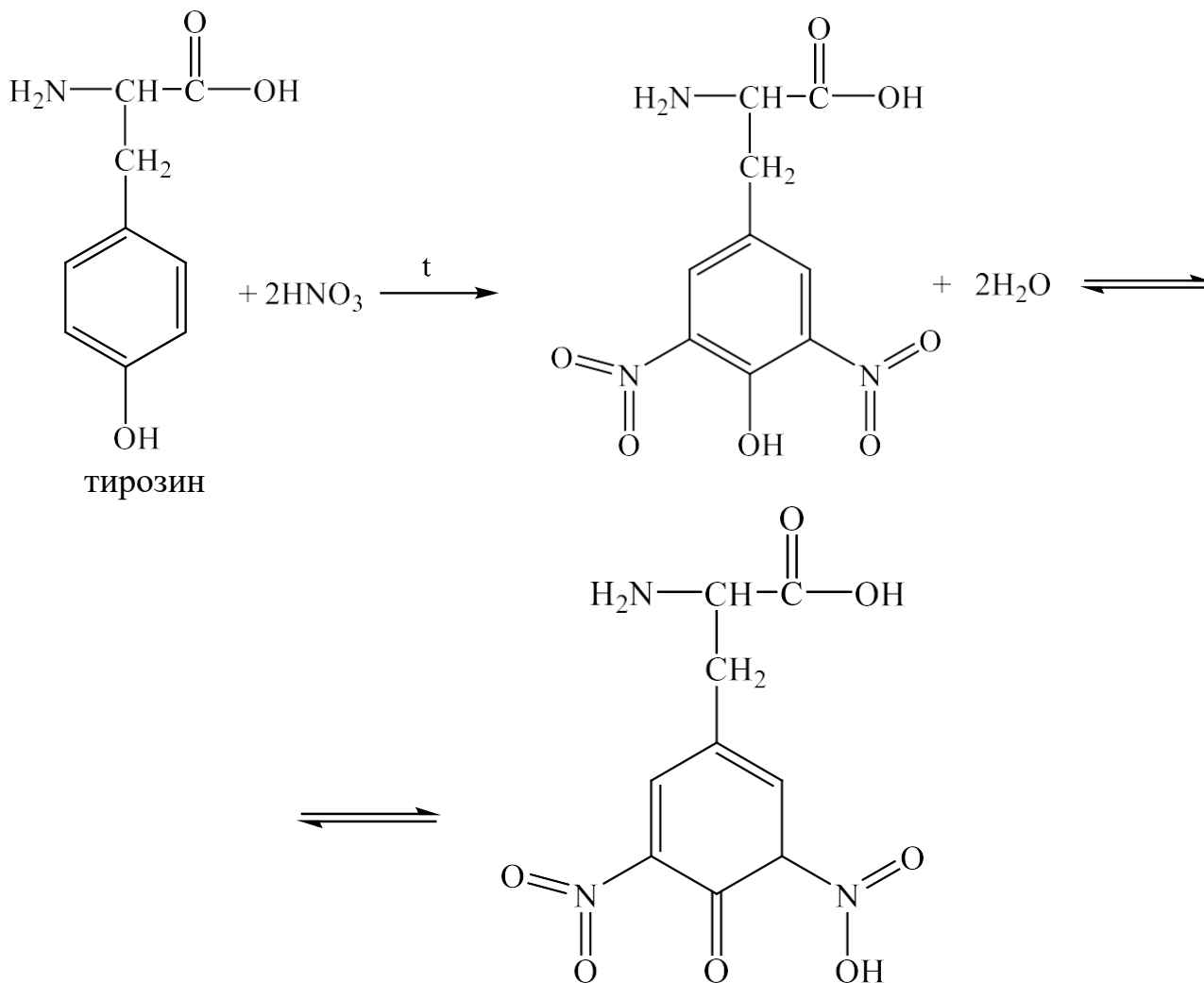
Ця реакція не є специфічною лише для амінокислот, оскільки її дають деякі аміни та амід.

Обережно!!! Нінгідрин токсичний, тому слід уникати його потрапляння на шкіру та слизові оболонки.

Хід роботи. До 3-4 крапель 1%-го розчину яєчного білка або концентрованого яєчного білка додають 1-2 краплі розчину нінгідрину та нагрівають пробірку. У ній з'являється *рожево-фіолетове забарвлення*.

Дослід 3. Ксантопротеїнова реакція (реакція Мульдера)

Принцип реакції. Реакція характерна для бензенового ядра ароматичних амінокислот (фенілаланіну, тирозину, триптофану). Ароматичне кільце амінокислот нітрується при дії концентрованої нітратної кислоти з утворенням нітросполук, забарвлених у *жовтий колір*:

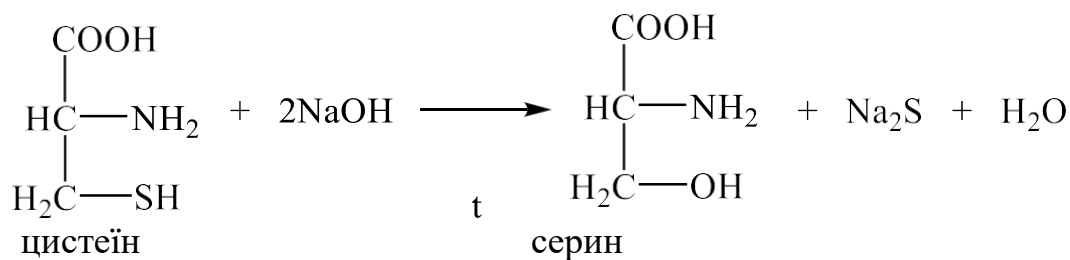


При додаванні амоніаку забарвлення переходить в *оранжове*.

Хід роботи. У пробірку до 3-4 крапель 1%-го розчину яєчного білка або концентрованого яєчного білка додають 1-2 краплі концентрованої нітратної кислоти. Пробірку обережно нагрівають, спостерігають за зміною забарвлення. Утворюється нітросполука *жовтого кольору*.

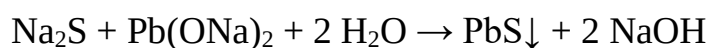
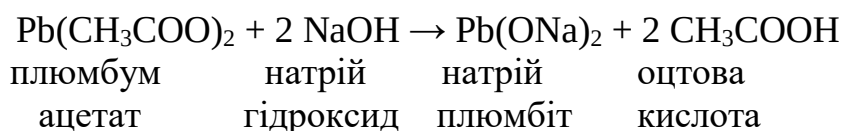
Дослід 4. Реакція Фоля

Принцип реакції. Реакція відкриває сульфуровмісні амінокислоти (цистин, цистеїн). При нагріванні цистеїну (або цистину) в лужному середовищі від них легко відщеплюється Сульфур у вигляді гідрогенсульфіду, який в лужному середовищі утворює натрій сульфід:



Утворення натрій сульфідру можна визначити за допомогою іонів важких металів, наприклад, іонів плумбуму, які утворюють з іонами Сульфурру нерозчинний плумбум сульфід *чорного кольору*.

Для виявлення Сульфурру можна використовувати плумбум ацетат, який при взаємодії з натрій гідроксидом утворює натрій плумбіт. Своєю чергою натрій плумбіт, реагуючи з натрій сульфідом, зумовлює утворення плумбум сульфідру:

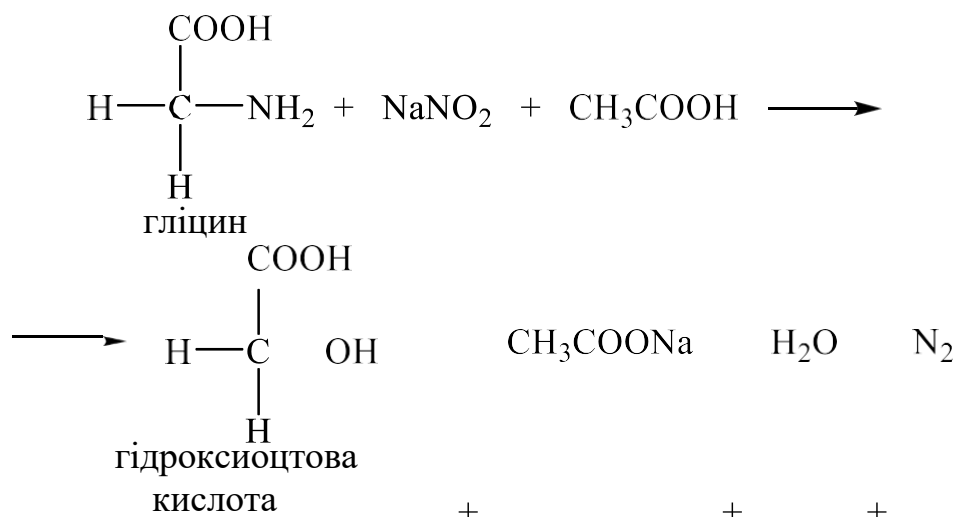


Хід роботи. В 1-у пробірку поміщають трохи волосся або шматочок нігтя, а в 2-у пробірку – 5 крапель 1%-го розчину яєчного білка або концентрованого яєчного білка. У кожену із пробірок додають по 1 краплі розчину плумбум ацетату, а потім 1 краплю розчину гідроксиду натрію; пробірки нагрівають до кипіння. У 1-й пробірці з'являється *осад чорного кольору*, у 2-й пробірці – нічого не відбувається або ж утворюється осад білого кольору.

Дослід 5. Реакція Ван-Слайка

Принцип реакції. Реакція дозволяє визначити NH_2 -групу в амінокислотах і білках.

У результаті взаємодії амінокислоти з нітритом натрію та оцтовою кислотою відбувається утворення газоподібного азоту.



Хід роботи. У пробірку наливають 1-2 мл 1%-го розчину яєчного білка (або концентрованого яєчного білка) або амінокислоти, додають рівний об'єм (1-2 мл) розчину нітриту натрію та декілька крапель концентрованої оцтової кислоти. При цьому утворюється нітритна кислота, яка вступає в реакцію з аміногрупою. Виділяються бульбашки газу – азоту.

Результати дослідів 1-5 запишіть у таблицю 3 за аналогією:

Таблиця 3

Якісні реакції на амінокислоти й білки

№ п/п	Назва дослідів	Реактиви, які використовуються	Зміни, що відбуваються під час реакції	Висновок
1	2	3	4	5
1	Біуретова реакція	1) 5 крапель 1%-го розчину яєчного білка (або концентрованого яєчного білка); 2) 5 крапель 10%-го розчину гідроксиду натрію; 3) 2 краплі 1%-го розчину купрум (II) сульфату; все перемішують.	Фіолетове забарвлення	Реакція доводить наявність у молекулах білків, пептидів, пептидних зв'язків (-CO-NH-).

За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.



Лабораторна робота №2
ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ

Мета роботи: провести реакції зворотного та незворотного осадження білка (висолювання та денатурацію відповідно); визначити ізоелектричну точку білка (желатину).

Практичне значення роботи. Осадження білків методом висолювання використовують для розділення білкових фракцій при одержанні очищених білків, для розділення альбумінів і глобулінів, визначення їх співвідношення у сироватці крові. Осадження білків методом денатурації білків використовується для осадження білків у біологічному матеріалі з подальшим визначенням у ньому небілкових і низькомолекулярних речовин. За допомогою ізоелектричної

точки індивідуальних білків можна підібрати умови для осадження їх з біологічних рідин, що містять суміш різних білків.

Матеріали та реактиви: штатив для пробірок, пробірки, пробіркотримач, скляні палички, піпетки, сухе пальне, сірники; дистильована вода, 1%-й розчин яєчного білка або концентрований розчин яєчного білка, розчин сульфату амонію, хлоридна кислота; 1%-й розчин желатину; 0,1 моль/л, 1 моль/л розчини оцтової кислоти, 0,1 моль/л розчин натрій ацетату, 96%-й етиловий спирт або 95 %-й ацетон.

Дослід 1. Зворотне осадження білків – висолювання

Принцип реакції. Реакція висолювання зумовлена дегідратацією макромолекул білка з одночасною нейтралізацією його електричного заряду.

При додаванні солей лужних і лужноземельних металів $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Na_2SO_4 , NaCl , MgSO_4 до розчину білка відбувається дегідратація білкових часток, і білки випадають в осад. *При додаванні води до цього розчину гідратаційна оболонка білкових часток відновлюється, осад розчиняється.*

Хід роботи. До 1 мл нерозведеного яєчного білка або концентрованого розчину яєчного білка додають 1 мл розчину сульфату амонію. Рідину збовтують і спостерігають незначне помутніння. Доливають 1 мл води – *помутніння зникає*. Висолювання – зворотний процес осадження білків.

Дослід 2. Незворотне осадження білків – денатурація

Принцип реакції. Осаджуються білки з розчинів солями важких металів (купрум сульфат, плюмбум ацетат), мінеральними й органічними кислотами, кип'ятінням. При незворотному осадженні порушується гідратаційна оболонка й заряд білка. *При додаванні води до розчину гідратаційна оболонка білкових часток не відновлюється, осад не розчиняється.*

Хід роботи.

а) осадження білків солями важких металів. У дві пробірки наливають по 1 мл концентрованого розчину яєчного білка, в 1-у пробірку додають декілька крапель розчину купрум сульфату, в 2-у пробірку – розчин плюмбум ацетату;

б) осадження білків неорганічними кислотами. У дві пробірки наливають по 1 мл кислот: у 1-у пробірку – нітратну кислоту, в 2-у пробірку – хлоридну кислоту. Потім у кожен обережно по стінці доливають рівний об'єм концентрованого розчину яєчного білка;

в) осадження білків при нагріванні. У пробірку наливають 1 мл концентрованого розчину яєчного білка та кип'ятять.

!!! Доливають 1 мл води в усі пробірки – *осад не зникає*. Денатурація – незворотний процес осадження білків.

Результати дослідів 1-2 запишіть у таблицю 4 за аналогією:

Таблиця 4

Властивості білків

№ п/п	Назва досліду	Реактиви, які використовуються	Зміни, що відбуваються під час реакції	Зміни після додавання води	Висновок
1	2	3	4	5	6
1	Зворотне осадження білків – висолювання	1) 1 мл нерозведеного яєчного білка; 2) 1 мл розчину амоній сульфату; збовтують	Слабке помутніння	Помутніння зникає	Висолювання – зворотний процес осадження білків

Дослід 3. Визначення ізоелектричної точки білка (желатину)

Принцип реакції. Визначення ізоелектричної точки білків ґрунтується на здатності білків легко осаджуватися під дією осаджувачів, що викликають дегідратацію білків, при значенні рН середовища, яке відповідає їх ізоелектричній точці.

Ізоелектрична точка (IET) – значення рН, при якому білок має сумарний нульовий заряд, тобто є електронейтральним.

Хід роботи. У 6 пробірок поміщають відповідну кількість (мл) дистильованої води, розчинів оцтової кислоти (0,1 моль/л або 1 моль/л), натрій ацетату (0,1 моль/л) та желатину (таблиця 5).

Таблиця 5

Схема визначення ізоелектричної точки білка (желатину)

№ пробірки	Вода (мл)	CH ₃ COOH (0,1 моль/л) (мл)	CH ₃ COOH (1 моль/л) (мл)	CH ₃ COONa (0,1 моль/л) (мл)	Розчин желатину (1%-й)	Спирт або ацетон (мл)	рН середовища	Зміни, що спостерігаються*
1	3,8	0,2	–	2,0	2,0	2,0	5,6	
2	3,5	0,5	–	2,0	2,0	2,0	5,3	
3	3,2	–	0,8	2,0	2,0	2,0	5,0	
4	3,0	1,0	–	2,0	2,0	2,0	4,7	
5	2,0	2,0	–	2,0	2,0	2,0	4,4	
6	–	4,0	–	2,0	2,0	2,0	4,1	

Примітка. * – «–» – відсутність помутніння; «+» – слабке помутніння; «++» – середнє помутніння; «+++» – значне помутніння

Вміст кожної пробірки перемішують. Потім у всі пробірки повільно по стінці доливають по 2 мл спирту (або ацетону).

Через 30 хв визначають ізоелектричну точку. Вона буде відповідати значенню рН у пробірці з максимальним ступенем помутніння.

За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.



Лабораторна робота №3 **КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО БІЛКА В СИРОВАТЦІ КРОВІ** **ЗА ДОПОМОГОЮ БІУРЕТОВОГО РЕАКТИВУ**

Мета роботи: навчитися кількісно визначати загальний білок у сироватці крові за допомогою біуретового реактиву.

Практичне значення роботи. У клініко-біохімічних лабораторіях для встановлення діагнозу захворювання проводять кількісне визначення концентрації загального білка у біологічних рідинах організму (сироватці крові, сечі, спинномозковій рідині).

У нормі вміст загального білка у сироватці крові дорівнює у дорослих 65-85 г/л (6,5-8,5 мг/мл).

Зниження рівня концентрації білка (*гіпопротеїнемія*) спостерігається при недостатньому надходженні білків з їжею або зниженні процесів біосинтезу білків в органах, втраті білка організмом при гострих і хронічних кровотечах, підвищеній проникності капілярних стінок, при крововиливах і набряках.

Підвищення рівня концентрації білка (*гіперпротеїнемія*) відзначається рідко: при згущенні крові через значні втрати рідини, при інфекційному чи токсичному ураженні ретикулоендотеліальної системи, в клітинах якої синтезуються глобуліни, при хронічному поліартриті, ревматизмі.

Гіпопротеїнемія майже завжди пов'язана з гіпоальбунемією, гіперпротеїнемія – з гіперглобулінемією.

Матеріали та реактиви: біохімічні пробірки, піпетки, робочий розчин біуретового реактиву, стандартний розчин альбуміну (1 мл стандартного розчину альбуміну, що містить 10 мг або 0,01 г білка), фотоелектроколориметр (КФК-2 або КФК-3), кювети з товщиною шару 1 см, міліметровий папір.

Принцип реакції. Реакція утворення комплексу описана в лабораторній роботі №1, дослід 1.

Хід роботи. До 5 мл робочого розчину біуретового реактиву додають 0,1 мл 0,9%-й розчин натрій хлориду (фізіологічний розчин) (*холоста* або *контрольна проба*). Вміст пробірки перемішують.

До 5 мл робочого розчину біуретового реактиву додають, уникаючи утворення піни, 0,1 мл сироватки крові (*дослідна проба*). Вміст пробірки перемішують.

До 5 мл робочого розчину біуретового реактиву додають відповідно у 5 пробірок 0,2 мл; 0,4 мл; 0,6 мл; 0,8 мл; 1,0 мл розчину альбуміну, що містить

10 мг або 0,01 г білка в 1 мл (**калібрувальна проба**). Загальний об'єм у кожній пробірці доводять до 1 мл дистильованою водою. Вміст пробірок перемішують.

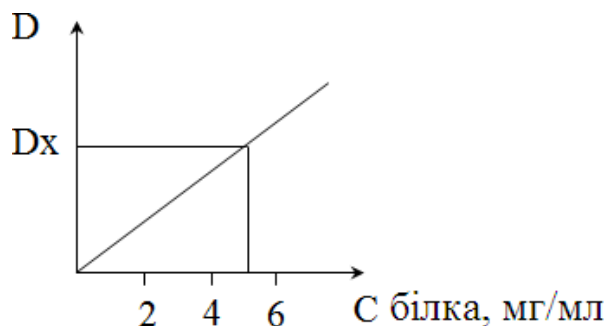
Через 30 хв, але не пізніше ніж через 1 год, усі проби (холосту або контрольну, дослідну, калібрувальну) колориметрують на фотоелектроколриметрі (КФК-2 або КФК-3) в кюветі з товщиною шару 10 мм при зеленому світлофільтрі (максимум пропускання 540-560 нм, краще 546 нм).

У холостій або контрольній пробі спостерігається розчин *синього кольору*. У дослідній та калібрувальних пробах розчин набуває *синьо-фіолетового забарвлення*.

Визначають експериментально показник екстинкції у всіх пробах при довжині хвилі 540 нм або 546 нм.

Будують калібрувальну криву за значеннями показників екстинкції 5 калібрувальних проб (див. пункт 3 – Побудова калібрувальної кривої для речовини та пункт 4 – Визначення концентрації речовини в розчині (рис. 5)).

Розрахунки концентрації загального білка в сироватці крові виконують за калібрувальною кривою; розраховують на 1 мл нерозведеної сироватки крові. Графік будують на міліметровому папері.



За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.

Тема 3

БУДОВА, ВЛАСТИВОСТІ ТА ЗНАЧЕННЯ ВУГЛЕВОДІВ

«Я відчувала б більше оптимізму щодо світлого майбутнього людства, якби воно менше часу витрачало на безглузді спроби перехитрити Природу, а більше насолоджувалося її чарівністю та цінувало її ресурси».

Є.Б. Уайт



Вуглеводи – група природних органічних сполук, які складаються з Карбону, Гідрогену та Оксигену. Загальна формула вуглеводів – $C_n(H_2O)_m$.

Вуглеводи класифікують на *моносахариди, олігосахариди (дисахариди) та полісахариди*.

Моносахариди містять гідроксильні групи, альдегідну або кетонну групу, тобто належать до альдегідоспиртів і кетоспиртів.

Розрізняють моносахариди:

1) за кількістю атомів Карбону в молекулі: триози (C_3); тетрози (C_4); пентози (C_5): рибоза, дезоксирибоза, арабіноза, ксилоза; гексози (C_6): маноза, галактоза, глюкоза, фруктоза; гептози (C_7): седогептулоза;

2) за хімічною природою: альдози та кетози.

Наприклад, найпростіша альдолаза (гліцероальдегід), містить один хіральний центр та має два різних оптичних ізомери – D-ряд та L-ряд. (рис. 30).



Рисунок 30 – а – D-гліцероальдегід; б – L-гліцероальдегід

У живих організмах моносахариди наявні в основному у D-конфігурації, яку називають природною. Виключення становить L-арабіноза бактерій, L-рамноза та L-сорбоза рослин.

Серед моносахаридів найбільше значення мають пентози (рис. 31 а, б), гексози (рис. 31 в, г), які можуть зустрічатися у вигляді лінійних структур (структури Фішера) та циклічних структур (структури Хеуорса) (рис. 32 а, б, в, г).

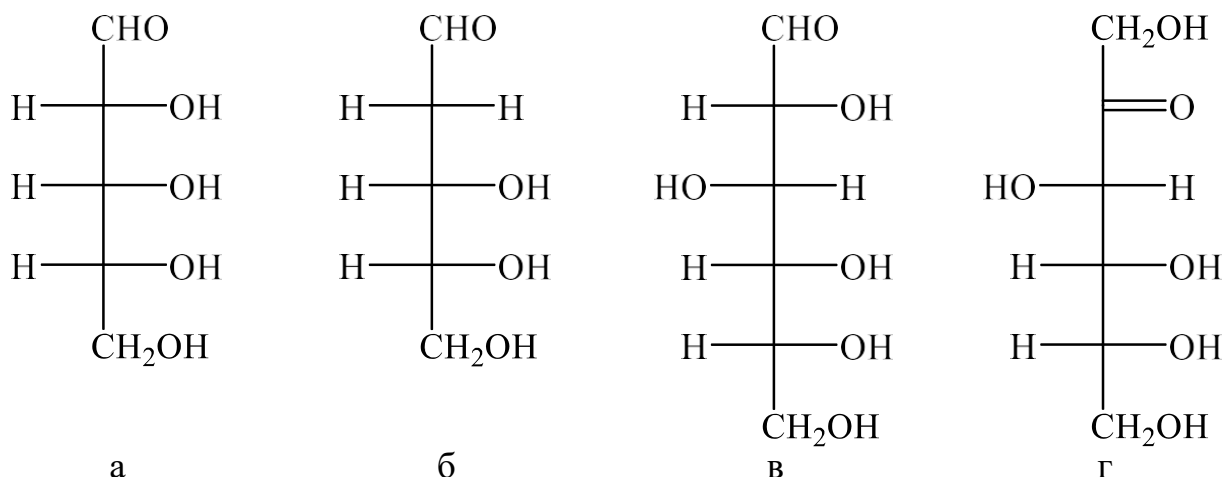


Рисунок 31 – Лінійні структури моносахаридів (структури Фішера): а – D-рибоза; б – D-деоксирибоза; в – D-глюкоза; г – D-фруктоза

Шестичленний цикл має конформації крісла та ванни. Ці конформації впливають на просторові форми полісахаридів та їх біологічні функції.

