Національний університет
водного господарства
та природокористування

Міністерство освіти і науки України
Національний університет водного господарства та
природокористування

П.Ф.Турчин, К.П.Турчина

БІОНЕРОРГАНІЧНА ТА БІООРГАНІЧНА ХІМІЯ

Практикум

Навчальний посібник

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Рівне-2008

Національний університет водного господарства та природокористування

УДК 577.1(075.8)
ББК 28.072
Т 89

Затверджено вченою радою Національного університету водного господарства та природокористування
(Протокол №8 від 27червня 2008 р.)

Рецензенти:
***Трушева С.С.*,** кандидат сільськогосподарських наук, доцент НУВГП;
***Буденкова Н.М.*,** кандидат хімічних наук, доцент НУВГП.

Турчин П.Ф., Турчина К.П.
Т 89 Біонеорганічна та біоорганічна хімія. Практикум.
Навч. посібник. – Рівне: НУВГП, 2008. – 112 с. Іл.5.Табл.10.

Національний університет водного господарства та природокористування

Практикум з біонеорганічної та біоорганічної хімії підготовлено відповідно до чинної програми з біохімії. У посібнику висвітлено як традиційні, так і новітні методи лабораторних досліджень. Наведено будову і біологічну дію основних груп живих організмів, їхній вміст, поширення в рослинах і практичне використання. Запитання для самоконтролю та контрольні запитання допомагають закріпити набуті знання.

Посібник призначено для студентів біологічних спеціальностей вищих навчальних закладів III-IV рівнів акредитації.

УДК 577.1(075.8)
ББК 28.072

© Турчин П.Ф., Турчина К.П., 2008
© Національний університет водного господарства та природокористування, 2008

Національний університет
водного господарства
та природокористування

З М І С Т

Стор.

ПЕРЕДМОВА……..…..…7
РОЗДІЛ 1.
Лабораторна робота „Визначення хімічних властивостей вуглеводів”.....8
Вуглеводи……8
Моносахариди.....9
Дезоксисахариди.....13
Аміноцукри.....13
Олігосахариди.....14
Полісахариди.....15
Експериментальна частина.....18
1.1. Гексози.....18
1.1.1. Реакція Громера.....18.
1.1.2. Реакція Фелінга.....19
1.1.3. Реакція з фенілгідразином.....19
1.1.4. Реакція Селіванова на кетони.....20
1.2. Дисахариди.....21
1.2.1. Відновлююча здатність лактози і мальтози.....21
1.2.2. Визначення відновлюючої здатності сахарози та гідроліз сахарози.....22
1.3. Полісахариди.....23
1.3.1. Реакція крохмалю і глікогену з йодом.....23
1.3.2. Гідроліз крохмалю.....23
1.3.3. Кількісне визначення фруктози.....24
Запитання для самоконтролю……25
Контрольні завдання.....26
РОЗДІЛ 2.
Лабораторна робота „Вивчення фізичко-хімічних властивостей амінокислот і білків”.....28
Амінокислоти.....28
Білки.....31
Експериментальна частина.....32
1.1. Нінгідринова реакція.....32
1.2. Реакція з нітратною кислотою.....34

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Стор.

1.3. Утворення комплексної солі купруму(II).....34
1.4. Реакція амінокислот на аргінін.....35
1.5. Реакція Фоля на слабкозв'язаний сульфур цистеїну і цистину.....35
1.6. Реакція Адамкевича на триптофан.....36
1.7. Реакція Вуазене на триптофан.....37
1.8. Реакція Паулі на гістидин та тирозин.....38
1.9. Виділення і визначення вмісту складних білків.....39
1.10. Біуретова реакція на виявлення пептидних зв'язків в білках.....40
Запитання для самоконтролю.....41
Контрольні завдання.....42
РОЗДІЛ 3.
Лабораторна робота „ Ліпіди".....44
Ліпіди.....44
Жири.....44
Воски.....51
Складні ліпіди.....52
Ізопреноїди.....55
Терпени.....55
Сексквітерпени.....56
Дитерпени.....57
Тритерпени.....57
Тетратерпени.....58
Політерпени.....58
Експериментальна частина.....60
1.1. Розчинність ліпідів і утворення емульсій.....60
1.2. Виявлення ненасиченості ліпідів.....60
1.3. Омилення жиру.....61
1.4. Утворення вільних жирних кислот.....61
1.5. Визначення кислотного числа жиру.....62
1.6. Визначення йодного числа жиру.....62
1.7. Реакція утворення йодоформу при взаємодії ацетону з йодом.....63
1.8. Реакція на ацетон і оцтову кислоту.....64
Запитання для самоконтролю.....64
Контрольні завдання.....65

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Стор.

РОЗДІЛ 4.
Лабораторна робота „Вітаміни”.....66
Вітаміни.....66
Водорозчинні вітаміни.....66
Жиророзчинні вітаміни.....66
Вітаміноподібні речовини.....67
Експериментальна частина.....67
1.1. Реакція окиснення тиаміну в тиохром.....67
1.2. Реакція відновлення рибофлавіну (вітамін B_2).....68
1.3. Реакція на пародоксин (вітамін B_2).....69
1.4. Виділення фолієвої кислоти із дріжджів і її виявлення.....69
1.5. Реакція на вітамін Р. Якісна реакція на рутин.....70
1.6. Реакція з аскорбіновою кислотою.....70
1.7. Реакція з α-токоферолом (вітамін Е).....71
Запитання для самоконтролю.....72
Контрольні завдання.....73
РОЗДІЛ 5.
Лабораторна робота „Ферменти”.....74
Ферменти.....74
Властивості ферментів.....77
Класифікація ферментів.....77
Експериментальна частина.....79
1.1. Дія амілази.....79
1.2. Дія тирозинази.....80
1.3. Дія альдегідоксидази.....81
1.4. Дія сахарози.....82
1.5. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази.....83
1.6. Специфічність дії амілази і сахарози.....83
1.7. Визначення активності амілаз і слини за методом Вольгемута.....84
Запитання для самоконтролю.....85
Контрольні завдання.....85
РОЗДІЛ 6.
Лабораторна робота „Гормони”.....87
Білково-пептидні гормони.....87
Пептидні гормони.....88

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Стор.

Стероїди....88
Стероли....89
Жовчні кислоти....89
Статеві гормони....90
Гормони кори надниркових залоз....91
Серцеві глікозиди....92
Стероїди сапоніни....92
Експериментальна частина....93
1.1. Реакція на гормон залози тироксин....93
1.1.1. Виявлення йоду....93
1.2. Реакція на гормони (адреналін, норадреналін)....94
1.2.1. Реакція з хлоридом феруму(III)....94
1.2.2.Реакція з діазореактивами 94
1.2.3. Реакція з йодатом калію....95
1.3. Кількісне визначеного адреналіну за Фоліним....95
1.4. Реакція на гормони підшлункової залози (інсулін)....96
1.4.1. Реакції, що свідчать про білкову природу інсуліну....96
Запитання для самоконтролю……96
Контрольні завдання....97
РОЗДІЛ 7.
Лабораторна робота „Нуклеїнові кислоти”....98
Нуклеїнові кислоти....98
Нуклеозиди та нуклеотиди....99
Рибонуклеозиди та дезоксирибонуклеозиди....103
Нуклеотиди та декоксирибонуклеотиди....104
Експериментальна частина....108
1.1. Знаходження пуринових основ в складі нуклеопротеїдів....108
1.2. Знаходження фосфатної кислоти в складі нуклеопротеїдів....108
1.3. Знаходження білків в складі нуклеопротеїдів....109
Запитання для самоконтролю……109
Контрольні завдання....110
РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА....111
ДОДАТОК....113

Національний університет
водного господарства
та природокористування

ПЕРЕДМОВА

Практикум з навчальної дисципліни „Біонеорганічна та біоорганічна хімія” представляє собою частину навчально-методичного комплексу з біологічної хімії і є керівництвом до виконання лабораторних робіт студентами спеціальності „Агрохімія і ґрунтознавство”.

Доцільність підготовки цього видання зумовлена відсутністю сучасних вітчизняних підручників та навчальних посібників з цієї дисципліни.

До практикуму увійшли найбільш типові лабораторні роботи, що представляють основні розділи біологічної хімії: вуглеводи, амінокислоти, білки, ліпіди, нуклеїнові кислоти, ферменти, вітаміни і гормони. В кожному розділі роботи наведено загальні й специфічні фізико-хімічні властивості досліджуваних біохімічних активних речовин і їх функціональні ролі, що збагачує обсяг теоретичних знань студентів при виконанні ними лабораторних робіт.

В процесі виконання запропонованих робіт студенти знайомляться із сучасними методами експериментальних досліджень, поглиблюють знання про спільність біохімічних процесів рослин і тварин, вчаться аналізувати отримані результати та робити висновки.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

РОЗДІЛ І
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА „ВИЗНАЧЕННЯ ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВУГЛЕВОДІВ”

Мета роботи – вивчення хімічних властивостей гексоз, дисахаридів і полісахаридів, засвоєння якісних реакцій на вуглеводи і їх кількісного визначення.

Вуглеводи

Вуглеводами називаються сполуки із загальною формулою $C_nH_{2n}O_n$, але більшість природних вуглеводів не повністю підпорядковуються такій брутто-формулі, через особливості їхньої будови.

Вуглеводи надзвичайно поширені в рослинному світі. Найпростіші вуглеводи синтезуються в природних умовах спочатку в рослинах з диоксиду карбону і води під дією світла і біологічного каталізатора хлорофілу, а надалі беруть участь в синтезі глікозидів, полісахаридів, амінокислот, ліпідів, стероїдів тощо.

У сухої маси рослин приблизно 80% припадає на вуглеводи. Вони є одним з основних харчових продуктів, які містяться в злакових зернах, фруктах, картоплі, овочах (табл.1).

Таблиця 1

Вміст вуглеводів у деяких продуктах (до маси свіжого продукту)

Продукт	Вуглеводи, %	Продукт	Вуглеводи, %
Рис неполірований	75,8	Квасоля	53,8
Крупа перлова	73,8	Хліб пшеничний	42,4
Борошно пшеничне (вищий сорт)	73,6	Картопля свіжа	20,0
Борошно житнє	70,4	Вишні	14,3
Борошно пшеничне (оббивне)	69,0	Дині	11,3
Чорнослив сушений	69,0	Буряки столові	10,4
Борошно гречане	67,4	Кавуни	9,0
Горох	54,1	Капуста	5,3

Національний університет
водного господарства
та природокористування

За хімічною класифікацією вуглеводи належать до гідроксиальдегідів, або гідросикетонів. Їх також називають цукрами або сахаридами (карбогідратами).

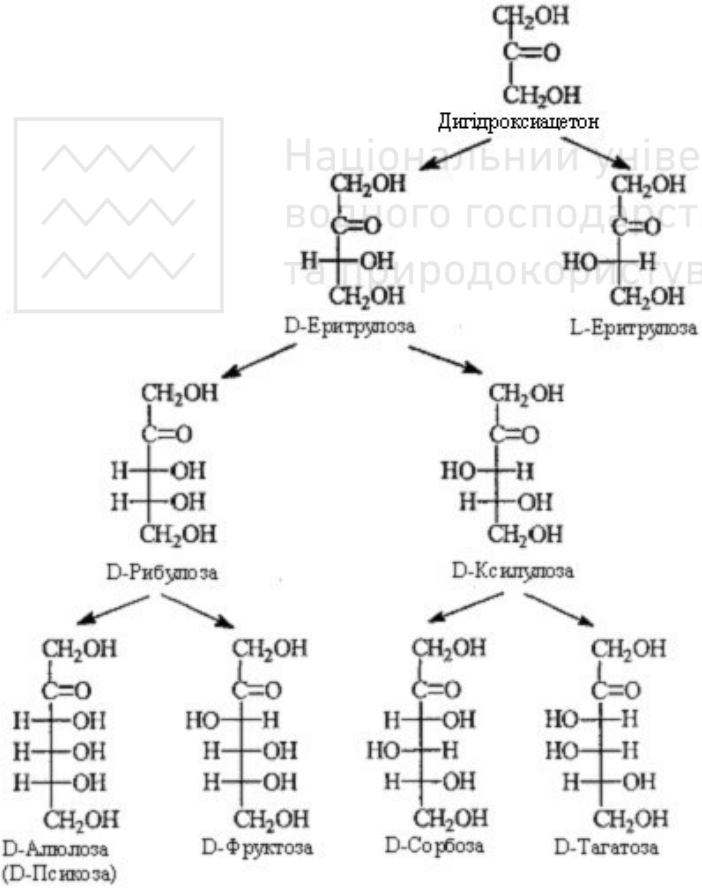
Вуглеводи поділяють на моносахариди, олігосахариди та полісахариди.

Моносахариди

Моносахариди (монози) – прості вуглеводи, не здатні гідролізуватися з утворенням простіших моносахаридів.

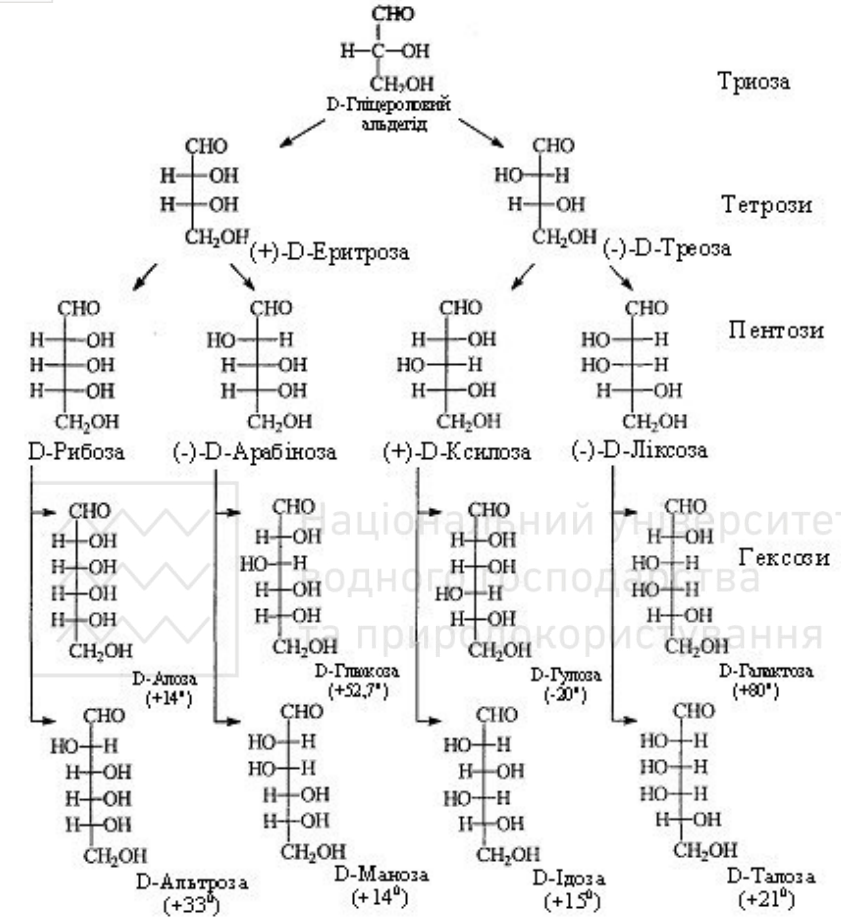
За функціональною групою моносахариди поділяють на альдози і кетони.

Генетичний ряд D-альтоз і D-кетоз:



Національний університет
водного господарства
та природокористування

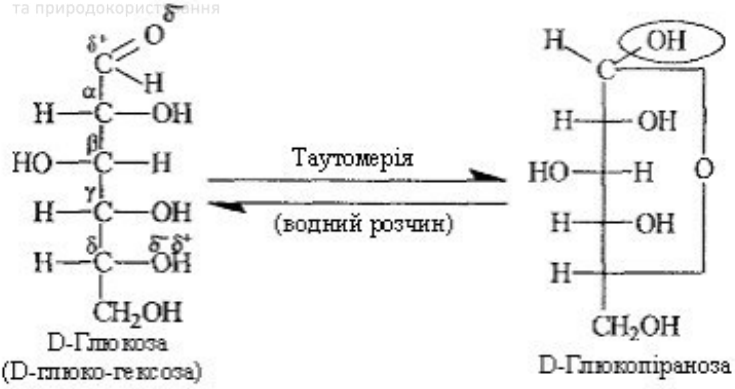
Національний університет
водного господарства
та природокористування

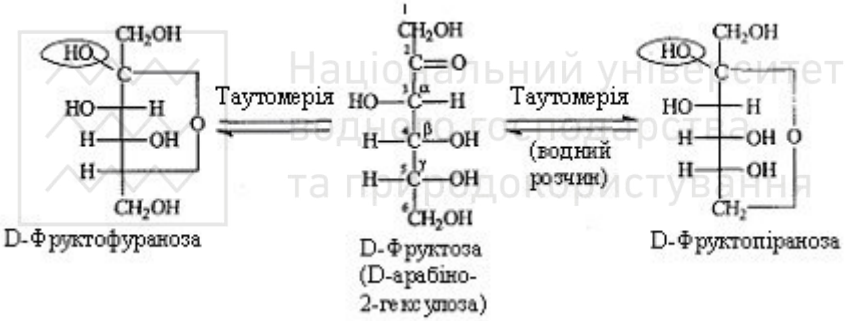


Найпростішими моносахаридами у природі є D-глюкоза (виноградний цукор) і D-фруктоза (фруктовий цукор).

Дослідженнями хімічних і фізичних властивостей моносахаридів було встановлено існування напівацетальних (циклічних) форм внаслідок таутомерії у водних розчинах:

Національний університет
водного господарства
та природокористування



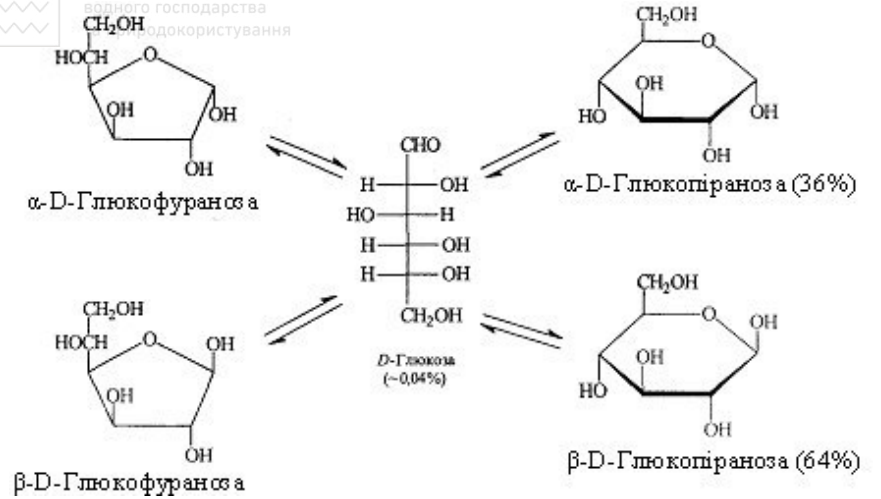


Циклічна будова моносахаридів являє собою α- або β-форми, які називаються аномерами – діастереоізомери, що відрізняються між собою лише конфігурацією при аномерному (напівацетальному) атомі Карбону.

