

ДРОГОБИЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ПЕДАГОГІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ імені ІВАНА ФРАНКА

*Світлана Монастирська, Світлана
Волошанська, Галина Клепач*

БІОХІМІЯ

*МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
до лабораторних занять*

Дрогобич, 2025

УДК 577.1(072)
М80

*Рекомендовано вченою радою Дрогобицького державного
педагогічного університету імені Івана Франка
(протокол № 7 від 26.06.2025 р.)*

Рецензенти:

Олена Волошин, кандидат педагогічних наук, доцент кафедри фізичної терапії, ерготерапії та здоров'я Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка;

Наталія Гойванович, кандидат біологічних наук, доцент кафедри біології та хімії Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка.

Відповідальна за випуск – **Ірина Бриндзя**, кандидат біологічних наук, завідувач кафедри біології та хімії Дрогобицького державного педагогічного університету імені Івана Франка.

Монастирська С., Волошанська С., Клепач Г.

Біохімія : методичні рекомендації до проведення лабораторних робіт. Дрогобич: Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка. 2025. 40 с.

Навчальний посібник написаний відповідно до робочих програм навчальної дисципліни “Біохімія” для здобувачів, що навчаються за освітньою програмою «Фізична культура і спорт» та «Середня освіта (Фізична культура)» першого (бакалаврського) рівня вищої освіти. У ньому вміщені методичні рекомендації щодо виконання лабораторних робіт, подано короткі теоретичні відомості, питання для самоконтролю. Проведення лабораторних робіт дає змогу засвоїти основні властивості найважливіших хімічних компонентів в організмі, особливості обміну речовин в клітинах в нормі та при м'язовій діяльності, а також методи їх якісного виявлення та кількісного визначення.

Запропоновані лабораторні роботи допоможуть студентам оволодіти найпростішими методами експериментальних досліджень, набутти практичних умінь та навичок.

ПЕРЕДМОВА

Роль біохімії в підготовці фахівців у галузі фізичного виховання і спорту визначається необхідністю розуміння процесів обміну речовин та їхньої регуляції під час фізичного навантаження. У теперішній час досягнуто значних успіхів у розумінні визначального значення клітинного метаболізму в процесах життєдіяльності, оскільки обмін речовин створює ту єдність, яка існує між живими організмами і навколишнім середовищем.

Біохімічні дослідження відіграють важливу роль у вивченні процесів адаптації організму до фізичного навантаження, у пошуках ефективних засобів і методів підвищення працездатності, чергування спортивної діяльності і відпочинку, відборі для занять спортом, розробці шляхів реабілітації після фізичного перевантаження та різних видів травм.

Курс "Біохімія" має практичне спрямування, що забезпечується виконанням лабораторних робіт.

У посібнику подані методичні рекомендації до проведення лабораторних робіт. У кожній роботі визначено тему та мету, описано хід виконання кожного дослідження, наведені окремі рівняння реакцій, що характеризують механізм протікання кожного процесу. Після кожної лабораторної роботи подаються питання для самоконтролю. У посібнику наведено зразок оформлення лабораторної роботи.

Методичні рекомендації до проведення лабораторних робіт з біохімії допоможуть ознайомити студентів з методами біохімічних досліджень, які використовуються в спортивній практиці для визначення реакцій організму на фізичні навантаження і міру тренуваності.

Розроблений навчальний посібник сприятиме студентам спеціальностей «Фізична культура і спорт» та «Середня освіта (Фізична культура)» у засвоєнні теоретичного матеріалу з біохімії.

ПЕРЕЛІК ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

Лабораторна робота № 1. Вступ. Ознайомлення із біохімічною лабораторією та правилами роботи в ній. Якісні реакції на амінокислоти.....	5
Лабораторна робота № 2. Якісні реакції на білки. Реакції осадження білків....	9
Лабораторна робота № 3. Вивчення властивостей ферментів	14
Лабораторна робота № 4. Якісні реакції на вітаміни та гормони.....	18
Лабораторна робота № 5. Якісні реакції на вуглеводи. Визначення показників вуглеводного обміну.....	24
Лабораторна робота № 6. Дослідження властивостей ліпідів. Ферментативний гідроліз жирів.....	29
Лабораторна робота № 7. Визначення кінцевих продуктів азотистого обміну.....	34

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

ВСТУП. ОЗНАЙОМЛЕННЯ ІЗ БІОХІМІЧНОЮ ЛАБОРАТОРІЄЮ ТА ПРАВИЛАМИ РОБОТИ В НІЙ. ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА АМІНОКИСЛОТИ

МЕТА: ознайомити студентів з правилами роботи і техніки безпеки в біохімічній лабораторії, обладнанням, посудом. Навчити користуватися мірним посудом. Забезпечити формування практичних навичок проведення якісних реакцій на амінокислоти.

Теоретичні відомості

Термін «лабораторія» походить від латинського слова *laborare*, що означає працювати, обробляти.

Лабораторії створюються для проведення навчальних, наукових лабораторних досліджень показників обміну речовин з метою загального обстеження і лікування людей. Всі види досліджень, які здійснюються в лабораторіях, мають важливе практичне значення для визначення стану здоров'я людини.

Кожна лабораторія відповідно до завдань укомплектована специфічним обладнанням та приладами.

Проведення досліджень у лабораторії найчастіше потребує застосування лабораторного посуду різноманітного призначення. Він може бути зі скла, фарфору, пластмаси. Залежно від призначення лабораторний посуд поділяють на дві групи:

1) посуд загального призначення:

- * пробірки хімічні, хімічні склянки (від 50 до 100 мл);
- * колби круглі і конічні;
- * лійки;
- * крапельниці з піпетками і без них;
- * скляні палички і лопатки для розмішування осаду;
- * тиглі для спалювання проб;
- * ступки фарфорові для подрібнення речовин;
- * склянки для зберігання реактивів.

2) посуд спеціального призначення:

- * посуд з термостійкого скла;
- * круглодонні колби;
- * колби К'ельдаля;
- * лійки Бюхнера;
- * мірний посуд – циліндри, мензурки;
- * піпетки і бюретки.

З метою якісного проведення біохімічного аналізу необхідно використовувати хімічно чистий посуд.

Необхідно звернути увагу на наявність необхідного обладнання, без якого жодна біологічна лабораторія працювати не може. До такого належать: витяжна шафа, сушильна шафа, термостат, ваги (електронні, технічні, аптекарські, торсійні), апарат для дистиляції води, центрифуги, водяні бані, термометри, фотоелектроколориметри, рН-метри.

Робота сучасної біохімічної лабораторії неможлива без використання спеціального автоматичного обладнання, зокрема біохімічного аналізатора, спектрофотометра та ін. Автоматичні аналізатори дають змогу за відносно короткий проміжок часу і в невеликому об'ємі біологічного матеріалу визначити кілька десятків біохімічних параметрів. Автоматизація сучасних біохімічних лабораторій – це вимога часу.

ПРАВИЛА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ В БІОХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

Роботи, які проводяться в лабораторії, вимагають суворого дотримання загальних правил техніки безпеки, недотримання яких може бути причиною нещасного випадку:

1. Працювати лише у спецодязі (халат).
2. На робочому місці залишати тільки найнеобхідніші речі (зошит, ручка).
3. Роботи з концентрованими кислотами, лугами та іншими агресивними речовинами проводити тільки у витяжній шафі, обережно, щоб не допустити потрапляння в очі, на одяг і попередити опіки.
4. Для приготування розчинів кислот різної концентрації, кислоту потрібно додавати у воду, а не навпаки, щоб не допустити розбрикування розчину.
5. При роботі з кислотами, розчинами лугів та іншими агресивними рідинами категорично забороняється всмоктувати ці рідини ротом, для цього потрібно користуватися піпеткою та гумовою грушею або дозаторами.
6. Дотримуватись правил безпеки при роботі з електроприладами. Усі прилади повинні бути заземленими.
7. При нагріванні рідин у пробірці потрібно спрямувати отвір пробірки у протилежний бік від себе або товариша
8. У випадку загоряння одягу не можна бігати, щоб загасити полум'я. Потрібно загорнутись у ковдру, пальто, щільну тканину.
9. Не кидати папір, сірники, побитий посуд у водостічні раковини.
10. Після закінчення роботи привести в порядок своє робоче місце, поставити на місце реактиви, виключити воду і світло.

ПРАКТИЧНА РОБОТА

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА АМІНОКИСЛОТИ

1. Ксантопротеїнова реакція (на виявлення ароматичних амінокислот).

Ксантопротеїнова реакція дає змогу виявити у білку ароматичні амінокислоти (Три, Фен, Тир), що містять у своєму складі бензольне ядро. При нагріванні із концентрованою HNO_3 бензольне кільце зазнає нітрування, у результаті чого утворюються нітросполуки жовтого забарвлення, яке у лужному середовищі переходить в оранжеве.

Саме тому жовте забарвлення спостерігається внаслідок випадкового потрапляння кислоти на шкіру, нігті, адже білки цих структур містять у своєму складі багато ароматичних амінокислот.

Хід роботи

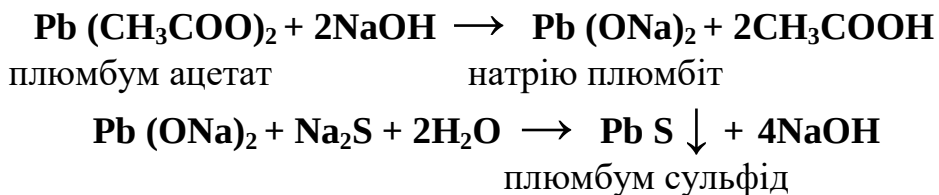
У дві пробірки наливають: у першу 10 крапель розчину яєчного білка, а другу – 10 крапель 1 % розчину желатину. У кожену пробірку додають по 3–5 крапель концентрованої нітратної кислоти. Осад білка, що утворився, обережно підігрівують, спостерігають появу жовтого забарвлення. Пробірки охолоджують, і обережно додають надлишок натрію гідроксиду або аміаку (приблизно 10–15 крапель 20 % розчину NaOH) до появи оранжевого забарвлення внаслідок утворення натрієвої солі динітротирозину.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

2. Реакція Фоля (на виявлення цистеїну).