Рибоза та дезоксирибоза є компонентами нуклеотидів і нуклеїнових кислот. Глюкоза – кінцевий продукт гідролізу більшості дисахаридів і полісахаридів. Фруктоза входить до складу дисахариду сахарози (тростинного цукру).

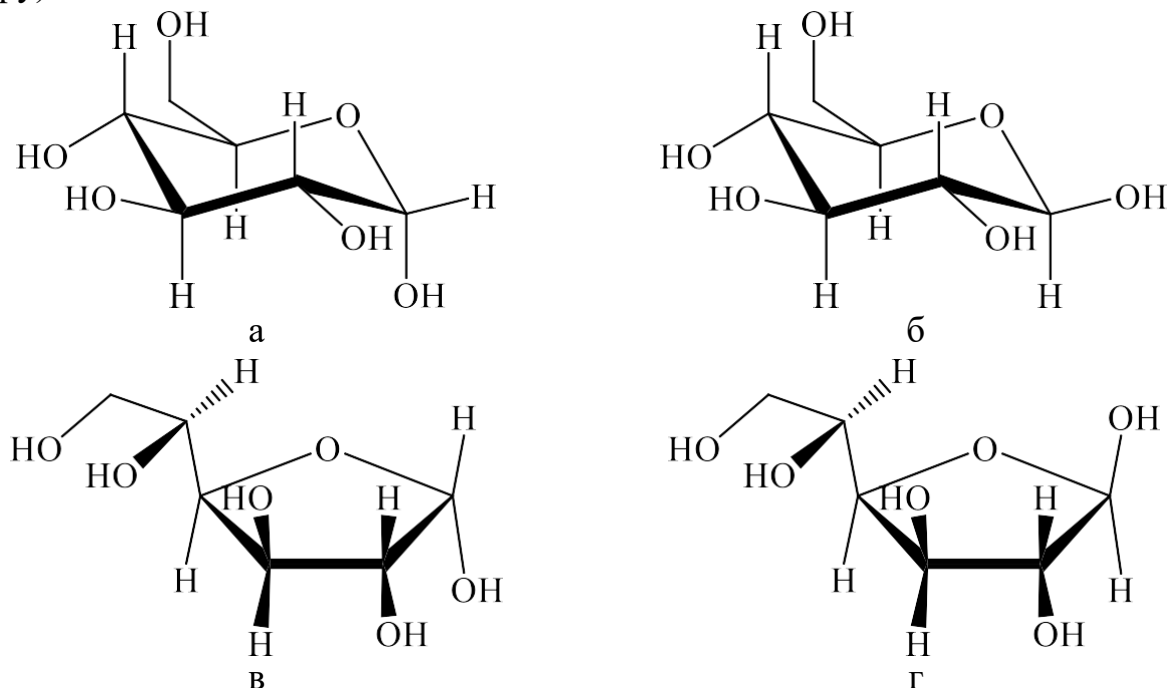


Рисунок 32 – Циклічні структури моносахаридів: глюкози (структури Хеурса): а – α ,D-глюкозопіраноза; б – β ,D-глюкопіраноза, в – α , D-глюкозофураноза; г – β ,D-глюкофураноза

Будь-який моносахарид з конкретними фізичними властивостями (температура плавлення, розчинність) характеризується специфічною величиною питомого обертання $[\alpha]_D^{20}$. Величина питомого обертання при розчиненні будь-якого моносахариду поступово змінюється і лише при тривалому стоянні розчину досягає певного значення. Так, наприклад, для свіжоприготовленого розчину глюкози $[\alpha]_D^{20} = +112,2^\circ$ ця величина досягає рівноважного значення $[\alpha]_D^{20} = +52,5^\circ$. Зміна величини питомого обертання при стоянні (у часі) розчинів моносахаридів називається **мутаротацією**.

Усі природні моносахариди завдяки наявності в їх молекулі асиметричних атомів Карбону оптично активні; тому у водних розчинах обертають площину поляризованого променя. При наявності вільних альдегідних і кетонних груп вони мають сильні відновлювальні властивості. Вуглеводи можуть також піддаватися різним видам бродіння (спиртове, молочнокисле, маслянокисле, лимоннокисле) під впливом ферментів мікроорганізмів.

Загальна формула дисахаридів – $C_{12}H_{22}O_{11}$. Дисахариди утворюються з двох молекул моносахаридів при взаємодії або глікозидного гідроксилу однієї

гексози та спиртового гідроксилу іншої (мальтоза, лактоза, целобіоза), або двох глікозидних гідроксилів (сахароза) з виділенням молекули води (рис. 33).

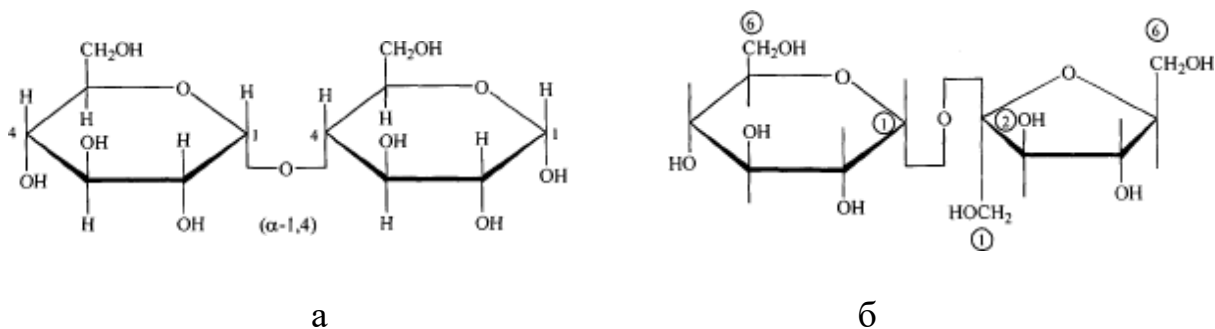


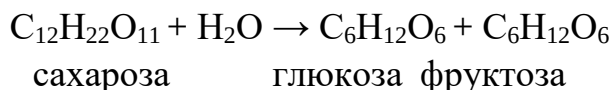
Рисунок 33 – Дисахариди: а – мальтоза; б – сахароза

Сполучення молекул гексоз у дисахаридах відбувається за рахунок глікозидних зв'язків. Сполуки першого типу (мальтоза) мають одну карбонільну групу вільну, а тому дають усі реакції, характерні для моносахаридів. Сполуки другого типу (сахароза) не мають вільних карбонільних груп, унаслідок чого не дають реакцій, властивих моносахаридам (реакції відновлення металів, утворення озазонів тощо).

Мальтоза володіє відновлювальними властивостями, оскільки має вільну гідроксильну групу; сахароза не володіє відновлювальними властивостями, тому що не має вільної гідроксильної групи.

Найпоширенішим природним дисахаридом є сахароза. При кислотному або ферментативному гідролізі дисахариди розкладаються на моносахариди.

Наприклад:



Моносахариди та дисахариди – кристалічні речовини, мають солодкий смак (глюкоза, фруктоза, мальтоза, сахароза), без кольору й запаху. Вони легко розчиняються у воді, погано у спирті та не розчиняються в діетиловому етері.

Полісахариди мають загальну формулу $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$. Складаються із сотні або тисячі залишків моносахаридів.

Найпоширенішими полісахаридами є крохмаль, глікоген (розгалужені ланцюги), целюлоза (лінійні ланцюги) (рис. 34).

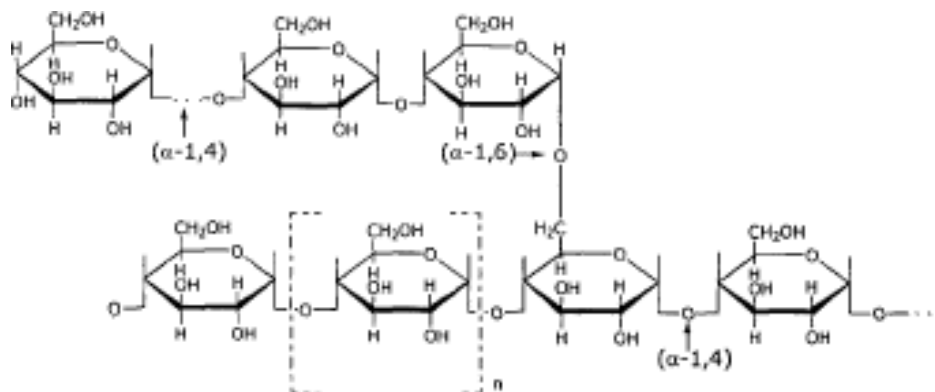


Рисунок 34 – Фрагмент структури полісахариду – крохмалю

Полісахариди, побудовані із залишків моносахаридів одного типу, називаються *гомополісахаридами (гомогліканами)*. До них належать крохмаль, глікоген, целюлоза, які побудовані із залишків глюкози; хітин, інουλін, пектин.

Полісахариди побудовані із залишків моносахаридів різних типів, називаються *гетерополісахаридами (гетерогліканами)*. До них належать гепарин, гіалуронова кислота, хондроїтинсульфат.

Полісахариди погано розчиняються у воді (крохмаль, глікоген) або й зовсім не розчиняються у воді (целюлоза). Полісахариди не володіють відновлювальними властивостями.

Вуглеводи відіграють важливу роль у життєдіяльності організму.

Основними функціями вуглеводів в організмі є енергетична, структурна, захисна, гемостатична, антикоагуляційна, гомеостатична, опорна, механічна, осморегуляторна, знешкоджувальна.

? Питання для самоконтролю

1. Дайте загальну характеристику вуглеводів. Наведіть класифікацію вуглеводів. Перелічіть функції вуглеводів.

2. Охарактеризуйте моносахариди. Наведіть основні формули моносахаридів (рибоза, дезоксирибоза, арабіноза, ксилоза, глюкоза, фруктоза). Охарактеризуйте оксикарбонільні (лінійні структури Фішера) та циклічні (структури Хеуорса) форми моносахаридів.

3. Розкрийте сутність таких понять, як таутомерія та мутаротація вуглеводів.

4. Назвіть фізичні та хімічні властивості моносахаридів.

5. Охарактеризуйте дисахариди (мальтоза, сахароза). Укажіть особливості їх будови й перелічіть фізичні та хімічні властивості.

6. Охарактеризуйте полісахариди (крохмаль, целюлоза, хітин, гепарин). Укажіть особливості їх будови й перелічіть фізичні та хімічні властивості.

7. Наведіть приклади якісних реакцій на глюкозу, фруктозу, крохмаль.

Під час самостійного вивчення теми № 3 необхідно розглянути сутність таких явищ, як таутомерія та мутаротація вуглеводів; ознайомитися з будовою складних вуглеводів (хондроїтинсульфат, гепарин) та їх функціями в організмі, а також з особливостями будови глікопротеїдів і гліколіпідів; проаналізувати механізм утворення фосфорних ефірів вуглеводів, з'ясувати їх особливості та значення.

Завдання для домашнього виконання

1. Поясніть сутність таутомерії та мутаротації вуглеводів (на прикладі глюкози).

2. Поясніть, чому мальтоза володіє відновлювальними властивостями, а сахароза ні. Напишіть формули цих дисахаридів.

3. Визначте та охарактеризуйте функції вуглеводів (функція + приклад вуглеводу).



Лабораторна робота №4

РЕАКЦІЇ З МОНОСАХАРИДАМИ, ДИСАХАРИДАМИ ТА ПОЛІСАХАРИДАМИ

Мета роботи: вивчити властивості моносахаридів, дисахаридів і полісахаридів.

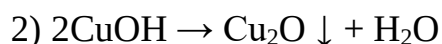
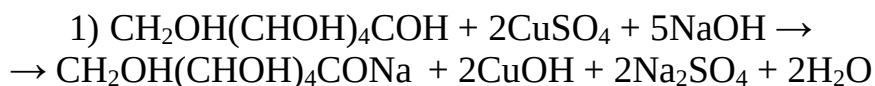
Практичне значення роботи. За допомогою якісних реакцій можна визначити наявність вуглеводів у пробах (моносахаридів, дисахаридів, полісахаридів).

Матеріали та реактиви: штатив для пробірок, пробірки, водяна баня; дистильована вода, сірники, спиртівка; 5%-й розчин глюкози, 5%-й розчин фруктози, 5%-й розчин сахарози, 1%-й розчин крохмалю, реактив Фелінга I, II (складається з розчинів купрум сульфату, натрій гідроксиду, сегнетової солі), кристалічний резорцин, концентрована хлоридна кислота, амонійний розчин аргентум гідроксиду, реактив Люголя (розчин йоду в калій йодиді).

Хід роботи

Дослід 1. Відновлення купрум (II) гідроксиду глюкозою – реакція Фелінга

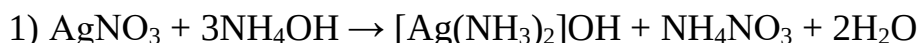
Принцип реакції. Усі моносахариди, а також більш складні цукри, які мають вільну альдегідну або кетонну групу, здатні відновлювати метали в лужному середовищі. Метали при цьому відновлюються з окисної форми в закисну чи навіть до вільного стану.



Хід роботи. У пробірку до 1 мл 5%-го розчину глюкози доливають рівний об'єм реактиву Фелінга (по 1 мл розчинів Фелінга I та Фелінга II). Суміш нагрівають до кипіння. Утворюється *червоний осад* купрум (I) оксиду (Cu_2O).

Дослід 2. Відновлення аргентум гідроксиду глюкозою – реакція «срібного дзеркала»

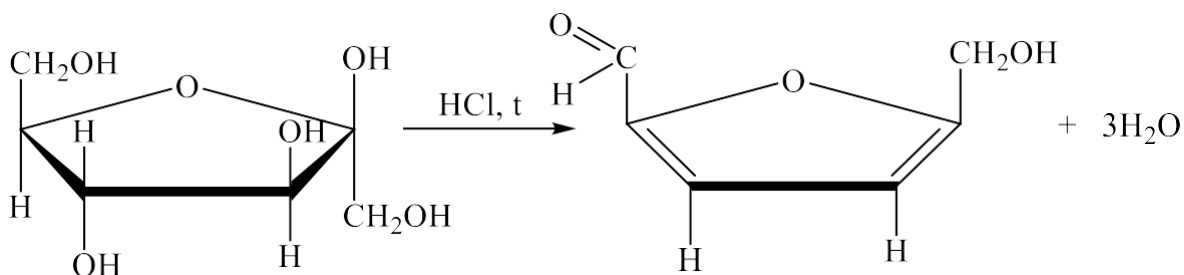
Принцип реакції. Глюкоза відновлює амонійний розчин аргентум гідроксиду, що утворений при взаємодії аргентум нітрату з натрій гідроксидом та водним розчином амоніаку, до металевого аргентуму.



Хід роботи. У пробірку до 4 крапель 5%-го розчину глюкози додають 4 краплі амонійного розчину аргентум нітрату та нагрівають. Спостерігають випадіння металічного срібла на стінках пробірки у вигляді блискучого дзеркального нальоту.

Дослід 3. Реакція Селіванова на фруктозу

Принцип реакції. При нагріванні розчину фруктози із хлоридною кислотою утворюється оксиметилфурфурол. Оксиметилфурфурол з резорцином утворює сполуку (продукт конденсації), забарвлену у вишнево-червоний колір.



Хід роботи. У пробірку поміщають декілька кристаликів резорцину, додають 2 краплі концентрованої хлоридної кислоти, 2 краплі 5%-го розчину фруктози та нагрівають до кипіння. Рідина набуває вишнево-червоного забарвлення.

Дослід 4. Реакція сахарози з реактивом Фелінга

Принцип реакції. У молекулі сахарози зв'язок між залишками α ,D-глюкози і β ,D-фруктози утворюється за рахунок двох глікозидних гідроксилів. Сахароза не володіє відновлювальними властивостями. Спостерігається негативна реакція.

Хід роботи. У пробірку до 1 мл 5%-го розчину сахарози доливають рівний об'єм реактиву Фелінга (1 мл реактиву Фелінга I + 1 мл реактиву Фелінга II). Суміш нагрівають до кипіння. Вона залишається інтенсивного синього кольору.

Дослід 5. Реакція сахарози з амонійним розчином гідроксиду аргентуму

Принцип реакції. У молекулі сахарози зв'язок між залишками α ,D-глюкози і β ,D-фруктози утворюється за рахунок двох глікозидних гідроксилів. Сахароза не відновлює амонійний розчин аргентум нітрату. Спостерігається негативна реакція.

Хід роботи. У пробірку до 4 крапель 5%-го розчину сахарози додають 4 краплі амонійного розчину аргентум гідроксиду та нагрівають. Суміш залишається прозорою.

Дослід 6. Гідроліз сахарози

Принцип реакції. Під час гідролізу сахарози (кип'ятіння у присутності концентрованої сульфатної кислоти) утворюються моносахариди, які можна виявити за допомогою реакцій Фелінга й Селіванова.

Хід роботи. У пробірку додають 1 мл 5%-го розчину сахарози, 2 краплі концентрованої хлоридної кислоти та нагрівають на киплячій водяній бані

протягом 15 хвилин. Потім суміш розподіляють на 2 частини: з однією проводять реакцію Фелінга, а з іншою – реакцію Селіванова.

Дослід 7. Якісна реакція на крохмаль

Принцип реакції. При взаємодії розчину крохмалю з реактивом Люголя утворюється комплексна адсорбційна сполука, забарвлена в реакції з крохмалем у синій колір. При нагріванні забарвлення зникає, але з'являється знову при охолодженні, що свідчить про утворення нестійкого комплексу з крохмалем.

Хід роботи. У пробірку до 1 мл 1%-го розчину крохмалю додають 1-2 краплі реактиву Люголя. Розчин крохмалю забарвлюється в *синій колір*.

Дослід 8. Реакція крохмалю з реактивом Фелінга

Принцип реакції. Полісахариди не містять вільних редуційованих груп, Спостерігається негативна реакція.

Хід роботи. У пробірку вносять 1 мл крохмального клейстеру та доливають рівний об'єм реактиву Фелінга (по 1 мл розчинів Фелінга I та Фелінга II). Суміш нагрівають до кипіння. Вона залишається інтенсивного *синього кольору*.

Дослід 9. Кислотний гідроліз крохмалю

Принцип реакції. При нагріванні розчину крохмалю з мінеральними кислотами відбувається гідроліз крохмалю з утворенням глюкози.

Хід роботи. У пробірку наливають 3 мл 1%-го розчину крохмалю та додають 2-3 краплі концентрованої хлоридної кислоти. Кип'ятять на водяній бані протягом 15-45 хвилин.

Щоб визначити, чи відбувся гідроліз крохмалю, відбирають 3-5 крапель розчину й додають краплю реактиву Люголя. *Якщо розчин не набуває синього забарвлення, то гідроліз завершено.* Потім відбирають у пробірку 1-2 мл гідролізату та проводять з ним реакцію Фелінга.

Результати дослідів 1-9 запишіть у таблицю 6 за аналогією:

Таблиця 6

Реакції з моносахаридами, дисахаридами та полісахаридами

№ п/п	Назва дослід	Реактиви, які використовуються	Зміни, що відбуваються під час реакції	Висновок
1	2	3	4	5
1	Відновлення купрум (II) гідроксиду глюкозою – реакція Фелінга	1) 1 мл 5%-го розчину глюкози; 2) реактив Фелінга. Суміш нагрівають до кипіння.	Червоний осад	Якісна реакція на глюкозу. Глюкоза володіє відновлювальними властивостями

За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.

Тема 4 ЛІПІДИ

«Жир, відокремлений від основ солетворних, був розчинений в киплячому спирті. Після охолодження розчину вдалося отримати дуже чисті кристали, які були піддані вивченню. Оскільки ця речовина ще не була описана, я запропонував назвати її маргарином (грец. перли), адже зовні вона подібна до перламутру при різноманітних комбінаціях солетворних основ у її складі».

Мішель-Ежен Шеврель



Ліпіди – органічні речовини, які характерні для живих організмів, нерозчинні у воді, але розчинні в органічних розчинниках: спиртах, етерах, естерах, ацетоні, хлороформі.

Ліпіди залежно від особливостей будови поділяються на 3 класи:

1) **Прості ліпіди** – складні ефіри вищих жирних кислот із трьохатомним або вищим одноатомним спиртом – ацилгліцероли (триацилгліцероли, діацилгліцероли, моноацилгліцероли) (нейтральні жири); воски (рис. 35 а, б).

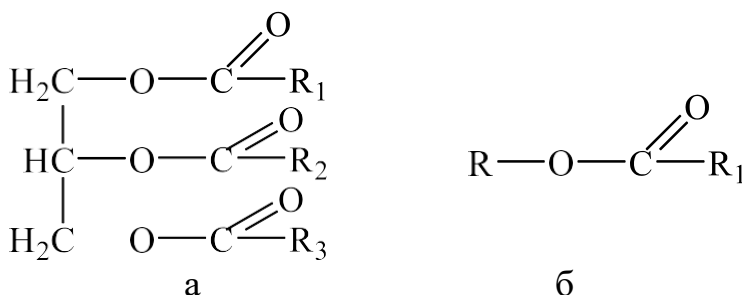


Рисунок 35 – Особливості будови триацилгліцеролу (а) та воску (б); де R_1 , R_2 , R_3 – залишки вищих жирних кислот, R – залишок вищого одноатомного спирту

Воски – складні ефіри вищої жирної кислоти з вищим одноатомним спиртом (наприклад, бджолиний віск, віск на поверхні овочів і фруктів, спермацет, ланолін).

Вища жирна кислота – кислота, яка має більше 4-х атомів Карбону в молекулі ($\text{R}-\text{COOH}$). У триацилгліцеролів, восків переважають вищі жирні кислоти, що містять 16 атомів Карбону та більше.

До вищих жирних кислот належать:

- пальмітинова кислота – $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$ ($\text{C}_{16:0}$);
- стеаринова кислота – $\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COOH}$ ($\text{C}_{18:0}$);
- олеїнова кислота – $\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOH}$ ($\text{C}_{18:1}$, C_{9-10});
- лінолева кислота – $\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH}$ ($\text{C}_{18:2}$, C_{9-10} , C_{12-13});
- ліноленова кислота – $\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$ ($\text{C}_{18:3}$, C_{9-10} , C_{12-13} , C_{15-16});
- арахідонова кислота – $\text{C}_{19}\text{H}_{31}\text{COOH}$ ($\text{C}_{20:4}$, C_{5-6} , C_{8-9} , C_{12-13} , C_{15-16}).

Для вищих жирних кислот характерний числовий код. Наприклад, для пальмітинової кислоти – C16:0, де 16 означає загальну кількість атомів Карбону, 0 – відсутність подвійних зв'язків у структурі вищої жирної кислоти; для олеїнової кислоти – C18:1, C₉₋₁₀. У цьому випадку 18 – загальна кількість атомів Карбону, 1 – кількість подвійних зв'язків, C₉₋₁₀ – місце розташування подвійного зв'язку.

Залежно від особливостей будови вищі жирні кислоти поділяються на:

- **насичені** (немає подвійних зв'язків – пальмітинова, стеаринова);
- **ненасичені** (є подвійні зв'язки – олеїнова, лінолева, ліноленова, арахідонова).

Подвійні зв'язки в ненасичених вищих жирних кислотах мають цис-конфігурацію.

Якщо до складу триацилгліцеролу входять залишки насичених вищих жирних кислот, триацилгліцероли будуть твердими (тваринного походження). Тваринні жири – тверді речовини. Виняток становить риб'ячий жир, який є рідким.

Якщо до складу триацилгліцеролу входять залишки ненасичених вищих жирних кислот, триацилгліцероли будуть рідкими (рослинного походження). Рослинні жири – це рідини (соняшникова, оливкова, обліпихова олія). Виняток становить кокосове масло, яке є твердим.

Нейтральні жири під впливом кислот, лугів, ферментів (ліпаз) підлягають гідролізу з утворенням трьохатомного спирту – гліцеролу та вищих жирних кислот.