D-глюкоза і D-маноза, D-алоза і D-альтроза, D-галактоза і D-талоза тощо є між собою епімерами-діастереоізомери, що відрізняються конфігурацією лише одного (епімерного) атома Карбону.

Встановлено, що у водному розчині D-глюкози міститься п’ять таутомерів: α і β-аномерів фуранозних і піранозних циклів і відкритої форми D-глюкози:

Національний університет
водного господарства
та природокористування



Фуранозна форма для глюкози вважається нестійкою, а піранозна форма характерна як термодинамічно стабільніша. Однак для альдотетроз фуранозна форма є по суті єдиною можливою формою існування моносахаридів у кристалічному стані. Вона більшою мірою характерна для фруктози.

Альдогексози у відкритої форми містять чотири хіральні атоми Карбону, а тому загальна кількість стереоізомерів для них становить $2^n = 2^4 = 16$. Ці ізомери утворюють вісім пар енантіомерів: вісім D-ряду і вісім L-ряду (див.стор. 14).

Для альдогексоз у напівацетальної форми кількість хіральних центрів збільшується до п'яти, тому їм відповідають вже $2^5 = 32$ стереоізомери. Кетогексози у відкритій формі містять три хіральні атоми Карбону тому кількість стереоізомерів досягає $2^3 = 8$ і вони утворюють чотири пари енантіомерів: чотири L-ряду і чотири D-ряду.

Слід сказати, що реальна будова молекул глюкози і фруктози, як і всіх моносахаридів-гексоз у циклічній формі, не є плоскою. Вона існує у вигляді конфомерів у формі ванни або кристала. Конформація фуранозної форми моносахаридів подібна до конформації конверта або напівкрісла.

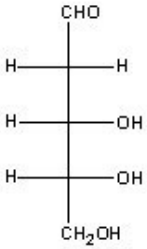
З окремих груп моносахаридів заслуговують на увагу дезоксисахариди і аміноцукри.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

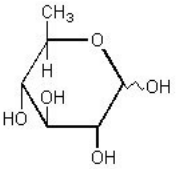
Дезоксисахариди

Дезоксисахариди – сполуки в яких одна або кілька гідроксильних груп заміщені атомом Гідрогену або іншими функціональними групами.

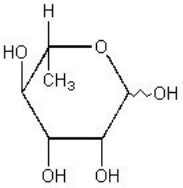
З дезоксипентоз і дезоксигексоз найбільшої уваги заслуговують 2-дезокси-D-рибоза, яка входить до складу дезоксирибонуклеїнових кислот (ДНК) і хіноваза, L-рамноза, D-фукоза:



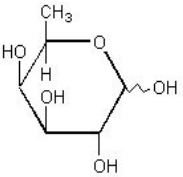
2-Дезокси-D-рибоза



Хіноваза



L-Рамноза



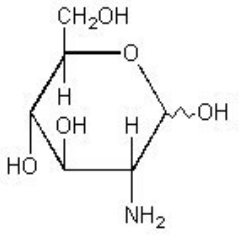
D-Фукоза

Національний університет
водного господарства
та природокористування

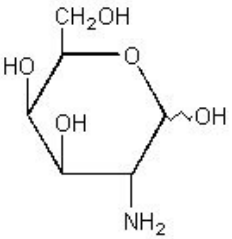
За хімічними властивостями дезоксисахариди подібні до звичайних вуглеводів.

Аміноцукри

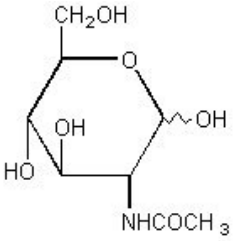
Аміноцукри – сполуки, в яких одна або кілька гідроксильних груп заміщені аміногрупою. Вони достатньо поширені у природі, містяться у вигляді структурних компонентів змішаних біополімерів. Це є похідні на зразок хітозаміну, хондрозаміну, N-ацетилглюкозаміну:



Хітозамін



Хондрозамін



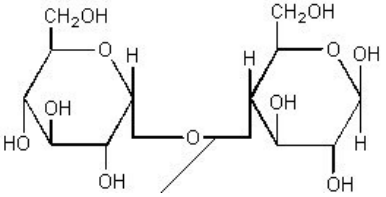
N-Ацетил-глюкозамін

Заслуговують на увагу аміноцукри, що містять карбоксильну групу. Це нейрамінова, муранова, сіалова кислоти.

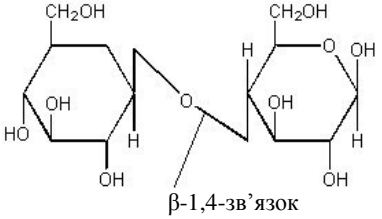
Національний університет
водного господарства
та природокористування

Олігосахариди

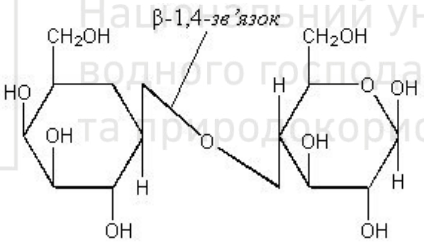
Олігосахариди (дисахариди) – сполуки, що складаються з двох залишків моносахаридів, сполучених глікозидним зв'язком. В залежності від природи і будови моносахаридів, що їх складають, вони бувають відновлюючими і невідновлюючими. До відновлюючих дисахаридів відносяться мальтоза, целобіоза, лактоза та інші.



Мальтоза (β-форма)

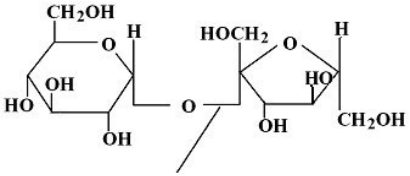


Целобіоза (β-форма)

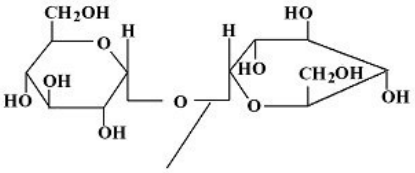


Лактоза (α-форма)

Найважливішими представниками невідновлюючих дисахаридів є сахароза і трегалоза:



Сахароза



Трегалоза

Національний університет водного господарства та природокористування

При гідролізі сахарози, який протікає за реакцією:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \xrightarrow[ЕНЗИМ]{H^+ \text{ або}} C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6$$

$[a]_D=+66,5^0$ D-Глюкоза $[a]_D=+52,7^0$ D-Фруктоза $[a]_D=-92^0$

утворюється суміш D-глюкози і D-фруктози в піранозній формі. При цьому відбувається зміна кута обертання з правого на лівий, яка називається інверсією. Таку суміш глюкози і фруктози після інверсії називають інвертованим цукром, або штучним медом.

Сахароза входить до складу багатьох рослин (табл.2), більшість з яких є продуктами харчування.

Таблиця 2

Вміст сахарози у деяких рослинах (на сиру масу)

Рослина	Сахароза, %	Рослина	Сахароза, %
Буряк цукровий	16-22	Жито	2.%
Тростина цукрова	15-20	Пшениця	2,1
Сорго (цукрове просо)	11-15	Ячмінь	2,0
Буряк столовий	10	Просо	1,9
Буряк кормовий	8	Кукурудза	1,8
Морква	7	Овес	1,5
Кукурудза цукрова	6-7		1,0

Національний університет водного господарства та природокористування

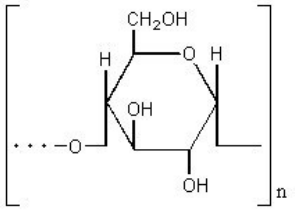
Полісахариди

Полісахариди – вуглеводи, що здатні гідролізуватися до найпростіших моносахаридів. Вони є високомолекулярними нецукроподібними природними вуглеводами.

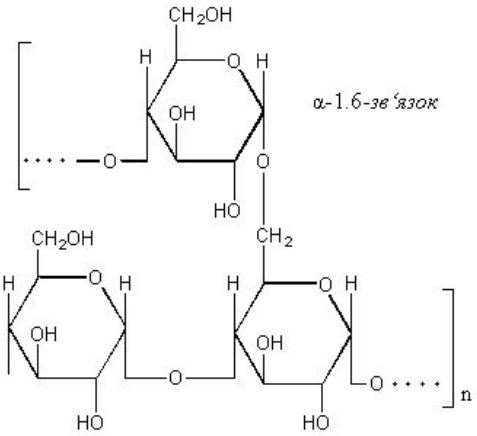
До основних представників природних полісахаридів належать крохмаль, целюлоза, глікоген, геміцелюлоза та інші.

Крохмаль – резервний полісахарид рослин, який складається, в основному, з двох полісахаридних компонентів: амілози (20-30%) й амілопектину (70-80%), співвідношення яких залежить від природи рослин.

Національний університет
водного господарства
та природокористування



Амілоза (n = 300-1000)



Амілопектин (n = 600-5000)

В промисловості при повному кислому гідролізі крохмалю одержують глюкозу, а проміжними продуктами можуть бути олігосахариди, мальтоза:

$$(C_6H_{10}O_5)_n \xrightarrow[180^0C]{H_2O} (C_6H_{10}O_5)_m \xrightarrow{T^0C} \frac{n}{2} C_{12}H_{22}O_{11} \xrightarrow{H^+} nC_6H_{12}O_6$$

Крохмаль — Декстрини — Мальтоза — Глюкоза

Целюлоза (клітковина) є найбільш поширеною природною речовиною, що містять вищі рослини.

У промисловості з целюлози гідролізом добувають ряд продуктів:

$$(C_6H_{10}O_5)_n \xrightarrow[190^0C]{H_2O} (C_6H_{10}O_5)_m \xrightarrow{H^+} \frac{n}{2} C_{12}H_{22}O_{11} \xrightarrow{H^+} nC_6H_{12}O_6$$

Целюлоза — Олігосахариди (n>m) — Целобіоза — D-Глюкоза

а також етанол, кормові дріжджі, лігнін тощо.

Окремою групою полісахаридів є геміцелюлози, які з целлюлозою і лігніном утворюють рослинні тканини.

За хімічною будовою геміцелюлози є пентозанами або гексозанами або пентозаногексозанами. Загальна класифікація геміцелюлози має вигляд:

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Містяться в рослинах:

Геміцелюлоза

Арабінани – у деревині, цукровому буряку, в плодах багатьох рослин, вишневому клею, камедях.

Ксилани – в деревині, соломі, різних травах, лушпинні, лушпайках, бавовні, полові вівса, рису та ін. (Арабіноксилани – у зернах злакових культур (пшениці, жита, ячменю)).

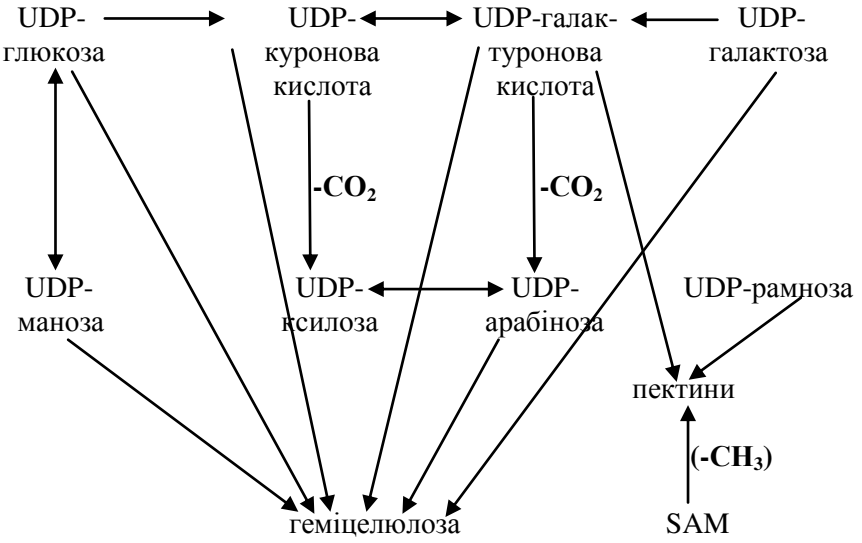
Галактани - у насінні деяких рослин (люцерні, бобів, ячменю) у цукровому буряку, у модрині даурській, саксаулі, білої берези.

Манани – у хвойних деревах, клубенях багатьох рослин, насінні деяких пальм, у зерні пшениці, ячменю, зеленого кофе, морських водоростях, цибулі, камеді ріжкового дерева, камеді гуаровій.

Фруктани (левани) – у трав'яних рослинах (олеїнів), леванів бактеріального походження з цукрового буряку або продуктів цукрового виробництва.

У геміцелюлози і пектинів, що складають матрикс клітинної оболонки, спільні шляхи синтезу. Ферменти, що каталізують їх утворення, локалізовані в апараті Гольджі.

Взаємозв'язок шляхів біосинтезу компонентів матриксу клітинної оболонки можна побачити на наступній схемі.



Національний університет водного господарства та природокористування

Біосинтез геміцелюлози і пектинів починається з UDP—глюкози і UDP-галактози, які окиснюються до відповідних UDP-уронових кислот, останні можуть взаємоперетворюватися під дією відповідних епімераз. Далі при декарбоксилуванні глюкуронова кислота утворює UDP-ксилозу, а галактуронова - UDP-арабінозу, які також здатні епімеризуватися.

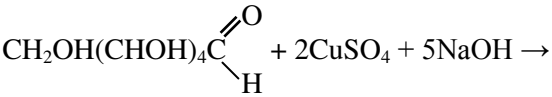
Геміцелюлози утворюються з UDP-похідних глюкози, манози, ксилози, арабінози, галактози та уронових кислот. Для синтезу пектинів необхідні UDP-галактуронова кислота та UDP-рамноза. Крім того, для утворення розчинного пектину потрібні метильні групи, донором яких є S-аденозілметіонін (SAM). Метильні групи на полігалактуронову кислоту переносяться метилтрансферазою.

Експериментальна частина

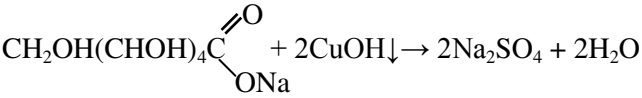
1.1. Гексози

1.1.1. Реакція Громмера

Принцип реакції: розчин гексоз, наприклад, глюкози і фруктози в лужному середовищі при нагріванні відновлюють оксид купруму(II) в геміоксид купруму, а самі окиснюються до альдонових кислот. Цю реакцію для глюкози у загальному вигляді можна записати рівнянням:



$$CH_2OH(CHOH)_4C(=O)H + 2CuSO_4 + 5NaOH \rightarrow$$



$$CH_2OH(CHOH)_4C(=O)ONa + 2CuOH\downarrow \rightarrow 2Na_2SO_4 + 2H_2O$$

$$2CuOH \rightarrow Cu_2O\downarrow + H_2O.$$

Матеріали і реактиви: розчин глюкози (5%-ний), 5%-ний розчин гідроксиду натрію, 5%-ний розчин сульфату купруму(II).

Обладнання: скляні палички, пробірки, проградуйовані піпетки, крапельниці, штатив для пробірок, пальник.

Хід роботи: в пробірку до 3 мл розчину глюкози приливають розчин гідроксиду натрію (1 мл) і сульфату купруму (5 крапель). Випадає осад гідроксиду купруму, який при перемішуванні або збовтуванні пробірки розчиняється, і розчин набуває голубого

забарвлення. При його обережному нагріванні в полум'ї пальника до кипіння спостерігається випадання жовтого осаду гідроксиду купруму(I) або червоного осаду геміоксиду купруму.

1.1.2. Реакція Фелінга

Принцип реакції: в реактиві Фелінга йони купруму(II) знаходяться у вигляді комплексної сполуки з тартратами. Механізм реакції гексоз з реактивом Фелінга такий же, як і в реакції Громмера. Перевагою реактиву Фелінга є те, що Купрум при надлишку реактиву не випадає у вигляді оксиду купруму(II). Дисахариди і полісахариди взаємодіють з реактивом Фелінга після кип'ятіння з мінеральними кислотами.

Матеріали і реактиви: 5%-ий розчин глюкози, реактив Фелінга, який складається з двох розчинів. Для приготування першого розчину 200 г сегнетової солі і 150 г гідроксиду натрію розчиняють у дистильованій воді і доводять об'єм до 1 л. Для приготування другого - 40 г перекристалізованого сульфіду купруму розчиняють в дистильованій воді до об'єму 1 л. Рівні об'єми першого і другого розчинів змішують перед початком роботи.

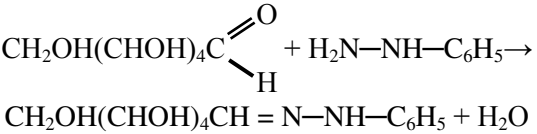
Обладнання: скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, штатив для пробірок, пальник.

Хід роботи: в пробірку вносять 1 мл розчину глюкози і 1 мл реактиву Фелінга. Суміш перемішують і нагрівають в полум'ї пальника до кипіння. Спостерігають утворення червоного осаду геміоксиду купруму.