При нагріванні розчину білка з лугом та плюмбум (II) ацетатом розчин забарвлюється в чорний або бурий колір.

Реакція зумовлена присутністю в білку сульфурвмісних амінокислот. При кип'ятінні цистеїну і цистину від них легко відщеплюється сульфур, який у лужному середовищі утворює натрію сульфід. Його виявляють за допомогою іонів важких металів, наприклад, іонів плюмбуму, внаслідок даної реакції утворюється чорний осад плюмбум(II) сульфід :



Хід роботи

У три пробірки наливають по 3 краплі р-ну плюмбум ацетату та 30 % NaOH до розчинення осаду гідроксиду свинцю. Додають у першу пробірку 7–8 крапель р-ну білка, у другу – таку ж кількість 0,1 % р-ну цистеїну, у третю – 7–

8 крапель желатину. Пробірки нагрівають. Порівнюють забарвлення в пробірках.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок

3. Реакція Адамкевича (на триптофан).

Триптофан у кислому середовищі вступає в реакцію із гліоксиловою кислотою (альдегідами), утворюючи при цьому продукти конденсації, забарвлені в червоно-фіолетовий колір. Гліоксилова кислота завжди присутня як домішка в концентрованій ацетатній кислоті, тому її використовують в реакціях, як джерело гліоксилової кислоти. Концентрована H_2SO_4 бере участь в реакції як водовіднімаючий агент.

Хід роботи

У дві пробірки наливають: у першу – 10 крапель розчину яєчного білка, у другу – 10 крапель розчину желатину. В обидві додають по 1 мл ацетатної кислоти, і нахиливши пробірку уважно нашаровують по 1 мл 10 % сульфатної кислоти. На межі поділу двох шарів спостерігають утворення фіолетового кільця. Порівнюють ефективність реакції в обох пробірках.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Написати загальну формулу α -амінокислот. Чим відрізняються амінокислоти одна від одної?
2. Скільки амінокислот входить до складу білків? Як класифікують амінокислоти за біологічною цінністю?
3. Раціональна класифікація амінокислот (грунтуються на полярності радикалів).
4. Чим зумовлена амфотерність амінокислот?
6. Написати біполярний іон амінокислоти. Визначити кислотну і основну групи.
7. Охарактеризуйте фізико-хімічні властивості амінокислот.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2

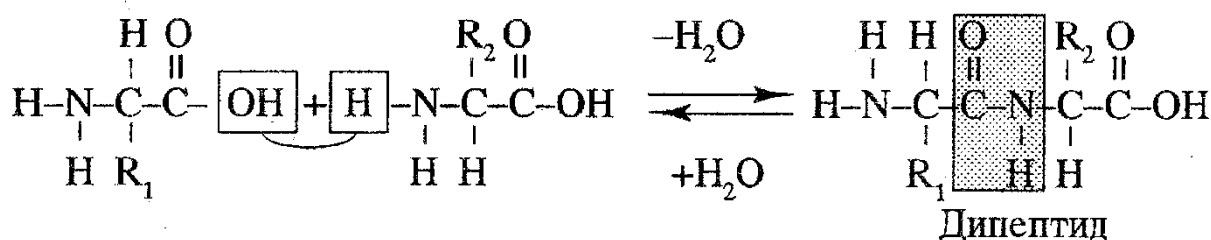
ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА БІЛКИ. РЕАКЦІЇ ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ

МЕТА: узагальнити у здобувачів відомості про будову, функції та фізико-хімічні властивості білків. Ознайомити студентів із кольоровими реакціями на білки та методами їх ідентифікації. Сформуванати практичні навички проведення реакцій осадження білків з метою їх виявлення в біологічних рідинах

Теоретичні відомості

Білки – складова частина всього живого. Їх вміст у клітині близько 50 % (у розрахунку на суху масу). Білки є основним будівельним матеріалом клітин та організму загалом. Із природних джерел виділяють білки-ферменти, білки-гормони, білки-токсини, білки-антигени та ін. Отже, важливість білків визначається їх здатністю виконувати найрізноманітніші функції

Білки – це високомолекулярні нітрогенвмісні природні сполуки. Білкова молекула – полімер – побудована із ковалентно зв'язаних між собою залишків амінокислот. Основний зв'язок у білковій молекулі – пептидний. Він утворюється внаслідок відщеплення молекули води від карбоксильної (–COOH) і аміно-(NH₂)-груп двох α-амінокислот, що взаємодіють між собою:



R₁, R₂ – радикали амінокислот бічного ланцюга

До утвореного дипептиду за допомогою нових пептидних зв'язків приєднуються інші амінокислотні мономери, в результаті чого утворюється поліпептид, який є основою первинної структури білка. На основі первинної структури формуються інші (вищі) структурні рівні білкових молекул – вторинна, третинна, четвертинна, що в цілому відображають форму, розміри, а також властивості білків.

За своєю структурою білки поділяються на прості і складні.

Прості білки (протеїни) складаються лише із амінокислот, наприклад, альбуміни, гістони, деякі гормони (інсулін), ферменти (пепсин) тощо.

Складні білки (протеїди), крім амінокислот, містять різні простетичні групи (небілкові речовини). Це можуть бути нуклеїнові кислоти (РНК, ДНК), вуглеводи, ліпіди, ортофосфатна кислоти, іони металів та інші.

Фізико-хімічні властивості білків визначаються їх високою молекулярною масою, амфотерністю та полярністю амінокислот, що входять до їх складу,

лабільністю вторинної і третинної структур білка, здатністю до зміни конформації. Високою молекулярною масою зумовлюється колоїдний характер водних розчинів білків. У молекулах білків існують полярні та заряджені бокові ланцюги амінокислот, що й визначають розчинність білків у воді та водних сольових розчинах. Навколо іонізованих і полярних груп молекул білка утворюється гідратна оболонка. Гідратація білків є важливим фактором стійкості їх розчину, і тому будь-який фактор, що приводить до порушення гідратації, одночасно знижує стійкість білкових молекул у розчинах і зумовлює випадання їх в осад.

Білковим розчинам властиві явища Тендаля, діалізу, синерезису, вони відзначаються низьким осмотичним тиском.

ПРАКТИЧНА РОБОТА

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА БІЛКИ

1. Біуретова реакція.

Біуретова реакція – це реакція на сполуки, що побудовані на основі пептидних зв'язків (сечовина, поліпептиди, білки). Такі сполуки у лужному середовищі за присутності солей купрум (II) утворюють забарвлені рожево-фіолетові комплексні сполуки, при цьому інтенсивність кольору таких сполук залежить від кількості пептидних зв'язків у молекулі білка.

Хід роботи

У три пробірки вносять: у першу 1 мл 1 % розчину яєчного білка; у другу 1 мл 1 % розчину желатину; у третю 1 мл 1 % розчину гліцину. До кожної пробірки додають по 10 крапель 10 % р-ну NaOH та 1–2 краплі 1 % р-ну CuSO_4 і перемішують. Спостерігають за зміною забарвлення розчину в пробірках.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

2. Нінгідринова реакція.

Білки, пептиди та вільні α -амінокислоти при взаємодії з нінгідрином утворюють забарвлену в синій або фіолетовий колір комплексну сполуку. Принцип реакції полягає у тому, що при нагріванні білка з розчином нінгідрину α -амінокислоти окиснюються і зазнають окисного дезамінування з утворенням альдегіду і вуглекислоти. Нінгідрин при цьому відновлюється. Відновлений нінгідрин конденсується з аміаком і другою молекулою окисненого нінгідрину, утворюючи барвник мурексидної будови фіолетово-синього кольору. Ця реакція широко використовується для кількісного визначення амінокислот і пептидів.

Хід роботи

У пробірку наливають 1 мл р-ну гліцину, додають 5 крапель розчину нінгідрину та нагрівають. З'являється фіолетово-синє забарвлення. Реакцію повторюють з розчином білка. Порівнюють забарвлення розчину в пробірках.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Реакції осадження білків

За участю різноманітних фізико-хімічних чинників відбувається осадження білків (денатурація). При цьому виявляється порушення стабільності структури білкової молекули, і білки втрачають свої біологічні функції. До денатурувальних агентів належать: висока температура, мінеральні та органічні кислоти, солі важких металів, органічні розчинники, алкалоїдні реактиви.

3. Осадження білків солями важких металів

Під впливом солей важких металів (плюмбуму, аргентуму, купруму, гідраргіруму та ін.) у розчині відбувається денатурація білкової молекули. Осадження денатурованого білка зумовлена адсорбцією важкого металу на поверхні білкової молекули унаслідок чого відбувається утворення нерозчинних комплексів. Надлишок цих солей сприяє розчиненню утвореного осаду, що пояснюється адсорбцією надлишкових іонів металу і перезарядженням білкового комплексу (явище адсорбції, пептизації).

Означена властивість білків застосовується як протиотрута при отруєнні живого організму солями ртуті, свинцю, міді та інших металів. Використання білка як реагента обмежує всмоктування важкого металу, утворюючи з ним нерозчинні комплекси.

Хід роботи

У три пробірки наливають по 10 крапель розчину яєчного білка і додають по краплях: у першу – 5 % розчину плюмбум (II) ацетату, у другу – 3% розчину купрум (II) сульфату, у третю – 3% розчину аргентум нітрату. Спостерігають утворення осадів. У першу та другу пробірки додають надлишок розчинів відповідних реактивів, відбувається розчинення осадів.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

4. Осадження білків мінеральними та органічними кислотами

Осадження білків мінеральними кислотами (крім ортофосфатної) відбувається у результаті дегідратації білкових частинок та нейтралізації їхніх зарядів, внаслідок чого утворюються комплексні солі білка із кислотами. При тривалій дії або при надлишку мінеральних кислот (крім нітратної),

відбувається частковий гідроліз і перезарядження білка, осад розчиняється.