Продуктами лужного гідролізу жирів є солі вищих жирних кислот – мила (*процес омилення*). Солі лужних металів розчинні у воді. Солі лужноземельних і важких металів – нерозчинні у воді.

2) **Складні ліпіди** – складні ефіри вищих жирних кислот з трьохатомним спиртом, які додатково містять й інші групи.

а) **фосфоліпіди** – містять у своєму складі трьохатомний спирт, вищі жирні кислоти, залишок фосфатної кислоти, азотисті основи. До них належать холінфосфати (лецитини), етаноламінфосфати (кефаліни) і серинфосфати.

Фосфати містяться переважно у біологічних мембранах; їх багато в серці, печінці, нервовій тканині людини та тварин, у насінні рослин, яйцях птахів.

б) **гліколіпіди** – містять спирт сфінгозин, вищі жирні кислоти, вуглеводний компонент (цереброзиди, гангліозиди). До складу цереброзидів входить галактоза, а до складу гангліозидів – складний олігосахарид.

Багато гліколіпідів у мозку та в інших нервових тканинах. Гліколіпіди є важливими компонентами плазматичних мембран, головним чином мієлінових оболонок нервових клітин і клітин крові.

3) Ліпоїди.

а) **стероли (стерини) та стероїди.**

Стероли – сполуки, у структурі яких є ядро – циклопентанпергідрофенантрен (рис. 36 а), бічний ланцюг із 8-10 атомів Карбону й одна гідроксильна група в положенні 3.

Головним представником стеролів в організмі тварин і людини є **холестерол** (рис. 36 б). Холестерол має ОН-групу в положенні 3, один подвійний зв'язок (C₅₋₆), тобто він є циклічним одноатомним ненасиченим

спиртом. В організмі людини міститься близько 140 г холестеролу, у вільному вигляді та у вигляді ефірів холестеролу із жирними кислотами (холестеридів).

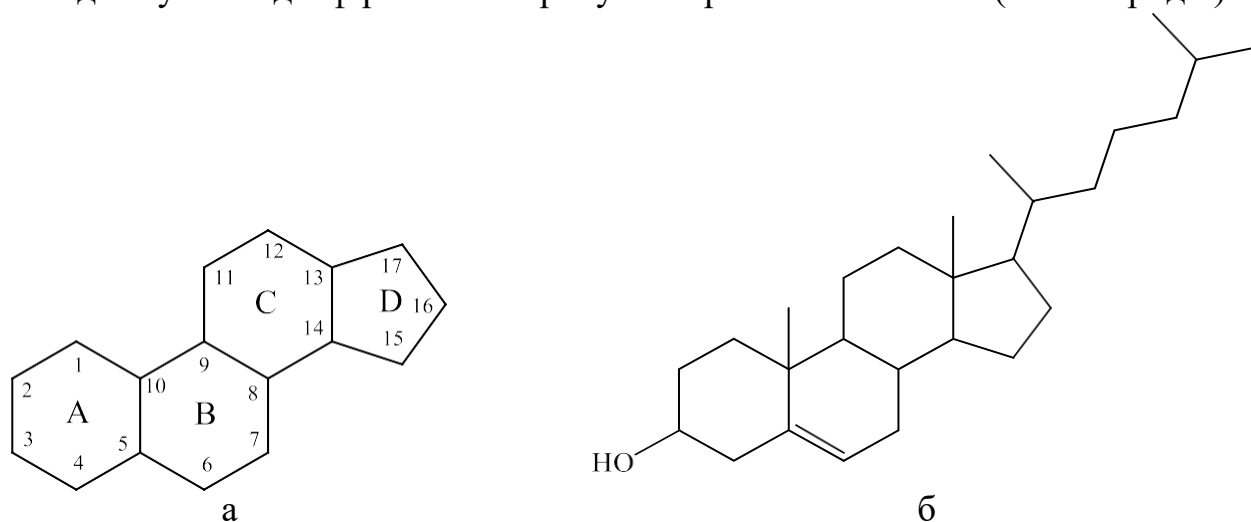


Рисунок 36 – Структура циклопентанпергідрофенантрена (а), структура холестеролу (б)

Холестерол входить до складу плазматичних мембран, а також мембран мітохондрій, до складу ендоплазматичної сітки, але в значно меншій кількості. Холестерол міститься у крові, жовчі. У рослинах виявлені інші стероли – фітостероли, стероїдні глікозиди (сапоніни).

Стериди – сполуки, у структурі яких є ядро – циклопентанпергідрофенантрен, бічний ланцюг із 8-10 атомів Карбону та залишок вищої жирної кислоти в положенні 3 (рис. 37). Це складні естери зоо- та фітостеролів з вищими жирними кислотами. Із вищих жирних кислот до складу стероїдів входять в основному пальмітинова, стеаринова й олеїнова кислоти.

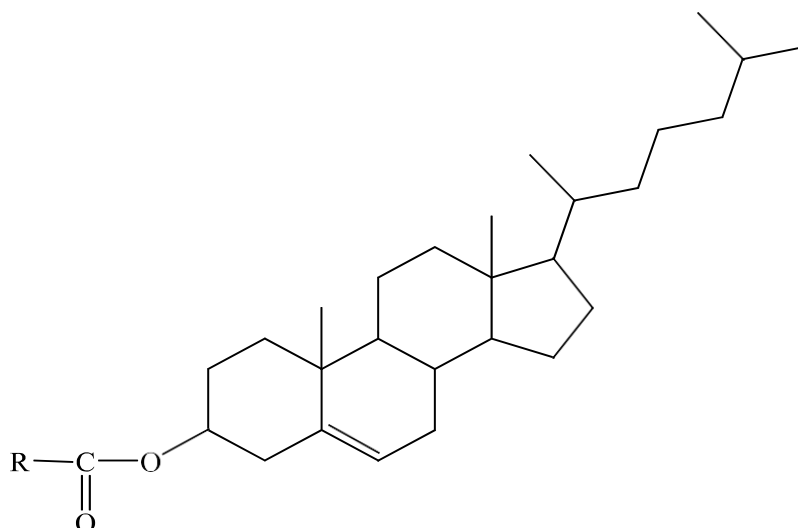


Рисунок 37 – Структура стероїду, де R – залишок вищої жирної кислоти

До стероїдів належать такі біологічно активні речовини, як гормони наднирників (наприклад, кортизол, кортикостерон, альдостерон), статеві гормони (андрогени, естрогени), жовчні кислоти, вітамін D.

б) **каротиноїди; терпеноїди.** Містять у своєму складі карбоновий скелет ізопрену. До них належать: вітамін А, каротиноїди, сквален, ланостерин (обидві сполуки є попередниками при біосинтезі холестеролу), жиророзчинні вітаміни Е та К (ізопреноїди), гормони тваринних тканин – *простагландини*. Терпени входять до складу хлоропластів рослин.

Ліпіди є головними формами акумуляції енергії. Фосфоліпіди, стероли входять до складу біологічних мембран; інші ліпіди виконують роль кофакторів ферментів, переносників електронів, гормонів, емульгуювальних агентів. Триацилгліцероли забезпечують запас енергії в організмах, вони також є ізолюючим матеріалом, що захищає організм від переохолодження. Більшість продуктів харчування містить триацилгліцероли. Воски є джерелом енергії, яка запасається, та водонепроникним покриттям.

? Питання для самоконтролю

1. Наведіть класифікацію ліпідів.
2. Охарактеризуйте особливості будови складових компонентів ліпідів – спиртів, насичених і ненасичених вищих жирних кислот.
3. Охарактеризуйте особливості будови простих (триацилгліцеролів, восків) і складних (фосфоліпідів) ліпідів, стеролів, стеридів.
4. Перелічіть функції ліпідів.

Під час самостійного вивчення теми № 4 необхідно отримати уявлення про спирти, які входять до складу ліпідів; ознайомитися з особливостями будови восків, фосфоліпідів, гліколіпідів, стеринів, стеридів, з'ясувати їх функції; розглянути ліпідні компоненти біологічних мембран.

Завдання для домашнього виконання

1. Розпишіть формули насичених та ненасичених вищих жирних кислот. Покажіть числовий код цих кислот.
2. Напишіть формулу триацилгліцеролу, що містить у своєму складі пальмітинову та дві стеаринові кислоти; триацилгліцеролу, що містить у своєму складі олеїнову, лінолеву, ліноленову кислоти. Дайте їм назви (якщо до складу триацилгліцеролу входять три залишки стеаринової кислоти, назва триацилгліцеролу – тристеарат).
3. Заповніть таблицю 7:

Таблиця 7

Хімічна будова та біологічна роль основних ліпідів

Класи ліпідів	Хімічна будова	Біологічна роль
Триацилгліцероли		
Воски		
Фосфоліпіди		
Стероли		



Лабораторна робота №5

РЕАКЦІЇ НА ЖИРИ ТА ЖИРОПОДІБНІ РЕЧОВИНИ

Мета роботи: у ході виконання дослідів засвоїти властивості простих ліпідів, стеролів, складових компонентів ліпідів і жироподібних речовин.

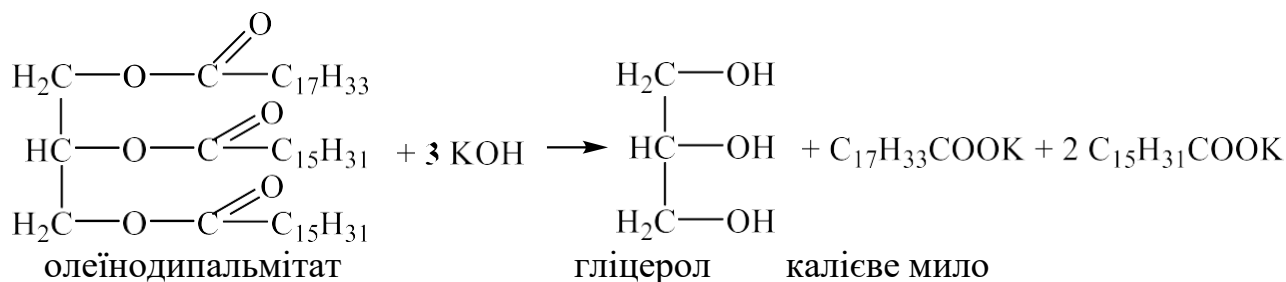
Практичне значення роботи. За допомогою якісних реакцій у біологічних рідинах визначають продукти розщеплення ліпідів.

Матеріали та реактиви: пробірки, колба об'ємом 50 мл, піпетки, сірники, водяна баня, спиртівка; дистильована вода, рослинна олія, 50%-й спиртовий розчин калій гідроксиду, концентрована хлоридна кислота, 5%-й розчин барій хлориду, 5%-й розчин плюмбум ацетату, кристалики калій гідросульфату, гліцерол, хлороформний розчин холестеролу, концентрована сульфатна кислота.

Хід роботи

Дослід 1. Омилення жиру (проводиться попередньо)!!!

Принцип реакції. Жири під впливом лугів гідролізуються з утворенням гліцеролу та калієвого мила.



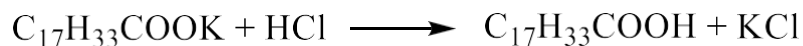
Хід роботи. У колбу об'ємом 50 мл до 1 мл рослинної олії додають 20 мл 50% спиртового розчину калій гідроксиду, суміш перемішують і кип'ятять.

Для того щоб перевірити, чи відбувся гідроліз, відбирають у пробірку декілька крапель розчину та додають 1 мл дистильованої води. При наявності жирових крапель гідроліз продовжують.

Після омилення розчин доводять до об'єму 20 мл дистильованою водою; одержують розчин калієвого мила.

Дослід 2. Одержання вільних жирних кислот

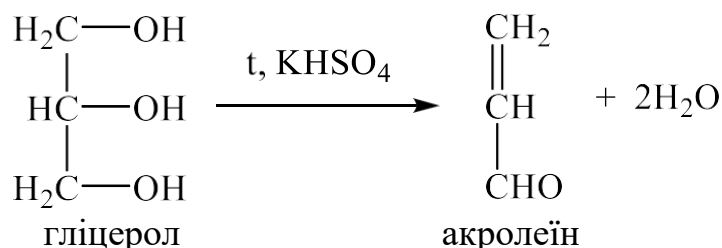
Принцип реакції. При додаванні до калієвого мила концентрованої хлоридної кислоти утворюються вільні вищі жирні кислоти.



Хід роботи: У пробірку до 1 мл розчину калієвого мила додають 0,5 мл концентрованої хлоридної кислоти. Вища жирна кислота збирається на поверхні.

Дослід 3. Якісна реакція на гліцерол (акролейнова реакція)

Принцип реакції. При нагріванні гліцеролу з калій гідросульфатом відбувається дегідратація, у результаті якої гліцерол перетворюється на акролейн – ненасичений альдегід етилового ряду зі специфічним запахом.

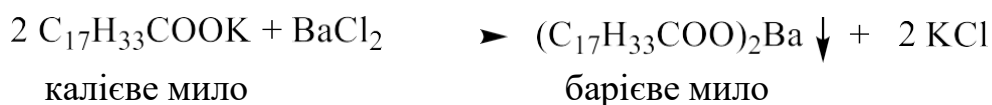


Хід роботи. На дно 2-х пробірок поміщають декілька кристаликів калій гідросульфату, потім в 1-у пробірку вносять 5 крапель розчину калієвого мила, отриманого в 1-му досліді, а в 2-у пробірку – 5 крапель гліцеролу.

Нагрівають дві пробірки в полум'ї пальника. Утворення акролейну визначають за характерним запахом альдегіду в 2-ій пробірці – *запах горілого сала*.

Дослід 4. Одержання нерозчинних мил

Принцип реакції. При додаванні до розчину калієвого мила розчину солей барію та плюмбуму утворюються нерозчинні солі вищих жирних кислот (нерозчинні мила).



Хід роботи. У дві пробірки додають 1 мл розчину калієвого мила та вносять відповідно по 1 мл 5 %-го розчину барій хлориду та 5%-го розчину плюмбум ацетату. Спостерігають утворення нерозчинних мил у вигляді осаду.

Дослід 5. Якісна реакція на холестерол (реакція Сальковського)

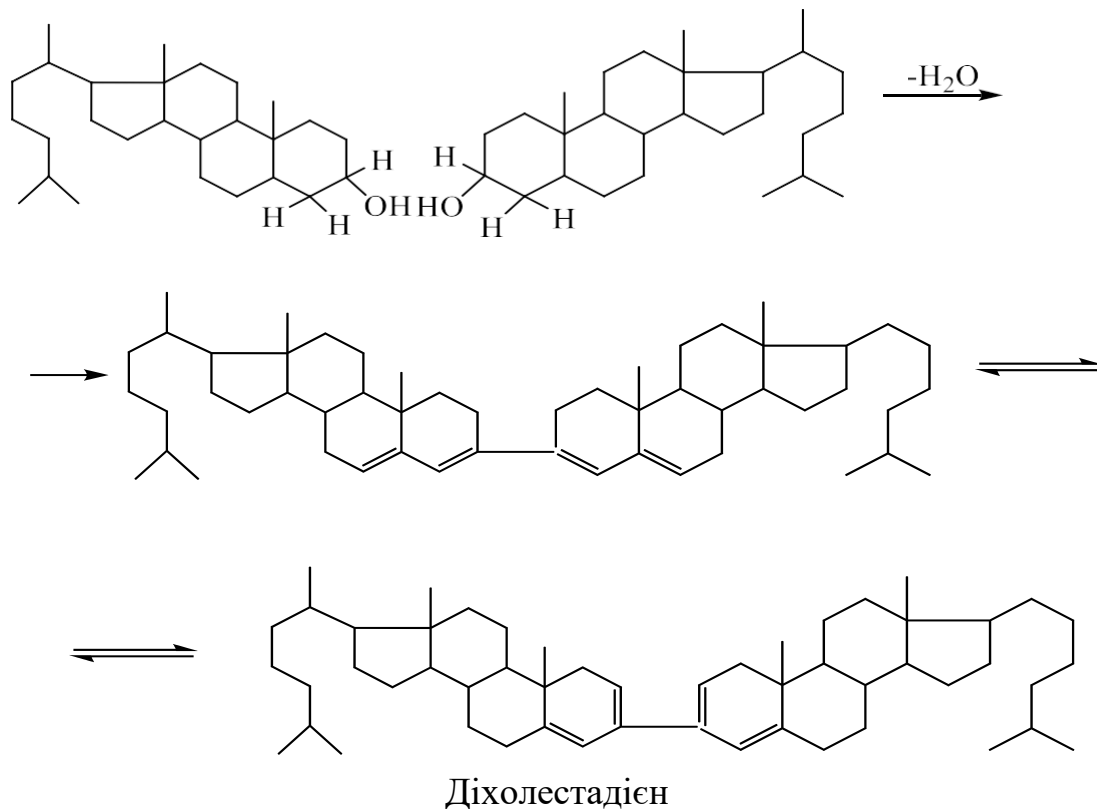
Принцип реакції. Реакції якісного виявлення холестеролу ґрунтуються на його здатності перетворюватися із вторинного спирту на ненасичений вуглеводень.

Розчин холестеролу у хлороформі дає з оцтовим ангідридом і концентрованою сульфатною кислотою червоне забарвлення, яке переходить потім у синє та зелене. Отже, у присутності сульфатної кислоти відбувається дегідратація та окиснення холестеролу. В результаті дві молекули холестеролу, які втрачають дві молекули води, сполучаються між собою біля третього атома Карбону. Ненасичені вуглеводні, які утворилися, зі спряженими подвійними зв'язками дають різні похідні із сульфатною кислотою та оцтовим ангідридом.

Хід роботи. У пробірку вносять 0,5 мл розчину холестеролу у хлороформі, додають 0,5 мл концентрованої сульфатної кислоти й обережно струшують.

Після розшарування фаз спостерігають зміну забарвлення: верхній шар, який містить холестерол у хлороформі, забарвлюється в *пурпурово-червоний колір*, а нижній (шар сульфатної кислоти) – у *темно-червоний колір* із зеленою флуоресценцією.

Забарвлення згодом переходить у *фіолетове*, потім – у *зелене* і, зрештою, – у *жовте*.



Результати дослідів 1-5 запишіть у таблицю 8 за аналогією:

Таблиця 8

Реакції на жири та жироподібні речовини

№ п/п	Назва дослідів	Реактиви, які використовуються	Зміни, що відбуваються під час реакції	Висновок
1	2	3	4	5
1	Омилення жиру (проводиться попередньо)	1) 1 мл рослинної олії; 2) 20 мл 50%-го спиртового розчину калій гідроксиду. Суміш перемішують та кип'ятять.	Прозорий розчин	Утворення калієвого розчину (лужний гідроліз)

За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.

Тема 5 НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ

«Структура цього просто повинна існувати».

Д. Уотсон



Нуклеїнові кислоти – біополімери (полінуклеотиди), мономерами яких є мононуклеотиди.

Нуклеїнові кислоти забезпечують зберігання та передачу генетичної інформації в живій клітині. Нуклеїнові кислоти наявні в організмі у складі полінуклеопротейдів.

Існують два різних типи нуклеїнових кислот – дезоксирибонуклеїнова кислота (далі – ДНК) і рибонуклеїнова кислота (далі – РНК).

ДНК – генетичний матеріал більшості організмів. У прокаріотичних клітинах, окрім основної хромосомної ДНК, часто зустрічаються позахромосомні ДНК – плазміди. В еукаріотичних клітинах основна маса ДНК міститься в клітинному ядрі, де вона зв'язана з білками у хромосомах. Еукаріотичні клітини містять ДНК також у різних органелах (мітохондріях, хлоропластах).

ДНК у клітині представлена у вигляді комплексу з гістонами – білками, багатими на залишки лізину й аргініну. Цей комплекс ДНК із гістонами називається *хроматином*, який, окрім гістонів, містить також кислі білки, фосфопротейди, ферменти й невеликі за розміром ядерні РНК.

При гідролізі нуклеїнових кислот утворюються азотисті основи – пуринові (рис. 38 а, б, в) та піримідинові основи (рис. 38 г, д, е, є), пентози – дезоксирибоза, рибоза (див. рис. 31 а, б) та фосфорна кислота.

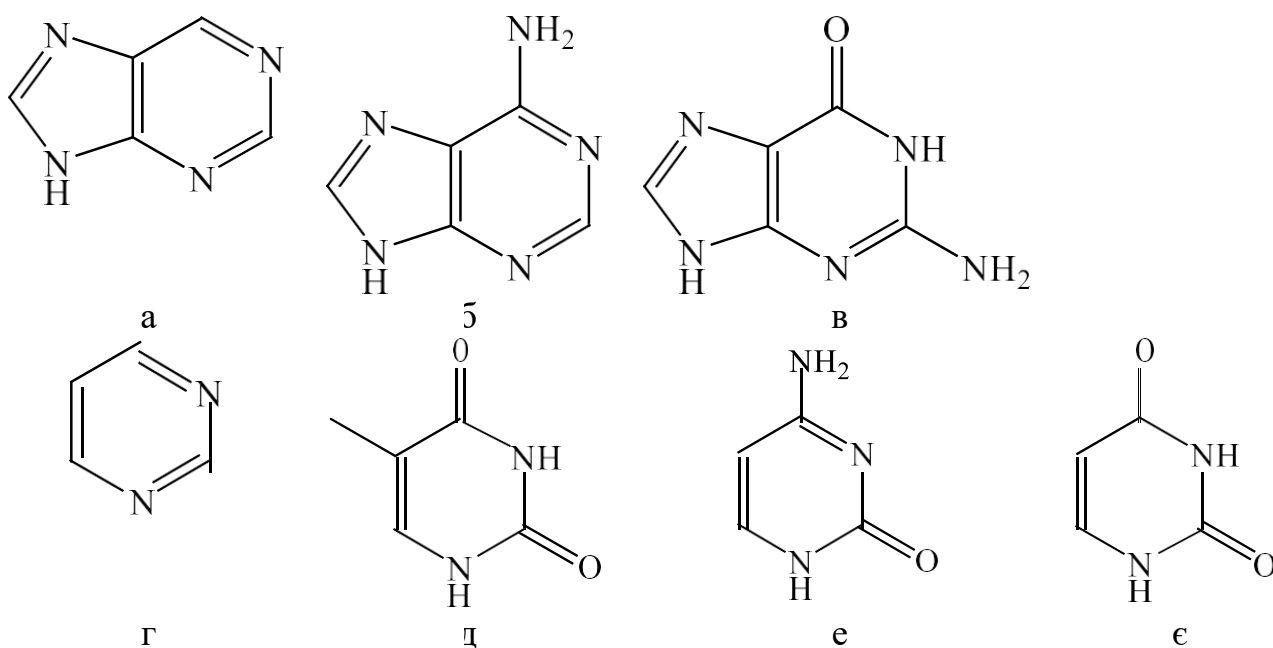


Рисунок 38 – Пуринові та піримідинові основи: пурин (а), аденін – А (б), гуанін – G (в), піримідин (г), тимін – Т (д), цитозин – С (е), урацил – U (є)

Мононуклеозид – це хімічна структура, що складається з вуглеводу та пуринових або піримідинових основ (гетероциклічних основ) (рис. 39 а, б, в).