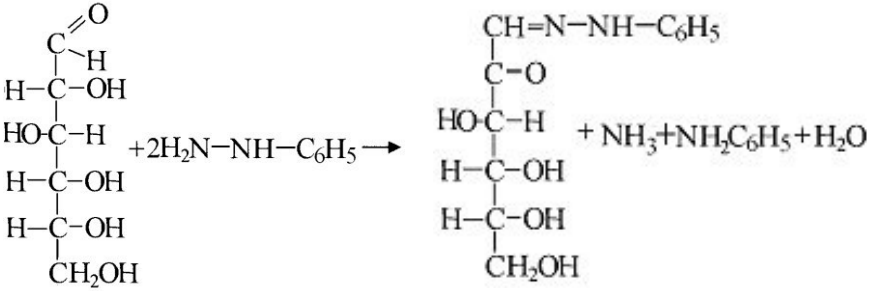
1.1.3. Реакція з фенілгідразином

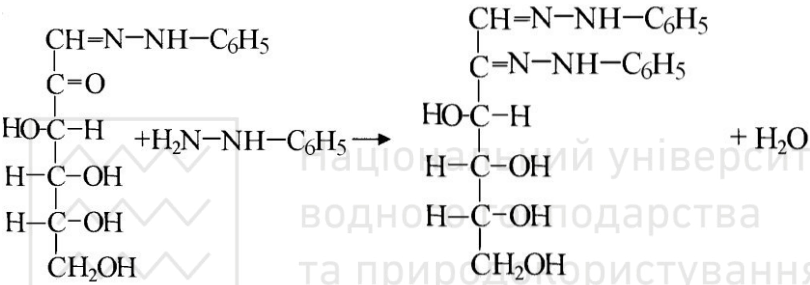
Принцип реакції: гексози, взаємодіючи з фенілгідразином, призводять до утворення гідразонів або озазонів. Гідразони виникають, якщо реакція протікає в спиртових розчинах без кислоти.

У випадку реакції з глюкозою рівняння має вигляд:



Якщо реакція протікає у водному розчині в присутності кислоти, то утворюється озазони.





В залежності від того, які моносахариди беруть участь у реакції з фенілгідразином утворюються різноманітні озазони, по структурі і формі кристалів яких можна судити про те, з яких моносахаридів вони утворились.

Матеріали і реактиви: насичені розчини фенілгідразину і ацетату натрію, 5%-ний розчин глюкози.

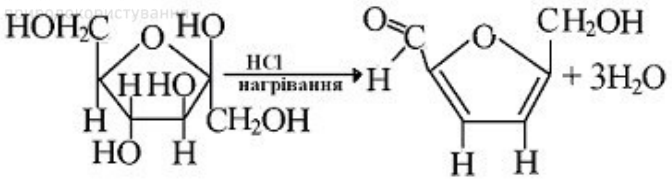
Обладнання: скляні палички, пробірки, піпетки, штатив для пробірок, водяна баня, годинник.

Хід роботи: в пробірку вносять 5 мл розчину глюкози, по 2 мл насичених розчинів фенілгідразину і ацетату натрію, потім перемішують і кип'ятять на водяній бані протягом 10 хв. Після охолодження спостерігають утворення жовтих кристалів озазону.

1.1.4. Реакція Селіванова на кетони

Принцип реакції: при нагріванні фруктози або інших кетоз з хлоридною кислотою утворюється оксиметилфурфурол. Рівняння реакції для фруктози має вигляд:

Національний університет
водного господарства
та природокористування



Оксиметилфурфурол з резорцином утворює сполуку (продукт конденсації), забарвлену у вишнево - червоний колір.

Матеріали і реактиви: кристалічний резорцин, 5%-ний розчин фруктози, 25%-ний розчин хлоридної кислоти.

Обладнання: скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, штатив для пробірок, водяна баня, лабораторний термометр, шпатель, годинник.

Хід роботи: в пробірку наливають 5 мл розчину фруктози, 1 мл розчину хлоридної кислоти і декілька кристалів резорцину. Суміш нагрівають на водяній бані на протязі 5-10 хв. при температурі 80^0С до появи вишнево-червоного кольору.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

1.2. Дисахариди

1.2.1. Відновлююча здатність лактози і мальтози

Принцип реакції: завдяки наявності альдегідної групи в молекулі лактози (в залишку глюкози) і мальтози (у іншому залишку глюкози) ці дисахариди володіють редукуючими властивостями і можуть брати участь у реакціях відновлення, в тому числі мальтоза і лактоза дають позитивну реакцію Громмера.

Матеріали і реактиви: розчини лактози, мальтози, гідроксиду натрію і сульфату купруму(II) (5%).

Обладнання: скляні палички, пробірки, піпетки, крапельниці, штатив для пробірок, пальник.

Хід роботи: в одну пробірку наливають 2 мл лактози, а в іншу - 2 мл розчину мальтози. В обидві потім наливають по 1 мл розчину гідроксиду натрію і по 5 крапель розчину сульфату купруму. Пробірки обережно нагрівають в полум'ї і спостерігають утворення червоного осаду оксиду купруму(I).

Національний університет
водного господарства
та природокористування

1.2.2. Визначення відновлюючої здатності сахарози та гідроліз сахарози

Принцип реакції: в молекулі сахарози зв'язок між залишками глюкози і фруктози утворюється за рахунок двох глікозидних гідроксилів. Сахароза не володіє відновлювальними властивостями і дає негативну реакцію Громмера. Після гідролізу сахарози (кип'ятіння в присутності концентрованої хлоридної кислоти) утворюються моносахариди, які можна виявити за допомогою реакції Громмера, а фруктозу і по реакції Селіванова.

Матеріали і реактиви: концентрована хлоридна кислота, 25%-ний розчин хлоридної кислоти, 5%-ний розчини сахарози, гідроксиду натрію і сульфату купруму(II), кристалічний резорцин.

Обладнання: скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, крапельниці, штатив для пробірок, водяна баня, термометр, годинник.

Хід роботи: в дві пробірки наливають по 6 мл розчину сахарози. В одну з них добавляють також дві краплі концентрованої хлоридної кислоти і нагрівають на киплячій водяній бані при температурі 100^0С протягом 15 хв. Друга пробірка містить контрольний розчин сахарози. Потім беруть ще дві пробірки і в одну з них вносять 3 мл нейтралізованого гідролізату сахарози, а в іншу - 3 мл контрольного розчину сахарози. До вмісту цих пробірок добавляють по 1 мл розчину гідроксиду натрію і по 5 крапель розчину сульфату купруму. Потім нагрівають на водяній бані до кипіння (проводять реакцію Громмера). Відмічають утворення червоного осаду оксиду купруму в пробірці, яка містить гідролізат (позитивна реакція Громмера) і відсутність його в контрольній пробі (негативна реакція Громмера).

Із залишеними 3 мл гідролізату сахарози і контрольного розчину сахарози проводять реакцію Селіванова на виявлення фруктози. З цією метою в дві пробірки добавляють по 1 мл розчину хлоридної кислоти і декілька кристалів резорцину. Вміст пробірок нагрівають на водяній бані на протязі 5-10 хв при температурі 80^0С. В пробірці, яка містить гідролізат сахарози, спостерігають появу вишнево-червоного забарвлення (позитивна реакція Селіванова) і відсутність цього забарвлення в контрольній пробі.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

1.3. Полісахариди

1.3.1. Реакція крохмалю і глікогену з йодом

Принцип реакції: при взаємодії крохмалю і глікогену з йодом утворюються комплексні адсорбційні сполуки, забарвлені в реакції з крохмалем в синій колір, а з глікогеном - в червоно-бурий колір. Різниця забарвлення комплексів обумовлена хімічною структурою крохмалю і глікогену. При нагріванні забарвлення зникає, але знову з'являється при охолодженні, що свідчить про утворення нестійких комплексів крохмалю і глікогену з йодом. Знебарвлення відбувається також при додаванні гідроксиду натрію і калію. Зникнення забарвлення при нагріванні і додаванні лугу обумовлена тим, що в утворенні комплексів приймає участь молекулярний йод, а не йодид – йони.

Матеріали і реактиви: реактив Люголя (1 г йоду і 2 г калій йодиду розчиняють в 15 мл дистильованої води і потім розводять водою до об'єму 300 мл), 0,1%-ні розчини крохмалю і глікогену, 10%-ий розчин гідроксиду натрію.

Обладнання: скляні палички, пробірки, піпетки, крапельниці, штатив для пробірок, водяна баня.

Хід роботи. в одну пробірку поміщають 2 мл розчину крохмалю, в іншу - 2 мл розчину глікогену. Потім в дві пробірки додають по 1-2 краплі розчину Люголя. Вміст пробірок перемішують і спостерігають утворення синього забарвлення в пробірці з крохмалем, і червоно–бурого - з глікогеном. Потім з кожної пробірки по 1 мл рідини переносять в дві інші пробірки, в які добавляють по 1 мл розчину гідроксиду натрію. Спостерігають знебарвлення в кожній пробірці. Суміші, які залишилися в пробірках, де спочатку було забарвлення, нагрівають на водяній бані. Спостерігають зникнення забарвлення, яке знову з'являється при охолодженні.

1.3.2. Гідроліз крохмалю

Принцип реакції: При нагріванні розчину крохмалю з мінеральними кислотами відбувається гідроліз з утворенням глюкози, яку можна виявити якісними реакціями на моносахариди, зокрема, реакцією Громмера.

Національний університет водного господарства та природокористування

Матеріали і реактиви: концентрована хлоридна кислота, 1%-ний розчин крохмалю, 15%-ний розчин гідроксиду натрію, 1%-ний розчин сульфату купруму(II).

Обладнання: скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, крапельниці, штатив для пробірок, водяна баня, годинник.

Хід роботи: в дві пробірки поміщають по 5 мл розчину крохмалю. В одну з них додають також 2-3 краплі концентрованої хлоридної кислоти і кип'ятять на водяній бані 10 хв. Друга пробірка контрольна. Потім в дві пробірки приливають по 2 мл 15%-го розчину гідроксиду натрію, і по 5 крапель розчину сульфату купруму і нагрівають (проводять реакцію Громмера). В пробірці де проводили гідроліз крохмалю хлоридною кислотою при нагріванні, спостерігають утворення червоного осаду геміоксиду купруму (реакція Громмера позитивна), а в контрольній пробірці такий осад не утворюється (реакція Громмера негативна).

1.3.3. Кількісне визначення фруктози

Принцип методу: визначення фруктози основане на реакції Селиванова. Швидкість утворення оксиметилфурфуролу в реакції фруктози з хлоридною кислотою при нагріванні в багато разів більше, ніж для альдогексоз, що обумовлює специфічність реакції Селіванова для фруктози.

Величину екстинкції розчину, який містить продукт конденсації утвореного із фруктози оксиметилфурфуролу з резорцином, визначають колориметрично. Для кількісного визначення вмісту фруктози готують стандартний розчин фруктози.

Матеріали і реактиви: досліджуваний розчин фруктози (10-100 мг/мл), стандартний розчин фруктози (25 мг/мл), 0,1%-ний розчин резорцину у 96%-ому етиловому спирті, 30%-ний розчин хлоридної кислоти.

Обладнання: скляні палички, пробірки з пришліфованим повітряним зворотнім холодильником, піпетки, штатив для пробірки, водяна баня, годинник, термометр, фотоколориметр.

Хід роботи: в одну пробірку з пришліфованим повітряним зворотнім холодильником наливають 2 мл досліджуваного розчину фруктози (проба), в іншу - 2 мл стандартного розчину фруктози (контроль). Потім в ці пробірки добавляють по 2 мл розчину резорцину і по 6 мл розчину хлоридної кислоти. Вміст пробірок

Національний університет водного господарства та природокористування

перемішують і нагрівають на водяній бані протягом 8 хв. при температурі 80^0С. Після нагрівання розчини охолоджують і колориметрують при 490 нм. Екстинкцію вимірюють, використовуючи реактиви, замінюючи 2 мл розчину фруктози 2 мл дистильованої води.

Масову концентрацію фруктози в досліджуваній пробі (мкг/мл) визначають за формулою:

$$C = QE_1/E_2$$

де E_1 і E_2 - екстинкція досліджуваного і стандартного розчинів; Q - коефіцієнт, який являє собою відношення масової концентрації в стандартній пробі до об'єму проби.

Цим методом можна визначити також масову концентрацію фосфорних етерів фруктози – фруктозо-1,6-дифосфату, і фруктозо-6-фосфату.

Хід роботи: такий, як і для фруктози, але для розрахунку концентрації фруктозо-1,6-дифосфату отримане значення фруктози потрібно помножити на 3,6, а для фруктозо-6-фосфату - на 2,39. Ці поправки водяться з урахуванням того, що у фруктозо-1,6-дифосфату і в фруктозо-6-фосфату фруктоза складає 53% і 60,5% відповідно, а інтенсивність її кольорової реакції - 52,3% і 69,2%.

Національний університет водного господарства та природокористування

Запитання для самоконтролю

1. Дайте загальну характеристику вуглеводам. На чому базується їхня класифікація?
2. Які функції вуглеводів у рослинах?
3. Розкажіть про практичне застосування вуглеводів.
4. Як класифікують моносахариди? Дайте характеристику окремим представникам різних груп моносахаридів.
5. Охарактеризуйте олігосахариди. Як їх класифікують? Наведіть приклади основних ди-, три-, тетра- і полісахаридів. Які їхні особливості та значення?
6. Розкажіть про солодкість цукрів, природні і синтетичні замінники цукру.
7. Дайте характеристику вищим полісахаридам. Які їхні спільні властивості?
8. Назвіть полісахариди, що входять до складу клітинної стінки; запасні полісахариди. Охарактеризуйте їхні будову, властивості, поширення.

Національний університет водного господарства та природокористування

9. Розкажіть про калозу, камеді (гумі) і слизи, їхні властивості, поширення і роль у рослині.

10. Які вищі полісахариди водоростей ви знаєте? Дайте їм характеристику. Що таке ліхенін?

11. У чому схожість і різниця між хітином й целюлозою?

12. Як утворюються вуглеводи у процесі фотосинтезу? Розкажіть про реакції циклу Кальвіна.

13. Дайте загальну характеристику обміну вуглеводів у рослинах. Яка роль NDP-цукрів у цьому процесі?

14. Розкажіть про синтез і розпад сахарози, три-, тетра- і полісахаридів у рослинах.

15. Які шляхи біосинтезу у розпаду крохмалю?

16. Що відомо про синтез і розпад целюлози?

17. Як відбувається синтез геміцелюлоз і пектинів?

18. Які основні шляхи утворення пентод у рослинах?

19. Охарактеризуйте леткі і нелеткі органічні кислоти, їх особливості, поширення й основні шляхи обміну.

20. Дайте загальну характеристику органічним кислотам аліфатичного ряду. Як їх класифікують?

21. Чому полісахариди досить зручні для відкладання прозапас і в той же час вони не можуть впливати на клітину ні осмотично, не хімічно?

22. Які компоненти пектинів є домінуючими? Яка їх будова?

23. Яка сполука є транспортною формою вуглеводів у рослин? Що є первинним джерелом її синтезу?

24. Які хімічні елементи входять до складу основної маси протоплазми?

25. Що складає основну масу живих клітин?

Контрольні завдання

1. Наведіть одержання незаміщених моносахаридів неповним окисленням глюциту (сорбіту).

2. Наведіть одержання простих моносахаридів гідроксинітрильним (ціаногідринним) синтезом Каліані-Фішера з Д-еритрози.

3. Шляхом гідролізу гідроксиннітрилу до відповідної гідроксикислоти отримайте δ-лактон, який дією амальгами натрію або каталітичного водню відновить до альдопентози.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

4. Дією нітрометану на альдозу з наступною обробкою спочатку лугом, а потім сульфатною кислотою отримайте нову альдозу з більшою кількістю атомів Карбону.

5. Дією гідроксиламіну на альдогексозу з наступною обробкою спочатку оцтовим ангідридом, а потім амоніаковим розчином оксиду аргентуму отримайте альдопентозу з меншою кількістю атомів Карбону.

6. Окислюванням Д-глюкози до кислоти з наступною обробкою спочатку кальція карбонатом, а потім сумішшю пероксиду гідрогену та солі феруму(III) отримайте Д-арабінозу.

7. Отримайте скорочену альдозу дією на альдозу алкілтіолом з наступним окисненням продукту пероксикислотою і розщепленням утвореного дисульфану у водному розчині амоніаку.

8. Отримайте уронову кислоту шляхом окиснення відповідного глікозиду розведеною HNO_3 або бромною водою з послідуючою обробкою утвореної кислоти концентрованою HNO_3, дегідратацією продукту і взаємодією його з амальгамою натрію.

9. Дією оцтовою кислотою в кислому середовищі на а-Д-глюкозу з послідуючим окисненням утвореної сполуки отримайте відповідний глюкуронід.

10. За яким зв'язком побудована молекула сахарози із залишків пентози і гексози? Приведіть відповідне рівняння, а також рівняння гідролізу сахарози.

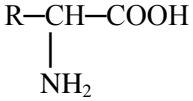
Національний університет
водного господарства
та природокористування

РОЗДІЛ 2
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА „ВИВЧЕННЯ ФІЗИКО-ХІМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ АМІНОКИСЛОТ І БІЛКІВ”

Мета роботи – засвоєння якісних кольорових реакцій на карбонові амінокислоти і білки і вивчення їх властивостей.

Амінокислоти

Амінокислотами називаються сполуки, які містять одночасно аміно- та карбоксильні групи. Загальна формула α-амінокислот має вигляд:



За хімічною природою залишку R амінокислоти поділяють на ациклічні (аліфатичні) та циклічні (ароматичні і гетероциклічні). Залежно від їхньої будови амінокислоти поділяють також на неполярні та полярні. Полярними амінокислотами бувають зарядженими позитивно (основними) або негативно (кислими), а також незарядженими (нейтральними).

У відповідності від кількості аміно- і карбоксильних груп у молекулі розрізняють моноаміномонокарбонові кислоти (аланін, гліцин), моноамінодикарбонові (аспарагінова, глуамінова кислоти), діаміномонокарбонові (аргінін, гістидин, лізин).

Усього нині відомо приблизно 1000 амінокислот, але до складу білків з них входять приблизно 20, які є білковими амінокислотами або протеїногенними (табл.3).