Білки з розчину можуть осаджуватись також органічними кислотами, проте різні органічні кислоти діють неоднаково. Механізм осадження білків органічними кислотами пояснюється дегідратацією білкової молекули, нейтралізацією електричного заряду, а також руйнуванням системи водневих зв'язків, що стабілізують рівні просторової організації молекули.

Хід роботи

У три пробірки обережно наливають по 1мл концентрованих хлоридної, сульфатної, нітратної кислот, після чого, по стінці доливають по 1мл розчину яєчного білка. На межі двох рідин спостерігається поява осаду білка у вигляді білого кільця. Уміст кожної пробірки обережно струшують. Відбувається розчинення осаду білка в надлишку хлоридної та сульфатної кислот.

У дві пробірки наливають по 1мл розчину білка і додають: в одну пробірку 20 крапель 20 % розчину сульфосаліцилової кислоти, а у другу – 2–3 краплі розчину трихлорацетатної кислоти. Спостерігають випадання осаду білка.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

5. Осадження білків алкалоїдними реактивами

Осадження білків алкалоїдними реактивами (пікринова кислота, танін, залізосинеродистий калій, солі вольфрамової, фосфорномолібденової, фосфорновольфрамової кислот) є процесом незворотним. Процес осадження зумовлений наявністю в молекулі білка гетероциклічних груп, аналогічних тим, які містяться у молекулах алкалоїдів (пірольних, індольних, імідазольних та інших). Механізм осадження полягає в утворенні нерозчинних солеподібних сполук алкалоїдів з основними нітрогенвмісними групами білка. У цьому комплексі білок є катіоном, а алкалоїдний реактив – аніоном. Щоб молекула білка набула позитивного заряду, розчин його підкислюють. Алкалоїди використовуються при лікуванні опіків. Обробка алкалоїдами уражених ділянок веде до денатурації білків та утворення захисного шару, що перешкоджає зневодненню тканин та проникненню інфекції.

Хід роботи

У три пробірки наливають по 20 крапель розчину білка та 2–3 краплі 1 % ацетатної кислоти. У першу пробірку додають насиченого розчину таніну, у другу – 5–6 крапель розчину пікринової кислоти, у третю – 3–6 крапель 5 % розчину залізосинеродистого калію. Спостерігають за випаданням осаду білка.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Що таке білок?
2. Охарактеризувати основні функції білків.
3. За допомогою яких реакцій можна виявити білок?
4. Механізм утворення поліпептидного ланцюга.
5. Рівні структурної організації білків. Дати визначення первинної, вторинної, третинної і четвертинної структур білка.
6. Що таке нативна структура білка?
7. Що таке ізоелектрична точка білків?
8. В яких умовах проходить осадження білків? Види осадження білків.
9. Як змінюються властивості білків при денатурації?
10. Поняття про прості і складні білки.
11. Як класифікують білки за формою молекули? За хімічним складом?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

ВИВЧЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ФЕРМЕНТІВ

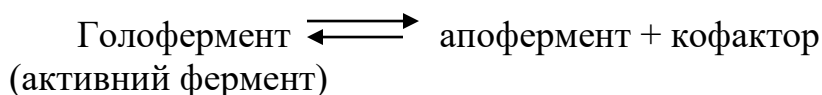
МЕТА: ознайомити студентів із загальними властивостями ферментів. Використовуючи як тест фермент класу гідролаз – амілазу слини, вивчити вплив температури, активаторів та інгібіторів на протікання ферментативної реакції, специфічність дії ферментів.

Теоретичні відомості

Ферменти (ензими) – це каталізатори білкової природи, що прискорюють хімічні реакції в клітині. Вони забезпечують реалізацію спадкової інформації, синтез і розпад біомолекул, процеси біологічного окиснення та енергетичного обміну.

Залежно від будови і хімічного складу ферменти поділяються на прості і складні. Прості ферменти – однокомпонентні – складаються тільки з амінокислотних залишків. До них належать пепсин, амілаза, трипсин та інші.

Складні ферменти – двоконпонентні. Вони, крім білкової частини (апоферменту), містять небілкові компоненти – кофактори (коферменти, простетичні групи).



За вмістом кофакторів ферменти відрізняються між собою. Кофактори в складі ферментів можуть бути представлені іонами металів (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Cu^{2+} тощо), а також речовинами органічної природи – нуклеотидами, водорозчинними вітамінами (B_1 , B_2 , B_5 , B_6 , фолієва кислота тощо) та іншими сполуками.

Для ферментів характерний специфічний механізм дії. У його основі лежить здатність взаємодіяти зі субстратом, утворюючи фермент-субстратний комплекс. Місце приєднання субстрату до фермента називається активним центром.

Важливими особливостями ферментів як природних каталізаторів є надзвичайно висока каталітична активність, специфічність дії, висока чутливість до температури, що визначається їхньою білковою природою. Каталітична активність ферментів залежить від температури, рН середовища, присутності електrolітів, активаторів, інгібіторів.

У науковій літературі описано понад 2000 ферментів. У 1961 р. затверджена єдина класифікація та номенклатура ферментів, згідно з якою вони об'єднуються у 6 основних класів. В основу класифікації покладено тип реакцій, що вони каталізують. Клітини організму людини у межах органів і тканин характеризуються специфічним набором ферментів. При зміні проникності клітинних мембран, що відбувається внаслідок різних порушень

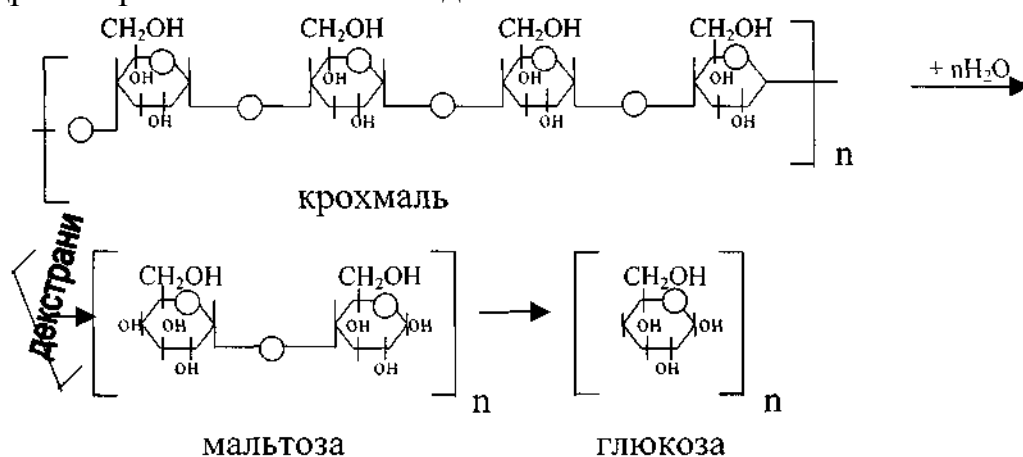
обміну, специфічні для органу ферменти можуть виділятися в кров. Виявлення цих ферментів у сироватці крові служить діагностичним тестом. Сучасна біохімічна діагностика широко використовує ферментні тести для встановлення стану організму, оскільки вони характеризуються високою чутливістю і специфічністю.

ПРАКТИЧНА РОБОТА

1. Дія ферменту амілази слини на крохмаль

Амілаза (фермент слини) каталізує гідроліз α – 1,4 – глікозидних зв'язків у крохмалі та глікогені через проміжні продукти розпаду (декстрини) до мальтози, яка розщеплюється на 2 молекули глюкози під впливом фермента мальтази.

Гідроліз крохмалю амілазою здійснюється за такою схемою:



Унаслідок взаємодії крохмалю з йодом спостерігається синє забарвлення, а проміжні продукти гідролізу крохмалю – декстрини – з йодом утворюють різне забарвлення (залежно від молекулярної маси): амілодекстрини – фіолетове, еритродекстрини – червоно-буре, охродекстрини – оранжеве, мальтоза і глюкоза – жовте (забарвлення з йодом не спостерігається). Кінцеві продукти гідролізу крохмалю, можна виявити за допомогою реакції Троммера або Фелінговою рідиною.

Хід роботи

У дві пробірки наливають: в одну – 5 мл 1 % р-ну крохмалю і 3 мл дистильованої води (контроль), у другу – 5 мл 1 % р-ну крохмалю і 3 мл розведеного розчину слини (1:10). Вміст пробірок струшують і ставлять на водяну баню при $t = 37^\circ\text{C}$ на 30 хв. Через кожні 10 хвилин з кожної відбирають по краплі рідини і наносять їх на краплі розчину йоду (нанесені на скляну пластинку). Спочатку синє забарвлення буде проявлятися від крапель, взятих з обох пробірок. Через деякий час крапля з пробірки, в якій є амілаза, буде давати з йодом червоно-бурий відтінок, а згодом забарвлення краплі йоду не змінюється. Краплі рідини взяті з контрольного досліду будуть давати синє забарвлення всіх проб. Через 30 хв. від початку досліду з обох пробірок беруть 1 мл суміші і додають 1 мл реактиву Фелінга. Суміш перемішують і

нагрівають до кипіння. Спостерігають утворення червоно-оранжевого забарвлення купрум (І) оксиду.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

2. Термолабільність ферментів

Ферменти-білки при нагріванні до 60–80°C втрачають свої властивості біологічних каталізаторів. Властивість ферментів руйнуватися при кип'ятінні є характерною ознакою, яка відрізняє ензими від небілкових каталізаторів. Така властивість ферментів називається термолабільністю. Втрата каталітичної активності ферментів при кип'ятінні зумовлена їх денатурацією як білкових сполук. При короткочасному кип'ятінні деякі ферменти піддаються ренатурації, оскільки при поступовому охолодженні молекули знову переходять в активний стан.