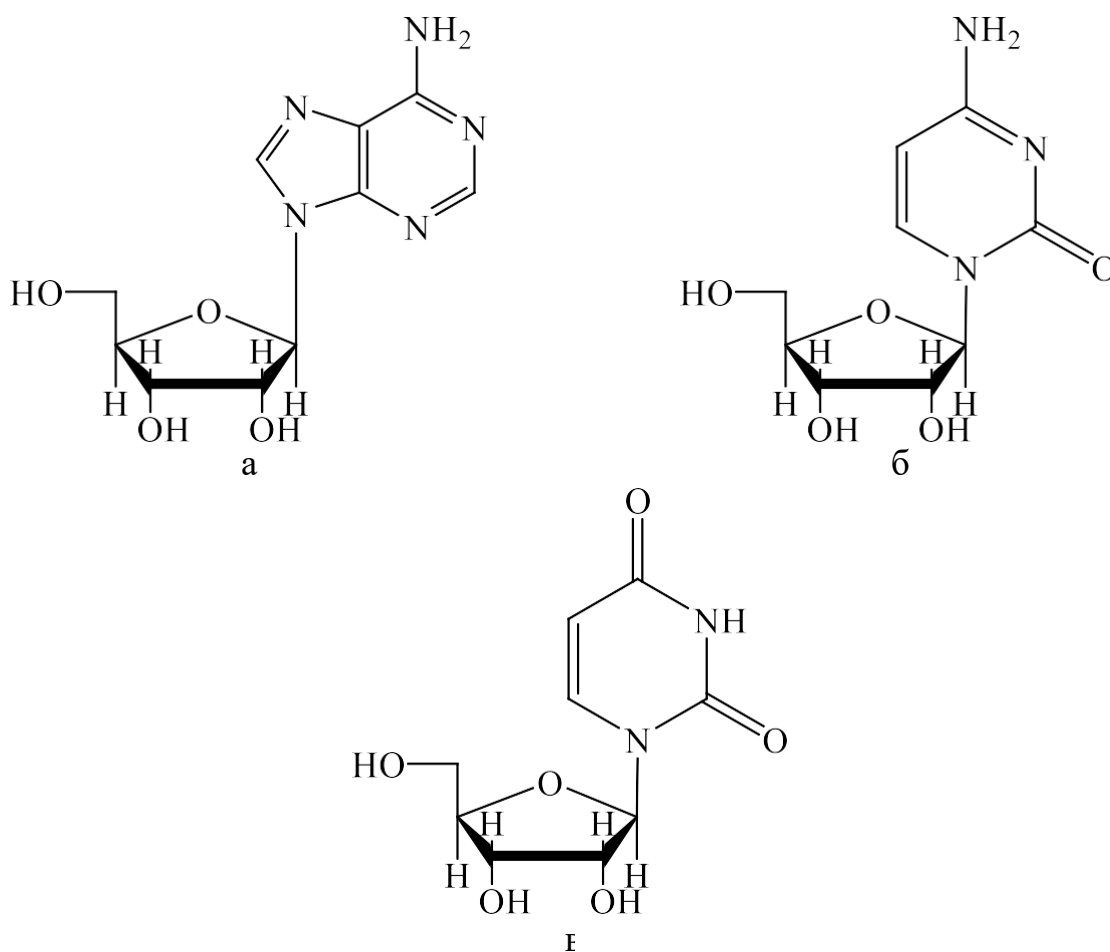


Рисунок 39 – Будова мононуклеозидів: аденозину (а), цитидину (б), уридину (в)

Назви мононуклеозидів утворюються аналогічно до назв глікозидів. Так, нуклеозид, який складається з рибози та урацилу, називається б-урацилрибофуранозидом, нуклеозид з дезоксирибози й аденіну – б-аденіндезоксирібофуранозидом і т.д.

Більш часто використовуються назви, які походять від тривіальних назв відповідних гетероциклічних основ із закінченням *-идин* (*-ідин*) у піримідинових і *-озин* у пуринових нуклеозидів.

У назвах дезоксирибонуклеозидів додатково вводиться префікс *дезокси-*: дезоксиаденозин, дезоксицитидин. Виняток становить назва нуклеозиду, що складається з дезоксирибози та тиміну, – тимідин (замість дезокситимідину).

Мононуклеотид – це структурна одиниця нуклеїнових кислот, що складається із залишків мононуклеозиду та фосфатної кислоти (рис. 40).

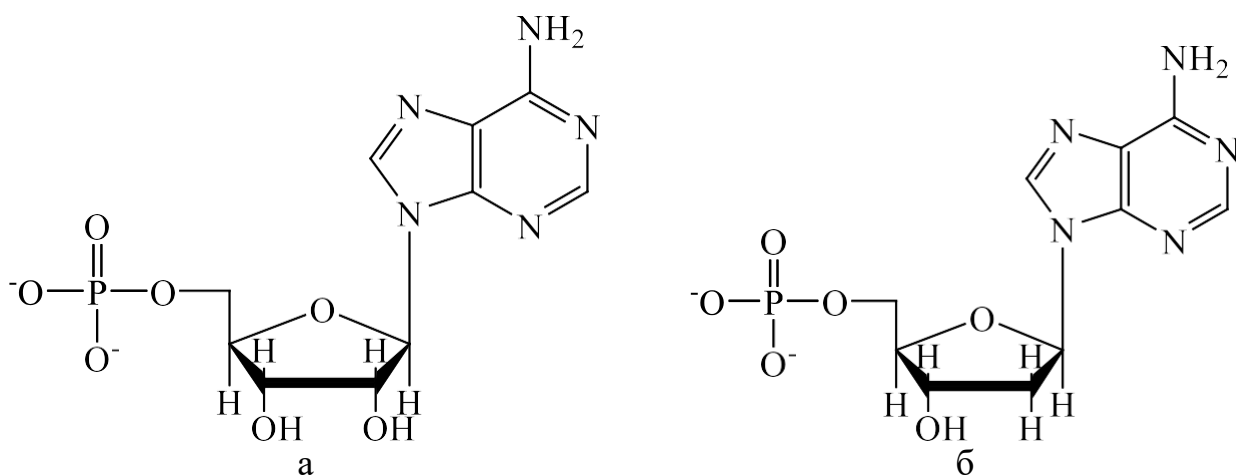


Рисунок 40 – Будова мононуклеотидів: рибонуклеотиду (а), дезоксирибонуклеотиду (б)

Мононуклеотиди входять до складу коферментів НАД⁺, НАДФ⁺, ФАД⁺, ФМН.

Первинна структура нуклеїнових кислот – це певна послідовність розташування мононуклеотидних ланок у полінуклеотидному ланцюзі (рис. 41).

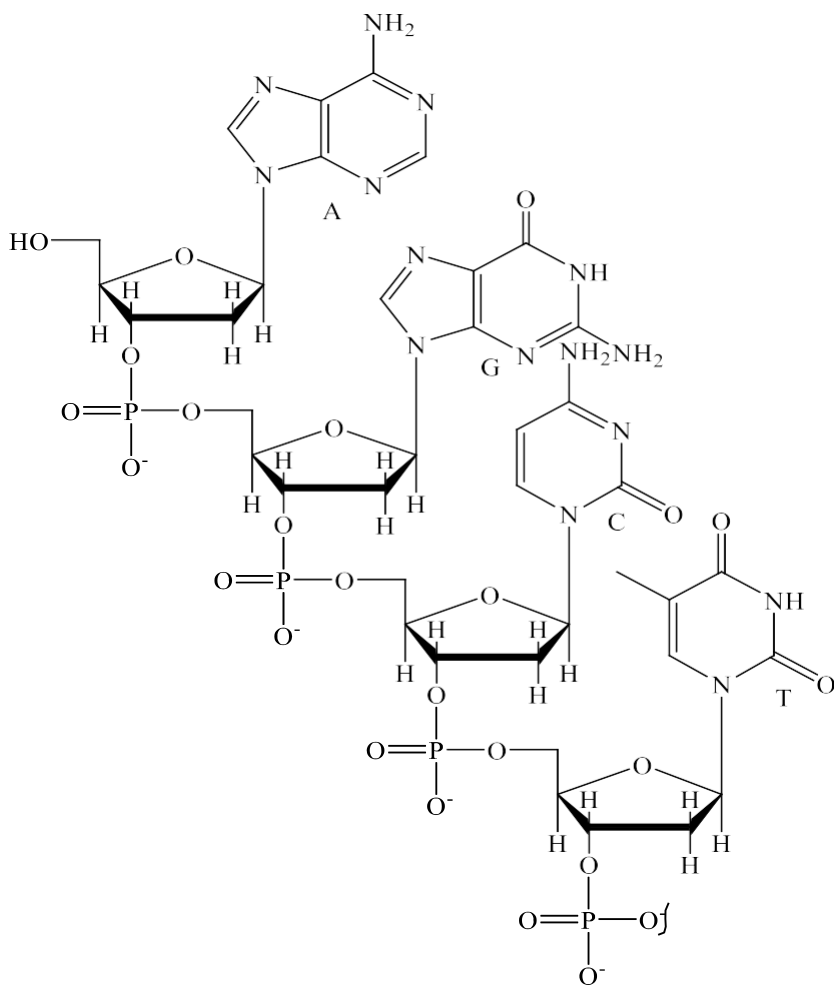


Рисунок 41 – Фрагмент первинної структури ДНК

Єдиним типом зв'язків між мононуклеотидами є 3,5-фосфодієфірний зв'язок, який сполучає 3-гідроксильну групу пентози одного мононуклеотиду з 5-гідроксильною групою пентози іншого мононуклеотиду.

Завдяки іонізації фосфатних груп нуклеїнові кислоти несуть великий негативний заряд і можуть утворювати комплекси з основними (позитивно зарядженими) білками.

Вторинна структура ДНК – структура, що складається із двох антипаралельних полінуклеотидних ланцюгів, які утворюють подвійну спіраль (модель Уотсона та Кріка, 1953) (рис. 42).

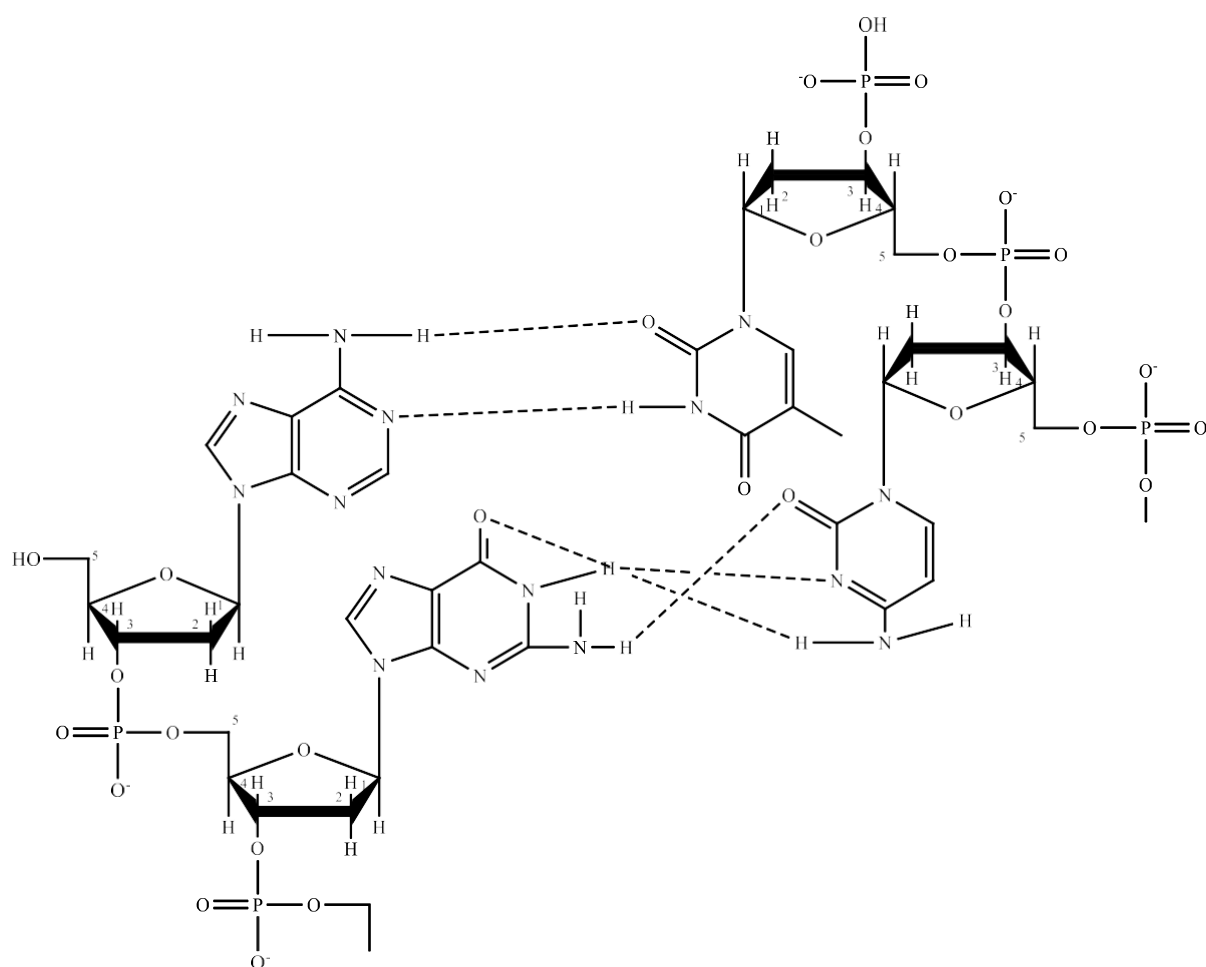


Рисунок 42 – Фрагмент вторинної структури ДНК

Конфігурація подвійної спіралі утримується водневими зв'язками, що виникають між пуриновими й піримідиновими основами двох полінуклеотидних ланцюгів ДНК.

Водневі зв'язки виникають між пуриною та піримідиною основами. Ці основи утворюють *комплементарні пари*. Між аденіном і тиміном утворюються два водневих зв'язки (рис. 43 а); між гуаніном і цитозином – три водневих зв'язки (рис. 43 б).

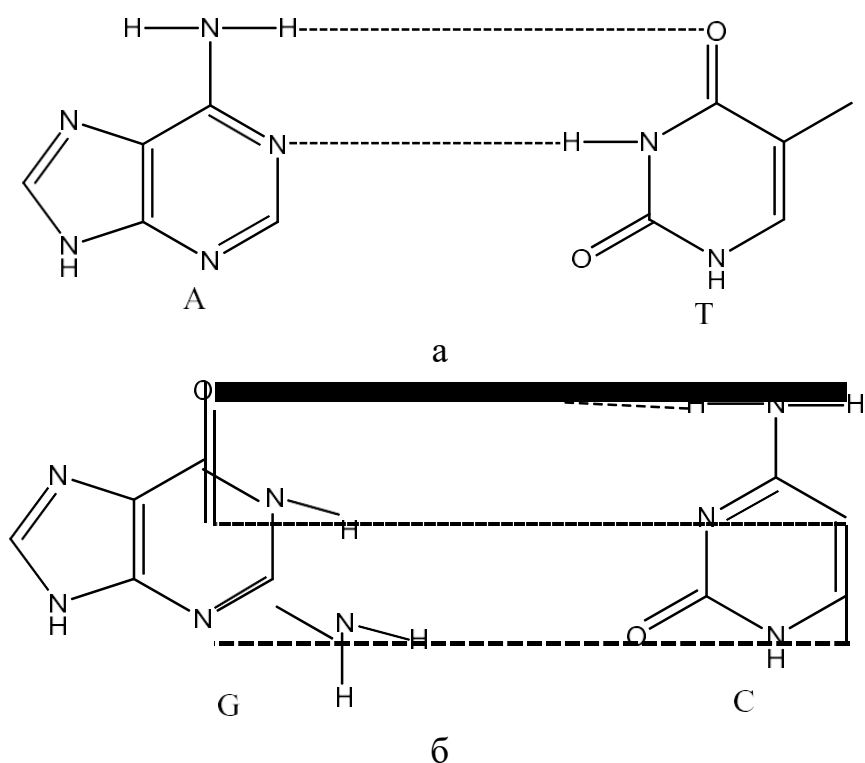


Рисунок 43 – Комплементарні пари: між аденіном та тиміном (а), між гуаніном та цитозином (б)

Правила Чаргаффа

1. Вміст аденіну дорівнює вмісту тиміну, а вміст гуаніну – кількості цитозину:

$$A = T, G = C$$

2. Кількість пуринових основ дорівнює кількості піримідинових основ:

$$A + G = T + C$$

3. Кількість основ з 6 аміногруп дорівнює кількості основ з 6 кетогруп:

$$A + C = G + T$$

Для кожного типу ДНК сумарний вміст гуаніну та цитозину не дорівнює сумарному вмісту аденіну й тиміну, тобто $(G + C) / (A + T)$, як правило, відрізняється від 1 (може бути як > 1 , так і < 1). За цією ознакою розрізняють два основних типи ДНК: АТ-тип з переважним вмістом аденіну й тиміну і GC-тип з переважним вмістом гуаніну та цитозину.

Коефіцієнт специфічності – величина відношення суми вмісту гуаніну та цитозину до суми вмісту аденіну й тиміну, що характеризує нуклеотидний склад даного виду ДНК. Кожна ДНК має характерний коефіцієнт специфічності, який може змінюватися в межах від 0,3 до 2,8.

Третинна структура ДНК – це суперспіраль або кільце (бактерії, віруси).

Фізико-хімічні властивості ДНК.

1) розчини ДНК виділяють з великою обережністю при $pH = 7$ та $t = 20-25^{\circ}C$; вони мають високу в'язкість;

2) висока температура, екстремальні значення рН зумовлюють денатурацію чи розплітання вторинної структури ДНК. При цьому порушуються водневі зв'язки. При денатурації ковалентні зв'язки в основі молекули не розриваються;

3) для кожного виду ДНК характерна певна температура денатурації (точка плавлення). Чим більше в ДНК пар ($G \equiv C$) з потрійними зв'язками, тим вищою є точка плавлення цієї ДНК;

4) препарати ДНК, які містять пари $G \equiv C$, мають більшу густину, ніж препарати ДНК з $A = T$;

5) велика молекулярна маса ДНК і крихкість молекули;

6) нуклеїнові кислоти повертають площину поляризованого світла (оптична активність ДНК); питома оптична активність визначається за формулою:

$$[\alpha]_{\beta} = (100 \cdot \alpha) / (l \cdot c),$$

де α – величина повороту, отриманого у ході дослідів;

l – довжина поляриметричної трубки;

c – концентрація

Аденозинтрифосфат (АТФ) – універсальний акумулятор енергії в живих організмах і субстрат для біосинтезу нуклеїнових кислот (рис. 44).

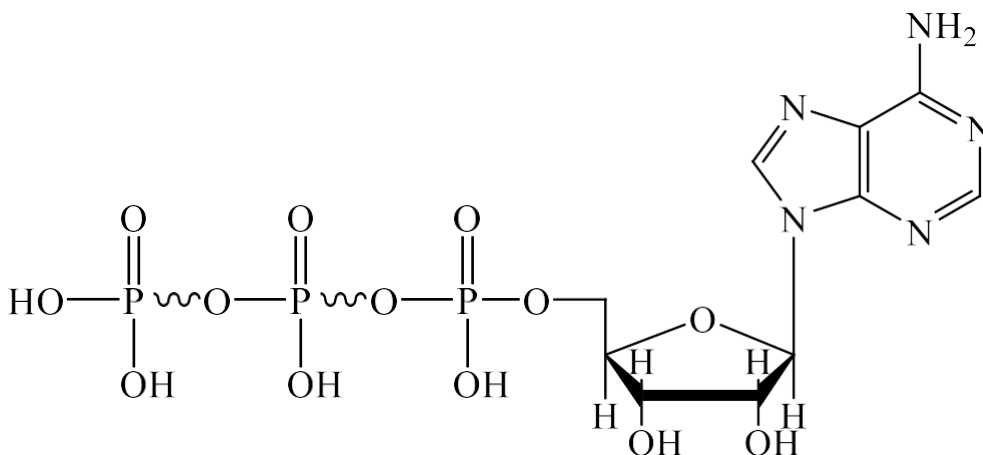


Рисунок 44 – Структура аденозинтрифосфату (АТФ)

У клітинах енергія, накопичена у вигляді АТФ, використовується в багатьох процесах: різні форми руху, внутрішньоклітинне транспортування іонів та інших речовин, біосинтез білків, нуклеїнових кислот, жирних кислот, ліпідів, вуглеводів тощо.

Циклічний аденозинмонофосфат (цАМФ) – посередник у здійсненні функцій різних гормонів та інших біологічно активних сполук (рис. 45); цАМФ утворюється із внутрішньоклітинного АТФ.

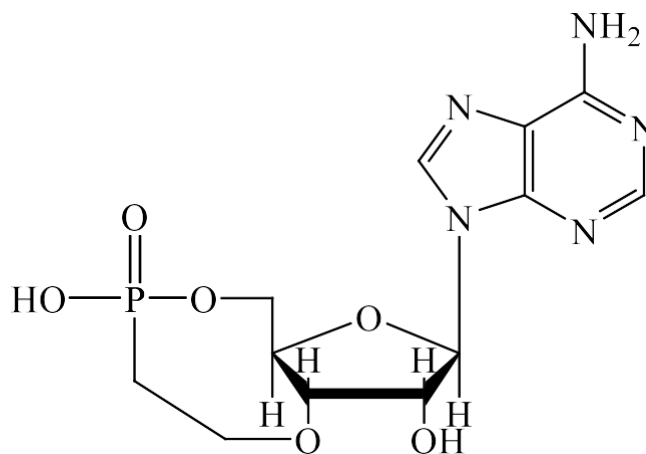


Рисунок 45 – Структура циклічного аденозинмонофосфату (цАМФ)

У клітинах є матричні (інформаційні) РНК (мРНК або іРНК), рибосомні РНК (рРНК), транспортні РНК (тРНК). Молекули РНК складаються з одного полінуклеотидного ланцюга, що може мати дволанцюгові ділянки, стабілізовані водневими зв'язками.

мРНК міститься в ядрі, цитоплазмі. Для мРНК характерна первинна та вторинна структури, основу яких становлять внутрішньомолекулярні взаємодії (водневі зв'язки виникають між різними ділянками однієї й тієї ж молекули, при цьому утворюється лінійна молекула).

мРНК використовується у ході трансляції як матриця для синтезу білків; відіграє важливу роль у «прояві» (експресії) генів.

тРНК міститься в цитоплазмі. Складається з одного ланцюга, має конформацію «листка конюшини». Забезпечує транспортування амінокислот до місця синтезу білків.

рРНК міститься в рибосомах. Являє собою велику субодиницю рибосоми, має форму глобулоподібно закрученого одинарного ланцюга однієї молекули РНК. Забезпечує зчитування інформації з мРНК за допомогою адапторних молекул тРНК, каталіз утворення пептидних зв'язків між приєднаними до тРНК амінокислотами.

? Питання для самоконтролю

1. Що таке нуклеопротейди? Поясніть біологічну роль нуклеопротейдів та їх простетичної групи – нуклеїнових кислот.
2. Наведіть формули азотистих основ, вуглеводів, які входять до складу ДНК і РНК відповідно.
3. Охарактеризуйте будову моонуклеозиду та моонуклеотиду.
4. Охарактеризуйте первинну, вторинну та третинну структуру нуклеїнових кислот.
5. Сформулюйте правила Чаргаффа. Назвіть фізико-хімічні властивості ДНК.
6. Охарактеризуйте будову АТФ і цАМФ. Яке їх значення?
7. Назвіть різновиди РНК. Поясніть роль кожного з них.

Під час самостійного вивчення теми № 5 необхідно розглянути будову нуклеотидних ланцюгів ДНК і РНК, нуклеозидфосфатів, з'ясувати їх фізіологічну роль; ознайомитися з будовою та функціями АТФ; усвідомити сутність розкладання та синтезу пуринових і піримідинових нуклеотидів.

Завдання для домашнього виконання

1. Опишіть схематично методи виділення нуклеїнових кислот.
2. Визначте особливості вторинної структури нуклеїнових кислот. Напишіть, як утворюються антипаралельні ланцюги в молекулі ДНК.
3. Опишіть типи РНК, їх будову, перелічіть біологічні функції та вкажіть локалізацію в клітині (мРНК, тРНК, рРНК). Подайте дані у вигляді таблиці.



Лабораторна робота №6

РЕАКЦІЇ НА СКЛАДОВІ КОМПОНЕНТИ НУКЛЕОПРОТЕЇДІВ ДРІЖДЖІВ

Мета роботи: виявити особливості складових компонентів нуклеопротеїдів.

Практичне значення роботи. У біохімічних дослідженнях кольорові реакції на складові компоненти нуклеопротеїдів проводяться для їх ідентифікації та кількісного визначення.

Матеріали і реактиви: штатив для пробірок, пробірки, термостат, пісочна баня, водяна баня; дріжджі, 5%-й розчин сульфатної кислоти, 20%-й розчин натрій гідроксиду, 1%-й розчин купрум сульфату, концентрований розчин амоній гідроксиду, 2%-й амонійний розчин аргентум нітрату, молібденовий реактив, 1%-й розчин дифеніламіну.