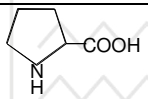
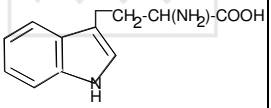
Таблиця 3

Амінокислоти

Формула	Тривіальні назви	Історичні назви	pH_i	Позначення
1	2	3	4	5
1. Неполярні (гідрофобні)				
CH_3-CH(NH_2)-COOH	α –Аміно-пропіонова	(+)-L-Аланін	6,02	Ала (Ala, A)

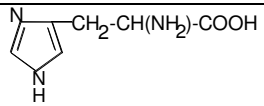
Національний університет
водного господарства
та природокористування

продовження табл. 3

1	2	3	4	5
$(CH_3)_2CH\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH$	α –Аміноізо-валеріанова	(+)-L-Валін	5,97	Вал (Val, V)
$(CH_3)_2CH\text{-}CH_2\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH$	α –Аміноізо-капронова	(+)-L-Лейцин	5,98	Лей (Leu, L)
$CH_3CH_2CH(CH_3)\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH$	α -Аміно-β-метилвалеріанова	(+)-L-Ізолейцин	6,02	Іле (Ile, I)
$CH_3\text{-}S\text{-}CH_2CH_2\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH$	-Аміно-γ-метил-тіобутиратна	(+)-L-Метіонін	5,75	Мет (Met, M)
$C_6H_5CH_2\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH$	α -Аміно-β-феніл-пропіонова	(-)-L-Феніл-аланін	5,98	Фен (Phe, F)
	Піролідин-α-карбонова	(-)-L-Пролін	6,10	Про (Pro, P)
	α -Аміно-β-індоліл-пропіонова	(±)-L-Триптофан	5,88	Трп (Trp, W)
2. Полярні (гідрофільні), заряджені				
$NH_2\text{-}CH_2\text{-}COOH$	Амінооцтова	Гліцин	5,97	Глі (Gly, G)
$HO\text{-}CH_2\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH$	α -Аміно-β-гідрокси-пропіонова	(+)-L-Серин	5,68	Сер (Ser, S)
$CH_3\text{-}CH(OH)\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH$	α -Аміно-β-гідрокси-бутиратна	(-)-L-Треонін	6,53	Тре (Thr, T)
$HS\text{-}CH_2\text{-}CH(NH_2)\text{-}COOH$	α -Аміно-β-меркапто-пропіонова	(±)-L-Цистеїн	5,02	Цис (Cys, C)

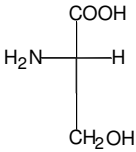
Національний університет водного господарства та природокористування

продовження табл. 3

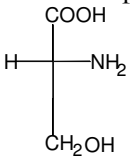
1	2	3	4	5
HO- -CH_2-CH(NH_2)-COOH	α -Аміно-β-(n-гідрок-дифеніл-пропіонова	(-)-L-Тирозин	5,65	Тир (Tyr, Y)
NH_2-CO-CH_2-CH(NH_2)-COOH	β-Амід-аспарагінової	(+)-L-Аспарагін	5,41	Асп (Asn, N)
NH_2-CO-$(CH_2)_2$-CH(NH_2)-COOH	γ-Амід-глутамінової	(+)-L-Глутамін	5,65	Глн (Gln, Q)
3. Полярні (кислі), негативно заряджені				
HOOC-CH_2-CH(NH_2)-COOH	Амінобур-штинова	(+)-L-Аспара-гінова	2,97	Асп (Asp, D)
HOOC-$(CH_2)_2$-CH(NH_2)-COOH	α-Аміно-глутарова	(+)-L-Глутамі-нова	3,22	Глу (Glu, E)
4. Полярні (основні), позитивно заряджені				
NH_2-$(CH_2)_3$-CH(NH_2)-COOH	α,δ-Діаміно-валеріанова	(+)-L-Орнітин	9,70	Орн (Orn)
NH_2-$(CH_2)_4$-CH(NH_2)-COOH	α,ε-Діаміно-капронова	(+)-L-Лізин	9,74	Ліз (Lys, K)
NH=C(NH_2)-NH-$(CH_2)_3$-CH(NH_2)-COOH	α-Аміно-δ-гуанідино-валеріанова	(+)-L-Аргінін	10,7	Арг (Arg, R)
	α-Аміно-β-імідазоліл-пропіонова	(+)-L-Гістидин	7,58	Гіс (His, H

Слід зазначити, що відомі також аміносульфонові (NH_2-CH_2-SO_2OH), амінофосфонові –NH_2-CH_2-P(O)$(OH)_2$ та інші кислоти, які містять у своїй структурі NH_2-групу.

На просторову будову білків з певною біологічною активністю визначально впливає стерична будова амінокислот. Практично усі природні протеїногенні α-амінокислоти містять хіральний атом Карбону і належать до сполук L-ряду S- і R-конфігурацій:

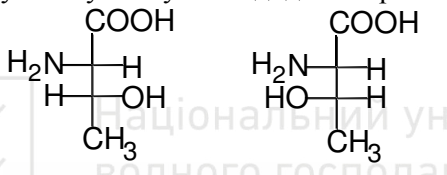


L-Серин
S-конфігурація

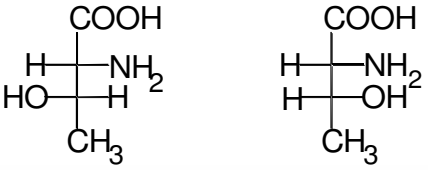


D-Серин
R-конфігурація

Відомі α-амінокислоти з двома хіральними центрами, які теоретично можуть існувати у вигляді двох пар енантіомерів:



Діастереоізомери



Діастереоізомери

Білки

Поширення амінокислот у білках неоднакове, що можна бачити з наведеного амінокислотного складу деяких білків (табл.4).

Цікаво, що вищі рослини здатні синтезувати практично всі амінокислоти, необхідні для життєдіяльності, у той час як мікроорганізми до цього здатні меншою мірою.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Таблиця 4

Амінокислотний склад деяких білків, %

Назва	Сальмін	Казеїн	Альбумін (сироватка людини)	γ – Глобулін людини	Інсулін	Колаген
Аланін	1,1	3,2	-	-	4,5	9,5
Гліцин	2,9	2,0	1,6	4,2	4,3	27,2
Валін	3,1	7,2	7,7	9,7	7,7	3,4
Лейцин	-	9,2	11,0	9,3	13,2	5,6
Ізолейцин	1,6	6,1	1,7	2,7	2,8	
Пролін	5,8	10,6	5,1	8,1	2,5	15,1
Фенілаланін	-	5,0	7,8	4,6	8,8	2,5
Тирозин	-	6,3	4,7	6,8	13,0	1,0
Триптофан	-	1,2	0,2	2,9	-	-
Серин	9,1	6,3	3,3	11,4	5,2	3,4
Треонін	-	4,9	4,6	8,4	2,1	2,3
Метіонін	-	2,8	1,3	1,1	-	0,8
Аргінін	85,2	4,1	6,2	4,8	3,1	8,6
Гістидин	-	3,1	3,5	2,5	4,9	0,7
Лізин	-	8,2	12,3	8,1	2,5	4,5
Аспарагінова кислота	-	7,1	9,0	8,8	6,8	6,3
Глютамінова кислота	-	22,4	17,0	11,8	18,6	11,3
Цистеїн + цистин	-	0,3	6,3	3,1	12,5	-

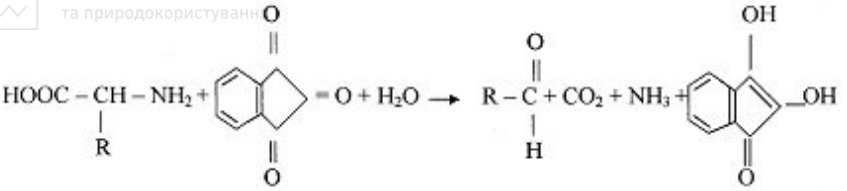
Експериментальна частина

1.1. Нінгідринова реакція

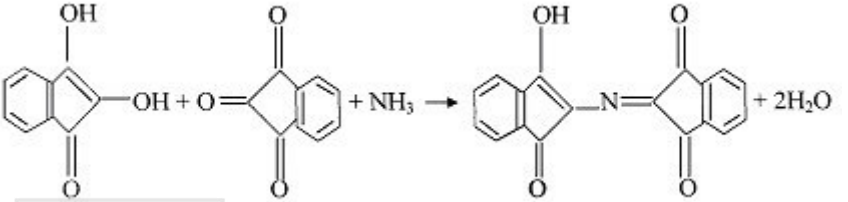
Принцип реакції: в результаті взаємодії α-амінокислот з нінгідрином утворюється забарвлена комплексна сполука.

При нагріванні (до температури 70^0C) α-амінокислоти окиснюються нінгідрином і піддаються окиснювальному дезамінуванню з утворенням амоніаку і декарбоксилюванню з утворенням альдегіду і CO_2, а нінгідрин відновлюється:

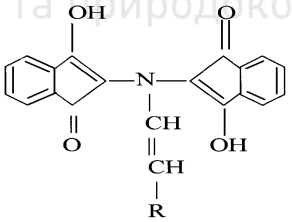
Національний університет
водного господарства
та природокористування



Відновлений ангідрин, конденсуючись з амоніаком і окисненим нінгідрином, утворює сполучення, яке, йонізуючись переходить в зафарбовану форму, яка має синьо-фіолетовий колір:



При наявності органічних розчинів, на яких готують розчин нінгідрину (ацетон, етанол), можливе протікання побічної реакції з утворенням сполучення, що містить у своєму складі радикал амінокислоти.



Наявність радикалу амінокислоти у складі цього сполучення обумовлює різке забарвлення (червоне, жовте, голубе) сполучень, що виникають при реакції амінокислот з нінгідрином.

Реакція з нінгідрином є специфічною для амінокислот, що містять α-аміногрупу, і характерна як для деяких карбонових, так і циклічних амінокислот. В реакції гліцину з нінгідрином утворюється комплексна сполука, що має синьо-фіолетове забарвлення.

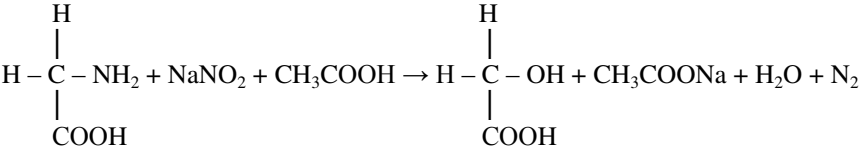
Матеріали і реактиви: водний 1%-ний розчин гліцину, 0,1%-ний розчин нінгідрину в 95%-ному розчині ацетону.

Обладнання: скляні палички, пробірки, крапельниці, водяна баня, термометр лабораторний, годинник, штатив для пробірок.

Хід роботи: в пробірку вносять 5 крапель розчину гліцину і 2 краплі розчину нінгідрину вміст пробірок ретельно перемішують і нагрівають на водяній бані при температурі 70^0С на протязі 5 хвилин. В пробірці з'являється синьо–фіолетове забарвлення.

1.2. Реакція з нітритною кислотою

Принцип реакції: в результаті взаємодії α – амінокислоти з нітратною кислотою, утвореною в реакції нітриту натрію з оцтовою кислотою, відбувається утворення газоподібного азоту. Для гліцину ця реакція має вигляд:



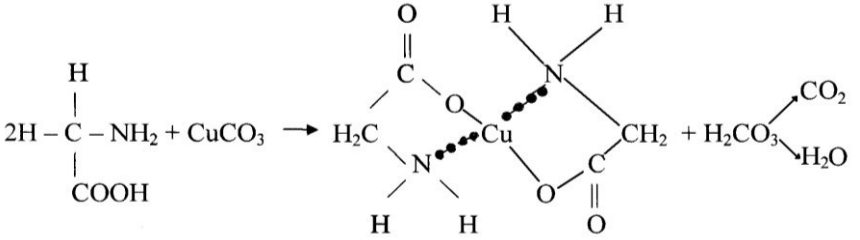
Матеріали і реактиви: водний 1%-ний розчин гліцину, 5%- ний розчин нітриту натрію($NaNO_2$), концентрована азотна кислота.

Обладнання: пробірки, крапельниці, штатив для пробірок.

Хід роботи: в пробірку вносять 5 крапель розчину гліцину, 5 крапель нітриту натрію, 2 краплі концентрованої азотної кислоти і обережно збовтують суміш. Спостерігається виділення газу.

1.3. Утворення комплексної солі купруму(II)

Принцип реакції: при нагріванні амінокислоти з карбонатом купруму(II) утворюється комплексне сполучення купруму, що має синє забарвлення. У випадку використання гліцину реакція має вигляд:



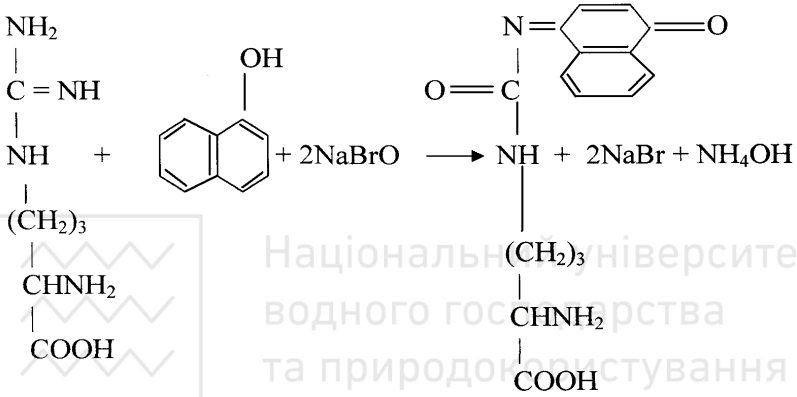
Матеріали і реактиви: водний 1%-ний розчин гліцину, сухий карбонат купруму(II) ($CuCO_3$).

Обладнання: пробірки, штатив для пробірок, тримач пробірок, пальник.

Хід роботи: в пробірку вносять 1 мл розчину гліцину, а на кінчику лопатки - сухий карбонат купруму(II). Суміш нагрівають на полум'ї пальника до кипіння. Розчин забарвлюється в синій колір.

1.4. Реакція амінокислот на аргінін

Принцип реакції: в реакції аргініну, що містить гуанідинову групіровку, з гіпобромітом натрію відбувається утворення окисненої форми аргініну, яка при взаємодії з α-нафтолом утворює сполучення червоного кольору.



Матеріали і реактиви: водний 0,01%-ний розчин аргініну, 10%-ний розчин гідроксиду натрію, 0,1%-ний спиртовий розчин α-нафтолу, 2%-ний розчин гіпоброміту натрію, 40%-ний розчин сечовини.

Обладнання : скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, крапельниці, штатив для пробірок.

Хід роботи: в пробірку вносять 2 мл розчину аргініну, 2 мл розчину гідроксиду натрію і 3 краплі спиртового розчину α-нафтолу. Вміст пробірки добре перемішують і додають 3 краплі розчину гіпоброміту натрію. Для стабілізації швидко розвиваючого червоного забарвлення негайно приливають 1 мл розчину сечовини.

1. 5. Реакція Фоля на слабкозв'язний сульфур цистеїну і цистину

Принцип реакції: при кип'ятінні цистеїну і цистину в лужному середовищі від них легко відщеплюється Сульфур у вигляді гідрогенсульфуру, який в лужному середовищі утворює сульфід натрію. Для цистеїну ця реакція має вигляд:

Національний університет водного господарства та природокористування

Утворення сульфіду натрію можна виявити за допомогою йонів вільних металів, наприклад, йонів плюмбуму, утворюючи з йонами сульфуру нерозчинний сульфат ацетат плюмбуму, який при взаємодії з гідроксидом натрію утворює плюмбіт натрію. В свою чергу плюмбіт натрію, реагуючи з сульфітом натрію, призводить до утворення сульфіду плюмбуму.

$$Pb(CH_3COO)_2 + 2NaOH \rightarrow Pb(ONa)_2 + 2CH_3COOH$$

$$Na_2S + Pb(ONa)_2 + H_2O \rightarrow PbS\downarrow + 4NaOH$$

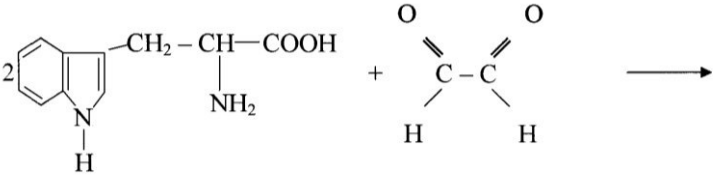
Матеріали і реактиви: водний 0,01%-ний розчин цистеїну, реактив Фоля (до 10%-ного розчину ацетату пломбу $Pb(CH_3COO)_2$ додають 10%-ний розчин гідроксиду натрію до розчинення утвореного осаду), концентрований розчин гідроксиду натрію.

Обладнання: скляні палички, штатив для пробірок, піпетки, водяна баня, годинник.

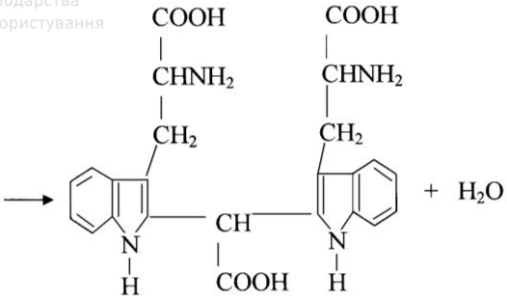
Хід роботи: в пробірку вносять 1 мл розчину цистеїну, 2 мл концентрованого розчину гідроксиду натрію і 1 мл реактиву Фоля. Суміш ретельно перемішують і кип'ятять на водяній бані 2 хвилини. Через 3-5 хвилин випадає бурий чи чорний осад сульфіду плюмбуму.

1.6. Реакція Адамкевича на триптофан

Принцип реакції: триптофан в кислому середовищі вступає в реакцію з гліоксиловою кислотою (альдегідами), утворюючи при цьому забарвлений в червоно-фіолетовий колір продукти конденсації:



Національний університет
водного господарства
та природокористування



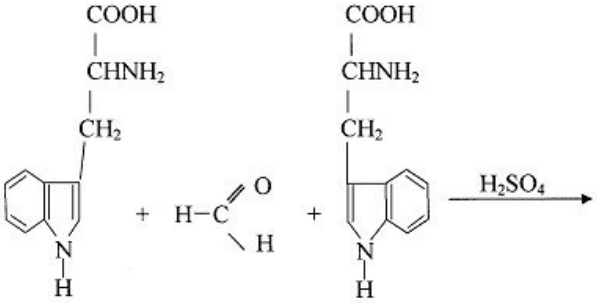
Матеріали і реактиви: водний 0,01%-ний розчин триптофану, льодяна оцтова концентрована кислота, концентрована сірчана кислота.

Обладнання: пробірки, піпетки градуйовані, штатив для пробірок, водяна баня, годинник.

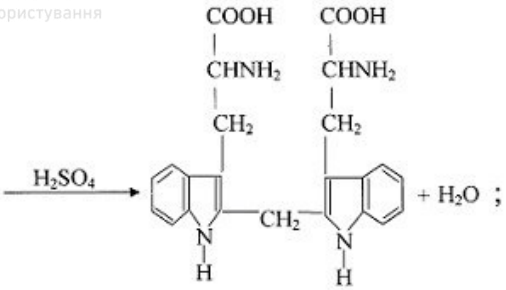
Хід роботи: до 0,5 мл розчину триптофану додають 0,5 мл льодяної оцтової кислоти, яка завжди, містить певну кількість гліоксилової кислоти. Отриману суміш спочатку нагрівають, а потім охолоджують і по стінці пробірки обережно по краплях, щоб рідина не змішувалася, додають 1 мл концентрованої сірчаної кислоти. Через 10 хвилин на границі поділу двох шарів спостерігається утворення червоно-фіолетового кільця. Реакцію можна пришвидшити, помістивши пробірку з реагуючою сумішшю в киплячу водяну баню.