Хід роботи

У дві пробірки наливають по 5 мл 1 % р-ну крохмалю. В одну з них додають 1 мл прокип'яченої слини, в другу – стільки ж некип'яченої. Вміст пробірок перемішують і ставлять на водяну баню при $t = +37^{\circ}\text{C}$ на десять хвилин. За допомогою Фелінгової рідини та розчину йоду переконуються в тому, що гідроліз крохмалю пройшов у пробірці з некип'яченою слиною.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

3. Специфічність дії амілази слини

Однією із найхарактерніших властивостей ферментів є висока специфічність. Вона полягає в тому, що кожний фермент каталізує тільки одну реакцію, діє на одну речовину або на декілька подібних сполук. Окремі ферменти володіють дуже високою специфічністю – абсолютною. Так, мальтаза слини здійснює гідроліз тільки дисахариду мальтози (молекула мальтози утворюється при гідролізі крохмалю), але не діє на дисахарид сахарозу. Амілаза слини прискорює гідроліз тільки полісахаридів (крохмалю), не впливаючи на дисахариди. Сахараза, що міститься в дріжджовому екстракті, розщеплює тільки сахарозу. Продуктами гідролізу полі- і дисахаридів є моносахариди, зокрема глюкоза, яка може бути виявлена якісною реакцією Троммера. Позитивна реакція з йодом вказує на відсутність гідролізу крохмалю.

Хід роботи

У дві пробірки наливають по 2 мл 1 % р-ну крохмалю і додають у першу – 1 мл розчину слини (амілази), у другу – 1 мл препарату сахарази. Вміст пробірок перемішують і ставлять на водяну баню при $t +37^{\circ}\text{C}$ на 10 хвилин. Після гідролізу вміст пробірок розділяють на дві частини і перевіряють реакцією з йодом та реакцією Троммера.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

4. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази слини

Каталітична дія ферментів визначається наявністю в середовищі хімічних речовин, що можуть підвищувати (активатори) або пригнічувати (інгібітори) активність ферментів. Активаторами найчастіше виступають іони металів (Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} , Cl^-) чи деякі органічні сполуки (наприклад, жовчні кислоти для ліпази). Інгібіторами часто є продукти проміжних або кінцевих реакцій метаболічних шляхів, а також іони важких металів (Ag^+ , Hg^+ , Pb^{2+}) тощо.

Хід роботи

У три пробірки наливають по 1 мл розведеної слини (1:10). У кожную з них додають: у першу – 5 крапель води, у другу – 5 крапель 1 % р-ну NaCl, у третю – 5 крапель 1% р-ну $CuSO_4$. Після цього в кожную пробірку додають по 5 крапель 1 % р-ну крохмалю. Усі пробірки залишають при кімнатній температурі на 2 хв., згодом додають по 1 краплі р-ну йоду, перемішують, спостерігають зміну забарвлення. За зміною забарвлення визначають, в якій пробірці діє активатор чи інгібітор. Для посилення виразності забарвлення доцільно в кожную пробірку додати води (до 2 мл) і перемішати.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Яка будова ферментів?
2. Чим ферменти відрізняються від небіологічних каталізаторів?
3. Які властивості ферментів свідчать про їх білкову природу?
4. Як побудовані складні ферменти? Що таке апофермент, кофермент, голофермент?
6. Як виглядає графік залежності швидкості ферментативної реакції від температури? Пояснити.
7. Яка залежність швидкості ферментативної реакції від рН середовища?
8. Що означає поняття "термолабільність" ферментів?
9. Чим зумовлюється специфічність дії ферментів? Види специфічності.
10. Назвіть основні класи ферментів.
11. Які основні способи регуляції активності ферментів ви знаєте ?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВІТАМІНИ ТА ГОРМОНИ

МЕТА: ознайомити студентів з властивостями і значенням вітамінів та гормонів для організму, їх участю в обміні речовин; навчити студентів виявляти вітаміни та гормони в біологічних рідинах та продуктах харчування.

Теоретичні відомості

Вітаміни – це низькомолекулярні органічні сполуки, які надходять в організм людини і тварин з їжею, забезпечують нормальне протікання біохімічних і фізіологічних процесів шляхом участі в регуляції обміну цілісного організму.

Вчення про вітаміни почало розвиватися у кінці XIX ст. і пов'язане з ім'ям вченого М. І. Луніна. Польський науковець К.Функ уперше виділив невідому раніше речовину у кристалічному стані і дав їй назву – „вітаміни” (аміни життя).

Характерними особливостями вітамінів є:

1) не синтезуються в організмі людини, тому повинні надходити з їжею. Деякі з них (V_6 , V_{12} , пантотенова і фолієва кислоти та деякі інші) синтезуються мікрофлорою кишечника, інші частково утворюються в організмі, але ці процеси не можуть забезпечити потребу організму в цих речовинах;

2) не використовуються організмом як джерело енергії або пластичний матеріал;

3) потреба організму в них дуже мізерна і становить частки грама (наприклад, С – 0,07 г; V_1 – 0,002 г; V_{12} – 0,000003 г).

Усі вітаміни за фізико-хімічними властивостями можна поділити на дві групи:

а) водорозчинні – вітаміни групи В (V_1 , V_2 , V_3 , V_5 , V_6 , V_{12}), С, Р.

б) жиророзчинні – вітаміни групи А, Д, Е і К.

Біологічне значення більшості водорозчинних вітамінів полягає у тому, що вони входять до складу коферментів і забезпечують протікання ферментативних реакцій.

Відсутність або нестача вітамінів в їжі призводить до розвитку захворювань вітамінної недостатності – авітамінозів або гіповітамінозів. Потреба людини у вітамінах залежить від статі, віку, фізіологічного стану, характеру їжі, фізичного навантаження.

Гормони – це фізіологічно активні речовини, які виробляються ендокринними залозами і беруть участь у регуляції фізіологічних і біохімічних функцій організму. На сьогоднішній день виявлено понад 50 гормонів, кожен з яких впливає на різноманітні прояви обміну речовин. Гормони володіють високою специфічністю і дистантністю дії. Всі залози внутрішньої секреції тісно зв'язані в єдину ендокринну систему за допомогою механізмів прямого і

оберненого зв'язку. Функції ендокринних залоз, зі свого боку, залежать від нервової системи.

За хімічною природою найважливіші гормони можна поділити на декілька груп:

1. Гормони – похідні амінокислот (адреналін і тироксин).
2. Гормони – білки і поліпептиди (інсулін, соматотропін)
3. Гормони ліпідної природи – стероїдні гормони і простагландини.

ПРАКТИЧНА РОБОТА

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВІТАМІНИ

1. Якісна реакція на вітамін А

Сульфатна кислота, яка проявляє водовідбираючі властивості, у реакції з вітаміном А приводить до перетворення його у забарвлений фіолетово-червоний комплекс.

Хід роботи

У пробірку до 2–3 крапель вітаміну А додають 1 краплю сульфатної кислоти. Спостерігають за появою забарвлення. Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

2. Якісна реакція на вітамін Д (ергокальциферол, антирахітичний)

Анілінова проба

Вітамін Д при взаємодії з аніліновим реактивом при нагріванні забарвлюється в червоний колір.

Хід роботи

У суху пробірку вносять 3–5 крапель розчину вітаміну Д і 5 крапель хлороформу, перемішують і додають 1 мл анілінового реактиву, нагрівають. При нагріванні жовта емульсія забарвлюється в червоний колір. Через 1-2 хвилини емульсія розділяється на два шари, нижній з яких має інтенсивний червоний колір.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

3. Якісна реакція на вітамін Е (токоферол, антистерильний)

При взаємодії α -токоферолу з ферум (ІІІ) хлоридом суміш забарвлюється у червоний колір, оскільки α -токоферол окиснюється до α -токоферилхінону, який має червоне забарвлення.

Хід роботи

У пробірку вносять 5 крапель спиртового розчину а-токоферолу, додають 0,5 мл розчину FeCl_3 , перемішують і нагрівають. Спостерігають появу червоного забарвлення.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

4. Реакція відновлення вітаміну B_2

Рибофлавін (вітамін B_2) є переносником протонів, тобто має окисно-відновні властивості. Реакція зумовлена відновленням рибофлавіну воднем, який виділяється в результаті дії хлоридної кислоти на металічний цинк. Спочатку рибофлавін переходить у родофлавін (проміжну сполуку рожевого кольору), а потім у безбарвну лейкоформу.

Хід роботи

У пробірку вносять 10 крапель суспензії рибофлавіну у воді, додають 5 крапель хлоридної кислоти і опускають гранулу металічного цинку. Спостерігають виділення водню, який, реагуючи з рибофлавіном, змінює забарвлення рідини.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

5. Якісна реакція на вітамін B_6 (піридоксин)

При взаємодії розчину піридоксину з ферум (III) хлоридом рідина набуває червоного кольору внаслідок утворення сполуки типу феноляту феруму.

Хід роботи

У пробірці змішують 1 мл водного розчину піридоксину та 2 краплі розчину ферум (III) хлориду. Спостерігають забарвлення розчину в червоний колір.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

6. Реакція вітаміну С (аскорбінова кислота)

Виявлення вітаміну С ґрунтується на здатності аскорбінової кислоти легко вступати в окисно-відновні реакції. Вітамін С відновлює калій (III) фериціанід до калій (IV) фериціаніду, який з іонами феруму утворює нерозчинну у воді сіль – берлінську лазур і випадає у вигляді темно-синього осаду.

Хід роботи

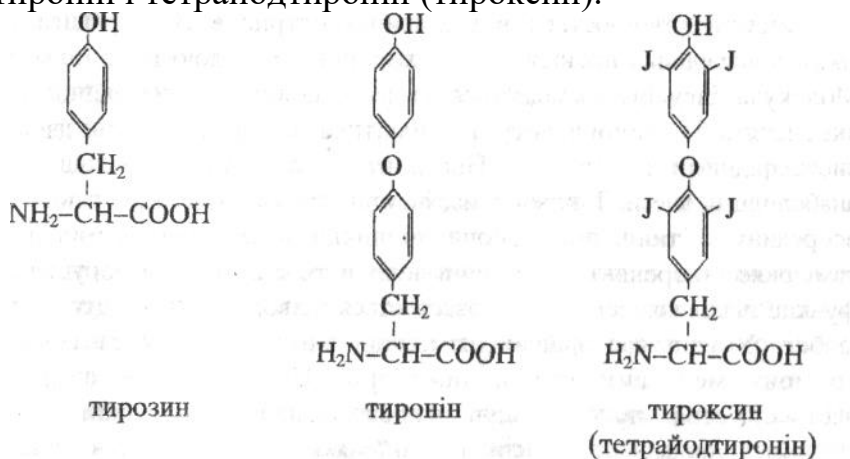
До 5 крапель 1 % розчину вітаміну С додають 1 краплю 5 %-ного розчину $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ і 1–2 краплі FeCl_3 , перемішують. Спостерігають появу синьо-зеленого забарвлення і утворення осаду берлінської лазури.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Якісні реакції на гормони

7. Якісна реакція на тироксин

Гормони щитоподібної залози – це йодовані похідні амінокислоти тирозину. Йод надходить в організм з водою і продуктами харчування. Приєднуючись до тирозинового кільця, йод утворює з ним монойодтирозин. У результаті полімеризації йодтирозину утворюються гормони щитоподібної залози трийодтиронін і тетрайодтиронін (тироксин).