Хід роботи

Дослід 1. Гідроліз нуклеопротеїдів дріжджів (проводиться попередньо!)

Хід роботи. У пробірку із пробкою та вставленою довгою скляною трубкою, що являє собою зворотний холодильник, вносять близько 1 г дріжджів та додають 10-15 мл 5%-го розчину сульфатної кислоти. Нагрівають на піщаній бані протягом 45 хв. Після охолодження гідролізат фільтрують. Отримують гідролізат дріжджів.

Дослід 2. Виявлення в гідролізаті дріжджів білка за допомогою біуретової реакції

Хід роботи. У пробірку до 5 крапель гідролізату дріжджів доливають 10 крапель 20%-го розчину натрій гідроксиду, потім 2 краплі 1%-го розчину

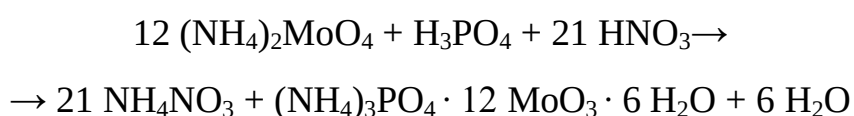
купрум сульфату. Спостерігають появу *рожевого* або *рожево-фіолетового* забарвлення.

Дослід 3. Виявлення в гідролізаті дріжджів пуринових основ

Хід роботи. У пробірку до 10 крапель гідролізату дріжджів додають 10 крапель концентрованого розчину амоній гідроксиду, потім 10 крапель 2%-го амонійного розчину аргентум нітрату. Через 3-5 хв утворюється *пухкий осад солей пуринових основ*.

Дослід 4. Виявлення в гідролізаті дріжджів фосфорної кислоти

Принцип реакції. Метод ґрунтується на взаємодії фосфорної кислоти з молібденовим реактивом. У результаті утворюється забарвлена сполука – фосфорна сіль амоній молібдату.



Хід роботи. У пробірку до 3-5 крапель гідролізату дріжджів додають 20 крапель молібденового реактиву та кип'ятять на водяній бані протягом декількох хвилин. Розчин набуває жовтуватого забарвлення. При охолодженні утворюється *осад жовтого кольору*.

Дослід 5. Виявлення в гідролізаті дріжджів рибози та дезоксирибози

Хід роботи. У пробірку до 5 крапель гідролізату дріжджів додають 20 крапель 1%-го розчину дифеніламіну та кип'ятять на водяній бані протягом 15 хв. Спостерігають появу *синьо-зеленого* забарвлення.

Результати дослідів 1-5 запишіть у таблицю 9 за аналогією:

Таблиця 9

Реакції на складові компоненти нуклеопротейдів дріжджів

№ п/п	Назва дослідів	Реактиви, які використовують	Зміни, що відбуваються під час реакції	Висновок
1	2	3	4	5
1	Гідроліз нуклеопротейдів дріжджів (проводиться попередньо)	1) 1 г дріжджів; 2) 10-15 мл 5%-го розчину сульфатної кислоти. Нагрівають на піщаній бані протягом 45 хв.	Прозорий розчин жовтуватого забарвлення	Утворення гідролізату дріжджів

За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.

Тема 6 БІОХІМІЯ ФЕРМЕНТІВ

«Сучасна біологія говорить мовою ензимології».

О.Є. Браунштейн



Ферменти – специфічні органічні каталізатори, що синтезуються живими клітинами і прискорюють протікання біохімічних реакцій в організмі. Вони є білками (Дж. Самнер, 1926) з різними молекулярними масами: від 9 кДа (АОМ) до 1000 кДа. Кожен фермент каталізує певну хімічну реакцію.

Ферменти синтезуються клітинами організму, що можуть містити до 1000 різних ферментів; виявляють високу ефективність і специфічність; діють у звичайних умовах ($t = 36^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 7$, але є деякі винятки).

Ферменти містяться в ядрі, у внутрішній мембрані мітохондрій, лізосомах, цитоплазмі, матриксі мітохондрій, плазматичній мембрані.

За своєю хімічною природою ферменти бувають *простими* та *складними*.

Прості ферменти складаються тільки з білкової частини – *апоферменту*.

Складні ферменти складаються з білкової частини – *апоферменту* та небілкової частини – *коферменту* (вітаміни, нуклеотиди, залізорпорфіринові структури та ін.); складні ферменти називаються *холоферментами*.

Коферменти можуть бути переносниками Гідрогену й електронів; переносниками угруповань; речовинами, які беруть участь у синтезі та розриві карбон-карбонових зв'язків (C–C).

У структурі ферменту виділяють такі центри:

1) **активний центр ферменту** – центр, утворений із залишків амінокислот, що знаходяться у складі різних ділянок поліпептидного ланцюга або різних поліпептидних ланцюгів, просторово зближених (рис. 46). Утворюється на рівні третинної структури білка-ферменту.

Активний центр має у своїй структурі *субстратний (адсорбційний)* та *каталітичний центри*. Відповідно визначає специфічність ферменту й каталітичну активність.

Субстратний (адсорбційний) центр ферменту – область активного центру ферменту, що безпосередньо бере участь у процесах зв'язування субстрату з ферментом та передачі цього комплексу в зручному положенні на каталітичний центр (рис. 46).

Субстрат – речовина, на яку діє фермент. Субстрат прикріплюється до ферменту за рахунок слабких типів зв'язків між певними бічними радикалами амінокислотних залишків і відповідними групами молекули субстрату, тому реакція є *зворотною*.

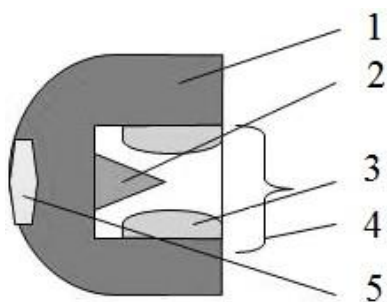


Рисунок 46 – Будова ферменту: 1 – апофермент; 2 – каталітичний центр; 3 – субстратний центр; 4 – активний центр; 5 – алостеричний центр

Структура субстратного (адсорбційного) центра визначає *субстратну специфічність ферменту*.

Каталітичний центр ферменту – область активного центру ферменту, що безпосередньо бере участь у хімічних перетвореннях субстрату (рис. 46). Формується каталітичний центр за рахунок радикалів 2-х або 3-х амінокислот, розташованих у різних місцях поліпептидного ланцюга ферменту, але просторово зближених між собою за рахунок вигинів цього ланцюга.

2) **алостеричний центр ферменту** – область ферменту, яка знаходиться поза активним центром ферменту і де відбувається зв'язування слабкими типами зв'язків (зворотно) з тією чи іншою речовиною. Це зв'язування зумовлює конформаційну перебудову молекули ферменту, що поширюється й на активний центр, полегшуючи чи ускладнюючи (сповільнюючи) його роботу. Відповідно такі речовини називаються *алостеричними активаторами* або *алостеричними інгібіторами* даного ферменту.

Алостеричні центри знайдені не у всіх ферментів. Вони є у ферментах, робота яких може змінюватися під дією гормонів, медіаторів та інших біологічно активних речовин.

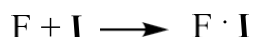
Інгібітори – речовини, що знижують активність ферментів і сповільнюють хімічні реакції.

Розрізняють *оборотне* та *необоротне інгібування*.

Якщо інгібітор зв'язується з молекулою ферменту слабкими зв'язками, то такий інгібітор можна легко відділити; активність ферменту відновлюється:



Якщо інгібітор зв'язується з молекулою ферменту міцними ковалентними зв'язками, то відбувається необоротне пригнічення активності ферменту; активність ферменту не відновлюється:



Необоротне інгібування відбувається при денатурації ферментів-білків під дією концентрованих кислот, лугів, солей важких металів, ультрафіолетового випромінювання.

Деякі інгібітори утворюють міцні зв'язки, що не дисоціюють, з функціональними групами в активних центрах ферментів. Наприклад, ціаніди зв'язуються із Ферумом у ферментах-гемопротейнах. Фосфороорганічні отрути (зарин, табун) утворюють міцні зв'язки із залишками серину, треоніну, що входять до складу багатьох ферментів.

Оборотне інгібування буває *конкурентне* та *неконкурентне*.

Конкурентне інгібування відбувається в присутності речовини, яка структурно подібна до субстрату та взаємодіє з активним центром ферменту.

Наприклад, маленова кислота є конкурентним інгібітором сукцинатдегідрогенази, оскільки подібна до бурштинової кислоти (також містить дві карбоксильні групи); тому маленова кислота легко зв'язується з активним центром сукцинатдегідрогенази, витісняючи звідти субстрат – бурштинову кислоту. Однак фермент не здатний це зробити з маленовою кислотою, яка коротша на 1 атом Карбону. Якщо додати маленову кислоту в концентрації, що перевищує концентрацію бурштинової кислоти, реакція припиниться, оскільки малонат блокує активний центр сукцинатдегідрогенази.

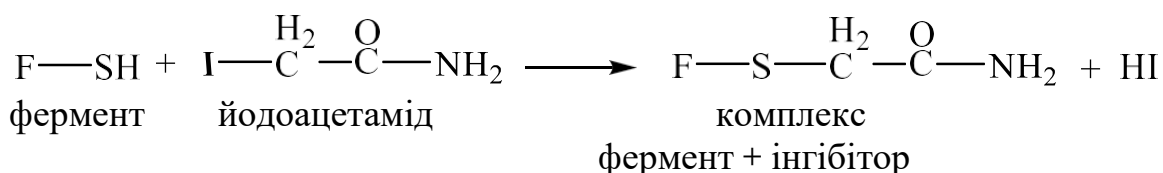
Конкурентні інгібітори досить часто використовують як лікарські засоби.

Наприклад, антимікробні препарати сульфаніламідів є структурними аналогами п-амінобензенової кислоти, з якої мікроорганізми синтезують необхідний їм для розмноження вітамін В₉ (фолієву кислоту). Багато антибіотиків конкурентно пригнічують синтез білка мікроорганізмами чи реплікацію ДНК. Протипухлинні препарати (метотрексат, антагоніст вітаміну В₉) блокують реплікацію ДНК у пухлинних клітинах.

Неконкурентні інгібітори не мають структурної подібності із субстратом і приєднуються не до активного центру, а до інших частин ферменту (наприклад, до алостеричного центру). Інгібування відбувається внаслідок руйнування або необоротної хімічної модифікації функціональних груп ферментів.

Наприклад,

а) алкілюючі агенти (йодоацетамід) необоротно реагують з SH-групами ферментів:



б) препарати фосфорорганічних сполук – це високотоксичні отрути для комах і теплокровних тварин. Вони взаємодіють з гідроксигрупою серину в активному центрі ферменту ацетилхолінестерази.

в) тетурам – інгібітор ацетальдегіддегідрогенази, використовується при лікуванні алкоголізму.

Отже, розрізняють такі види інгібування (рис. 47).



Рисунок 47 – Види інгібування активності ферментів

Механізм дії ферментів та основні етапи ферментативної реакції

Схематичне зображення механізму дії ферментів та основних етапів ферментативної реакції подано на рис. 48.

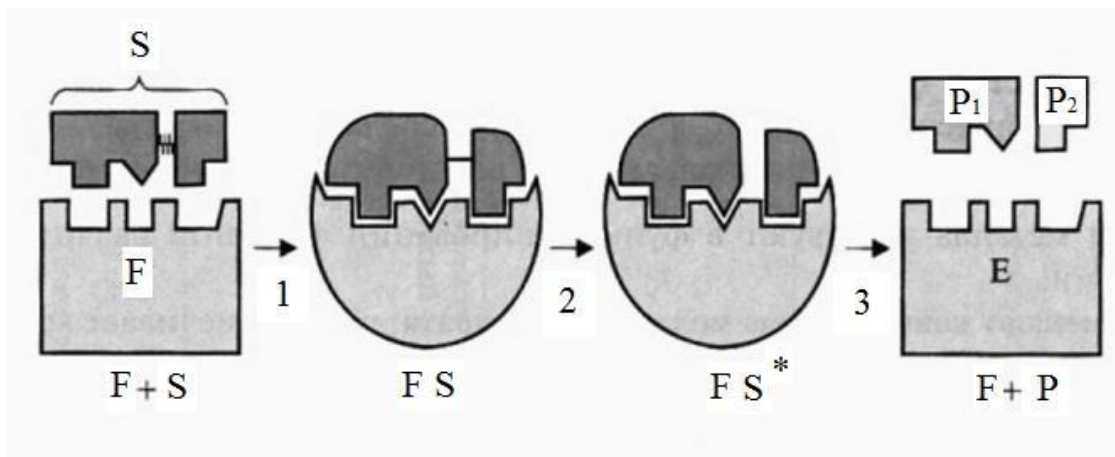


Рисунок 48 – Схематичне зображення механізму дії ферментів та основних етапів ферментативної реакції (1, 2, 3 етапи)

1) На 1-му етапі відбувається сорбція субстрату на субстратному (адсорбційному) центрі ферменту, що супроводжується утворенням зворотного фермент-субстратного комплексу ($F \cdot S$) (рис. 48).

Субстрат піддається конформаційній перебудові, що відбувається за рахунок виникнення слабких типів зв'язків між субстратом і субстратним (адсорбційним) центром ферменту. У результаті цього молекула субстрату подається на каталітичний центр у найбільш зручному для нього положенні.

Кінетична характеристика 1-го етапу ферментативного каталізу – константа Міхаеліса (K_m).

2) На 2-му етапі відбуваються хімічні перетворення молекули субстрату у складі фермент-субстратного комплексу ($F \cdot S$) з утворенням комплексу ферменту з хімічно перетвореним субстратом ($F \cdot S^*$).

На 2-му етапі розриваються одні ковалентні зв'язки й утворюються нові. Цей етап протікає значно повільніше, ніж 1-й і 3-й. Швидкість 2-го етапу визначає швидкість усієї ферментативної реакції. Швидкість ферментативного

процесу в цілому характеризується величиною k_{+2} , що майже завжди є найменшою з усіх констант швидкостей. Цей етап незворотний. Кінетична характеристика 2-го етапу ферментативного каталізу – максимальна швидкість ($V_{\max}$).

3) На 3-му етапі відбувається десорбція продукту реакції та вивільнення ферменту в незмінному вигляді. Цей етап протікає легше, ніж 2-й і так само є незворотним.

Кінетика ферментативної реакції (ферментативного каталізу)

Етапи й кінетику ферментативної реакції (ферментативного каталізу) подано на рис. 49.

Кожен етап взаємодії субстрату з ферментом характеризується своїми константами швидкості як прямої, так і зворотної реакції (рис. 49).

Будь-яка біохімічна реакція характеризується швидкістю процесу.

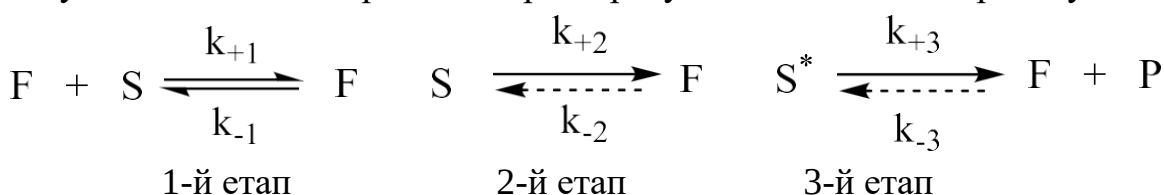


Рисунок 49 – Етапи й кінетика ферментативної реакції (ферментативного каталізу): F – фермент; S – субстрат; $F \cdot S$ – фермент-субстратний комплекс; $F \cdot S^*$ – активний фермент-субстратний комплекс; P – продукт; k_{+1} , k_{+2} , k_{+3} – константи швидкості 1, 2, 3 етапів прямої реакції; k_{-1} , k_{-2} , k_{-3} – константи швидкості 1, 2, 3 етапів зворотної реакції

Швидкість хімічної реакції пропорційна концентрації речовин, що реагують (закон діючих мас). Цей закон також застосовують і для ферментативних реакцій, але з певними обмеженнями.

Зі збільшенням концентрації субстрату [S] зростає швидкість (V) ферментативної реакції (рис. 50).

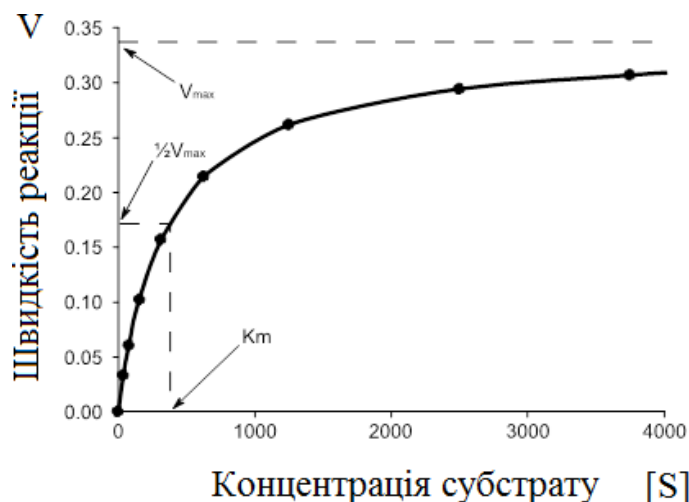


Рисунок 50 – Залежність швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату (крива Міхаеліса)

При постійних кількостях ферменту швидкість реакції дійсно пропорційна концентрації субстрату, але тільки в зонах низьких концентрацій. При високих концентраціях субстрату відбувається *насичення ферменту субстратом*, тобто настає момент, коли всі молекули ферменту задіяні в каталітичному процесі та приросту швидкості реакції не відбувається.

Швидкість реакції виходить на максимальний рівень ($V_{\max}$) і надалі вже не залежить від концентрації субстрату. Залежність швидкості реакції від концентрації субстрату необхідно визначати в частині кривої, нижчій від $V_{\max}$. Технічно легше визначити не максимальну швидкість, а $\frac{1}{2} V_{\max}$. Цей параметр є головною характеристикою ферментативної реакції, він дає можливість визначити константу Міхаеліса (K_m) (рис. 50).

Рівняння залежності швидкості ферментативної реакції від концентрації субстрату має вигляд:

$$V = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_m + [S]}, \quad (1)$$

де V – швидкість реакції; $V_{\max}$ – максимальна швидкість; K_m – константа Міхаеліса; S – концентрація субстрату

$$V = k_{+1} \cdot [F] \cdot [S] \quad (2)$$

Константа Міхаеліса (K_m) – відношення суми констант швидкості розкладу фермент-субстратного комплексу до константи швидкості утворення фермент-субстратного комплексу.

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} \quad (3)$$

$$K_m \approx \frac{k_{-1}}{k_{+1}} = K_s \quad (4)$$

Ця константа визначає спорідненість ферменту із субстратом. Чим нижча константа Міхаеліса-Ментена, тим вища спорідненість ферменту із субстратом і тим вища швидкість ферментативної реакції. За величиною K_m каталітичні реакції можна розподілити на *швидкі* ($K_m \cdot 10^{-6}$ моль/л та менше) та *повільні* ($K_m \cdot 10^{-2}$ до 10^{-6} моль/л).

Константа Міхаеліса (K_m) прирівнюється до константи дисоціації (K_s).

Розрізняють субстратну специфічність і специфічність дії.

Субстратна специфічність – здатність ферменту взаємодіяти лише з одним або декількома певними субстратами.

1) *абсолютна субстратна специфічність* – здатність ферменту каталізувати перетворення тільки одного, строго визначеного субстрату (лактаза, сахараза, мальтоза, уреаза);

2) *відносна субстратна специфічність* – здатність ферменту каталізувати перетворення декількох субстратів, подібних за будовою (пептидаза, естераза, глікозидаза);

3) *стереоспецифічність* – здатність ферменту каталізувати перетворення визначених стереоізомерів субстрату (лактатдегідрогеназа).

Специфічність дії – це здатність ферменту каталізувати тільки визначений тип хімічної реакції.

Вплив чинників (температури, рН середовища) на кінетику ферментативної реакції

Зі збільшенням температури каталітична активність ферменту зростає (рис. 51). Максимальна каталітична активність відзначається при $t = 37-38^{\circ}\text{C}$ (оптимум температури для більшості ферментів). Досягнувши $t = 40^{\circ}\text{C}$, каталітична активність знижується.

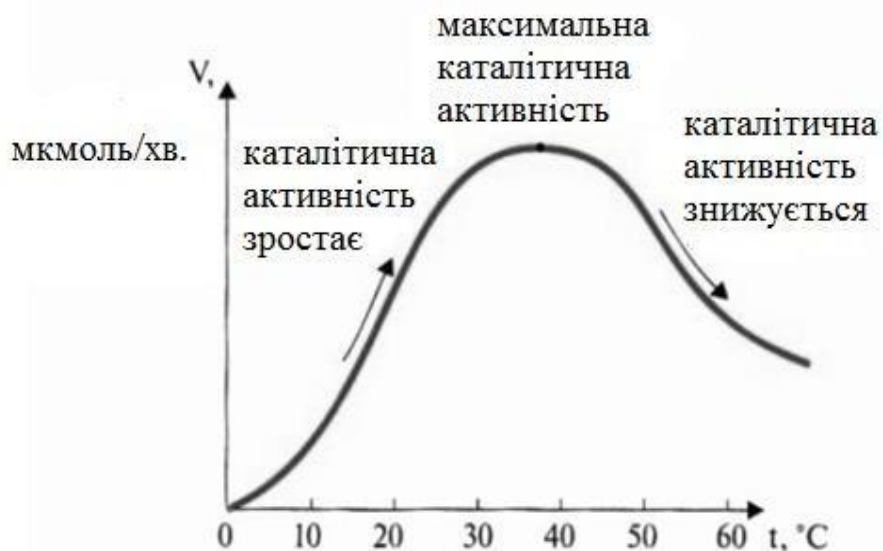


Рисунок 51 – Залежність швидкості ферментативної реакції від температури

Залежність активності ферментів від температури називається **термолабільністю**. Ферменти краще зберігаються при низьких температурах: їх активність знижується, але денатурація не відбувається. Ця властивість використовується в медицині для виробництва препаратів ферментів. При деяких операціях необхідно знизити швидкість обміну речовин, тоді проводять охолодження органів (наприклад, при пересадці нирок, серця та інших органів).

Для різних ферментів характерне певне рН середовище, в якому відбувається ферментативна реакція (рис. 52).

Наприклад, для пепсину (оптимум $\text{pH} = 1,5-2$); для трипсину (оптимум $\text{pH} = 7$); для лужної фосфатази (оптимум $\text{pH} = 10$).

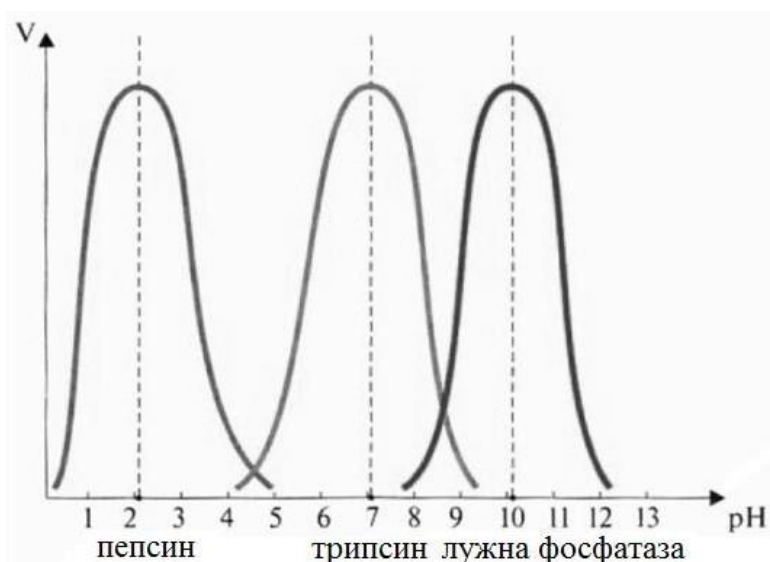


Рисунок 52 – Залежність швидкості ферментативної реакції від pH середовища

Активність ферменту – це умовна величина, що прямо пропорційна швидкості біохімічної реакції, яку каталізує певний фермент.