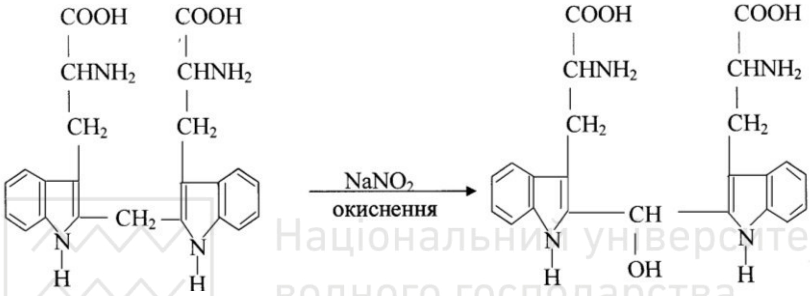
1.7. Реакція Вуазене на триптофан

Принцип методу: триптофан, конденсуючись з формальдегідом, утворює забарвлений продукт конденсації біс-2-триптофанілметан, який окиснюється до біс-2-триптофанілкарбинолу.



Національний університет
водного господарства
та природокористування





У присутності мінеральних кислот біс-2-триптофенолкарбинол утворює солі забарвлені в синьо-фіолетовий колір.

Матеріали і реактиви: водний 0,01%-ний розчин триптофану, водний 2,5%-ний розчин формальдегіду, концентрована сірчана кислота, 0,5%-ний розчин нітриту натрію.

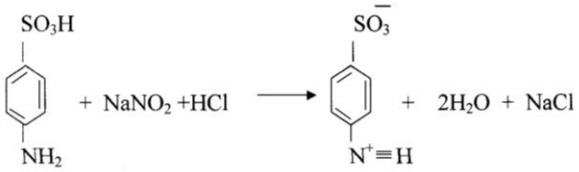
Обладнання: скляні палички, пробірки, піпетки, крапельниці, штатив для пробірок, ванночка з льодом, годинник.

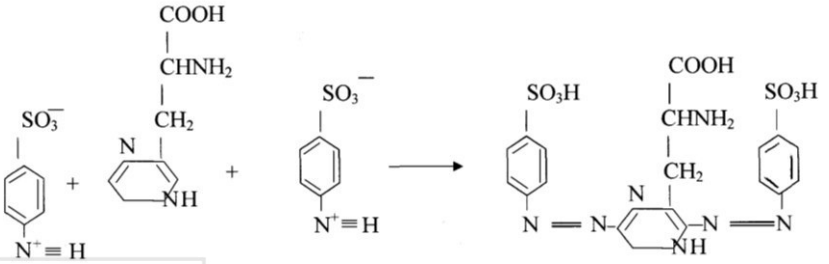
Хід роботи: до 2 мл розчину триптофану додати 1 краплю розчину формальдегіду, суміш перемішують і додають порціями по декілька крапель 6 мл концентрованої сірчаної кислоти, охолоджують пробірку у ванночці з льодом. Суміш знову перемішують і дають відстоятися 10 хвилин. В подальшому при перемішуванні в пробірку вносять 10 крапель розчину нітриту натрію. Виникає інтенсивне синьо-фіолетове забарвлення.

1.8. Реакція Паулі на гістидин та тирозин

Принцип методу: при взаємодії сульфонової кислоти в кислому середовищі з нітритом натрію відбувається реакція діазотування з утворенням диазобензенсульфонової кислоти, яка в реакції з

гістидином (чи тирозином) утворює комплексну сполуку вишнево - червоного кольору:





Матеріали і реактиви: водний 0,01%-ний розчин гістидину, 1%-ний розчин сульфонової кислоти в 5%-ому розчині хлоридної кислоти, 0,5%-ний розчин нітриту натрію, 10%-ний розчин карбонату натрію.

Обладнання: скляні палички, пробірки, піпетки, крапельниці, штатив для пробірок, ванночка з льодом, годинник.

Хід роботи: до 1 мл розчину сульфонової кислоти додають 2 мл розчину нітриту натрію. Після перемішування в суміш негайно вливають 2 мл розчину гістидину і після ретельного перемішування додають ще 6 мл розчину карбонату натрію. Після перемішування розчин забарвлюється в вишнево-червоний колір.

1. 9. Виділення і визначення вмісту складних білків

Принцип методу: глюкопротеїди містять в якості простетичної групи вуглеводний компонент. Реакції визначення глюкопротеїдів засновані на визначенні їх вуглеводневого компоненту, які здатні утворювати забарвлені продукти конденсації. Одним із глюкопротеїдів є овомукоїд, що входить в склад яєчного білку. Вуглеводневий компонент цього білка можна виявити по кольоровій реакції при нагріванні вареного яєчного білка з концентрованою хлоридною кислотою - виникає фіолетове забарвлення. Другим

Національний університет водного господарства та природокористування

методом виявлення вуглеводневого компоненту глюкопротеїдів є реакція Подобєдова. Фурфурол, що утворився при взаємодії концентрованої сірчаної кислоти з вуглеводом білка, в реакції з α-нафтолом дає сполучення синього кольору, з тимолом - червоного.

Матеріали і реактиви: варений яєчний білок (100 мл), 1%-ний розчин яєчного білка, 1%-ний спиртовий розчин тимолу, концентрована соляна кислота, концентрована сірчана кислота, 0,1%-ний розчин α-нафтолу.

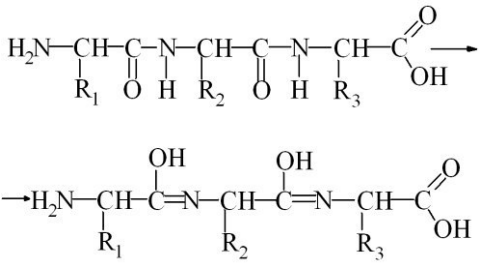
Обладнання: скляні палички, пробірки, піпетки, крапельниці, штатив для пробірок, годинник.

Хід роботи: в пробірку вносять шматок вареного яєчного білка і 3 мл концентрованої соляної кислоти. Вміст пробірки обережно нагрівають в полум'ї пальника не доводячи до кипіння. Білок, а потім рідина набувають фіолетового забарвлення. В дві пробірки вносять по 1 мл 1%-ного розчину яєчного білка. Потім в першу додають 2-3 краплі 0,1%-ного розчину α-нафтолу, в другу - стільки же 1%-ного розчину тимолу. Вміст пробірок ретельно перемішують, обережно по стінкам доливають по 0,5 мл концентрованої сірчаної кислоти і дають постояти. На границі поділу двох рідин в пробірці з α-нафтолом спостерігається фіолетове, а в пробірці з тимолом - червоне кільця.

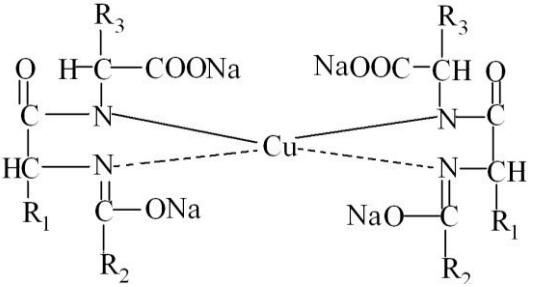
1.10. Біуретова реакція на виявлення пептидних зв'язків в білках

Принцип реакції: білки (поліпептиди) в лужному розчині у присутності купрум(II) сульфату утворюють комплексні сполуки купруму, що мають синьо-фіолетове забарвлення, інтенсивність якого залежить від кількості пептидних зв'язків в молекулі білка.

Спочатку пептидні групи поліпептиду зазначають в лужному середовищі енолізацію:



Фенольна форма поліпептиду взаємодіє з гідроксидом купруму(II) утворюючі забарвлений у синьо-фіолетовий колір комплекс:



Продукти неповного гідролізу білку (пептиди) дають червоне або рожеве забарвлення у біуретовій реакції.

Матеріали і реактиви: розбавлений 1%-ний розчин яєчного білка, 10%-ний розчин гідроксиду натрію, 1%-ний розчин сульфату купруму(II).

Обладнання: скляні палички, штатив з пробірками, піпетки, крапельниця.

Хід роботи: до 3 мл розчину яєчного білка додають 1 мл розчину гідроксиду натрію, 1-2 краплі розчину сульфату купруму і перемішують. Вміст пробірки набуває червоно-фіолетового забарвлення.

Запитання для самоконтролю

1. Які функції виконують білки в рослинному організмі? Яким є їхній вміст?
2. Порівняйте амінокислоти рослинних і тваринних організмів. Чим відрізняються протеїногенні від непротеїногенних амінокислот? Як їх класифікують? Наведіть приклади.
3. Що вам відомо про пептидні рослини?
4. На чому грутується класифікація білків? Розкажіть про основні групи простих та складних рослинних білків.
5. Що ви знаєте про амінокислотний склад рослинних білків? Що таке повноцінні та неповноцінні білки?
6. В чому полягає проблема харчового білка? Які шляхи її вирішення?
7. Які особливості азотного обміну у рослин?

Національний університет водного господарства та природокористування

8. Розкажіть про загальні шляхи утворення амінокислот у рослинах. Як утворюються амінокислоти у процесі фотосинтезу?

9. Які механізми знешкодження амоніаку існують у рослин? Розкажіть про утворення і роль амідів у них.

10. Назвіть шляхи розпаду амінокислот у рослинах. Які відмінності у механізмах дезамінування амінокислот мають рослини в порівнянні з тваринами? Розкажіть про декарбоксилування амінокислот у рослин і шляхи перетворення амінів.

11. Що вам відомо про метилування амінокислот?

12. Визначте роль амінокислот у метаболізмі рослин.

13. На які підгрупи поділяються геміцелюлози залежно від вмісту в їх складі певних моносахаридів?

14. В яких процесах, що відбуваються в рослинах, вуглеводи беруть безпосередньо участь?

15. З яких компонентів складається молекула залози? При яких умовах рослинний організм часто продукує калозу?

Національний університет водного господарства та природокористування

Контрольні завдання

Амінокислоти

1. Приведіть рівняння реакції ацилювання амінокислоти оцтовим ангідридом.

2. Які сполуки утворюються при дезамінуванні (дії нітратної кислоти) амінокислоти? Приведіть відповідне рівняння.

3. Приведіть рівняння реакцій утворення з а-амінокислот дикетопіперозинів і діамінів.

4. Покажіть схему перетворення γ - і δ – амінокислот в лактами (внутрішні аміди).

5. Наведіть схему утворення комплексної сполуки амінокислоти з d-металом (на прикладі Cu^{2+}).

6. Які сполуки утворюються при декарбоксилуванні солей амінокислот. Приведіть відповідне рівняння.

7. Приведіть схему ціангідридного синтезу а-амінокислоти при взаємодії альдегіду із сумішшю калію ціаніду та амоніаку хлориду з послідуючим амонолізом утвореної сполуки і подальшим гідролізом.

Національний університет водного господарства та природокористування

8. За якою схемою відбувається під дією певних ензимів окиснювальне дезамінування амінокислот?

9. Наведіть схему перетворення β – амінокислоти в ненасичену кислоту.

10. Утворення естерів відбувається при взаємодії амінокислот із спиртами у присутності хлоридгідрогену і подальшому додаванні натрію гідргенкарбонату. Приведіть відповідні рівняння реакцій.

Білки

1. Яким чином можна здійснити розщеплення білкової молекули (первинної структури) на менші поліпептиди?

2. У чому полягає ксантопротеїнова реакція на амінокислоти, які містять бензенове ядро? Відповідь обґрунтуйте відповідними реакціями.

3. Яку реакцію застосовують для визначення пептичного зв'язку в білках? Приведіть рівняння реакції.

4. Наведіть схему ідентифікації N-кінцевих амінокислот за Ф.Сенгером.

5. У чому полягає реакція Мілона при виявленні фенольного гідроксилу тирозину? Відповідь обгрунтуйте відповідними реакціями.

6. Приведіть схему ідентифікації С-кінцевих амінокислот за С.Акаборі.

7. За якими реакціями визначають а-кінцеві аміногрупи та послідовність амінокислот у поліпептидного ланцюгу (за Едманом)?

8. Наведіть утворення арильованого дипептиду при дії бензилхлориду на сіль аргентуму гліцину (за Фішером).

9. В чому полягає метод синтезу пептидів за Т.Курціусом? Приведіть відповідні реакції.

10. Який механізм синтезу дипептиду заключений у хлорангідрідному методі Е.Фішера? Приведіть відповідні реакції.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

РОЗДІЛ 3
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА „ЛІПІДИ”

Мета роботи – вивчити різноманітні властивості групи природних сполук – ліпідів, що характеризуються різною розчинністю в органічних розчинниках і, як правило, нерозчинних у воді.

Ліпіди

Це жироподібні речовини, які входять до складу всіх живих клітин.

Ліпіди відіграють значну роль у життєдіяльності всіх живих організмів (бактерій, рослин, тварин, тощо). Разом з білками вони становлять основу структури клітинних і тканинних мембран живих організмів.

Залежно від хімічного складу ліпіди поділяють на декілька груп (схема 1).

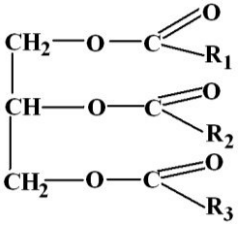
Зазначимо, що єдиної системи класифікації ліпідних сполук на сьогодні практично немає, тому це питання залишається дискусійним.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

До основних простих ліпідів відносяться такі природні сполуки як жири, воски, гліцерили, карбонові кислоти і вищі спирти.

Жири

Жири – це естери, молекули яких складаються з трьох жирнокислих залишків, сполучених із молекулою гліцерилу (гліцерину):



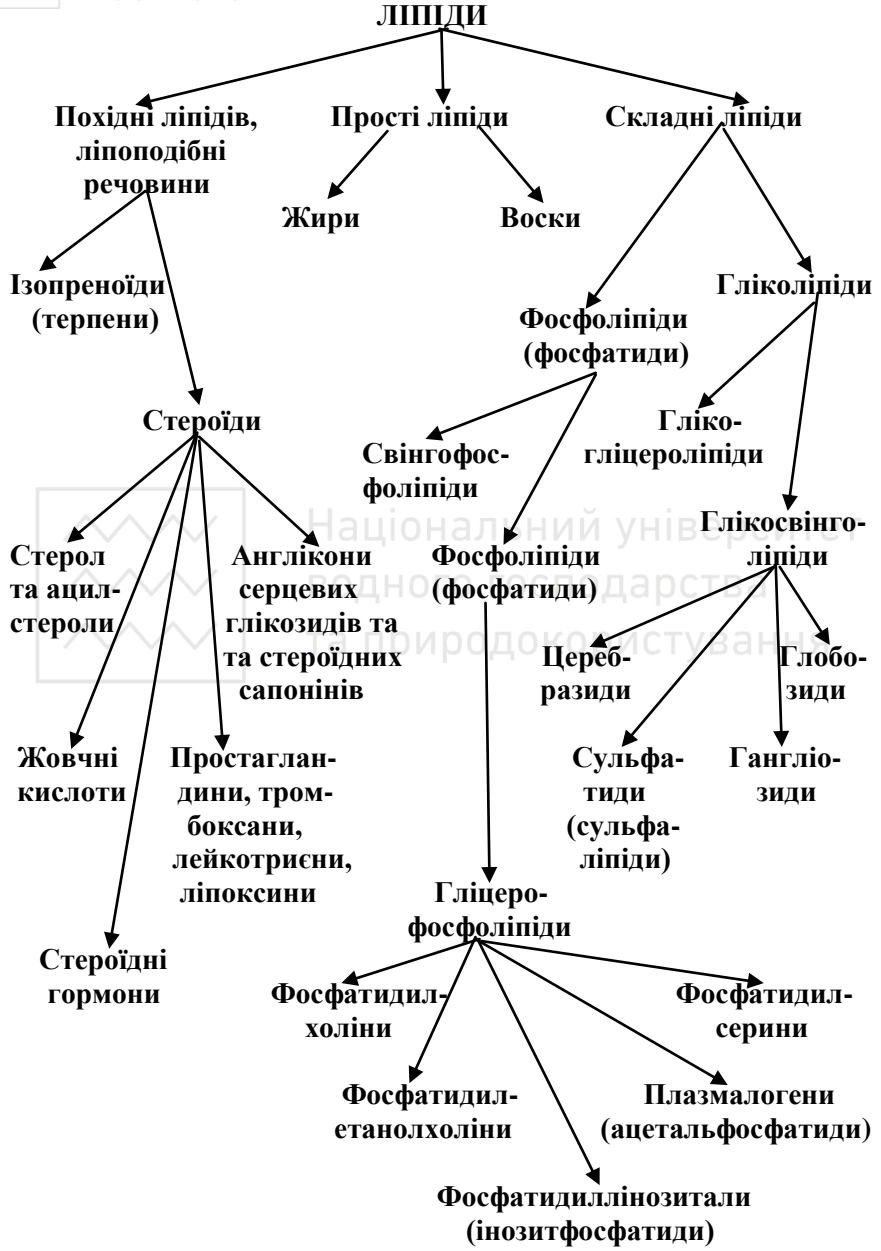
де R_1, R_2 та R_3 – радикали жирних карбонових кислот.

В природі відомо понад 500 насичених і ненасичених вищих карбонових кислот. Найпоширеніші з них приведені в табл.5.