У результаті кислотного гідролізу тироксину утворюється HI, при взаємодії якої з KJO₃ виділяється вільний йод. Вільний йод, який при цьому виділився, утворює із хлороформом (або крохмалем) синє забарвлення.

Хід роботи

У фарфоровій ступці розтирають 1 таблетку тиреоїдину. Одержаний порошок переносять у пробірку і додають 10 крапель нітратної кислоти (HNO₃). Перемішують, обережно підігрівають на киплячій водяній бані. Додають 20 крапель 1 %-ного розчину KJO₃. Уміст пробірки перемішують і охолоджують. Додають 1 мл хлороформу (або крохмалю) і спостерігають за змінами у пробірці.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

8. Якісна реакція на інсулін

Інсулін утворюється у β-клітинах острівців Лангерганса зі свого попередника проінсуліну. За хімічною природою інсулін – це білок, який складається із двох поліпептидних ланцюгів, що містять 51 амінокислоту. Поліпептидні ланцюги з'єднані двома дисульфідними мостиками. Інсулін відіграє важливу роль у процесах обміну вуглеводів. Так, зокрема, забезпечує транспорт глюкози всередину клітини, підвищуючи проникність клітинної мембрани, та сприяє утворенню глікогену в печінці та м'язах, при цьому знижуючи рівень глюкози в крові. При порушенні функції підшлункової залози розвивається захворювання цукровий діабет.

Інсулін дає якісні реакції, які характерні для білків.

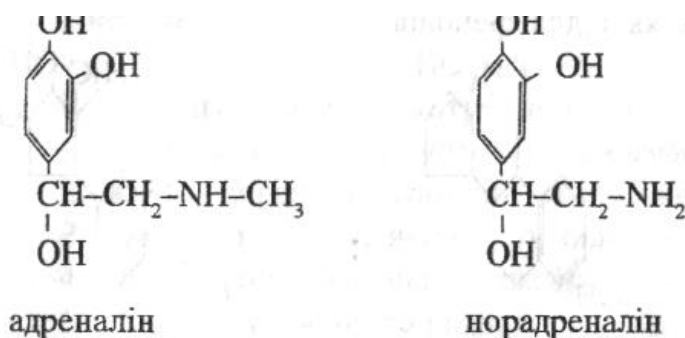
Хід роботи

До 3–5 крапель розчину інсуліну додають 5–6 крапель 10 % розчину NaOH і 1–2 краплі 1 % розчину SiSO_4 , перемішують. Спостерігають появу рожево-фіолетового забарвлення, зумовленого утворенням комплексної сполуки купруму (біуретова реакція).

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

9. Реакція на гормони мозкового шару наднирників (реакція адреналіну з ферум (III) хлоридом)

Адреналін і норадреналін утворюються із амінокислоти тирозину і є похідними пірокатехіну. Наявність у їхній структурі пірокатехінового кільця визначає хімічні властивості цих гормонів. Вони легко окиснюються в нейтральних розчинах із утворенням червоного пігменту – адренохрому, який при дальшій полімеризації утворює меланіни.



Адреналін підвищує обмін речовин і виявляє значний вплив на обмін вуглеводів та ліпідів. Введення адреналіну в організм викликає гіперглікемію та глюкозурію внаслідок посиленого розпаду глікогену.

При додаванні до розчину адреналіну ферум (III) хлориду рідина забарвлюється в пурпурово-зелений колір внаслідок утворення комплексної сполуки типу феруму феноляту. Адреналін легко окиснюється. Тому в слаболужному середовищі сполука адреналіну з залізом переходить в адренохром червоного кольору.

Хід роботи

У пробірку вносять 10 крапель розчину адреналіну і додають 1 краплю розчину FeCl_3 , перемішують. З'являється смарагдово-зелене забарвлення. До одержаного розчину додають 1 краплю розчину NaOH. Забарвлення переходить у вишнево-червоне.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Що таке вітаміни? Яка їх біологічна роль?
2. Як класифікують вітаміни?
3. Яка потреба організму у вітамінах і від чого вона залежить?
4. Які види вітамінної недостаті вам відомі? Охарактеризуйте гіпо- та авітамінози.
5. Жиророзчинні вітаміни, їх біологічна роль.
6. Водорозчинні вітаміни, їх коферментні функції.
7. Поняття про гормони, їх класифікація. Механізм дії гормонів.
8. Нейроендокринна регуляція обміну речовин. Гормони гіпоталамусу і гіпофізу.
9. Характеристика основних гормонів залоз внутрішньої секреції.
10. Використання стероїдних гормонів у спорті.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВУГЛЕВОДИ. ВИЗНАЧЕННЯ ПОКАЗНИКІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ

МЕТА: вивчити будову і функції вуглеводів, навчитися виявляти вуглеводи в біологічних рідинах якісними реакціями. Ознайомити студентів з основними вуглеводами їжі, їх перетворенням у шлунково-кишковому тракті; вивчити процеси анаеробного і аеробного розпаду вуглеводів та їх використання при різних видах фізичного навантаження, методи виявлення кінцевих продуктів обміну; підрахувати енергетичний ефект процесів розпаду вуглеводів у тканинах.

Теоретичні відомості

Вуглеводи – широко розповсюджені в рослинному і тваринному світі органічні речовини. Вони є основним джерелом енергії, виконують роль структурного матеріалу, входять до складу регуляторів різних біохімічних процесів, є компонентами структур багатьох природних сполук: нуклеопротейнів, глікопротейнів, гліколіпідів, деяких вітамінів та коферментів. Вуглеводи – кінцеві продукти фотохімічного синтезу зелених рослин.

Вуглеводи залежно від кількості моносахаридів, які входять до їх складу, поділяються на такі групи:

1. Моносахариди.
2. Олігосахариди.
3. Полісахариди.

Моносахариди можуть існувати як в альдегідній, так і кетонній формах, а також в циклічній або напівацетальній. Завдяки цьому моносахариди в реакціях можуть проявляти властивості як альдегідів (кетонів), так і спиртів. Усі природні моносахариди містять у своїх молекулах асиметричні атоми карбону і є оптично активними. Відновні та оптичні властивості вуглеводів широко використовуються для їх якісного та кількісного визначення.

Олігосахариди – вуглеводи, до структури яких входять 2–10 залишків моноцукрів. Найпоширенішими є дисахариди.

Полісахариди містять велику кількість моносахаридів (більше 100) і поділяються на гомополісахариди та гетерополісахариди. Гомополісахариди характеризуються наявністю в їх складі молекул залишків моносахаридів одного типу (крохмаль, глікоген, целюлоза). Гетерополісахариди – складні полісахариди, до складу яких входять різні типи моносахаридів та їхні похідні (глюкуронова, ідуоронова, сіалова кислоти, гексозаміни).

Добова потреба людини у вуглеводах становить 500–600 г. Основні вуглеводи їжі – це сахароза, лактоза, мальтоза, крохмаль, глікоген. Резервним вуглеводом людини і тварин є глікоген. Як запасний енергетичний матеріал він відкладається в печінці і частково в м'язах.

Глюкоза – це основний вуглевод крові. У крові здорової людини концентрація глюкози постійна, регулюється нервовою системою та гормонами, і становить від 3,33 до 5,55 ммоль/л. Крім глюкози, у крові містяться глікоген (16,0–40 мг/л), фруктоза (6–28 мкмоль/л), глікопротеїни (1,20–1,60 г/л) та продукти обміну вуглеводів: молочна (1-2ммоль/л) і піровиноградна (34-102 мкмоль/л) кислоти, які є основними показниками вуглеводного обміну в організмі людини.

Значна частина енергетичних потреб організму людини і тварин задовольняється саме за рахунок катаболізму вуглеводів. Перетворення вуглеводів у різних тканинах організму може відбуватися двома шляхами: аеробним та анаеробним. Особливість метаболізму глюкози полягає в тому, що певні тканини, а саме мозок, клітини крові, мозкова речовина нирок, отримують всю необхідну для них енергію тільки за рахунок окиснення глюкози.

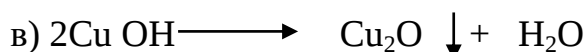
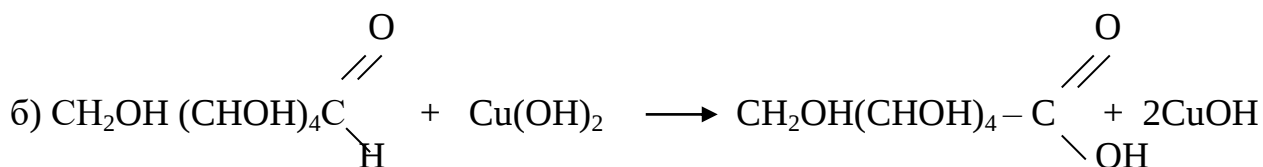
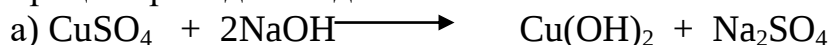
ПРАКТИЧНА РОБОТА

Властивості моносахаридів

Моносахариди мають вільну карбонільну групу і тому для них характерні деякі реакції, що ґрунтуються на окисненні цієї групи та відновленні деяких слабких окисників. Кетовуглеводи (фруктоза) не окиснюються слабкими окисниками.