Швидкість ферментативної реакції можна визначити або за кількістю субстрату, що перетворився за певний проміжок часу, або за кількістю накопиченого за цей час продукту реакції (P).

У біохімічній практиці для кількісної характеристики реакцій, які каталізуються ферментами, використовують умовні величини – одиниці ферменту.

Загальноновживаними є такі одиниці ферменту:

1) **юніт** (англ. *unit*, U) – це кількість ферменту, яка каталізує перетворення 1 мкмоль субстрату за 1 хв. 1 Юніт (1 U) = 16,67 нкатал.

$$1 \text{ U} = 1 \text{ мкмоль S} / \text{хв}$$

2) **катал** (кат) – це кількість ферменту, що необхідна для каталітичного перетворення 1 моля субстрату за 1 с.

$$1 \text{ кат} = 1 \text{ моль S} / \text{с}$$

3) **питома активність ферменту** – одиниця активності ферменту, що визначається кількістю одиниць ферментної активності, які припадають на 1 мг субстрату в біологічному об'єкті.

Номенклатура ферментів

Розрізняють систематичну, робочу та тривіальну номенклатуру ферментів:

1) *систематична номенклатура*. Назва ферменту включає хімічну назву субстрату; тип хімічної реакції (відповідно до Міжнародної класифікації ферментів); суфікс *-аза*.

Наприклад, L-Лактат: НАД⁺-оксидоредуктаза;

2) *робоча номенклатура*. Назва ферменту утворюється від хімічної назви субстрату з додаванням суфікса *-аза*.

Наприклад, фермент, що каталізує перетворення жиру, – ліпаза.

3) *тривіальна номенклатура*. Не дає уявлення про субстрат або тип хімічного перетворення.

Ферменти поділяються на 6 класів відповідно до типу реакції, яку вони каталізують (Комісія Міжнародного біохімічного союзу, 1961).

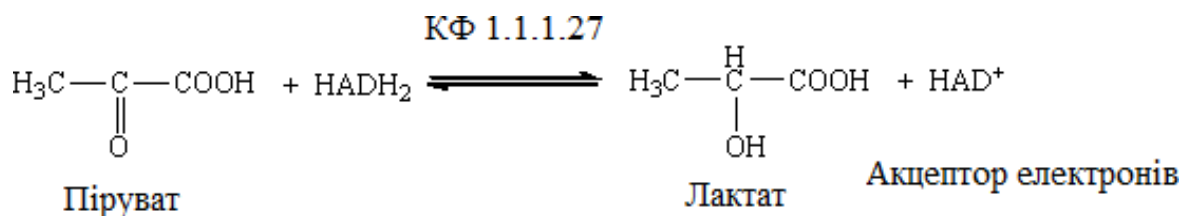
До оксидоредуктаз належать дегідрогенази – ферменти, які каталізують реакції дегідрування; оксидази та оксигенази, які окиснюють субстрати шляхом приєднання кисню; цитохроми – переносники електронів тощо.

Розрізняють амінотрансферази, метилтрансферази, ацилтрансферази, фосфотрансферази, глікозилтрансферази – ферменти, які переносять амінні-, метильні-, ацильні-, фосфато-, глікозидні групи відповідно. До трансфераз належать також кінази, зокрема протеїнкінази – ферменти, які каталізують фосфорилування субстратів та інших білків за рахунок фосфатного залишку АТФ.

4-й клас. Ліази – ферменти, які каталізують реакції розриву ковалентних зв'язків між атомами C, O, N, S негідролітичним шляхом. До ліаз належать декарбоксилази – ферменти, які відщеплюють від органічних кислот карбоксильну групу у вигляді CO₂; альдолази, які розщеплюють Карбон-Карбонові зв'язки з утворенням альдегідів; дегідратази, які відщеплюють від субстратів молекулу води з утворенням подвійного зв'язку.

6-й клас. Лігази (синтетази) – ферменти, що каталізують реакції синтезу біомолекул, тобто утворення нових хімічних зв'язків за рахунок енергії АТФ.

Наприклад, реакція відновлення пірувату до лактату.



Клас - оксидоредуктази

Підклас - діє на СН-ОН групу донора електронів

Акцептор електронів - НАД⁺

КФ 1.1.1.27 — Порядковий номер у підкласі

? Питання для самоконтролю

1. Дайте визначення таких понять, як фермент, субстрат, каталіз. Наведіть приклади ферментів.
2. Наведіть класифікацію ферментів. Охарактеризуйте особливості будови простих і складних ферментів.
3. Охарактеризуйте активний (субстратний, каталітичний) та алостеричний центри ферменту.
4. Дайте визначення таких понять, як кофермент, апофермент, ізофермент. Охарактеризуйте їх роль.
5. Розкрийте механізм дії ферментів та перелічіть основні етапи ферментативної реакції.
6. Розкрийте сутність кінетики ферментативної реакції.
7. Дайте визначення поняття «активність ферменту». Що таке юніт, катал, питома активність ферменту?
8. Назвіть види специфічності ферментів.
9. Поясніть вплив чинників (температура, рН середовище) на кінетику та швидкість ферментативної реакції. Розкрийте механізм дії активаторів та інгібіторів ферментів, наведіть приклади. Охарактеризуйте види інгібування.
10. Наведіть номенклатуру ферментів.
11. Охарактеризуйте класи ферментів (оксидоредуктази, трансферази, гідролази, ліази, ізомерази, лігази).

Під час самостійного вивчення теми № 6 необхідно отримати уявлення про каталіз, усвідомити його сутність; розглянути кінетику ферментативного каталізу; ознайомитися з видами оборотного й необоротного інгібування ферментів; визначити локалізацію ферментів у клітині; з'ясувати особливості класифікації ферментів.

Завдання для домашнього виконання

1. Охарактеризуйте будову ферменту. Наведіть схематичне зображення розташування активного (каталітичного, адсорбційного) та алостеричного центрів ферменту.
2. Напишіть приклади шести основних класів ферментів: оксидоредуктаз, трансфераз, гідролаз, ліаз, ізомераз, лігаз (синтетаз).
3. У чому полягає специфічність дії ферментів? Застосування ферментів.



Лабораторна робота №7 ЗАГАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ

Мета роботи: дослідити загальні властивості ферментів на прикладі амілази слини, сахарази гідролізату дріжджів.

Практичне значення роботи. Вивчення властивостей ферментів необхідне для підбору оптимальних умов дії ферментів, визначення їх активності в наукових або клінічних дослідженнях, проведення фармакологічного аналізу ферментативних препаратів.

Матеріали та реактиви: штатив для пробірок, пробірки, пластикова склянка, термостат або водяна баня з термометром, сірники, спиртівка; слина, дистильована вода, 1%-й розчин крохмалю, реактив Люголя (або розчин йоду в калій йодиді), 0,4%-й розчин натрій гідроксиду, 0,2%-й та 0,4%-й розчини хлоридної кислоти, реактив Фелінга I та II, гідролізат дріжджів, 5%-й розчин сахарази, 0,9%-й розчин натрій хлориду, 1%-й розчин купрум (II) сульфату.

Хід роботи

Дослід 1. Механізм дії ферменту амілази слини та її термолабільність.

Принцип реакції. α -Амілаза, що міститься у слині – це фермент, який каталізує реакцію гідролітичного розкладу крохмалю. Фракція крохмалю – амілоза – з йодом дає синє забарвлення, а продукти його гідролізу (декстрини) залежно від ступеня гідролітичного розщеплення крохмалю в присутності йоду зумовлюють забарвлення від червоно-бурого до жовто-бурого. Мальтоза як кінцевий продукт гідролітичного розкладу крохмалю при дії α -амілази з йодом не дає будь-якої кольорової реакції.

Ферменти є термолабільними сполуками. Температурний оптимум дії більшості з них знаходиться у межах $t = 37-38\text{ }^{\circ}\text{C}$. При підвищенні температури середовища відбувається прискорення реакції внаслідок підвищення енергії активації молекул субстрату. Денатурація ферменту різко прогресує при температурі, що перевищує $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Інактивація ферменту при підвищенні температури є необоротною.

Про залежність активності амілази слини від температури свідчить розщеплення цим ферментом крохмалю в різних температурних умовах. Ступінь розщеплення крохмалю визначають за реакцією з розчином Люголя.

Хід роботи. У три пробірки вносять по 0,5 мл 1,0%-го розчину крохмалю. У 1-у пробірку (дослідну) додають 1 мл розчину слини, в 2-у пробірку (дослідну) – 1 мл прокип'яченого розчину слини; в 3-ю пробірку (контрольну) – 1 мл води. Нагрівають усі 3 пробірки в термостаті або на водяній бані з термометром при $t = 38\text{ }^{\circ}\text{C}$. Через 10-15 хв у кожную пробірку додають по 3 краплі розчину Люголя (йодна проба).

Про наявність крохмалю свідчить поява *синього кольору*, про його відсутність – *жовте забарвлення або прозорий розчин*.

Дослід 2. Вплив рН середовища на активність амілази слини

Принцип реакції. Для амілази слини оптимальне значення дії при рН = 6,8. У дуже кислому та сильно-лужному середовищі активність амілази знижується.

Хід роботи. У 1-у пробірку вносять 0,5 мл 1,0%-го розчину крохмалю, додають 0,5 мл розчину слини, 1,0 мл 0,4%-го розчину натрій гідроксиду, у 2-у пробірку – 0,5 мл 1,0%-го розчину крохмалю, 0,5 мл розчину слини та 1,0 мл 0,4%-го розчину хлоридної кислоти. Нагрівають в термостаті або на водяній бані з термометром при $t = 38^{\circ}\text{C}$. Через 10-15 хв у кожену пробірку додають по 3 краплі розчину Люголя (*йодна проба*).

Дослід 3. Визначення специфічності дії амілази слини та сахарози гідролізату дріжджів

Принцип реакції. Специфічність дії ферментів пояснюється збігом просторових конфігурацій активного центру ферменту й субстрату, їх хімічною спорідненістю, що забезпечує утворення фермент-субстратного комплексу і протікання каталітичного процесу. Розрізняють групову (абсолютну, відносну) та індивідуальну (абсолютну, стереохімічну) специфічність ферментів. Амілаза слини розщеплює крохмаль і не діє на сахарозу; сахараза гідролізату дріжджів розщеплює сахарозу й не діє на крохмаль.

а) дія амілази слини на крохмаль і сахарозу

Хід роботи. У 1-у пробірку вносять 0,5 мл розчину слини, додають 0,5 мл 1,0%-го розчину крохмалю. Нагрівають в термостаті або на водяній бані з термометром при $t = 38^{\circ}\text{C}$. Через 10-15 хв у пробірку додають 3 краплі розчину Люголя (*йодна проба*). Якщо відбулося глибоке розщеплення крохмалю під дією амілази слини до мальтози чи глюкози, то у пробірках з'явиться *жовтувате забарвлення*; якщо відбувся частковий гідроліз крохмалю до декстринів, то з реактивом Люголя спостерігатиметься поява *червоно-фіолетового забарвлення*; якщо фермент не подіяв на цей субстрат, то буде *синє забарвлення*.

У 2-у пробірку вносять 0,5 мл розчину слини, додають 0,5 мл 5%-го розчину сахарози. Нагрівають у термостаті або на водяній бані з термометром при $t = 38^{\circ}\text{C}$. Через 10-15 хв у пробірку додають реактив Фелінга (по 0,5 мл розчинів Фелінга I та Фелінга II). Про відсутність гідролізу сахарози на глюкозу і фруктозу свідчить поява *синього забарвлення*.

б) дія сахарози гідролізату дріжджів на крохмаль і сахарозу

Хід роботи. У 1-у пробірку вносять 0,5 мл гідролізату дріжджів, додають 0,5 мл 1%-го розчину крохмалю. Перемішують, нагрівають у термостаті або на водяній бані з термометром при $t = 38^{\circ}\text{C}$. Через 10-15 хв у пробірку додають 3 краплі розчину Люголя (*йодна проба*). Про відсутність гідролізу крохмалю свідчить поява *синього забарвлення*.

У 2-у пробірку вносять 0,5 мл гідролізату дріжджів, додають 0,5 мл 1%-го розчину сахарози. Перемішують, нагрівають у термостаті або на водяній бані з термометром при $t = 38^{\circ}\text{C}$. Через 10-15 хв у пробірку додають реактив Фелінга (по 0,5 мл розчинів Фелінга I та Фелінга II). Переконуються в

наявності гідролізу сахарози на глюкозу та фруктозу. Якщо фермент гідролізує сахарозу, то в розчині можна виявити глюкозу за допомогою реактиву Фелінга. При нагріванні відбувається відновлення глюкозою Cu^{2+} до CuOH (жовтий осад) чи Cu_2O (червоний осад).

Дослід 4. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази слини

Принцип реакції. Речовини, які підвищують активність ферментів, називаються активаторами (NaCl), а ті, які пригнічують – інгібіторами (CuSO_4). Активатори, приєднуючись до молекули неактивного ферменту, здатні змінювати її конформацію з утворенням комплексу, що має каталітичну активність. Пригнічувальна дія інгібіторів реалізується шляхом зміни нативної конформації ферменту.

Хід роботи. До 1,0 мл розчину слини додати 5,0 мл дистильованої води.

У 1-у пробірку вносять 1,0 мл розведеної слини, додають 1,0 мл дистильованої води, 5 крапель 1%-го розчину крохмалю.

У 2-у пробірку вносять 1,0 мл розведеної слини, додають 1,0 мл 0,9%-го розчину натрій хлориду, 5 крапель 1%-го розчину крохмалю.

У 3-ю пробірку вносять 1,0 мл розведеної слини, додають 1,0 мл 1%-го розчину купрум (II) сульфату, 5 крапель 1%-го розчину крохмалю.

Вміст трьох пробірок перемішують. Пробірки нагрівають у термостаті або на водяній бані з термометром при $t = 38^\circ\text{C}$. Через 10-15 хв у кожну з трьох пробірок додають по 3 краплі розчину Люголя (йодна проба).

Результати дослідів 1-4 запишіть у таблицю 10 за аналогією:

Таблиця 10

Загальні властивості ферментів

Дослід 1. Механізм дії ферменту амілази слини та її термолабільність				
№ пробірки	Фермент або вода	Субстрат	Температура та час	Йодна проба з реактивом Люголя
1	2	3	4	5
1	Амілаза	Крохмаль	38°C , 10-15 хв	Прозорий розчин
2	Амілаза прокип'ячена	Крохмаль	38°C , 10-15 хв	
3	Вода	Крохмаль	38°C , 10-15 хв	
Дослід 2. Вплив рН середовища на активність амілази слини				
№ пробірки	Фермент	Субстрат	Реактиви, температура та час	Йодна проба з реактивом Люголя
1	2	3	4	5
1	Амілаза	Крохмаль	NaOH , 38°C , 10-15 хв	
2	Амілаза	Крохмаль	HCl , 38°C , 10-15 хв	

Дослід 3. Визначення специфічності дії амілази слини та сахарози гідролізату дріжджів					
№ пробірки	Фермент	Субстрат	Температура та час	Реактив Люголя	Реактив Фелінга
1	2	3	4	5	6
1	Амілаза	Крохмаль	38 °С, 10-15 хв		–
2	Амілаза	Сахароза	38 °С, 10-15 хв	–	
3	Сахараза	Крохмаль	38 °С, 10-15 хв		–
4	Сахараза	Сахароза	38 °С, 10-15 хв	–	
Дослід 4. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази слини					
№ пробірки	Фермент	Субстрат	Реактиви, температура та час	Йодна проба з реактивом Люголя	
1	2	3	4	5	
1	Амілаза	Крохмаль	НОН, 38 °С, 10-15 хв		
2	Амілаза	Крохмаль	NaCl, 38 °С, 10-15 хв		
3	Амілаза	Крохмаль	CuSO ₄ , 38 °С, 10-15 хв		

За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.

Тема 7 БУДОВА ТА РОЛЬ ВІТАМІНІВ



Вітаміни – низькомолекулярні органічні речовини різної хімічної будови. Вони необхідні для нормального обміну речовин і життєдіяльності організму. Вітаміни використовуються клітинами організму в малих (невеликих) кількостях. Людина і тварини одержують більшість вітамінів у готовому вигляді з їжею. Іноді з продуктами харчування до організму надходять не готові вітаміни, а речовини, близькі до них за будовою (провітаміни); в організмі вони перетворюються на вітаміни. Деякі вітаміни утворюються у мікрофлорі кишківника. Рослини мають здатність синтезувати всі необхідні їм вітаміни.

Відсутність вітамінів у їжі зумовлює глибокі порушення в організмі, що призводить до розвитку різних захворювань, які називаються **авітамінозами**. До таких захворювань відносяться рахіт, цинга, пелагра, куряча сліпота та ін.

Нестача вітамінів унаслідок одноманітного харчування чи порушення процесів їх засвоєння (всмоктування в шлунково-кишковому тракті) спричиняє розвиток **гіповітамінозу**. Деякі захворювання, особливо інфекційні,

супроводжуються порушенням обміну вітамінів та спричиняють їх посилене розкладання та виведення з організму. У таких випадках потреба у вітамінах зростає.

Введення деяких лікарських речовин на зразок антибіотиків, сульфаніламідних препаратів може негативно вплинути на обмін окремих вітамінів. Потреба у вітамінах залежить також від умов праці. Надмірне введення вітамінів в організм призводить до **гіпервітамінозу**. Він може виникнути або внаслідок одноразового надходження в організм вітамінів у високій дозі (зазвичай у формі вітамінного препарату), або внаслідок їх тривалого застосування у дозах, що перевищують фізіологічні потреби організму.

Деякі вітаміни отримали свою назву залежно від захворювання, яке розвивалося через їх відсутність. У таких випадках до назви захворювання додається префікс *анти-* (антиксерофтальмічний, антирахітний тощо). Вітаміни можуть позначатися буквами латинського алфавіту. В результаті дослідження хімічної природи вітамінів почали вводити хімічні назви.

На сьогодні використовуються всі три види номенклатури вітамінів.

Найпростіша класифікація вітамінів ґрунтується на їх фізико-хімічних властивостях. Розрізняють водорозчинні (розчинні у воді) та жиророзчинні (розчинні в жирах) вітаміни.

До водорозчинних належать такі вітаміни (табл. 11):

- вітамін В₁ (антиневритний, тіамін);
- вітамін В₂ (рибофлавін);
- вітамін В₃ (антидерматитний, пантотенова кислота);
- вітамін РР або В₅ (антипеларгічний, нікотинава кислота, нікотинамід);
- вітамін В₆ (антидерматитний, піридоксин, піридоксаль, піридоксамін);
- вітамін В₉ (фолієва кислота, аміноптерин);
- вітамін В₁₂ (антианемічний, ціанокобаламін, фактор кровотворення);
- вітамін В₁₅ (пангамова кислота).
- вітамін С (антицинготний, аскорбутичний, аскорбінова кислота);
- вітамін Р (рутин);
- вітамін Н (біотин) (табл. 11).

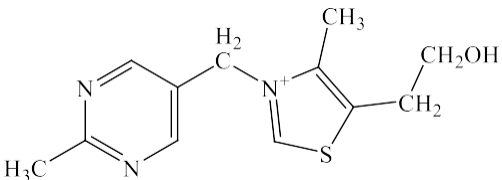
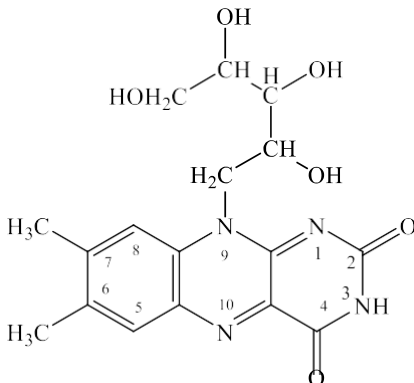
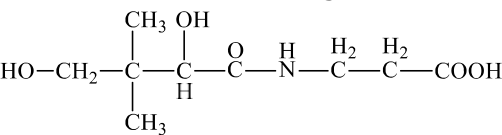
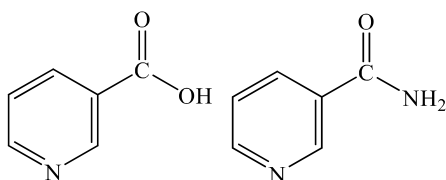
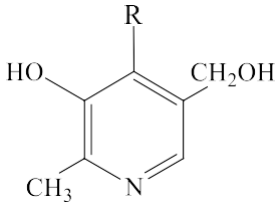
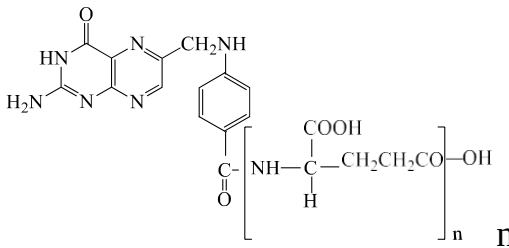
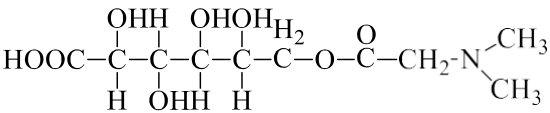
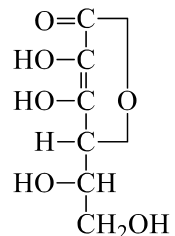
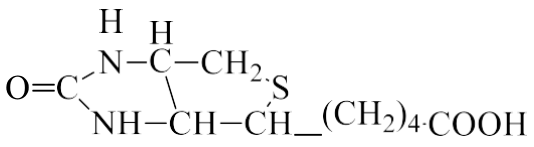
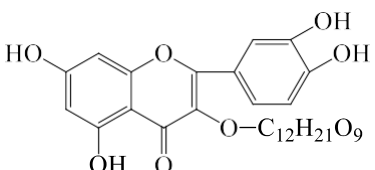
Більшість водорозчинних вітамінів мають регулярно надходити з їжею, оскільки вони швидко виводяться чи руйнуються в організмі.

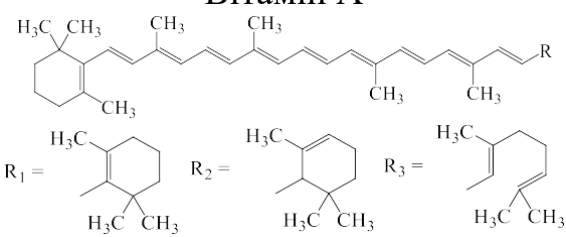
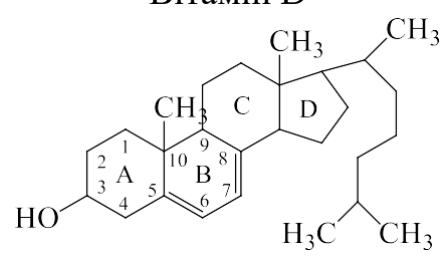
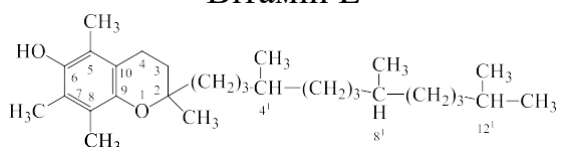
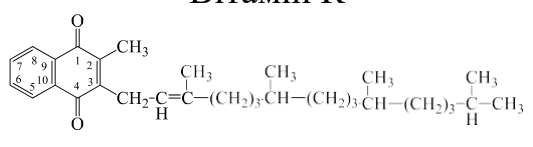
До жиророзчинних належать такі вітаміни (табл. 12):

- вітамін А (антиксерофтальмічний, ретинол);
- вітамін D (антирахітний, кальциферол); D₂ (ергокальциферол); D₃ (холекальциферол);
- вітамін Е (антистерильний, вітамін розмноження, токоферол);
- вітамін К (антигеморагічний, філохінон) (табл. 11).

Жиророзчинні вітаміни можуть депонуватися в організмі. Крім того, вони погано виводяться, тому іноді при їх надлишку відзначаються гіпервітамінози – захворювання, пов'язані з інтоксикацією організму високими дозами жиророзчинних вітамінів.