Серед насичених кислот заслуговують увагу кислоти C_4-C_{10}, які містяться у ліпідах молока, C_8-C_{14} – у олії з насіння рослин, C_{16}-C_{18} – у більшості рослин олій і тваринних жирів.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Схема 1



Національний університет
водного господарства
та природокористування

Таблиця 5

Найпоширеніші вищі карбонові кислоти

№ з.п.	Формула	Номенклатура	
		IUPAC	Тривіальна
1	2	3	4
Вищі насичені карбонові кислоти			
I	$Сн_3(CH_2)_2COOH(C_4)$	Бутанова	Бутиратна (масляна)
II	$CH_3(CH_2)_4COOH(C_6)$	Гексанова	Капронова
III	$CH_3(CH_2)_6COOH(C_8)$	Октанова	Каприлова
IV	$CH_3(CH_2)_8COOH(C_{10})$	Деканова	Капринова
V	$CH_3(CH_2)_{10}COOH(C_{12})$	Додеканова	Лауринова
VI	$CH_3(CH_2)_{12}COOH(C_{14})$	Тетрадеканова	Міристинова
VII	$CH_3(CH_2)_{11}CH(OH)COOH(C_{14})$	2-Гідрокси-тетрадеканова	Церебронова (α-гідроксиліг-ноцеринова)
VIII	$CH_3(CH_2)_{14}COOH(C_{16})$	Гексадеканова	Пальміти-нова
IX	$CH_3(CH_2)_{15}COOH(C_{17})$	Гептадеканова	Маргари-нова
X	$CH_3(CH_2)_{16}COOH(C_{18})$	Октадеканова	Стеаринова
XI	$CH_3(CH_2)_7$-$CH(CH_3)$-$(CH_2)_8COOH(C_{18})$	(R)-(-)-10-Метилокта-деканова (D-ізомер)	Турберкуло-стеаринова
XII	$CH_3(CH_2)_5$-CH-CH- \ / CH_2 $(CH_2)_9COOH(C_{18})$	*цис*-11,12-Метилено-ктадеканова	Лактоза-цилова
XIII	$CH_3(CH_2)_{18}COOH(C_{20})$	Ейкозанова	Арахінова
XIV	$CH_3(CH_2)_{20}COOH(C_{22})$	Докозанова	Бегенова
XV	$CH_3(CH_2)_{22}COOH(C_{24})$	Тетракозанова	Лігноце-ринова
XVI	$CH_3(CH_2)_{24}COOH(C_{26})$	Гексакозанова	Церотинова
XVII	$CH_3(CH_2)_{26}COOH(C_{28})$	Октакозанова	Монтанова
XVIII	$CH_3(CH_2)_{28}COOH(C_{30})$	Триаконтанова	Мелісинова

Національний університет
водного господарства
та природокористування

продовження табл. 5

1	2	3	4
Вищі ненасичені карбонові кислоти			
XIX	$CH_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_7COOH(C_{16})$	*цис*-9-Гекса-деценова	Пальміто-леїнова
XX	$-(CH_2)_{12}COOH(C_{18})$	13-(3-Цикло-пентеніл)-тридеканова	Хаульму-грова
XXI	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH(C_{18})$	*цис*-9-Окта-деценова	Олеїнова
XXII	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH(C_{18})$	*транс*-9-Окта-деценова	Елаїдинова
XXIII	$CH_3(CH_2)_5$-CH(OH)-CH_2-CH = $=CH(CH_2)_7COOH(C_{18})$	12-Гідрокси-*цис*-9-окта-деценова	Рицинолева
XXIV	$CH_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_9COOH(C_{18})$	*цис*-11-Окта-деценова	*цис*-Вакце-нова
XXV	$CH_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_9COOH(C_{18})$	*транс*-11-Октадеценова	*транс*-Вакценова
XXVI	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_{11}COOH(C_{22})$	*цис*-13-Докозенова	Ерукова
XXVII	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_{13}COOH(C_{24})$	*цис*-15-Тетра-козенова	Нервонова
XXVIII	$CH_3(CH_2)_4CH=CH-CH_2-CH = = (CH_2)_7-COOH(C_{18})$	*цис*- *цис*-9,12-Октадека-дієнова	Лінолева
XXIX	$C_2H_5CH=CH-CH_2-CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_7-COOH(C_{18})$	*цис*- *цис*- *цис*-9,12,15-Октаде-катриснова	α-Ліно-ленова
XXX	$CH_3(CH_2)_3CH=CH-CH=CH-CH=CH-(CH_2)_7-COOH(C_{18})$	*цис*- *транс*- *транс*-9,11,13-Октадеат-рієнова	α-Елеостеа-ринова
XXXI	$CH_3(CH_2)_4CH=CH-CH_2-H=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_6COOH(C_{20})$	*цис*- *цис*- *цис*-8,11,14-Ейкозатріє-нова	Дигомо-γ-ліноленова
XXXII	$CH_3(CH_2)_4$-CH= $(CH-CH_2)_4$-$(CH_2)_2COOH(C_{20})$	*цис*- *цис*- *цис*- *цис*-5,8,11,14-Ейкозате-траєнова	Арахідонова

Національний університет
водного господарства
та природокористування

продовження табл. 5

1	2	3	4
XXXIII	$C_2H_5CH=CH(CH_2)_2CH=CH-CH_2-CH=CH-(CH_2)_2CH=CH(CH_2)_2-CH=CH-(CH_2)_2-COOH(C_{22})$	4,8,12,15,19-Докозапентаєнова	Клупанодонова

Такі насичені кислоти як олеїнова, лінолева, ліноленова, арахідонова та ін. входять до складу багатьох рослинних олій. Слід зазначити, що лінолева, ліноленова та арахідонова кислоти є незамінними карбоновими кислотами, які беруть участь у формуванні мембран, синтезі простагландинів і тромбоксанів. Вони в організмі людини і тварин не синтезуються, а тому їх розглядають як вітаміни F.

Жири є запасними речовинами і в значних кількостях синтезуються і накопичуються в насінні та плодах багатьох рослин. Приблизний вміст жиру (%) в так званих олійних культурах, такий:

Злакові - 2	Бавовник -28	Соняшник - 38
Горох, квасоля - 2	Льон -29	Арахіс - 45
Кукурудза - 5	Коноплі - 30	Мак - 45
Соя - 20	Гірчиця - 29-36	Рицина -60

Вміст ліпідів у деяких м'ясних продуктах наведено у табл.6.

Таблиця 6

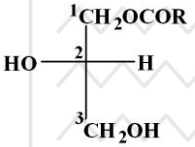
Вміст ліпідів у м’ясних продуктах (%)

Складові	Яловичина		Баранина		Свинина	
	I категорія	II категорія	I категорія	II категорія	I категорія	II категорія
1	2	3	4	5	6	7
Сума ліпідів	16,00	9,80	16,30	9,60	27,80	33,30
Триацилгліцероли	14,88	8,72	15,30	8,60	26,90	32,00
Фосфоліпіди	0,90	0,85	0,88	0,87	0,80	0,84
Холестерол	0,08	0,07	0,07	0,07	0,06	0,07
Сума жирних кислот (ВКК):	15,10	9,09	15,31	8,98	26,41	30,74

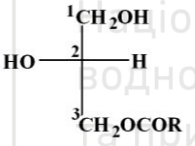
Національний університет водного господарства та природокористування

1	2	3	4	5	6	7
Насичені C_{14}-C_{18}	7,12	4,30	7,95	4,69	10,13	11,78
Мононе-насичені C_{14}-C_{18}	7,42	4,41	6,48	3,73	12,77	14,86
Поліне-насичені C_{18}-C_{20}	0,56	0,36	0,486	0,317	3,11	3,64

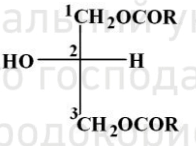
Якщо естери гліцерилу і вищих карбонових кислот мають три однакових залишки насичених або ненасичених кислот вони називаються простими, а якщо різні – змішаними. Гліцерил та його похідні позначають у проекціях Фішера завжди з розташуванням вторинного гідроксилу чи його похідної при C_2 зліва:



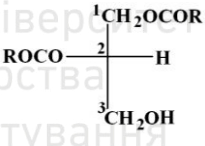
1-О-ацил-*sn*-гліцерол (I)



3-О-ацил-*sn*-гліцерол (II)



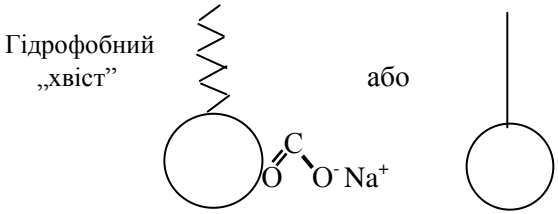
1,3-ди-О-ацил-*sn*-гліцерол (III)



1,2-ди-О-ацил-*sn*-гліцерол (IV)

Загалом природні жири являють собою складні суміші. Наприклад, вершкове масло містить такі кислоти, як олеїнову (до 55%), лінолеву (до 10%), пальмітолеїнову (до 5%), пальмітинову та інші насичені кислоти (до 30%). Крім того в ньому також містяться білки, мальтози, вода, зольні речовини.

а)



Полярна „головка”

Національний університет
водного господарства
та природокористування

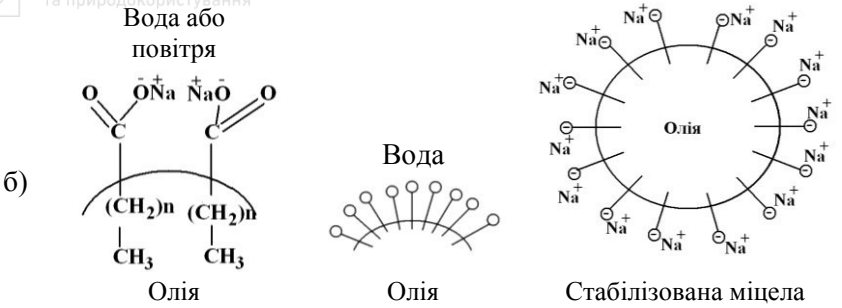


Рис.1. Будова дифільної молекули мила (а)
та її колоїдні особливості (б)

Під час гідролізу жирів у лужному середовищі утворюються жирні кислоти і солі лужних металів, які називають милами. Мила представляють собою дифільні молекули поверхнево-активної речовини, будова яких представлена на рис.1а. Вони здатні зменшувати поверхневий натяг води на межі поділу фаз, а також збільшувати змочування твердої поверхні.

Дифільна молекула складається з двох частин: неполярні (вуглеводневий радикал – гідрофобний „хвіст") та полярної (функціональна група – полярна „головка"). Вуглеводнева частина молекули гідрофобна (відштовхує воду), а полярна група, яка має значний дипольний момент, інтенсивно взаємодіє з водою (вона гідрофільна, тобто притягує воду. Внаслідок цього формуються відповідні агрегати їхніх молекул у вигляді міцел, в яких полярні „головки" розчинені у воді, а гідрофобні „хвости" розчинені в олії або агреговані з гідрофобними „хвостами" інших молекул.

Для характеристики жирів чи олій використовують умовні одиниці (константи): йодне, кислотне, естерне число та число омилення.

Йодне число – кількість грамів йоду, що приєднується до 100 г олії. Воно характеризує ступінь насиченості кислот, які входять до складу олії. Йодне число найчастіше використовують для аналізу висихаючих олій.

Кислотне число – кількість міліграмів КОН, що витрачається при нейтралізації 1 г жиру. Кислотне число кількісно оцінює наявність вільних карбонових кислот у жирі (олії).

Національний університет водного господарства та природокористування

Число омилення – кількість міліграмів КОН, витрачених на нейтралізацію карбонових кислот (вільних і добутих при гідролізі з естерів гліцерилу, які містяться в 1 г жиру (олії).

Для визначення кількості кислот, які містяться у вигляді естеру гліцерилу, в 1 г жиру існує естерове число. Його знаходять за різницею між числом омилення та кислотним числом.

Воски

Восками називають жироподібні аморфні речовини з температурою топлення 36-90^{0}С. За хімічною природою це естери вищих карбонових кислот і вищих насичених і ненасичених первинних спиртів. Останні здебільшого мають парну кількість атомів карбону (табл.7). Крім згаданих естерів, у воску містяться вільні вищі карбонові кислоти і вищі спирти, алкани, та інші домішки. Внаслідок цього воски подібні за хімічними властивостями до жирів, але гідролізуються тільки в лужних середовищах.

Природні воски поділяють на тваринні і рослинні. До тваринних восків належать бджолиний, ланолін, спермацет, а до рослинних – лляний, карнаубський.

Національний університет водного господарства та природокористування

Таблиця 7

Вищі спирти

№	Формула	Номенклатура	
		IUPAC	Тривіальна
Насичені			
CI	$C_{12}H_{25}OH$	Додеканол	Лауриловий
CII	$C_{12}H_{29}OH$	Тетрадеканол	Міристиновий
CIII	$C_{16}H_{33}OH$	Гексадеканол	Цетиловий
CIV	$C_{26}H_{53}OH$	Гексакозанол	Цериловий
CV	$C_{28}H_{57}OH$	Октакозанол	Монтановий
CVI	$C_{30}H_{61}OH$	Триаконтанол	Триаконтиловий
CVII	$C_{31}H_{63}OH$	Гентриаконтанол	Мірициловий
Ненасичені			
CVIII	$C_{12}H_{23}OH$	Додеценол	Ланоліновий
CIX	$C_{18}H_{35}OH$	*цис*-8-Окта-деценол	Олеїновий

Національний університет водного господарства та природокористування

Рослинні воски служать захистом поверхні листя, плодів, стеблин від випаровування вологи, а також від дії шкідливих мікроорганізмів.

Тваринні воски виконують функції захисту тіла тварин від дії вологи. Температури топлення восків складає: бджолиного – 62-70, ланоліну – 36-42, спермацету – 45-54, карнаубського – 83-91, лляного – 61-70 (^{0}C).

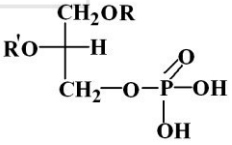
Крім тваринних і рослинних восків, відомі також монтановий (буровугільний) і гірський (озокерит) воски.

Складні ліпіди

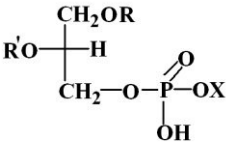
До них належать естери вищих насичених і ненасичених карбонових кислот і спиртів, що містять у своїх молекулах фрагменти фосфатної кислоти, нітрогенвмісних сполук, вуглеводів тощо. Складні ліпіди поділяють на фосфоліпіди і гліколіпіди.

Фосфоліпіди або фосфатиди є одними з головних компонентів клітинних мембран. Вони беруть участь у транспортуванні різноманітних сполук та йонів деяких біологічних процесів. У свою чергу фосфоліпіди поділяють на дві основні групи: гліцерофосфоліпіди та сфінгофосфоліпіди.

Гліцерофосфоліпіди є похідними фосфатидної кислоти:

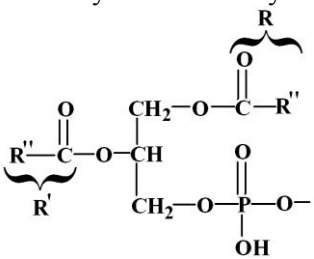


Фосфатидна кислота

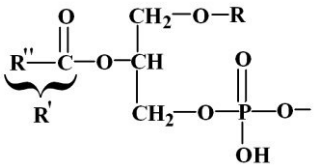


Гліцерофосфоліпіди

де X – залишок нітрогенвмісних сполук. Ці залишки отримали назву фосфатидилу, при алкільному R-плазманілу, при алкенільному R-плазменілу:



Залишок фосфатидилу



Залишок плазманілу

Якщо в якості замісника Х є холин:

$$(CH_3)_3N^+CH_2CH_2\text{-}OH$$

такий гліцерофосфоліпід називається фосфатидилхоліном. Вперше він був виділений з яєчного жовтка і названий летицином. Особливо багато фосфатидилхоліну міститься в насінні олійних культур, злаків, гороху.

При диспергуванні молекули фосфадилхоліну здатні у водній фазі утворювати міцели (ліпосоми) (рис.2).

Рис.2. Схематичне позначення молекулярної будови фосфатидилхоліну

В молекулі фосфатидилхоліну міститься гідрофільний фрагмент, який є полярною „головкою”, і гідрофобний – „хвіст”. „головку” утворюють залишки карбоксильної групи карбонових кислот, нітрогенвмісної складової та фосфатної кислоти, а „хвіст” – залишки аліфатичної частини вищих карбонових кислот. Це надає їм поверхнево-активні властивості, тобто у водному середовищі формуються упорядковані структури міцел і ліпосом, які є основою подвійного ліпідного шару біологічних мембран (рис.3).

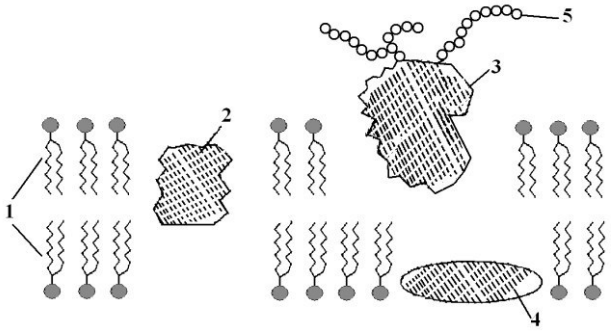


Рис.3. Поперечний перетин мембрани за С.Сінгером-Дж.Ніколсоном: 1 – подвійний ліпідний шар, 2 – внутрішні (інтегральні) білки, 3 – частково занурені білки, 4 – поверхневі (периферійні) білки і 5 – вуглеводи

З поперечного розрізу мембрани замкнуті фігури на зразок дисків, трубочок, міхурців можна розглядати за С.Сінгером і Дж.Ніколсоном (1981 р.) як певні надмолекулярні структури.

Структурну основу мембрани складають дифільні (амфіфільні) ліпідні молекули. Вони мають довгі вуглеводневі радикали, а також холестерин та його етери. Найчастіше амфіфільними сполуками бувають фосфоліпіди. В табл.8 приведений ліпідний склад еритроцитів в людини.

Таблиця 8

Ліпідний склад еритроцитів в людини

№ з.п.	Ліпід	Склад, мас.%
1	Фосфатидна кислота	1,5
2	Фосфатидилхолін	19,0
3	Фосфатидилетаноламін	18,0
4	Фосфатидилінозит	1,0
5	Фосфатидилсерін	8,5
6	Серингоміелін	17,5
7	Гліколіпіди	10,0
8	Холестерин	25,0

Амфіфільні молекули поділяють на одно- та дволанцюгові.

Важлива фізична властивість дволанцюгових амфіфільних молекул – їх здатність до утворення подвійних шарів у водневих дисперсіях. Амфіфільні молекули об'єднуються так, що полярні групи контактують з водою, а вуглеводневі радикали збираються разом і утворюють вуглеводну фазу.

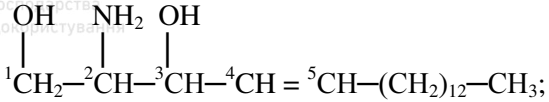
Молекули фосфоліпідів порівняно вільно переміщуються вздовж поверхні мембрани, залишаючись у межах свого шару.

Отже, мембрана має будову рідкого кристалу, що дуже важливо для її роботи.