1. Реакція Троммера

Моносахариди в лужному середовищі відновлюють купрум (II) оксид в купрум (I) оксид, а самі при цьому окиснюються до альдонових кислот. Цей процес проходить в декілька етапів:



Хід роботи

У пробірку наливають 1 мл 1 % розчину глюкози, додають рівний об'єм 5 % розчину NaOH і по краплях 5% розчину CuSO₄ до утворення незникаючої муті блакитного кольору (осад Cu(OH)₂). Вміст пробірки нагрівають. Випадає червоний осад купрум (I) оксиду.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Дисахариди та їх властивості.

Лактоза і мальтоза (в залишках глюкози) мають вільну альдегідну групу, завдяки якій вони беруть участь у реакціях відновлення (тобто дають позитивну реакцію Троммера).

У молекулі сахарози зв'язок між залишками глюкози і фруктози утворюється за рахунок двох глікозидних гідроксилів і тому сахароза не володіє відновлюючими властивостями (реакція Троммера негативна).

2. Окиснення дисахаридів

Хід роботи

У три пробірки наливають по 1 мл 1 % розчину сахарози, мальтози і лактози. У кожну пробірку додають по 10 крапель NaOH і 2–3 краплі CuSO₄. Всі пробірки нагрівають до початку кипіння. Спостерігають за зміною забарвлення.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Полісахариди та їх властивості.

Полісахариди відрізняються один від одного хімічною природою моносахаридів, які повторюються, ступінню розгалуження їх і довжиною ланцюга. Полісахариди не містять вільних редуруючих груп і тому не володіють відновлювальними властивостями. Повний гідроліз полісахаридів (при дії кислот або специфічних ферментів) приводить до утворення моносахаридів, які володіють редуруючими властивостями.

3. Реакція крохмалю із йодом

Хід роботи

У пробірку вносять 2 мл розчину крохмалю і додають 1–2 краплі розчину Люголя. Уміст пробірки перемішують і спостерігають появу фіолетового забарвлення.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

4. Кількісне визначення активності амілази слини за Вольгемуттом.

Метод Вольгемута ґрунтується на виявленні мінімальної кількості ферменту, який здатний повністю розщепити 1 мл 0,1 %-ного розчину крохмалю. Цю кількість приймають за одиницю амілазної активності. Амілазна активність слини виражається кількістю 0,1 %-ного розчину крохмалю в мілілітрах, яка може розщепити 1 мл слини при температурі 37°C за 30 хв. У нормі амілазна активність слини $A_{30}^{37} = 160 - 320$ од., а сечі $A_{15}^{37} = 16 - 64$ од. Цей метод широко використовується також для визначення амілазної активності крові і сечі.

Хід роботи

1. Приготування розчинів слини з різним розведенням.

У 10 пробірок наливають по 1 мл 0,85 % NaCl, потім у першу вносять 1 мл слини (попередньо розведеної в 10 разів). Добре перемішують і 1 мл суміші переносять у пробірку 2, потім 1 мл суміші з 2-ї пробірки переносять в 3 пробірку і так далі до 10-ї пробірки, з якої після перемішування виливають 1 мл суміші. У результаті одержують такі розведення слини:

Пробірка	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Розведення	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024

2. Після одержання необхідних розведень проводять інкубацію. У всі пробірки вносять по 2 мл 0,1 % р-ну крохмалю і ставлять у термостат при 37° С на 30 хв. Після цього їх охолоджують, додають по 1 краплі 1 % р-ну йоду і добре перемішують.

Визначають пробірки, в яких пройшло повне розщеплення крохмалю (жовте забарвлення), і розраховують активність амілази по пробірці з максимальним розведенням слини.

Розрахунок активності амілази. За одиницю активності амілази приймають ту кількість ферменту, яка необхідна для розщеплення 1 мл 0,1 % р-ну крохмалю за 30 хв. при $t = 37^{\circ}\text{C}$. Активність амілази визначають:

$$A_{30}^{37} = 2 \cdot n / 1, \text{ n – розведення.}$$

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

5. Виявлення молочної кислоти у м'язовій тканині (реакція Уффельмана)

Принцип методу ґрунтується на здатності комплексної сполуки феноляту заліза фіолетового кольору взаємодіяти з молочною кислотою з утворенням лактату заліза жовтуватого-зеленого кольору.

Хід роботи

2–3 г м'язової тканини подрібнюють у чашці Петрі ножицями і переносять у фарфорову ступку, де розтирають з 5–6 мл дистильованої води. Одержаний м'язовий екстракт фільтрують через 2 шари марлі. Фільтрат кип'ятять 1 хв. і знову фільтрують.

У три пробірки наливають по 1 мл розчину фенолу і по краплі додають 1% розчин ферум (III) хлориду до появи інтенсивного фіолетового забарвлення. До вмісту 1-ї пробірки додають 1 мл 0,5 % розчину молочної кислоти, 2-ї — 1 мл витяжки з м'язової тканини, 3-ї — 1 мл води і добре перемішують. Спостерігають за зміною забарвлення.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Охарактеризуйте біологічну роль та класифікацію вуглеводів.
2. Укажіть найважливіших представників моносахаридів. Охарактеризуйте їх будову та біологічну роль.
3. Охарактеризуйте представників та будову дисахаридів. Назвіть дисахариди, що володіють відновлюючими властивостями і поясніть чому.
4. Опишіть будову і класифікацію полісахаридів, укажіть їх біологічне значення.
5. Порівняйте будову глікогену і крохмалю, опишіть їх властивості та вкажіть біологічну роль.
6. Назвіть основні вуглеводи їжі, опишіть процеси їх травлення та всмоктування.
8. Укажіть основні стадії енергетичного обміну.
9. Опишіть процес гліколізу. Охарактеризуйте його роль у механізмах енергозабезпечення м'язів.
10. Порівняйте енергетичний ефект реакцій глікогенолізу та гліколізу.
11. Охарактеризуйте аеробні процеси розщеплення вуглеводів. Визначте енергетичний ефект аеробного розщеплення глюкози.
12. Розкрийте біологічне значення анаеробних та аеробних процесів енергозабезпечення при різних видах фізичного навантаження.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6

ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЛІПІДІВ. ФЕРМЕНТАТИВНИЙ ГІДРОЛІЗ ЖИРІВ

МЕТА: вивчити будову, властивості та класифікацію ліпідів. Ознайомити студентів з особливостями перетравлювання ліпідів у шлунково-кишковому тракті на основі вивчення дії панкреатичної ліпази, навчити визначати деякі метаболіти обміну ліпідів для розуміння ліпідного обміну в організмі.

Теоретичні відомості

Ліпіди – органічні речовини, що містяться у тканинах людини, тварин і рослин. Вони нерозчинні у воді, але добре розчинні в органічних розчинниках: хлороформі, бензолі, спирті та ін. Ліпіди в тканинах можуть бути у вільному стані та у вигляді складних комплексних сполук з білками і вуглеводами. За хімічною будовою ліпіди – складні етери спиртів та високомолекулярних жирних кислот, до складу яких можуть входити також інші речовини.



Ліпіди виконують такі функції:

- енергетичну (запасну);
- структурну;
- захисну;
- терморегуляторну;
- є джерелом ендогенної води.

В організмі людини відбувається як розпад, так і синтез ліпідів. У ротовій порожнині ліпіди піддаються тільки механічному подрібненню. У шлунку ліпіди не піддаються значним змінам. Гідролітичне розщеплення жирів і жироподібних речовин проходить у кишечнику під впливом ліпази та інших ферментів, які виробляються підшлунковою залозою. Невелика кількість ліпази виділяється слизовою оболонкою кишечника і є у кишковому соці. Ліпаза підшлункової залози виділяється в малоактивній формі і активується жовчю.

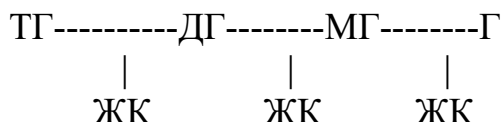
У процесі перетравлювання і всмоктування ліпідів важлива роль належить жовчним кислотам, які утворюються в печінці і виділяються із жовчю. Жовчні кислоти (холева, дезоксихолева, літохолева, хенодезоксихолева, та їх кон'югати з гліцином і таурином) виконують такі функції:

1) емульгують жири (особливо триацилгліцероли), що полегшує їхню взаємодію із ліпазою;

2) сприяють всмоктуванню жирних кислот шляхом утворення міцел, так званих „холестеринних комплексів”;

3) є активаторами панкреатичної ліпази.

Ліполіз проходить поступово під дією декількох типів панкреатичних ліпаз (ліпаза, яка здійснює розщеплення в α -положенні тригліцеролу, інша ліпаза – в β -положенні) із утворенням проміжних продуктів дигліцеролів (ДГ), моногліцеролів (МГ) і жирних кислот (ЖК):



Кінцеві продукти гідролізу (гліцерол, вищі жирні кислоти, дигліцероли, моногліцероли) знаходяться в емульгованому стані і всмоктуються через стінки кишечника.

Розпад фосфоліпідів відбувається за участю різних типів фосфоліпаз.

Ефіри холестеролу розщеплюються на холестерол і жирні кислоти під дією фермента панкреатичного і кишкового соку – холестеролестерази.

Всмоктування продуктів розщеплення жиру і жироподібних речовин проходить в кишечнику. Жирні кислоти нерозчинні у воді, всмоктуються у вигляді міцел, які є комплексними сполуками жирних кислот із жовчними кислотами.

Окиснення жирних кислот протікає в мітохондріях і потребує активації жирної кислоти із утворенням ацил-КоА. Ацил-КоА піддається в мітохондріях β -окисненню із вкороченням ланцюга на 2 С-атоми і утворенням ацетил-КоА.

Крім окиснення ліпідів з утворенням АТФ, внутрішньоклітинні ферментні системи володіють здатністю до біосинтезу жирних кислот, тригліцеролів, фосфоліпідів, які використовуються для побудови біологічних мембран. Важливе фізіологічне значення має біосинтез гепатоцитами холестеролу, який є попередником жовчних кислот, вітаміну Д₃ та інших біологічно активних стероїдів.