Особливості структури водорозчинних і жиророзчинних вітамінів

№ з/п	Позначення та структура вітаміну	№ з/п	Позначення та структура вітаміну
1	2	3	4
Водорозчинні вітаміни			
1	Вітамін В₁ 	2	Вітамін В₂ 
3	Вітамін В₃ 	4	Вітамін РР 
5	Вітамін В₆  R = CH₂OH; CHO; CH₂NH₂	6	Вітамін В₉  = 1 – вітамін В₉ (фолієва кислота); n = 3-7 – його кон'югати
7	Вітамін В₁₅ 	8	Вітамін С 
9	Вітамін Н 	10	Вітамін Р 

Жиророзчинні вітаміни			
1	Вітамін А  α -каротин β -каротин γ -каротин	2	Вітамін D 
3	Вітамін Е 	4	Вітамін К 

Характеристика водорозчинних вітамінів

Вітамін В₁ (антиневритний, тіамін)

Хімічна будова вітаміну В₁: до його хімічної структури входять тіазольне й піримідинове кільця, які містять Сульфур і Нітроген відповідно (табл. 11).

Роль вітаміну В₁: відіграє важливу роль у процесах перетворення вуглеводів, оскільки входить до складу ферменту піруватдекарбоксилази, що розщеплює піровиноградну кислоту на оцтовий альдегід і СО₂; входить до складу піруватдекарбоксилази у вигляді фосфорного ефіру – тіамінпірофосфату.

Авітаміноз вітаміну В₁: порушуються процеси декарбоксилювання кетокислот (щавелевооцтова, кетоглутарова та ін.).

Гіповітаміноз вітаміну В₁: нестача вітаміну В₁ у їжі призводить до накопичення в крові та тканинах піровиноградної кислоти – сильної отрути для нервової системи; до розвитку поліневриту (хвороба бері-бері), в основі якого лежать дегенеративні зміни нервів (втрачається шкірна чутливість, порушується нормальна моторика шлунково-кишкового тракту, з'являються серцеві болі, виникає параліч).

Джерела вітаміну В₁ та добова потреба: пшеничні та рисові висівки, зародки злаків, внутрішні органи тварин (печінка, нирки, серце), дріжджі. Добова потреба у вітаміні В₁ для дорослої людини становить 2-3 мг.

Вітамін В₂ (рибофлавін)

Хімічна будова вітаміну В₂: метильоване похідне ізоалоксазину, до якого в положенні 9 приєднаний спирт – рибітол (табл. 11).

Роль вітаміну В₂: у вигляді фосфорного ефіру (кінцевої гідроксильної групи рибітол) або у вигляді більш складних речовин (зокрема, з нулеотидами) рибофлавін входить до складу окисно-відновних ферментів, які беруть участь у перенесенні Гідрогену.

Авітаміноз вітаміну В₂: припинення росту, випадіння волосся, ураження слизових оболонок (особливо в куточках рота), швидка втомлюваність очей, зниження працездатності, порушення нормального синтезу гемоглобіну, патологічні стани та захворювання нервової системи.

Джерела вітаміну B₂ та добова потреба: дріжджі, печінка, нирки, серце, молоко, зелені овочі. Добова потреба у вітаміні B₂ становить 2-4 мг.

Вітамін PP (нікотинова кислота, ніацин)

Хімічна будова: хімічно являє собою дві речовини, які володіють однаковою вітамінною активністю, – нікотинову (3-піридинкарбонову) кислоту (ніацин) і нікотинамід (ніацинамід) (табл. 11).

Роль вітаміну PP: вітамін PP є коферментом нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАД⁺), нікотинаміддинуклеотидфосфату (НАДФ⁺) у ферментах групи оксидоредуктаз (дегідрогеназ). У ході окисно-відновних реакцій НАД⁺, НАДФ⁺ реагують у складі ферментів з різними органічними субстратами, відщеплюючи від них гідрид-іон та утворюючи НАДН₂, НАДФН₂. Справжнім вітаміном вважають нікотинову кислоту.

Гіповітаміноз вітаміну PP: при нестачі вітаміну PP розвивається пелагра – тяжке захворювання, пов'язане з ураженням центральної нервової системи, шлунково-кишкового тракту та шкіри.

Джерела вітаміну PP та добова потреба: дріжджі, рисові висівки, м'ясо, молоко, яйця, кукурудзяна крупа. Добова потреба дорослої людини у вітаміні PP становить 6,6 ніацинового еквівалента /1000 ккал.

Вітамін B₆ (антидерматитний, піридоксин)

Хімічна будова вітаміну B₆: похідне піридину: піридоксин (піридоксол, піридоксаль, піридоксамін, які розрізняються лише характером заміщення радикала в положенні 4) (табл. 11).

Роль вітаміну B₆: фосфопіридоксаль є складовою частиною ферментів, що каталізують реакції білкового обміну – реакції переамінування та декарбоксилювання амінокислот.

Авітаміноз вітаміну B₆: супроводжується різким порушенням обміну білків, порушенням процесу кровотворення, виникненням різного роду дерматитів.

Гіповітаміноз вітаміну B₆: супроводжується порушенням ліпідного обміну, внаслідок чого розвивається атеросклероз.

Джерела вітаміну B₆ та добова потреба: рисові висівки, паростки пшениці, боби, зелені частини рослин; нирки, печінка; дріжджі. Добова потреба у вітаміні B₆ становить 2,0-2,5 мг.

Вітамін B₉ або B_C (фолієва кислота, фолацин, аміноптерин)

Хімічна будова вітаміну B₉: загальна назва цієї групи вітамінів – фолацин. Основними представниками є фолієва (птероїлглутамінова) кислота та її активна форма – тетрагідрофолієва кислота.

Фолієва кислота являє собою продукт взаємодії птеридину, п-амінобензенової та L-глутамінової кислот (табл. 11).

Роль вітаміну B₉: виконує найважливіші функції в обміні речовин; переносить однокарбонові фрагменти в процесах біосинтезу багатьох сполук, серед яких амінокислоти, пуринові основи та інші життєво важливі сполуки.

Гіповітаміноз вітаміну B₉: призводить до розвитку анемії з порушенням у крові балансу еритроцитів і лейкоцитів; уражаються органи травлення, виникає стоматит, гастрит. У вагітних порушується розвиток плоду.

Джерела вітаміну B₉ та добова потреба: листя рослин; борошно грубого помелу та хлібобулочні вироби, крупи (гречана, вівсяна, пшоно), соя, квасоля, зелена цибуля, гриби; печінка, молоко, сир, ікра. Добова потреба у вітаміні B₉ для дорослих становить 200 мкг, для вагітних – 400 мкг.

Вітамін B₁₂ (ціанокобаламін)

Хімічна будова вітаміну B₁₂: основними представниками кобаламіну є оксокобаламін та ціанокобаламін.

Роль вітаміну B₁₂: відіграє найважливішу роль у процесах кровотворення. Для всмоктування вітаміну B₁₂ необхідний особливий білковий фактор, що синтезується у слизовій оболонці шлунка та утворює з ним стійкий комплекс.

Авітаміноз вітаміну B₁₂: викликає порушення стадій розвитку червоних кров'яних тілець, що призводить до анемії, ураження нервової системи й органів травлення. Відзначаються підвищена дратівливість, швидка стомлюваність, порушення функцій спинного мозку, параліч. З боку органів травлення спостерігаються втрата апетиту, порушення моторики кишківника тощо.

Джерела вітаміну B₁₂ та добова потреба: печінка, м'ясо, деякі сорти риби, сир, молоко. Добова потреба у вітаміні B₁₂ для дорослих становить 2 мкг, для вагітних – 3 мкг.

Вітамін С (антицинготний, аскорбінова кислота)

Хімічна будова вітаміну С: є лактоном L-дикетогулонової кислоти. Наявність у її молекулі подвійного зв'язку робить рухомими протони гідроксильних груп біля 2-го та 3-го атомів Карбону, що обумовлює кислий характер з різко вираженою відновлювальною здатністю (табл. 11). Аскорбінова кислота легко віддає та приймає два атоми Гідрогену, перетворюючись у дегідроаскорбінову кислоту та навпаки.

Роль вітаміну С: бере участь в окисно-відновних процесах.

Гіповітаміноз вітаміну С: при нестачі вітаміну С розвивається специфічне захворювання – цинга. Клінічні симптоми: швидка стомлюваність, анемія, запаморочення, зниження імунітету, кровоточивість ясен, крововиливи в підшкірну клітковину, ознаки порушення серцевої діяльності; спостерігається порушення синтезу міжклітинного білка колагену, виникають патологічні зміни судинних стінок та опорних тканин.

Джерела вітаміну С та добова потреба: плоди шипшини, ягоди чорної смородини, капуста, картопля, горобина, перець, хвоя, лимони, мандарини, яблука. Добова потреба у вітаміні С для дорослих становить 50-70 мг.

Вітамін Р (рутин)

Хімічна будова вітаміну Р: сполуки фенольної природи, в основі будови яких лежить ядро флавону (табл. 11). До них належать рутин (глікозид флавонолу кверцетину; складається з аглікону кверцетину й дисахариду рутинози), еріодиктин, гесперидин, кверцетин та ін.

Роль вітаміну Р: зменшує проникність, підвищує міцність стінок кровоносних судин; пригнічує активність холінестерази, сукцинатдегідрогенази і деяких інших ферментів, затримує окиснення адреналіну.

Джерела вітаміну Р та добова потреба: до групи речовин Р-вітамінної дії належать також антоціанідини. Наприклад, ціанідин – аглікон ціаніну, пігменту, дуже поширеного у квітах, плодах деяких вищих рослин. Вітамін групи Р, виділений з лимонів у кристалічному вигляді, називається цитрином. Добова потреба у вітаміні Р для людини не встановлена; з лікувальною метою (зміцнення кровоносних судин) вводять 100-200 мг вітаміну Р на добу.

Характеристика жиророзчинних вітамінів

Вітамін А (антиксерофтальмічний, ретинол)

Хімічна будова вітаміну А: за хімічною природою вітамін А₁ являє собою циклічний ненасичений одноатомний спирт, містить кільце та бічний ланцюг (табл. 11). До складу бічного ланцюга входять два залишки ізопрену (метилбутадієну) та первинна спиртова група.

Жиророзчинний вітамін А має кілька вітамерів, з яких найбільш поширеним є А₁ (ретинол).

Роль вітаміну А: підтримує нормальний стан епітеліальних тканин за рахунок окисно-відновних процесів; сприяє стабілізації гостроти зору: входить до складу зорового пурпуру – родопсину в паличках сітківки очей; підвищує опірність організму до інфекційних хвороб; суттєво впливає на стан клітинних мембран, тканинне дихання, функціонування ендокринних залоз.

Авітаміноз вітаміну А: зупинка росту (особливо кісток), зменшення ваги, загальне виснаження ростучого організму, сухість шкіри, слизових оболонок, дерматити, бронхіти, переродження клітин наднирників, тканин центральної нервової та статевий систем, злущування клітин епітелію, куряча сліпота (різке погіршення зору при сутінковому освітленні), сухість, запалення рогівки ока (ксерофтальмія).

Джерела вітаміну А та добова потреба: риб'ячий жир, печінка морських тварин і риб, яловича печінка, жовтки яєць, коров'яче масло; овочі та фрукти жовтого, оранжевого, червоного кольору: морква, манго, абрикоси, папайя, гарбуз, помідори; кріп, петрушка, шпинат, салат, зелена цибуля.

Каротини, що містяться у свіжих овочах і фруктах, можуть піддаватися окиснювальному розщепленню в печінці та слизовій оболонці кишківника до ретинолу.

Добова потреба у вітаміні А для дорослих становить 900 мкг (3000 МЕ) або 1,0-2,5 мг; для дітей – 400-1000 мкг (залежно від віку та статі).

Вітамін D (антирахітний, кальциферол); D₂ (ергокальциферол); D₃ (холекальциферол)

Хімічна будова вітаміну D: вітамін D₂ (ергокальциферол); вітамін D₃ (холекальциферол) (табл. 11). Також відомі ще чотири вітаміни групи D – D₄-D₇.

Роль вітаміну D: застосовується у тваринництві (однак для деяких тварин і птахів вітамін D₂ малоактивний та непридатний як харчова добавка); разом із ферментами, гормонами, АТФ, Na⁺ та іншими речовинами регулює всмоктування Ca²⁺ у кишківнику, вміст Ca²⁺ у крові, метаболізм Ca²⁺ та фосфатів, що сприяє формуванню нормальної кісткової та м'язової тканин; окиснені метаболіти вітаміну D – 25-гідроксикальциферол, 1α-гідроксихолекальциферол, 1α,25-дигідроксихолекальциферол – виявляють усі властивості стероїдних гормонів.

Авітаміноз, гіповітаміноз вітаміну D: розвивається рахіт.

Джерела вітаміну D та добова потреба: жир печінки риб, вершкове масло, молоко, яйця. З лікувальною метою можливе також застосування вітаміну D₂, синтезованого з провітаміну ергостерину.

Шкіра людини і тварин продукує лише вітамін D₃ із провітаміну 7-дегідрохолестерину, який під дією ультрафіолетового випромінювання перетворюється на активну форму — вітамін D₃ (холекальциферол). Це дозволяє легко задовольнити добову потребу дорослої людини у вітаміні D₃ – 7-12 мкг. У дітей вона становить 12-25 мкг.

Вітамін E (антистерильний фактор, α-токоферол)

Хімічна будова вітаміну E: α-токоферолі з меншою кількістю метильних груп в ароматичному ядрі та їх аналоги – токотрієноли – з ненасиченим бічним ланцюгом (табл. 11).

Роль вітаміну E: володіє антиоксидантною дією, спрямованою на запобігання окиснення залишків ненасичених жирних кислот у ліпідах мембран; впливає на біосинтез ферментів, які беруть участь в утворенні гемі.

Авітаміноз вітаміну E: порушується нормальний розвиток плода у вагітних, сперматогенез у чоловіків.

Гіповітаміноз вітаміну E: у людей гіповітаміноз вітаміну E проявляється рідко. У тварин він стає причиною безпліддя, ураження міокарда та інших м'язових тканин, судинної та нервової систем;

Джерела вітаміну E та добова потреба: зерна пшениці та рису, соняшникова, кукурудзяна, бавовняна, соєва, рисова, конопляна, пальмова олія, салат, шпинат. Добова потреба у вітаміні E для жінок у період вагітності та годування груддю становить 10-25 мг, для дітей – 5 мг.

Вітамін K (антигеморагічний, філохінон)

Хімічна будова вітаміну K: За хімічною природою вітамін K є хіноном з бічним ізопреноїдним ланцюгом. Вітамін K – загальна назва для групи речовин, близьких за своїм хімічним складом і дією на організм (від вітаміну K₁ до K₇). Ключовими в цій групі є вітамін K₁ (філохінон) і вітамін K₂ (менахінон). Менахінон (K₂) представлений кількома формами, які відрізняються довжиною бічного ланцюга і позначаються або за кількістю ізопреноїдних ланок (менахінон-4, -6, -7, -8, -9), або за кількістю C-атомів ланцюга (вітаміни K₂ (20), K₂ (30), K₂ (35), K₂ (40), K₂ (45)).

Цей вітамін термостабільний.

Роль вітаміну K: вітаміни групи K (K₁, K₂) беруть участь в утворенні протромбіну, забезпечують нормальну коагуляцію крові (антигеморагічний

фактор); вітамін К₂ (менахінон) бере участь у біохімічних окисно-відновних реакціях, у процесах фотосинтезу, окисного фосфорилування; синтетичні аналоги К₄-К₇ характеризуються більш високою біологічною активністю; при деяких захворюваннях (інфаркт міокарда, тромбофлебіт), пов'язаних з підвищеним згортанням крові та утворенням тромбів у судинах, виникає необхідність у застосуванні антивітамінів К (антикоагулянтів). До них належать фенілін, дикумарол (дикумарин), його аналоги та похідні (саліцилова кислота). Оскільки вітамін К є необхідним компонентом для утворення факторів коагуляції крові, його недостатність може супроводжуватися небезпечними для життя кровотечами.

Гіповітаміноз вітаміну К: спостерігається тільки в немовлят зі зниженим вмістом у кишківнику ацидофільної палички. У дорослих людей гіповітаміноз вітаміну К може бути спричинений або порушенням кишкової мікрофлори під час лікування сульфаніламідними препаратами й антибіотиками, або поганим всмоктуванням вітаміну при нестачі його емульгатора – жовчі, внаслідок чого може виникнути внутрішня кровотеча.

Джерела вітаміну К та добова потреба: зелені частини рослин, овочі (білокачанна та цвітна капуста, шпинат, гарбуз, помідори, буряк, картопля, морква), злакові (овес, пшениця), бобові (горох). Вітамін К продукується в достатній кількості мікрофлорою кишківника. Добова потреба у вітаміні К у дорослої людини становить 0,2-0,3 мг. Показником забезпеченості організму вітаміном К слугують тести, які дозволяють оцінити стан системи згортання крові.

? Питання для самоконтролю

1. Наведіть класифікацію вітамінів. Розкрийте сутність таких понять, як авітаміноз, гіповітаміноз і гіпервітаміноз.
2. Охарактеризуйте водорозчинні та жиророзчинні вітаміни.

Під час самостійного вивчення теми № 7 необхідно ознайомитися з класифікацією вітамінів, розглянути особливості їх будови та з'ясувати їх біологічну роль.

Завдання для домашнього виконання

1. Заповніть таблицю 12:

Таблиця 12

Характеристика водорозчинних і жиророзчинних вітамінів

Назва вітаміну	Хімічна будова вітаміну	Добова потреба, джерела	Біологічні функції	Авітаміноз, гіповітаміноз	Гіпервітаміноз
1	2	3	4	5	6



Лабораторна робота №8

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВОДОРОЗЧИННІ ТА ЖИРОРОЗЧИННІ ВІТАМІНИ

Мета роботи: навчитися виявляти вітаміни в різноманітних речовинах або біологічних рідинах, застосовуючи якісні реакції.

Практичне значення роботи. За допомогою якісних реакцій вітаміни можна виявляти в лікарських рослинах, препаратах і харчових продуктах.

Матеріали та реактиви: штатив для пробірок, пробірки, піпетки, пісочна баня, водяна баня; 1%-й розчин сульфанілової кислоти та 5%-й розчин натрій нітриту – діазореактив, 10%-й розчин натрій карбонату, 5%-й розчин тіаміну (B_1), розчин вітаміну B_2 , концентрована хлоридна кислота, металевий цинк (Zn); 3%-й розчин вітаміну PP, 5%-й розчин купрум ацетату; 1%-й розчин вітаміну B_6 , 1%-й розчин ферум (III) хлориду; 0,1%-й розчин аскорбінової кислоти, 0,01%-й розчин метиленового синього; риб'ячий жир у хлороформі, концентрована сульфатна кислота, розчин бром у хлороформі (1:60).

Хід роботи

Якісні реакції на водорозчинні вітаміни

Дослід 1. Діазореакція на вітамін B_1

Принцип реакції. У лужному середовищі тіамін із діазореактивом утворює складну комплексну сполуку *оранжевого або червоного кольору*.

Хід роботи: До діазореактиву, що складається з 5 крапель розчину сульфанілової кислоти та 5 крапель 5%-го розчину натрій нітриту, додають 1-2 краплі розчину тіаміну (вітаміну B_1), потім по стінці, нахиливши пробірку, обережно додають 5-7 крапель 10%-го розчину натрій карбонату. На межі двох рідин утворюється *кільце оранжевого кольору*.

Дослід 2. Реакція на вітамін B_2

Принцип реакції. Гідроген, що утворився при додаванні металевого цинку до концентрованої хлоридної кислоти, відновлює жовтий рибофлавін спочатку в проміжну сполуку рожевого кольору, а потім в безбарвний лейкофлавін.

Хід роботи. У пробірку наливають 10 крапель розчину вітаміну B_2 , додають 5 крапель концентрованої хлоридної кислоти й опускають зернятку металевого цинку (Zn). Спостерігають *виділення пухирців водню*. Рідина поступово набуває *рожевого кольору*, а потім *знебарвлюється*.

Дослід 3. Реакція на вітамін PP

Принцип реакції. Вітамін PP при нагріванні з розчином купрум ацетату утворює синій осад мідної солі нікотинової кислоти.

Хід роботи. Перед визначенням 3%-й розчин вітаміну РР обов'язково збовтують. Потім набирають у пробірку 20 крапель вітаміну РР і нагрівають до кипіння. При цьому каламутний розчин стає прозорим. Збовтавши 5%-й розчин купрум ацетату, доливають 20 крапель до попередньо нагрітого розчину вітаміну РР. Потім вміст пробірки доводять до кипіння, відразу ж охолоджують під струменем холодної води. Спостерігають випадіння на дні пробірки *синього осаду мідної солі нікотинової кислоти*.

Дослід 4. Реакція на вітамін В₆

Принцип реакції. Вітамін В₆ при взаємодії з розчином ферум хлориду утворює комплексну сіль ферум феноляту червоного кольору.

Хід роботи. До 5 крапель 1%-го розчину вітаміну В₆ доливають рівну кількість 1%-го розчину ферум (ІІІ) хлориду, перемішують. Спостерігають появу *червоного забарвлення*.

Дослід 5. Реакція на вітамін С

Принцип реакції. Аскорбінова кислота легко вступає в окисно-відновні реакції та відновлює метиленовий синій. При цьому метиленовий синій відновлюється в безбарвну сполуку.

Хід роботи. У дві пробірки вносять по 1 краплі розчину метиленового синього і додають по 1 краплі 10 %-го розчину натрій карбонату. У 1-у пробірку додають 5 крапель розчину аскорбінової кислоти, у 2-у пробірку – 5 крапель води. Обидві пробірки ставлять у термостат при $t = 37-40^{\circ}\text{C}$. Через деякий час у пробірці з розчином аскорбінової кислоти спостерігають *знебарвлення рідини*.

Якісні реакції на жиророзчинні вітаміни

Дослід 1. Реакція на вітамін А

Принцип реакції. При взаємодії вітаміну А, що міститься в риб'ячому жирі, із концентрованою сульфатною кислотою з'являється *червоне забарвлення*.

Хід роботи. У суху пробірку наливають 3 краплі ретинолу та додають 1 краплю концентрованої сульфатної кислоти. Спостерігають появу *фіолетового забарвлення, яке переходить у червоно-буре*.

Дослід 2. Реакція на вітамін D

Принцип реакції. Вітамін D, що міститься в риб'ячому жирі, при взаємодії з розчином бром у хлороформі набуває *зеленувато-блакитного забарвлення*.

Хід роботи. У суху пробірку вносять 2-3 краплі риб'ячого жиру та 2-4 краплі розчину бром у хлороформі (1:60). Про наявність вітаміну D свідчить *поява зеленувато-блакитного забарвлення*.

Результати досліду 1-5 (водорозчинні вітаміни) та досліду 1-2 (жиророзчинні вітаміни) запишіть у таблицю 13 за аналогією:

Таблиця 13

Якісні реакції на водорозчинні та жиророзчинні вітаміни

№ п/п	Назва реакції	Реактиви, які використовуються	Поява забарвлення	Що виявляє реакція
1	2	3	4	5
1	Діазо-реакція на вітамін В ₁	1) діазореактив; 2) 1-2 краплі розчину тіаміну (вітамін В ₁); 3) 5-7 крапель 10%-го розчину натрій карбонату	Кільце оранжевого кольору	Вітамін В ₁

За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.

Тема 8 БІОХІМІЯ ГОРМОНІВ

*«Є дивні струни в серці людському.
Часто бездушні до найбільш пристрасних закликів,
вони раптом починають вібрувати при першому слові».*

Ч. Діккенс



Завдяки системі внутрішніх зв'язків, які забезпечують передачу інформації від однієї клітини до іншої та до тканини, або між різними тканинами, організм людини існує як єдине ціле. Без цієї системи неможливо підтримувати гомеостаз.

У передачі інформації між клітинами в багатоклітинних живих організмах беруть участь три системи, а саме: центральна нервова система (ЦНС), ендокринна система (залози внутрішньої секреції) та імунна система.

Способи передачі інформації у цих системах – хімічні. Посередниками при передачі інформації можуть бути *сигнальні молекули*, до яких належать чотири групи речовин:

- 1) *ендогенні біологічно активні речовини* (медіатори імунної відповіді, фактори росту);
- 2) *нейромедіатори*;
- 3) *антитіла* (імуноглобуліни);
- 4) *гормони*.