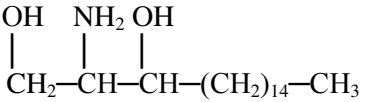
До складу гліцерофосфоліпідів входять також подібні фосфатидилетаноламіни, фосфатидилсерини, фосфатидилінозитоли, кардіоліпіни і плазмалогени.

Другою важливою групою ліпідів мембранного походження є сфінгофосфоліпіди. Вони побудовані на основі сфінгозину з 18 атомами Карбону або його насиченого аналога – сфінганіну:

Національний університет
водного господарства
та природокористування



Свінгозин



Сфінганін

Сфінгофосфоліпіди є важливими компонентами клітинних мембран і беруть участь в обмінних реакціях.

Окрім основних груп фосфоліпідів, у природі існують менш поширені діяльні фосфоліпіди і фосфоноліпіди, які мають різнопланову біологічну дію.

Складні ліпіди – гліколіпіди належать до сполук, що містять залишки вуглеводів сполучених з ліпідною основою. До найпоширеніших гліколіпідів відносяться: глікосфінголіпіди (цереброзиди, гангліозиди, сульфатиди та глобозиди), глікогліцероліпіди, які забезпечують функціональну організацію та будову клітинних мембран.

Природні глікогліцероліпіди є воскоподібними, твердими аморфними речовинами або в'язкими рідинами. Їх виділяють із листків шпінату, люцерни, конюшини та інших, пшеничного борошна, з відповідний бактерій.

Відомі також ліпополісахариди мікроорганізмів, які відіграють важливу роль у життєдіяльності бактерій. Вони виконують функції антигенів, стабілізаторів мембран, розпізнають інші бактерії.

Ізопреноїди

До ліпідів відносять природні терпенові сполуки, які містяться у ліпідах. Такі сполуки назвали ізопреноїдами. До них належать терпени, каротини, гутаперча, каучук, стероїди, рослинні барвники, феромони, вітаміни.

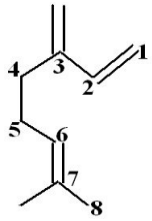
Терпени

Терпени – біологічно активні сполуки рослинного походження (рідше тваринного). Їх загальна формула $(C_5H_8)_n$, де n = 2-8. Залежно від значення n вони поділяються на: монотерпени,

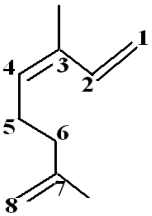
Національний університет водного господарства та природокористування

сесквітерпени, дитерпени, сестертерпени, тритерпени, тетратерпени, політерпени.

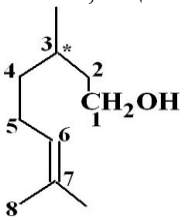
Монотерпени містяться в ефірних оліях рослинного походженя, наприклад, в трояндової, цитрінової, м'ятної тощо. До основних сполук цього виду із ациклічних і циклічних монотерпенів належать димери ізопрену – мірцен, оцимен, спирти – цитронелол, гераніол, альдегід – цитраль А, циклічні – n-ментан, n-цимен, ментол:



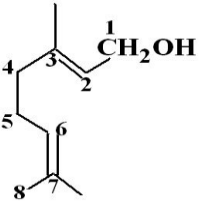
β-Мірцен



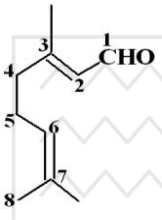
Оцимен



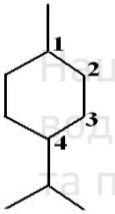
Цитронелол



Гераніол

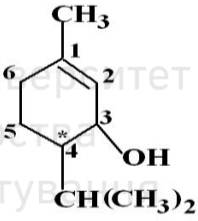


Цитраль А



n-Ментан

n-Цимен



Ментол

Із терпеноїдів моноциклічних монотерпенів заслуговують на увагу речовини канабіноїди, які становлять основу відомої наркотичної речовини гашишу (маріхуана, аноша, план). Цю наркотичну речовину утворюють тільки жіночі особини коноплі при їхньому цвітінні. Смола, що покриває квіти та листки, має приємний запах і збудливо діє на людину.

До природних біциклічних монотерпенів належать похідні пінану, карану, борнану (камфану). Одна із похідних барнану є камфора, яка широко застосовується в промисловості, медицині. Її добувають із запашної олії камфорного лавра, а також із скипидарної сировини.

Сесквітерпени

Це тримери ізопрену з формулою $C_{15}H_{34}$ та їхні похідні. До них належать ациклічні, моно- і біциклічні сполуки. З ациклічних

Національний університет водного господарства та природокористування

сесквітерпенів це ізомерні спирти фарнезол і неролідол, а з моноциклічних – групи бізаболану, елеману, цингиберен та інші.

З біциклічних до них належать кадинени, селінени, сантоніни. Їх добувають, в основному, з живиці, скіпідару, з олії насіння селери.

Дитерпени

Дитерпени є поширеними у природі сполуками з формулою $C_{20}H_{32}$, які входять до складу хвойних рослин і морських організмів. З ациклічних – це групи фітолу, циклічних – групи цебрану, біциклічних – групи лабдану (агатові кислоти).

До них належать також так звані смоляні кислоти, які становлять основу технічно важливої речовини каніфолі. Вона складається на 60-90% з лівопімарової, декстропімарової та абієтинової кислот і відповідає формулі $C_{19}H_{29}COOH$.

Каніфоль застосовують у виробництві смол, пластмас, лаків, клеїв, мила, пластифікаторів тощо.

Тритерпени

Тритерпени мають загальну формулу $C_{30}H_{48}$. Вони були знайдені у нафті, осадових породах, у більшості мікроорганізмів, тварин.

У рослинному світі тритерпени існують, в основному, у вільному стані. Серед рослинних тритерпенів відомі вітастероїд вітаферін А, що проявляє антибактеріальні властивості, хінонметидний целастрол – інсектицидні, а ацитроноїдний тритерпен обакунон, який міститься у шкірці цитрусових, володіє певною біологічною активністю.

З тваринних тритерпенів найпоширенішими є сквален і ланостерол. Сквален міститься у кількості до 40% у жирі печінки акули, риб'ячему жирі, він виявлений також в маслиновій, лляній і бавовняній оліях, у насінні злаків тощо. Його застосовують для виготовлення деяких фармацевтичних і косметичних препаратів, мастила тощо.

Ланостерол разом із холестеролом входить до складу ланоліну, шерстяного воску овець, різних рослин, грибів.

Заслуговує уваги окрема група пентациклічних тритерпенів, що називається гопаноїдами. Вони були знайдені в органічних осадових породах, в підземних і морських відкладеннях, а також в нафті.

У деяких бактерій гопаноїди входять до складу ліпідів їхніх мембран. Також відомі численні структурні типи гопаноїдів (до 200), що є якоюсь мірою підтвердженням органічної і бактеріальної природи походження нафти та органічних сполук.

Тетратерпени

До тетратерпенів або каротиноїдів відносять каротини, ксантофіли і лікопіни. Вони відіграють важливу біологічну роль в рослинах і тваринах. На сьогодні їх відомо понад 300 сполук.

Каротиноїди – жиророзчинні жовті, оранжеві та червоні пігменти аліфатичної будови. Вони можуть бути ациклічними (лікопін), моноциклічними або біциклічними.

Ксантофіли – це окиснена форма каротиноїдів. Ксантофіли становлять близько 50% всіх каротиноїдів листка. Між собою ксантофіли відрізняються лише ступенем окиснення.

Каротини, як і ксантофіли, характеризуються гідрофобними властивостями, що дає змогу формувати комплекси в ліпідному прошарку мембрани.

У хлоропластах вищих рослин найчастіше трапляються β-каротин ($C_{40}H_{56}$) і ксантофіли – лютеїн ($C_{40}H_{56}O_2$) і віолаксантин ($C_{40}H_{56}O_4$). В значних кількостях є також *а*-каротин і неоксантин.

Каротини містяться в моркві, молоці, вершковому маслі листі рослин, багатьох плодах тощо.

В живих організмах каротини не здатні синтезуватися, тому вони повинні надходити до організмів разом з їжею.

Політерпени

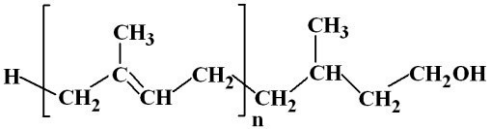
До політерпенів відносяться каучук і гута. Головним джерелом каучуку є тропічне каучуконосне дерево гевея, а основні вітчизняні каучуконоси – кок-сагиз і тау-сагиз з родини складноцвітних.

Гутаперченосом є деякі види бересклету і евкомію. Гутаперча – ізомер каучуку, має транс-конфігурацію, а поліізопренів ланцюг каучуку – цис-конфігурацію. Ця різниця в будові й обумовлює різницю в їх фізичних властивостях. Так, при звичайній температурі каучук еластичний і аморфний, а при охолодженні набуває кристалічної структури; при кімнатній температурі гутаперча – твердий шкіроподібний продукт, а при 50-100^{0}С стає пластичною.

Національний університет водного господарства та природокористування

Каучук і гутаперча знаходять широке застосування в гумовій промисловості, радіо- і електропромисловості, при виготовленні клейових і ізоляційних матеріалів.

Крім того, до політерпенів відносять поліпреноли. Представниками такого поліпренолу є, наприклад, доліхоли:



Доліхоли

Доліхоли містяться у хребетних тваринах, дріжджах тощо. Вони відіграють важливу роль у процесі транспортування вуглеводів крізь клітинні мембрани. Разом поліпренолами вони є активними компонентами формування цих мембран.

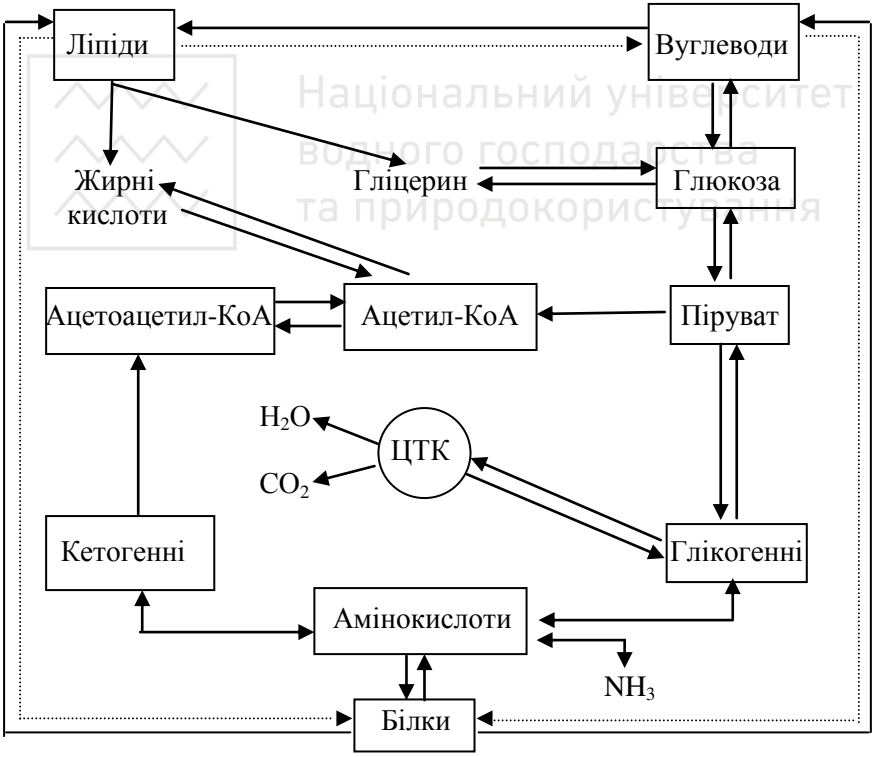


Рис.4. Взаємозв'язок процесів обміну ліпідів, білків, жирів і вуглеводів

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Експериментальна частина

1.1. Розчинність ліпідів і утворення емульсій

Принцип методу: характерною властивістю жирів є їх добра розчинність в багатьох органічних розчинниках (ацетон, хлороформ, діетиловий ефір і т.п.) і нерозчинність у воді. При змішуванні жирів з водою утворюються емульсії стійкість яких залежить від середовища, в якому вона утворюється. Присутність у воді речовин – емульгаторів (мила, жовчні кислоти, карбонати) робить емульсії більш стійкими. Утворення емульсій обумовлено тим, що в поверхневий водяний шар, який оточує жирові крапельки, направляються поверхнево–активні частинки жовчних кислот, мила, карбонатів і обхоплюють крапельки жиру, перешкоджаючи їх злиттю.

Матеріали і реактиви: рослинне масло, спирт, бензол, хлороформ, 1%-ний розчин Na_2CO_3.

Обладнання: штатив з пробірками, крапельниці, піпетки.

Хід роботи: в чотири пробірки поміщують по 0,2–0,3 мл рослинні олії, потім в першу добавляють 5 мл води, в другу – 5 мл спирту, в третю – 5 мл бензолу, в четверту – 5 мл хлороформу.

Вміст всіх пробірок енергійно струшують. В першій пробірці олія і вода швидко розділюються на два шари, в другій – утворюється каламутний розчин в разі недостатнього розчинення олії в спирті, в третій і четвертій утворюється безбарвні розчини. В дві пробірки поміщують декілька крапель олії. В одну з них добавляють 2 мл води, в другу – 2 мл розчину Na_2CO_3. Вміст пробірок інтенсивно струшують і спостерігають утворення емульсії. Відмічають різницю стійкості емульсій в двох пробірках.

1.2. Виявлення ненасиченості ліпідів

Принцип методу: жири рослинного походження містять велику кількість залишків ненасичених жирних кислот, ніж жири тваринного походження. Різна сутність невизначеності ліпідів може бути виявлена на прикладі насичення бромом вершкового масла і соняшникової олії.

Матеріали і реактиви: розчин вершкового масла в хлороформі, розчин соняшникової олії в хлороформі, насичена бромна вода (5 г брому з 100 мл води в колбі з пробкою струшують під витяжкою,

Національний університет водного господарства та природокористування

інколи привідкривати пробку для видалення накопичених парів брому) або розчин $KMnO_4$.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки, крапельниці.

Хід роботи: в одну пробірку вносять 1 мл розчину соняшникової олії в хлороформі, а в другу – 1 мл розчину вершкового масла в хлороформі. Потім в кожну пробірку вливають по краплям бромну воду до покращення безколірності розчинів. Фіксують кількість бромної води, добавленої в кожну пробірку.

1.3. Омилення жиру

Принцип методу: жири під впливом лугів гідролізуються з утворенням мила і гліцерилу:

$$\begin{array}{l} CH_2{-}O{-}OC{-}(CH_2)_7CH{=}CH{-}(CH_2)_7{-}CH_3 \\ | \\ CH{-}O{-}OC{-}(CH_2)_{16}{-}CH_3 \qquad\qquad + 3KOH \rightarrow \\ | \\ CH_2{-}O{-}OC{-}(CH_2)_{14}{-}CH_3 \end{array}$$

$$\begin{array}{ll} CH_2{-}OH & KOOC{-}(CH_2)_7CH{=}CH{-}(CH_2)_7{-}CH_3 \\ | & \\ CH{-}OH & + KOOC{-}(CH_2)_{16}{-}CH_3 \\ | & \\ CH_2{-}OH & KOOC{-}(CH_2)_{14}{-}CH_3 \end{array}$$

Матеріали і реактиви: рослинна олія, 50%-ний спиртовий розчин KOH(NaOH).

Обладнання: колба місткістю 50 мл, піпетки, газовий пальник.

Хід роботи: в колбу приливають 1 мл рослинної олії, добавляють 20 мл спиртового розчину KOH(NaOH), вміст перемішують і кип’ятять протягом 60 хвилин на водяній бані. Після омилення розчин доводять до об’єму 20 мл дистильованою водою, і таким чином отримують розчин калійного мила (калійні солі жирних кислот).

1.4. Утворення вільних жирних кислот

Принцип методу: при добавлені до мила концентрованої хлоридної кислоти утворюються вільні жирні кислоти:

$$KOOC - (CH_2)_{16} - CH_3 + HCl \rightarrow KCl + HOOC - (CH_2)_{16} - CH_3 .$$

Матеріали і реактиви: розчин калійного мила, концентрована хлоридна кислота.

Обладнання: пробірки, піпетки.

Хід роботи: в пробірку з 2 мл розчину калійного мила добавляють 0,5 мл концентрованої хлоридної кислоти. Утворені жирні кислоти нерозчинні у воді будуть збиратися у верхній частині розчину.

1.5. Визначення кислотного числа жиру

Принцип методу: кислотністю жиру або кислотним числом називається число міліграмів їдкого калію, необхідного для нейтралізації вільних жирних кислот, які містяться в 1 г жиру.

Матеріали і реактиви: спирт, нейтралізований по фенолфталеїну, розчин KOH (0,1% моль/л), 0,1%-ний розчин фенолфталеїну, жир (соняшникова олія).

Обладнання: колби місткістю 50 мл, піпетки, бюретки.

Хід роботи: до 1 г жиру добавляють 5 мл спирту, нейтралізованого по фенолфталеїну, перемішують для максимального розчинення вільних жирних кислот і титрують розчином KOH до появи незникаючого після перемішування рожевого забарвлення.

Кількість KOH, мг, або кількісне число (КЧ), яке пішло на титрування вільних жирних кислот в 1 г жиру, дорівнює:

$$КЧ = AfQ/a,$$

де A – об’єм розчину KOH (0,1 моль/л), що витрачається на титрування досліджуваної проби; a – наважка жиру (г); f – коефіцієнт поправки на титр розчину KOH (0,1 моль/л); Q – кількість KOH (5,61 мг) еквівалентне 1 мл розчину KOH (0,1 моль/л).

1.6. Визначення йодного числа жиру

Принцип методу: йодним числом називають кількість г йоду, яке прореагувало зі 100 г жиру. Це число вказує на вміст жиру ненасичених жирних кислот .

Визначення йодного числа полягає на реакції приєднання йоду по місцю подвійного зв’язку за рівнянням:

Національний університет водного господарства та природокористування

$$R - CH = CH - R + I_2 + H_2O \rightarrow R - \underset{\displaystyle I}{\underset{|}{CH}} - \underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}} - R + HI$$

Матеріали і реактиви: жир, спиртовий розчин йоду (0,1 моль/л), 1%-ний розчин крохмалю, розчин $Na_2S_2O_3$ (0,05 моль/л).