ПРАКТИЧНА РОБОТА

1. Емульгування жирів. Розчинність жирів

Жири мають властивість добре розчинятись в органічних розчинниках (спирт, хлороформ і т. ін.) і не розчиняються у воді. При змішуванні жирів із водою утворюються емульсії, стійкість яких залежить від середовища, в якому вони утворюються. Наявність у воді речовин емульгаторів (мило, жовчні кислоти, карбонати) сприяють утворенню стійких емульсій. Утворення емульсій зумовлене тим, що в поверхневий водний шар, який оточений жировими крапельками, надходять поверхнево-активні частинки жовчних

кислот, миль, карбонатів. Вони оточують крапельки жиру і запобігають їх злиттю.

Хід роботи

У чотири сухі пробірки вносять по 5 крапель олії, потім в одну з них додають 2 мл води, у другу – 2 мл жовчі, у третю – 2 мл 1 % р-ну Na_2CO_3 і в четверту – 2 мл хлороформу. Пробірки енергійно струшують. Порівнюють утворення емульсій в 1, 2, 3 пробірках. Спостерігають за розчинністю жирів у 1 та 4 пробірках.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

2. Кольорові реакції на холестерол

а) реакція із сульфатною кислотою (реакція Сальковського)

При додаванні до хлороформного розчину холестеролу сульфатної кислоти, рідина забарвлюється у червоний колір, який переходить в синій, а потім – у зелений. Оскільки сульфатна кислота є водовідбиральним агентом, то відбувається дегідратація і окиснення холестеролу з утворенням холестерилу.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Хід роботи

У суху пробірку з 1мл хлороформного розчину холестеролу обережно по стінці додають 1–2 мл H_2SO_4 . На межі шарів хлороформу та кислоти виникає оранжеве кільце. Верхній (хлороформний) шар поступово забарвлюється в фіолетовий колір, який при стоянні переходить в червоний.

3. Дія ліпази

Ліпаза належить до класу гідролаз і забезпечує гідроліз триацилгліцеролів до гліцеролу і жирних кислот. Унаслідок утворення жирних кислот реакція середовища зміщується у кислу сторону і забарвлення в присутності фенолфталеїну зникає.

Хід роботи

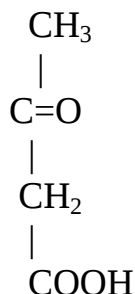
У дві пробірки наливають по 1 мл молока (олії). У першу пробірку додають 1мл панкреатину, який містить ліпазу, а в другу 1 мл води. До обох пробірок додають по 5 крапель розчину фенолфталеїну і по краплях 1 % розчину NaHCO_3 до появи рожевого забарвлення. Перемішують і ставлять в термостат при $t=37^\circ\text{C}$ на 30 хв.

Через певний час залежно від активності ферменту розчин в колбі з ліпазою стає прозорим внаслідок утворення жирних кислот (жирні кислоти зміщують рН середовища в кислу сторону), а в колбі без ліпази рожеве забарвлення не зникає.

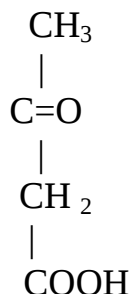
Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

Виявлення продуктів неповного окиснення жирних кислот

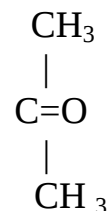
Продуктами неповного окиснення жирних кислот є кетоніві тіла, які утворюються у печінці. До них належать: ацетон, ацетоацетатна кислота, β-оксибутанова кислота. Кетоніві тіла можуть бути субстратами енергетичного обміну в скелетних м'язах, міокарді та інших тканинах.



β-оксибутанова
кислота



ацетоацетатна
кислота

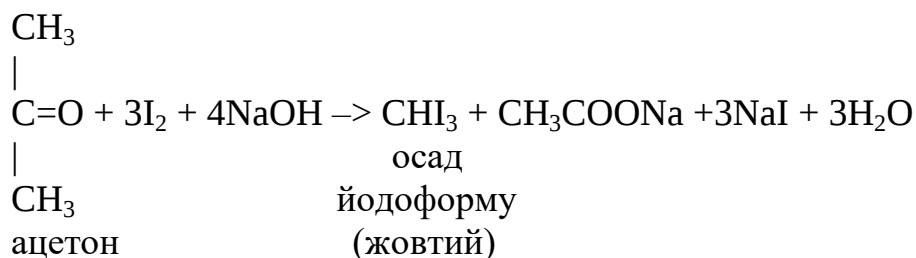


ацетон

Уміст кетонівих тіл в плазмі крові здорової людини 13–185 мкмоль/л (1,5–20 м/л). При деяких патологічних станах, зв'язаних з порушенням вуглеводного чи ліпідного обміну, наприклад, при діабеті, голодуванні, в печінці утворюється надлишок кетонівих тіл (особливо ацетоацетатної кислоти), і вони надходять у кров, при цьому рівень їх виділення з сечею може збільшуватися в сотні разів (кетонемія і кетонурія).

4. Реакція на ацетон з йодом (проба Лібена)

При додаванні розчину йоду і лугу до сечі, яка містить кетоніві тіла, рідинка мутніє і при стоянні випадає осад йодоформу, який має характерний запах.



Хід роботи

У дві пробірки наливають по 1мл сечі (здорової людини і хворої на цукровий діабет), додають по 3 краплі 10 % р-ну NaOH та 2–3 краплі реактиву Люголя. При наявності ацетону випадає жовтий осад та з'являється запах йодоформу.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

5. Якісна реакція на жовчні кислоти.

При взаємодії жовчних кислот з оксиметилфурфуролом, що утворюється внаслідок дії сульфатної кислоти на сахарозу, спостерігається червоно-фіолетове забарвлення.

Хід роботи

На чашку Петрі (або предметне скельце) наносять 2 краплі жовчі, 2 краплі 20% розчину сахарози, перемішують скляною паличкою та додають 5 крапель сульфатної кислоти і перемішують. Через 2–3 хвилини на межі зіткнення шарів кислоти і жовчі утворюється червоно-фіолетове кільце.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Охарактеризуйте хімічну структуру та і фізико-хімічні властивості ліпідів.
2. Опишіть класифікацію ліпідів та їх біологічну роль.
3. Назвіть основні жирні кислоти, що входять до складу ліпідів. Опишіть роль насичених і ненасичених жирних кислот в організмі людини.
4. Охарактеризуйте прості ліпіди. Укажіть особливості їх будови і біологічну роль.
5. Основні властивості і біологічна роль фосфоліпідів.
6. Стероїди. Холестерол, його біологічна функція в організмі.
7. Опишіть механізми перетравлювання і всмоктування ліпідів у кишечнику.
8. Охарактеризуйте схему гідролізу тригліцеролів.
9. Укажіть роль жовчних кислот у перетравлюванні жирів
10. Охарактеризуйте схему β -окиснення жирних кислот. Укажіть біологічне значення та енергетичний ефект окиснення жирних кислот.
13. Опишіть біологічну роль кетонових тіл.
14. Розкрийте біологічну роль жирів при фізичних навантаженнях.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7

ВИЗНАЧЕННЯ КІНЦЕВИХ ПРОДУКТІВ АЗОТИСТОГО ОБМІНУ

МЕТА: ознайомити студентів із основними кінцевими продуктами азотистого обміну, навчити кількісно визначати сечовину і креатинін у сечі, вміти інтерпретувати одержані дані при різних ступенях фізичного навантаження.

Теоретичні відомості

Сечовина і креатинін належать до головних кінцевих продуктів азотистого обміну, які виділяються з сечею. Сечовина складає приблизно 80–90% азоту сечі, яка утворюється у результаті знешкодження аміаку. Вважають, що сечовина у 18 разів менш токсична, ніж решта азотистих речовин сироватки крові. Виділення сечовини із організму свідчить про інтенсивність білкового обміну – збільшується при вживанні їжі, яка багата білками, зменшується – при безбілковій дієті. Збільшення кількості сечовини в крові спостерігається також при пошкодженні нирок, які приводять до порушення виділення сечовини із організму. Кількість сечовини в сироватці крові зменшується при порушенні сечоутворюючої функції печінки внаслідок важких захворювань (цироз, гостра м'язова атрофія). Ступінь збільшення вмісту сечовини в крові та її виділення у результаті фізичного навантаження є універсальним показником або біохімічним маркером втоми (при вимірюванні через 1,5–2 год. після навантаження). Підвищений вміст сечовини в крові та сечі на пізніх стадіях відновлення (наприклад, вранці наступного дня після тренування або змагання) засвідчує про недостатню швидкість перебігу відновних процесів. Повернення цього показника до норми вказує на завершення відновних реакцій і стабілізацію білкового обміну [7].

У нормі за добу із сечею у здорової людини виділяється 20–35 г сечовини (333–583 ммоль/добу), у сироватці крові міститься 2,49–8,33 ммоль/л сечовини.

Креатинін є ангідридом креатину. Креатин входить до складу м'язів, де його вміст становить 80 %. Виявляється він при перетренуванні та патологічних змінах у м'язах, тому наявність креатину в сечі може використовуватися як тест при визначенні реакції організму на фізичні навантаження. Особливо багато креатину міститься у складі серцевого м'язу, де з нього за участю АТФ утворюється креатинфосфат. Саме при розпаді креатинфосфату утворюється креатинін і неорганічний фосфат. За вмістом креатиніну в сечі можна непрямо визначити швидкість креатинфосфокіназної реакції, а також кількість м'язової маси тіла. Щодобово із сечею виділяється близько 2 г креатиніну (8,8–17,7 ммоль/добу). Це складає 2–7 % загального азоту в сечі. Підвищене виділення креатиніну з сечею спостерігається при збільшенні вживання м'ясної їжі, руйнуванні м'яких тканин (м'язів), важкій м'язовій роботі, пневмонії. Кількість креатиніну в сечі зростає також під час посиленої м'язової роботи. Зниження вмісту креатиніну – при нирковій недостатності, м'язовій атрофії, дегенерації нирок та лейкемії.