Гормони – органічні речовини різної хімічної природи, які виділяються в малих кількостях клітинами різних залоз внутрішньої секреції (ендокринної системи) у кров або лімфу та регулюють обмін речовин і фізіологічні функції шляхом передачі сигналів від центральної нервової системи (ЦНС) клітинами тканин або органів.

Термін гормон (від грец. *hormao* – збуджую, приводжу в рух) був уведений у науковий обіг у 1905 р. У. Бейлісом та Е. Старлінгом при описі дії секретину – речовини, що синтезується дванадцятипалою кишкою та стимулює виділення соку підшлунковою залозою.

Гормонам притаманні деякі загальні ознаки:

а) дистантність дії: органи й системи, на які діє гормон, розташовані далеко від місця його синтезу;

б) суворі специфічність ефекту (принцип структурної комплементарності);

в) висока біологічна активність: гормони ефективно діють на клітини в низьких концентраціях (близько 10^{-6} - 10^{-11} моль/л);

г) висока швидкість біосинтезу та розкладу;

д) наявність опосередкованих функцій між ЦНС і тканинами.

Регулятори, у яких немає хоча б однієї з перелічених вище ознак, належать до **гормоноідів (парагормонів)**: гістамін, серотонін, брадикінін, простагландини.

До гормонів залоз внутрішньої секреції належать:

1) гормони білкової природи.

Гормони, які виробляються в підшлунковій залозі:

– інсулін: знижує рівень цукру в крові;

– глюкагон: підвищує рівень цукру в крові.

Гормони, які виробляються в передній частці гіпофізу:

– соматотропний гормон (СТГ): регулює ріст;

– тіреотропний гормон (ТТГ): стимулює роботу щитовидної залози;

– адренокортикотропний гормон (АКТГ): стимулює роботу кори наднирників;

– гонадотропні гормони: стимулюють розвиток статевих клітин.

Гормони, які виробляються в задній частці гіпофізу:

– вазопресин: виявляє антидіуретичну дію;

– окситоцин: стимулює скорочення гладкої мускулатури (матки);

2) гормони – похідні амінокислоти.

Гормони, які виробляються у щитовидній залозі:

– тиронін, дийодтиронін, трийодтиронін, тироксин: сприяють накопиченню йоду в крові, що використовується для синтезу гормонів.

Гормони, які виробляються в мозковому шарі наднирників:

– адреналін: впливає на нервові закінчення, підвищує тиск і прискорює серцебиття;

– норадреналін: впливає на нервові закінчення, підвищує тиск і прискорює серцебиття, але він в 5 разів слабший, ніж адреналін.

3) стероїдні гормони.

Гормони, які виробляються в *кірковому шарі наднирників*:

- глюкокортикоїди: регулюють вуглеводний обмін;
- мінералкортикоїди: регулюють мінеральний обмін;
- альдокортикоїди: регулюють вуглеводний та мінеральний обмін.

Гормони, які виробляються *статевими залозами*:

- чоловічі статеві гормони (альдостерон, тестостерон): регулюють діяльність статевої системи чоловіків, синтез білка;
- жіночі статеві гормони (прогестерон, естрол, естріол, естрадіол): регулюють діяльність статевої системи жінок.

До **гормоноподібних речовин (тканинних гормонів)** належать:

- секретин: регулює зовнішню секрецію підшлункової залози;
- гастрин: підвищує секрецію хлороводневої кислоти;
- панкреозимін: посилює утворення ферментів травлення у підшлунковій залозі;
- ентерogaстрон: гальмує утворення хлороводневої кислоти у шлунку;
- холіцистокінін: посилює утворення жовчі.

Залежно від біологічної активності гормони поділяються на 5 груп:

- 1) гормони, що регулюють обмін вуглеводів, ліпідів, білків, амінокислот (йодтиронін, інсулін, глюкагон, адреналін, глюкокортикоїди);
- 2) гормони, що регулюють водно-сольовий обмін (мінералокортикоїди, вазопресин, компоненти ренін-ангіотензивної системи);
- 3) гормони, що впливають на фосфорно-кальцієвий обмін (кальцитонін, каротин);
- 4) гормони, що реалізують репродуктивні функції (андрогени, естрогени, прогестини);
- 5) гормони, що впливають на функціональний стан ендокринних залоз (рилізінг-фактори гіпоталамусу, тропні гормони гіпофізу).

Залежно від розчинності гормони поділяють на:

- 1) гідрофільні – розчиняються у воді;
- 2) гідрофобні (ліпофільні) – розчиняються в неполярних розчинниках (стероїдні гормони, йодтиронін).

За локалізацією біосинтезу гормонів в організмі розрізняють гіпофізарні, гіпоталамічні, статеві гормони, кортикостероїди (гормони кори наднирників), гормони щитовидної залози (тиреоїдні гормони).

Зважаючи на те, що більшість гормонів являють собою складні за структурою сполуки, їх хімічні назви є громіздкими. Тому можна використовувати тривіальні назви гормонів, які відображають їх біологічну функцію (пролактин, вазопресин) або вказують на джерело гормону (інсулін від лат. *insula* – острівцець).

Під впливом подразників у ЦНС виникають сигнали – нервові імпульси, які потім надходять до гіпоталамусу або крізь спинний мозок у мозкову речовину наднирників. У гіпоталамусі синтезуються перші гормони «дистанційної» дії, так звані нейрогормони, або рилізінг-фактори (від англ.

release – вивільняти, звільняти). Потім нейрогормони досягають гіпофізу, де регулюють (підсилюють або сповільнюють) виділення тропних гормонів, процеси синтезу гормонів, які своєю чергою контролюють процеси синтезу гормонів периферичними залозами. Мозкова речовина наднирників під дією сигналів із ЦНС виділяє адреналін та деякі інші гормональні речовини.

Отже, гіпоталамус, мозкова речовина наднирників безпосередньо контролюються ЦНС, тоді як інші ендокринні залози пов'язані з ЦНС лише опосередковано – через гормони гіпоталамусу та гіпофізу.

У результаті такої передачі ендокринні залози організму синтезують специфічні гормони, які забезпечують регулюючий вплив на різні органи та тканини організму.

Між залозами внутрішньої секреції утворюються складні взаємодії, серед яких можна виділити такі основні типи:

1) Взаємодія за принципом позитивного прямого чи негативного зворотного зв'язку.

Наприклад, тиреотропний гормон, що виробляється в гіпофізі, стимулює утворення гормонів щитовидної залози (позитивний прямий зв'язок), однак підвищення концентрації гормонів щитовидної залози понаднормово призупиняє утворення тиреотропного гормону гіпофізу (негативний зворотний зв'язок).

2) Синергізм та антагонізм гормональних впливів.

Наприклад, адреналін, що синтезується наднирниками, глюкагон, що виділяється підшлунковою залозою, зумовлюють збільшення вмісту глюкози в крові за рахунок розкладу глікогену в печінці (синергізм). Серед групи жіночих статевих гормонів прогестерон – послаблює, а естрогени – підсилюють скорочувальні функції мускулатури матки (антагонізм);

На сьогодні виявлено декілька варіантів механізму дії гормонів:

1) цитозольний – характерний для гормонів (стероїди та похідні ароматичних амінокислот), які проникають усередину клітин крізь ліпідний шар мембран і впливають на активність генетичного апарату клітин;

2) мембранний – гормони відіграють роль алостеричного ефектора транспортних систем клітинної мембрани, змінюючи її проникність відносно різних речовин (іони металів, глюкоза тощо);

3) мембранно-внутрішньоклітинний – взаємодія гормону з білковими рецепторами мембрани сприяє активації специфічних ферментів, які збільшують швидкість синтезу циклічних нуклеотидів, що регулюють хімічні реакції в клітині (характерно для пептидних гормонів).

Ейкозаноїди сполуки, що належать до біурегуляторів клітинних функцій ліпідної природи. Ейкозаноїди є фізіологічно активними похідними арахідонової кислоти.

Залежно від особливостей хімічної структури ейкозаноїди поділяються на *простагландини, тромбоксани та лейкотрієни* – сполуки, що вирізняються

будовою та спектрами біологічної дії. Крім похідних арахідонової кислоти, деякі сполуки з класу простагландинів є похідними α - та γ -ліноленової кислоти.

? Питання для самоконтролю

1. Дайте визначення поняття «гормони». Наведіть класифікацію гормонів.
2. Охарактеризуйте механізм дії гормонів.
3. Назвіть і охарактеризуйте гормони гіпоталамусу.
4. Назвіть і охарактеризуйте гормони гіпофізу.
5. Назвіть і охарактеризуйте гормони щитовидної та паращитовидної залоз.
6. Назвіть і охарактеризуйте гормони мозкового та кіркового шарів наднирників.
7. Назвіть і охарактеризуйте гормони підшлункової залози.
8. Назвіть і охарактеризуйте гормони статевих залоз.

Під час самостійного вивчення теми № 8 необхідно звернути увагу на основні принципи й механізми гормональної регуляції; ознайомитися з принципами регуляції обміну речовин у клітині, механізмом дії стероїдних, білкових гормонів, особливостями їх якісного та кількісного визначення; засвоїти методи та основні реакції кількісного визначення стероїдних і тиреоїдних гормонів.

✍ Завдання для домашнього виконання

1. Заповніть таблицю 14:

Таблиця 14

Класифікація гормонів

Місце синтезу гормону	Назва	Хімічна природа	Функція	Надлишок, недостатність
1	2	3	4	5
Гіпоталамус				
Гіпофіз: Передня частка Задня частка				
Паращитовидна залоза				
Щитовидна залоза				
Підшлункова залоза				
Наднирники				
Статеві залози				



Лабораторна робота №9 ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ГОРМОНИ

Мета роботи: провести якісні реакції на гормони та засвоїти їх особливості.

Практичне значення роботи. За допомогою якісних реакцій можна визначити наявність гормонів різної природи у пробі.

Матеріали та реактиви: штатив для пробірок, пробірки, піпетки, електрична плитка, азбестова сітка; дистильована вода, розчин адреналіну (1:1000), розчин інсуліну (в ампулах), 3%-й розчин ферум (III) хлориду, 10%-й розчин натрій гідроксиду, діазореактив (або 1%-а сульфанілова кислота та 5%-й розчин натрій нітриту), 10%-й розчин натрій карбонату; 10%-й розчин натрій гідроксиду, 1%-й розчин купрум сульфату, 5%-й розчин плюмбум ацетату, 20%-й розчин сульфосаліцилової кислоти.

Хід роботи

Дослід 1. Якісні реакції на адреналін

Принцип реакції. Реакції ґрунтуються на утворенні забарвлених продуктів під час окиснення адреналіну в пробі.

а) реакція з ферум (III) хлоридом

У пробірку вносять 0,5-1 мл розчину адреналіну (1 : 1000), додають 1-2 краплі 3%-го розчину ферум (III) хлориду, перемішують. Спостерігають появу *смарагдово-зеленого забарвлення*. Далі додають 1 краплю 10%-го розчину натрій гідроксиду – з'являється *вишнево-червоне забарвлення*, а потім *коричнєве*.

б) реакція з діазореактивом

До 0,5 мл діазореактиву (або до 0,5 мл 1%-ої сульфанілової кислоти додають 0,5 мл 5%-го розчину натрій нітриту – утворюється діазореактив) додають 0,5 мл розчину адреналіну (1 : 1000), 0,5 мл 10%-го розчину натрій карбонату, перемішують. Розчин забарвлюється у *червоний колір*.

Дослід 2. Якісні реакція на інсулін

а) біуретова реакція на інсулін

Принцип реакції. У лужному середовищі поліпептиди утворюють комплексні солі Купруму, які мають фіолетове забарвлення. Біуретова реакція підтверджує білкову природу інсуліну, що містить пептидний зв'язок.

Хід роботи. До 5 крапель розчину інсуліну додають 5 крапель 10%-го розчину натрій гідроксиду та 1 краплю 1%-го розчину купрум сульфату. Перемішують, струшують. Спостерігають появу *фіолетового забарвлення*. Роблять висновки про пептидну природу інсуліну.

б) реакція на залишки сульфуровмісних амінокислот в інсуліні (реакція Фоля)

Принцип реакції. Реакція ґрунтується на взаємодії сульфуровмісних амінокислот з лугами при нагріванні. При цьому від амінокислот відщеплюється Сульфур у вигляді гідроген сульфід, який виявляють за допомогою реакції з плюмбум ацетатом.

Хід роботи. До 5 крапель розчину інсуліну додають 5 крапель 10%-го розчину натрій гідроксиду, нагрівають до кипіння. Потім додають 2-3 краплі 5%-го розчину плюмбум ацетату. Спостерігають появу *коричневого* або *чорного забарвлення*. Роблять висновок про вміст цистину, цистеїну в складі інсуліну, а також відмічають значення дисульфідних зв'язків у його структурі.

в) реакція на інсулін із сульфосаліциловою кислотою

Принцип реакції. Реакція ґрунтується на взаємодії інсуліну з розчином сульфосаліцилової кислоти з утворенням осаду білого кольору.

Хід роботи. До 1 мл розчину інсуліну, додають 5 крапель 20%-го розчину сульфосаліцилової кислоти. Спостерігають утворення *білого осаду*.

Результати дослідів 1-2 запишіть у таблицю 15 за аналогією:

Таблиця 15

Якісні реакції на гормони

№ з/п	Назва реакції	Реактиви, які використовувалися	Зміни, що відбулися під час реакції	Висновок
1	2	3	4	5
1	Якісна реакція на адреналін а) реакція з ферум (III) хлоридом	1) 0,5 мл-1 мл розчину адреналіну (1 : 1000); 2) 1-2 краплі 3%-го розчину ферум (III) хлориду. Перемішують. 4) 1 краплю 10%-го розчину натрій гідроксиду	З'являється смарагдово-зелене забарвлення, потім – вишнево-червоне і зрештою – коричневе.	Якісна реакція на адреналін

За результатами лабораторної роботи зробіть загальний висновок.

СПОСОБИ ПРИГОТУВАННЯ РЕАКТИВІВ

Амонійний розчин аргентуму. До 5%-го розчину аргентум нітрату по краплях додають розчин амоніаку доти, доки не розчиниться сірий осад.

Діазореактив. Готують у день проведення дослідів із основного розчину сульфанілової кислоти.

0,9 г сульфанілової кислоти розчиняють у 9 мл концентрованої хлороводневої кислоти і доводять водою до 100 мл. Зберігають у темній склянці. Цей основний розчин сульфанілової кислоти може зберігатися протягом 2-х тижнів.

1,5 мл основного розчину сульфанілової кислоти наливають у мірну колбу на 50 мл, що стоїть у льоду (або крижаній воді), додають 1,5 мл 5%-го розчину натрій нітриту. Через 1 хв поступово додають воду (при охолодженні) до позначки. Перемішують, залишають розчин у льоду на 15 хв. Розчин діазореактиву може зберігатися в льоду протягом доби.

Дифеніламіновий реактив. 1 г дифеніламіну розчиняють у 100 мл суміші із 95 частин концентрованої ацетатної кислоти і 5 частин концентрованої сульфатної кислоти.

Молібденовий реактив для визначення фосфорної кислоти. 7,5 г молібдату амонію розчинити в 100 мл води та додати 100 мл концентрованої нітратної кислоти.

Препарат сахарози. 0,5 г висушених дріжджів добре розтирають у фарфоровій ступці, а потім гомогенізують з 5 мл дистильованої води.

Реактив біуретовий. У колбу на 1 л вносять 1,5 г купрум (II) сульфату та 6,0 г калій-натрій тартрату й розчиняють у невеликій кількості води. Далі додають 300 мл 10% розчину натрій гідроксиду та 0,1 г калій йодиду. Після перемішування загальний об'єм суміші доводять дистильованою водою до 1 л.

Реактив біуретовий. 4,5 г сегнетової солі ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) розчиняють у 40 мл 0,2 н розчину натрій гідроксиду. Після розчинення додають 1,5 г кристалогідрату купрум (II) сульфату ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), 0,5 г калій йодиду (KI) та доводять до 100 мл 0,2 н розчином натрій гідроксиду. Зберігають у темному місці (або в посуді з темного скла). Реактив придатний для використання протягом одного місяця.

Реактив біуретовий (робочий розчин). 20 мл біуретового реактиву змішують з 80 мл розчину калій йодиду (0,5 г калій йодиду розчиняють у 100 мл 0,2 н розчину натрій гідроксиду). Зберігають у посуді з темного скла не більше 2-х тижнів.

Реактив дифеніламіновий. 1 г дифеніламіну розчиняють у суміші 2,75 мл концентрованої сульфатної кислоти та 100 мл концентрованої ацетатної кислоти.

Реактив Фелінга. Змішують рівні об'єми розчинів Фелінга I і II. I. 40 г купрум сульфату розчиняють у 1 л дистильованої води. II. 200 г калій-натрій тартрату розчиняють при нагріванні в невеликій кількості

води. Додають 150 г натрій гідроксиду, загальний об'єм суміші доводять дистильованою водою до 1 л.

Хромову суміш:

1-й спосіб: 200 г калій біхромату ($K_2Cr_2O_7$) розчиняють у 1 л концентрованої нітратної кислоти (HNO_3). При цьому забороняється потрапляння у хромову суміш етанолу й метанолу, які окиснюють $Cr_2O_7^{2-}$ іон до Cr^{3+} , розчин забарвлюється в зелений колір та стає непридатним для використання.

2-й спосіб: 6 г натрій біхромату ($Na_2Cr_2O_7$) розчиняють у 100 мл H_2O + 100 мл H_2SO_4 (густина $1,84 \text{ г/см}^3$). Хромову суміш, приготовлену на сульфатній кислоті (H_2SO_4), не використовують, якщо посуд забруднений солями барію.

ПРЕДМЕТНИЙ ПОКАЖЧИК

Авітаміноз 89

Аденозинтрифосфорна кислота (АТФ) 24, 72

Активний центр ферменту 76

Активність ферменту 77

Апарат Гольджі (комплекс Гольджі) 21

Апофермент 76

Афінна хроматографія 41

Біохімія (біологічна хімія) 16

Вакуолі 22

Вітаміни 89

Висолювання 34

Вторинна структура білка 30

Вторинна структура ДНК 70

Вуглеводи 52

Гель-фільтрація 38

Гемоглобін 33

Гетерополісахариди (гетероглікани) 56

Гіповітаміноз 89

Гіпервітаміноз 90

Гліколіпіди 61

Гомополісахариди (гомоглікани) 56

Гормони 101

Дальтон 33

Двомембранні органели клітини 23

Денатурація 35

Дисахариди 52

Діаліз 37

Ейкозаноїди 103

Електрофорез 39

Ендоплазматична сітка (ЕПС), або ендоплазматичний ретикулум (ЕПР) 20

Ізоелектрична точка (ІЕТ) 29, 36

Інгібітори 77

Іонно-обмінна хроматографія 40

Замінні амінокислоти 28

Катал 83
Коефіцієнт специфічності 71
Конкурентне інгібування 78
Константа Міхаеліса 81
Кофермент 76
Клітина 18
Крохмаль 55

Лейкотрієни 103
Лізосоми 21
Ліпіди 60

Матрична (інформаційна) РНК 73
Мембрана 19
Мононуклеотид 68
Моносахариди 53
Мутаротація 54

Незамінні амінокислоти 28
Неконкурентні інгібітори 78
Неконкурентне інгібування 78
Нуклеїнові кислоти 67

Одномембранні органели клітини 20
Олігомерні білки 32

Пептидний зв'язок 30
Первинна структура білка 30
Первинна структура нуклеїнових кислот 69
Полісахариди 55
Простагландини 63, 103
Прості ліпіди 60
Протеїни 33
Протеїди 33
Протомер (субодиниця) 32

Система мембран 19
Складні ліпіди 61
Специфічність дії 82
Стериди 62
Стероли 61
Субстратна специфічність 81
Субстратний центр ферменту 76

Термолабільність 82
Тонкошарова хроматографія 40

Третинна структура білка 31
Третинна структура ДНК 71
Тромбоксани 103

Четвертинна структура білка 32

Ферменти (ензими) 76
Фосфоліпіди 61

Холестерол (холестерин) 61
Холофермент 76

Центрифугування 38
Циклічний аденозинмонофосфат (цАМФ) 72

Юніт 83

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

Основна:

1. Загайко А.Л. та ін. Біохімія : підруч. для студ. фармац. спец. / за ред. : А.Л. Загайка, К.В. Александрової; МОЗ України. Харків : Форт, 2014. 728 с.
2. Губський Ю.І. та ін. Біологічна і біоорганічна хімія : у 2 кн. нац. підруч. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації. Кн. 2. Біологічна хімія / за ред.: Ю.І. Губського, І.В. Ніженковської. 2-ге вид., випр. Київ : Медицина, 2017. 544 с.
3. Губський Ю.І. Біологічна хімія : підруч. для студ. вищ. мед. навч. закл. IV рівня акредитації. 2-ге вид. Київ ; Вінниця : Нова книга, 2011. 656 с.
4. Загайко А.Л. та ін. Функціональна біохімія: навчальний посібник для студ. вищого фарм. навч. закл. IV рівня акредитації. Харків : НФаУ, 2010. 219 с.

Додаткова:

1. Скляр О.Я., Фартушок Н.В., Сойка Л.Д., Смачило І.С. Біологічна хімія з біохімічними методами дослідження [Текст] : підручник. Київ : Медицина, 2009. 351 с.
2. Скляр О.Я., Фартушок Н.В., Бондарчук Т.І. Біологічна хімія [Текст] : підруч. для студ. стомат. ф-тів вищ. мед. навч. закл. освіти III-IV рівнів акредитації. Тернопіль : Укрмедкнига, 2015. 706 с.
3. Gubsky, Yu. I. Biological chemistry : textbook for students of medical and pharmaceutical faculties / Yu. I. Gubsky ; ed. by.: Yu. I. Gubsky. 2nd ed. Vinnytsya : NovaKnyha, 2018. 488 p.

Інформаційні ресурси

1. Борецький Ю., Сибіль М., Гложик І., Трач В. Біохімія та основи біохімії рухової активності : навч. посіб. Львів : ЛДУФК ім. І. Боберського, 2022. 292 с. URL: <http://files.znu.edu.ua/files/Bibliobooks/Inshi72/0052753.pdf>.
2. Гвоздяк П.І. Біохімія води. Біотехнологія води : автомонографія. Київ : Києво-Могилянська академія, 2019. 228 с.
3. Генчева В.І., Корнет М.М., Омелянчик Л.О. Хімія з основами біохімії : метод. рек. до лаб. занять Запоріжжя : ЗНУ, 2021. 60 с. URL: <http://ebooks.znu.edu.ua/files/metodychky/2020/11/0045360.doc>.
4. Омелянчик Л.О., Генчева В.І., Новосад Н.В. Біохімія з основами молекулярної біології : навч.-метод. посіб. Запоріжжя : ЗНУ, 2021. 136 с. URL: <http://ebooks.znu.edu.ua/files/metodychky/2021/10/0047060.doc>.
5. Тимочко-Волошин Р., Гащишин В., Борецький Ю. Біохімія : курс лекцій. Львів : ЛДУФК ім. Івана Боберського, 2022. 184 с. URL: <http://files.znu.edu.ua/files/Bibliobooks/Inshi73/0054091.pdf>.
6. Biomass, Biofuels, Biochemicals : Circular Bioeconomy: Technologies for Waste Remediation / S. Varjani, A. Pandey, M. J. Taherzadeh [etal.] (eds.). Amsterdam : Elsevier, 2022. 454 p. URL: <http://files.znu.edu.ua/files/Bibliobooks/Inshi72/0053169/>.

Навчально-методичне видання
(українською мовою)

Омельянчик Людмила Олександрівна
Генчева Вікторія Іванівна

БІОХІМІЯ

Навчально-методичний посібник
для здобувачів ступеня вищої освіти бакалавра спеціальності «Хімія»
освітньо-професійної програми «Хімія»
денної форми здобуття освіти

Рецензент *Н.В. Новосад*
Відповідальний за випуск *О.А. Бражко*
Коректор *В.І. Генчева*