ПРАКТИЧНА РОБОТА

1. Кількісне визначення сечовини в сечі

Сечовина із діацетилмонооксидом у кислому середовищі при наявності тіосемікарбазиду і солей заліза утворює комплексну сполуку червоного (малинового) кольору. Інтенсивність забарвлення пропорційна вмісту сечовини в сечі або сироватці крові.

Хід роботи

Перед визначенням профільтровану сечу розводять фізіологічним розчином у 50 разів.

Готують три пробірки: в одну вносять 0,5 мл розведеної сечі, у другу – 0,5 мл стандартного розчину креатиніну, а в третю – 0,5 мл дистильованої води. У кожен пробірник додають по 5 мл кольорового реактиву (приготованого заздалегідь). Вміст пробірок перемішують, пробірки поміщають в киплячу водяну баню на 20 хв., після цього їх охолоджують у холодній воді. Фотометрують дослідну і стандартну проби проти контрольної при довжині хвилі 540 нм.

Розрахунок проводять за формулою:

$$X = C_{ст.} \cdot E_{досл.} \cdot V_{доб.} \cdot k / E_{ст.} \cdot a, \text{ де}$$

X – вміст сечовини у добовій сечі (ммоль/л);

$E_{досл.}$ – екстинція дослідної проби;

$E_{ст.}$ – екстинція стандартної проби;

$C_{ст.}$ – концентрація сечовини в стандартній пробі;

$V_{доб.}$ – добовий об'єм сечі, мл.;

A – об'єм сечі, взятий для аналізу

$V_{доб.}$ – добовий об'єм сечі, мл.;

A – об'єм сечі, взятий для аналізу (0,5 мл);

K – розведення сечі.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

3. Якісне визначення креатиніну в сечі (реакція Яффе)

Креатинін реагує із пікриновою кислотою з утворенням в лужному середовищі таутомеру пікрату креатиніну, який зумовлює появу стійкого оранжево-червоного забарвлення. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації креатиніну, що і використовується при його кількісному визначенні.

Хід роботи

До 2 мл сечі додають 5–6 крапель 10 % розчину NaOH і 3–4 краплі насиченого розчину пікринової кислоти. З'являється оранжево-червоне забарвлення, зумовлене утворенням червоного таутомеру пікрату креатиніну.

4. Кількісне визначення креатиніну в сечі

Дослідна проба. У мірну колбу на 100 мл вміщують 0,5 мл сечі (з добової кількості) і 3,0 мл насиченого розчину пікринової кислоти. Суміш перемішують і додають 0,2 мл 10 % розчину NaOH, витримують 10 хв. і доводять об'єм розчину водою до мітки. Колориметрують при довжині хвилі 500–600 нм проти контрольного розчину.

Стандартна проба. У мірну колбу на 100 мл поміщають 0,5 мл основного стандартного розчину креатиніну, додають 3 мл розчину пікринової кислоти і 0,2 мл 10 % р-ну NaOH. Витримують 10 хв., доводять об'єм розчину водою до мітки. Колориметрують як дослідну пробу.

Контрольна проба. 3 мл розчину пікринової кислоти і 0,2 мл 10 % розчину їдкого натру доводять водою до об'єму 100 мл.

Розрахунок проводять за формулою:

$$X = \text{Сст.} \cdot \text{Едосл.} \cdot V_{\text{доб.}} / \text{Ест.} \cdot a, \text{ де}$$

X – вміст креатиніну у добовій сечі (ммоль/л);

Едосл. – екстинція дослідної проби;

Ест. – екстинція стандартної проби;

Сст. – концентрація сечовини в стандартній пробі;

V_{доб.} – добовий об'єм сечі, мл.;

a – об'єм сечі, взятий для аналізу.

Пояснити отримані результати. Зробити висновок.

ПИТАННЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЮ

1. Назвати джерела аміаку в організмі.
2. Які способи знешкодження аміаку в організмі?
3. Де утворюються кінцеві продукти обміну білків (сечовина, креатинін, амонійні солі)? Яка роль печінки в обміні білків?
4. Укажіть біологічне значення утворення сечовини.
5. Які компоненти сечі змінюються після виконання фізичних навантажень?
6. Як змінюється кількість сечовини в крові та сечі при фізичних навантаженнях?
7. Як змінюється швидкість креатинфосфокіназної реакції при м'язовому навантаженні?
8. Які зміни у спортсменів характеризує показник креатиніну?

Додаток 1

Зразок оформлення звіту до лабораторної роботи

Лабораторна робота №3

Тема. Ферменти. Загальні властивості ферментів

Назва досліджу	Хід проведення досліджу	Результати спостережень	Висновки
1. Дія амілази на крохмаль	1 пробірка: 5мл р-ну крохмалю + 3 мл H_2O. 2 пробірка: 5 мл р-ну крохмалю + 3 мл розведеної слини (1:5). Нагріваємо при t $37^{\circ}C$ на водяній бані. Через кожні 10 хв відбирають по 1 кр.суміші і наносять на краплі розчину йоду (нанесені на предметне скельце). Через 40 хв. від початку досліджу беруть 1 мл суміші і додають 1 мл реактиву Фелінга. Суміш перемішують і нагрівають до кип'ятіння.	Спочатку синє забарвлення буде проявлятися від крапель, взятих з обох пробірок. Через деякий час крапля з пробірки, де є амілаза, буде давати з йодом червоно-бурий відтінок, а згодом забарвлення не зміниться. Краплі рідини взяті з контрольного досліджу будуть давати синє забарвлення. Спостерігають утворення червоно-оранжевого кольору купруму (I) оксиду	У другій пробірці результати спостережень свідчать про вплив амілази на крохмаль. Амілаза – фермент, який руйнує глікозидні зв'язки у крохмалі. Чим триваліша її дія, тим більше молекул глюкози утвориться (забарвлення з йодом жовте). У першій пробірці амілаза відсутня, у молекулі крохмалю глікозидні зв'язки не зруйновані (забарвлення залишається синє).
2.Термолабільність ферментів	1 пробірка: 5 мл 1%-ного крохмалю + 1 мл прокип'яченої слини. 2 пробірка: 5мл крохмалю + 1 мл	Спостерігаємо за зміною забарвлення в пробірках.	У першій пробірці внаслідок руйнування ферменту під впливом кип'ятіння не відбувається гідроліз крохмалю,

3. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази	некип'яченої слини. Нагріваємо на водяній бані при t 37 С 10 хв. Відбираємо з кожної пробірки у дві інші по 1 мл суміші і додаємо в пробірки по 1 кр. йоду 1 пробірка: 1мл розв. слини (1:10) + 2 кр. H₂O; 2 пробірка: 1 мл розв. слини + 2 кр. 1%-ного NaCl; 3 пробірка: 1 мл розв. слини + 2 кр. 1%-ного CuSO₄. У кожну пробірку додаємо по 5 кр. 1%-ного р-ну крохмалю і по 1 кр. йоду.	Через 10 хв спостерігаємо зміну забарвлення.	тому реакція з йодом є позитивною, про що свідчить синє забарвлення. У другій пробірці після додавання йоду забарвлення стало жовте, це свідчить про вплив амілази на крохмаль. Результати досліджень свідчать, що у другій пробірці гідроліз крохмалю відбувся найкраще і при додаванні йоду забарвлення стає жовтим; у першій пробірці гідроліз відбувся повільніше, утворюються різні типи декстринів, які при додаванні йоду дають червоно-буре забарвлення, а в третій пробірці забарвлення залишилося синім, що свідчить про незначну швидкість проходження гідролізу. Це дає змогу зробити висновок, що NaCl є активатором амілази, а CuSO₄ – її інгібітором.
--	---	---	---

Список використаної літератури

1. Біологічна хімія: лабораторний практикум / за заг. редакцією Я.І.Гонського. Тернопіль : Укрмедкнига, 2001. 288 с.
2. Біологічна хімія : підручник / Губський Ю. І., Ніженковська І. В., Корда М. М. та ін. ; за ред. І. В. Ніженковської. Вінниця : Нова Книга, 2021. 648 с.
3. Гонський Я.І., Максимчук Т.П. Біохімія людини. Тернопіль : ТДМУ, 2019. 732 с.
4. Копильчук Г.П., Николайчук І.М. Лабораторний практикум з біохімії : навч.-мет.посібник. Чернівці : Чернівецький нац. у-т імені Ю. Федьковича, 2019. 144 с.
5. Лисиця А.В. Біохімія. Практикум. Суми : Університетська книга, 2023. 240 с.
6. Монастирська С., Стецик Р. Біохімічні основи рухової активності : методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт. Дрогобич : Редакційно-видавничий відділ ДДПУ імені Івана Франка, 2018. 74 с.
7. Осипенко Г. А. Основи біохімії м'язової діяльності : навч. посіб. Київ : Олімпійська література, 2019. 198 с.
8. Практикум з біологічної хімії / за ред. проф. О.Я. Складова. Київ : Здоров'я, 2002. 298 с.
9. Практикум з біохімії : навч.посібник / В.М.Трач, М.Г.Сибіль, І.З.Гложик, І.М.Башкін. Львів : ЛДУФК, 2014. 238 с.
10. Шевряков М.В., Яковенко Б.В., Явоненко О.Ф. Практикум з біологічної хімії. Суми : Університетська книга, 2003. 204 с.
11. Яковенко О.Ф., Явоненко В.В. Біохімія : підручник. Суми : Університетська книга, 2023. 380 с.

Електронне навчально-методичне видання

***Світлана Монастирська, Світлана
Волошанська, Галина Клепач***

БІОХІМІЯ

***МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
до лабораторних занять***

**Дрогобицький державний педагогічний
університет імені Івана Франка**

**Редактор
Ірина Невмержицька
Технічний редактор
*Ірина Артимко***

Здано до набору 08. 07. 2025 р. Формат 60x90/16. Гарнітура Times.
Ум. друк. арк. 2,50. Зам. 60

Дрогобицький державний педагогічний університет імені Івана Франка.
(Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до державного реєстру
видавців, виготівників та розповсюджувачів видавничої продукції ДК № 5140 від
01.07.2016 р.). 82100, Дрогобич, вул. Івана Франка, 24, к. 203.