Хід роботи: в першу колбу поміщають наважку жиру 0,1–0,2 г, в другу, контрольну, 0,1 0,2 мг води і додають по 10 мл спиртового розчину йоду і перемішують. Через 15 хвилин вміст колби відтитровують розчином $Na_2S_2O_3$ спочатку до появи слабо жовтого забарвлення, а потім прибавити 1 мл розчину крохмалю і титрувати до зникнення синього забарвлення.

Вихідне число розраховують за формулою:

$$ВЧ = (B – A)fQ \cdot 100/(a \cdot 1000),$$

де B–A – різниця результатів титрування контрольного і досліджуваного зразків розчином гіпосульфіту, мл; а – наважка досліджуваного жиру, г; f – коефіцієнт поправки на титр розчину $Na_2S_2O_3$; Q – кількість I_2 (12,69 мг) еквівалентне 1 мл розчину $Na_2S_2O_3$ (0,05 моль/л).

1.7. Реакція утворення йодоформу при взаємодії ацетону з йодом

Принцип методу: при додаванні розчину йоду і лугу до сечі, яка містить ацетон, розчин мутніє і випадає осад йодоформу, який має характерний запах. Реакція протікає наступним чином:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ C = O + I_2 + 2NaOH \rightarrow CH_3I + CH_3COONa + NaI + H_2O \\ | \\ CH_3 \end{array}$$

Ця реакція не є специфічною для ацетону, оскільки при взаємодії йоду з ацетальдегідом і етанолом також утворюється йодоформ.

Матеріали і реактиви: сеча (до 100 мл добавляють 2 мл ацетону), 10%-ний розчин NaOH, 10%-ний розчин йоду в йодиді калію.

Обладнання: пробірки, піпетки.

Хід роботи: до 5 мл добавляють 1 мл розчину NaOH, а потім розчин йоду в йодистому калію до появлення слабко–жовтого забарвлення. В присутності ацетону розчин мутніє і приймає запах хлороформу.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

1.8. Реакція на ацетон і оцтову кислоту

Принцип реакції: при взаємодії ацетону і ацетооцтової кислоти з нітропрусидом натрію в лужному середовищі утворюється комплексна сполука, забарвлена в оранжево–червоний колір:

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ C = O + Na_2[Fe(CN)_5NO] + 2NaOH \rightarrow \\ | \\ CH_3 \end{array}$$

$$\rightarrow Na_4[Fe(CN)_5NO = CHCOCH_3] + 2H_2O$$

При добавлені до реакційної суміші концентрованої оцтової кислоти утворюється сполука, забарвлена в темно–червоний колір:

$$Na_4[Fe(CN)_5NO = CHCOCH_3] + CH_3COOH \rightarrow$$
$$Na_3[Fe(CN)_5NOCH_2COCH_3] + CH_3COONa.$$

Реакція не є специфічною для ацетону і ацетооцтової кислоти, оскільки креатин сечі, також реагує з нітропрусидом і дає аналогічне забарвлення, але в цьому випадку при додаванні концентрованої оцтової кислоти розчин не забарвлюється в темно–червоний колір.

Матеріали і реактиви: сеча, 10%-ний розчин NaOH, 10%-ний розчин нітропрусиду натрію, концентрована оцтова кислота.

Обладнання: пробірки, піпетки.

Хід роботи: в пробірку, яка містить 5 мл сечі, добавляють 1 мл розчину NaOH, 1 мл розчину нітропрусиду натрію і перемішують. При наявності в мочі ацетону чи ацетооцтової кислоти розчин забарвлюється в оранжево–червоний колір. При добавленні в пробірку 2 мл концентрованої оцтової кислоти колір розчину стає темно–червоним.

Запитання для самоконтролю

1. Дайте загальну характеристику ліпідам. Розкажіть про особливості рослинних жирів та їхній вміст у рослинах.
2. Який склад мають рослинні олії? Розкажіть про жирні кислоти рослинних олій та їх поширення.
3. Які ви знаєте основні фізико-хімічні константи жиру? Яке їх значення для характеристики рослинних олій?
4. Розкажіть про тверді рослинні олії.
5. Про яку особливість олії свідчить величина її йодного числа?

Національний університет водного господарства та природокористування

6. Розкажіть про згіркнення олій і його причини? Як зберегти олії від згіркнення?

7. Які групи жироподібних речовин вам відомі? Що таке гліколіпіди і сульфоліпіди? Яка їх роль у рослині?

8. Дайте характеристику рослинним стероїдам.

9. Розкажіть про склад рослинних восків і їхня роль у рослині. Що ви знаєте про склад і будову уктину і суберину?

10. Розкажіть про особливості синтезу насичених жирних кислот у рослинах.

11. У чому відмінності утворення ненасичених жирних кислот у рослин і тварин?

12. Розкажіть про гліоксидатний цикл і глюконеогенез.

13. Що ви знаєте про α-окиснення жирних кислот у рослині? Яке значення цього процесу?

14. Як відбувається в рослині утворення восків і кутину?

Контрольні завдання

1. Які умовні одиниці (константи) використовують для характеристики жирів чи олій? Приведіть їх визначення.

2. Наведіть схему класифікації ліпідів.

3. Що представляють собою воски? Приведіть приклади і їх характеристику.

4. Приведіть відкриту та піранозну форми нейрамінової кислоти при циклоланцюговій таутомерії.

5. Наведіть схему можливого синтезу моноацилгліцеролу.

6. Приведіть схему синтезу фосфоліпіду виходячи з фосфатидної кислоти, за допомогою її етерофікації відповідно модифікованим аміноспиртом.

7. Які речовини належать до терпенів? Приведіть їх класифікацію і дайте характеристику окремим представникам.

8. Що представляють собою стероїди? Приведіть їх наявну класифікацію. В яких рослинах виявлені окремі їх представники?

9. На прикладі послідовних реакцій фосфорилювання та етерифікації діацилгліцеролу приведіть схему синтезу фосфоліпідів.

10. Приведіть на прикладі фосфатидилетаноламіну схему гідролізу складних ліпідів.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

РОЗДІЛ 4
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА „ВІТАМІНИ”

Мета роботи – вивчення хімічних реакцій на вітаміни і кількісне визначення їх вмісту в різних продуктах.

Вітаміни

Вітаміни – речовини, присутність яких у малих кількостях необхідна для нормального функціонування живого організму. На відміну від білків, ліпідів, вуглеводів в організмі вітаміни практично не синтезуються. Їх добова потреба становить лише міліграми і навіть мікрограми.

Водорозчинні вітаміни

За фізико-хімічними властивостями вітаміни поділять на водорозчинні та жиророзчинні.

Згідно з цим поділом до водорозчинних вітамінів належать: вітаміни С (аскорбінова кислота), Р (біофлавоноїди), Н (біотин), B_1 (тіамін), B_2 (рибофлавін), B_3 (пантотенова кислота), B_5 (нікотинова кислота) і нікотинамід), B_6 (піродиксин), B_9 (фолієва кислота), B_{12}(ціанокобаламін).

Жиророзчинні вітаміни

До жиророзчинних вітамінів належать: вітаміни А (ретинол), D (кальциферол), Е (токофероли), F (поліненасичені вищі (жирні) кислоти) (табл.9), К (нафтохінони).

Часто безпосередньо до вітамінів відносять групу вітаміноподібних речовин, які за біологічною дією подібні до них. Їх потреба для організму значно більша ніж вітамінів, але значно менша ніж білків, ліпідів та вуглеводів.

Таблиця 9

Вміст вітаміну F у деяких оліях і жирах, %

Олія	Арахідонова	Лінолева	Ліноленова
1	2	3	4
Арахісова	-	18,0-33,0	-
Соєва	-	51,5-57,0	2,0-3,0
Рапсова	-	14,0	2,0-3,0
Кукурудзяна	-	41,0-44,0	-

Національний університет водного господарства та природокористування

1	2	3	4
Свинячий жир	0,5	8-9	0,7
Маслинова	-	4,0-12,0	-
Горіхова	-	72,5-77,2	3,2
Лляна	-	15-30	21,0-45,0
Перилова	-	12,0-18,0	65,0-70,0
Вершкове масло	1,0-2,5	3-4	-
Трисковий жир	1-4	2	0,4

Вітаміноподібні речовини

Слід зазначити, що вітаміноподібні речовини можуть надходити як із продуктами харчування, так і завдяки біосинтезу в організмі. До таких вітаміноподібних речовин відносять: вітаміни B_4 (холін, фосфохолін), B_8 (інозитом), B_{13} (оротова кислота), B_{15} (пангамова кислота), N (ліпоєва кислота), U (S-метилметіонін), убіхінон (коензим Q), ПАБК (n-амінобензойна кислота).

Існують також такі речовини, які відрізняються хімічною будовою своїх молекул від вітамінів, але здатні впливати на їх біологічну активність. Такі сполуки, що пригнічують або зупиняють біологічну дію вітамінів як коферментів називають антивітамінами. Так, інозитом вважається антагоністом вітаміну B_6, аміноптеридин – вітаміну B_{10}; гідразид ізонікотинової кислоти – вітаміну B_5; ензим тіаміноза – вітаміну B_1, а акрихін пригнічує дію вітамінів B_2.

Отже, більшість вітамінів однієї групи мають не тільки різну дію на організм, але і різну хімічну будову тому доцільно вітаміни та вітаміноподібні речовини розглядати разом за їх хімічною будовою.

До групи вітаміну F належать ненасичені вищі карбонові кислоти, як лінолева, ліноленова, арахідонова та інші. Незамінні кислоти містяться здебільшого в рослинних оліях, тваринних жирах і в організмі людини.

Дані вмісту вітамінів у деяких продуктах, що людина вживає при харчуванні наведений в додатку „Вміст вітамінів у деяких продуктах”.

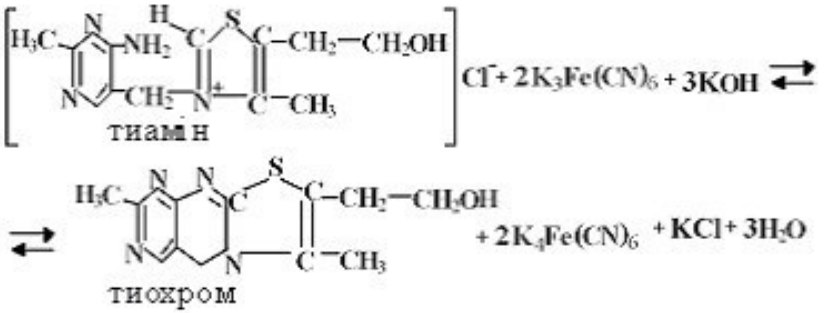
Експериментальна частина

1.1. Реакція окиснення тиаміну в тиохромі

Принцип методу: вітамін B_1 в лужному середовищі під дією гексаціану(III) ферату калію окиснюється в тиохром–пігмент

Національний університет водного господарства та природокористування

жовтого кольору, який в ізобутиловому спирті визиває інтенсивну флюоресценцію.



Матеріали і реактиви: тіамін в концентрації 5 мкг в 1 мл, 1%-ний розчин $K_3Fe(CN)_6$ і 30%-ний розчин NaOH, ізобутиловий спирт, флюороскоп, піпетки, штатив з пробірками.

Хід роботи: до 1 мл розчину вітаміну B_1 додають 2 мл суміші (1 мл розчину $K_3Fe(CN)_6$ і 1 мл розчину NaOH) перемішують, залишають на 3 хвилини. Потім додають 5 мл ізобутилового спирту, енергійно і ритмічно перемішують 2 хвилини. Ізобутиловий екстракт тиохрому в ультрафіолетових променях визиває інтенсивну синю флюоресценцію. Це дуже чутлива реакція.

1.2. Реакція відновлення рибофлавіну (вітамін B_2)

Принцип методу: вуглевод, який утворюється при додаванні металевого цинку до $HCl_{конц.}$ відновлює жовтий рибофлавін спочатку в родофлавін червоного кольору, а потім у безбарвний лейкофлавін.

Національний університет водного господарства та природокористування

Матеріали і реактиви: $HCl_{конц.}$, металевий цинк, 0,025%-ний розчин вітаміну B_2, пробірки, піпетки.

Хід роботи: в пробірку наливаємо 1 мл розчину вітаміну B_2, 0,5 мл $HCl_{конц.}$ і занурюємо шматок металевого цинку. Водень, який виділяється, реагує з рибофлавіном, відновлює його, рідина поступово забарвлюється у рожевий колір, а потім знебарвлюється. При збовтуванні безбарвного розчину лейкофлавіну він знову окиснюється киснем у рибофлавін.

1.3. Реакція на пародоксин (вітамін B_2)

Принцип методу: при взаємодії пероксиду з розчином $FeCl_3$, речовина забарвлюється у червоний колір, внаслідок утворення комплексної солі типу фенолята феруму.

Матеріали і реактиви: водний розчин (1%) вітаміну B_6, 1%-ний розчин $FeCl_3$, пробірки, піпетки.

Хід роботи: в пробірці змішують 1 мл водного розчину пероксиду і 2 краплини розчину $FeCl_3$. Збовтують, спостерігається забарвлення розчину у червоний колір.

1.4. Виділення фолієвої кислоти із дріжджів і її виявлення

Принци методу: фолієва кислота добре розчиняється у 0,1 моль/л розчині NaOH. При екстрагуванні фолієвої кислоти із дріжджів і в ультрафіолетовому випромінюванні спостерігається інтенсивно голуба флюоресценція.

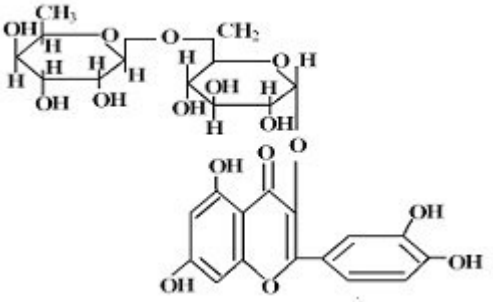
Матеріали і реактиви: дріжджі харчові, оцтова кислота, 0,4%-ний розчин $KMnO_4$, 3%-ний розчин H_2O_2, 0,1 моль/л і 0,005 моль/л розчини NaOH, індикаторний папір, лінійка, кварцовий пісок.

Хід роботи: в ступку поміщують 10 г дріжджів, додають 10 мл 0,1 моль/л розчину NaOH, 2 г кварцового піску і розтирають 5 хвилин. Потім центрифугують 15 хвилин при 800об. До 10 крапель речовини додають 20 крапель CH_3COOH (pH=3), 10 крапель розчину $KMnO_4$, так щоб рожеве забарвлення не зникало протягом 10 хвилин. Через 10 хвилин надлишок $KMnO_4$ видаляють додаванням 4-5 крапель розчину H_2O_2 і добавляють 0,005 моль/л розчину NaOH до pH=4,0-4,5. При ультрафіолетовому випромінюванні хромової кислоти в лужному середовищі у флюороскопі спостерігається голуба флюоресценція.

Національний університет водного господарства та природокористування

1.5. Реакція на вітамін Р. Якісна реакція на рутин

Принцип методу: хлорид феруму(III) утворює з рутином комплексні сполуки зеленого кольору. $H_2SO_{4КОНЦ.}$, утворює з флавонами розчини жовтого кольору. При кислому гідролізі рутину відновлюється молекула рутину, яка розпадається на глюкозу та роленозу, що володіють відновлювальними властивостями.



Рутин

Матеріали і реактиви: рутин (порошок і насичений водний розчин), 1%-ний розчин хлориду феруму(III), $H_2SO_{4КОНЦ.}$, 0,5%-ний розчин HCl, 10%-ний розчин NaOH, реактив Фелінга.

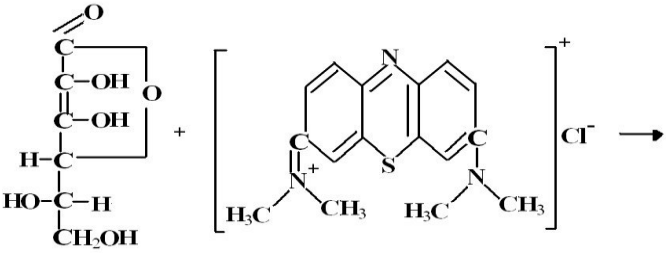
Хід роботи:

А. Реакція рутину з $FeCl_3$. До 2 мл насиченого розчину рутину додають декілька крапель $FeCl_3$. Спостерігається поява зеленого забарвлення.

Б. Реакція рутину з $H_2SO_{4КОНЦ.}$ До 2 мл насиченого розчину рутину обережно по стінці пробірки приливають 1 мл $H_2SO_{4КОНЦ.}$ На поверхні двох рідин виникає забарвлене у жовтий колір кільце.

6. Реакція з аскорбіновою кислотою

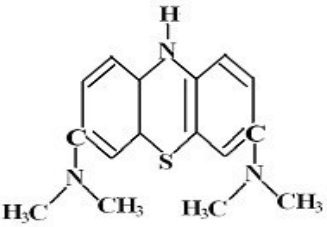
Аскорбінова кислота здатна легко вступати в окисно–відновні реакції і здатна відновлювати гексаціаноферат калію.



Аскорбінова кислота Метиленова синь

Національний університет водного господарства та природокористування

Дегідроаскорбінова кислота



Лейкометиленова синь

Матеріали і реактиви: 10%-ний HCl, 0,1%-ний розчин аскорбінової кислоти, 0,01%-ний розчин метилової сині, 1%-ний розчин $FeCl_3$.

Хід роботи:

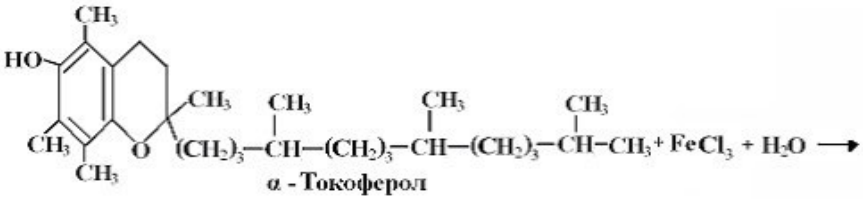
А. Реакція з метиленовою синю. В дві пробірки вносять по 1 краплі розчину метиленової сині, в першу додають 5 крапель аскорбінової кислоти, в другу - 5 крапель H_2O, нагрівають до температури 37^0C. Через деякий час в пробірці з аскорбіновою кислотою рідина знебарвлюється.

Б. Реакція з гексаціанофератом калію. До 1 мл розчину аскорбінової кислоти додають 1 мл $K_3Fe(CN)_6$ і 0,05 мл $FeCl_3$, спостерігають утворення синьо–зеленого забарвлення.

1.7. Реакція з α токоферолом (вітамін Е)

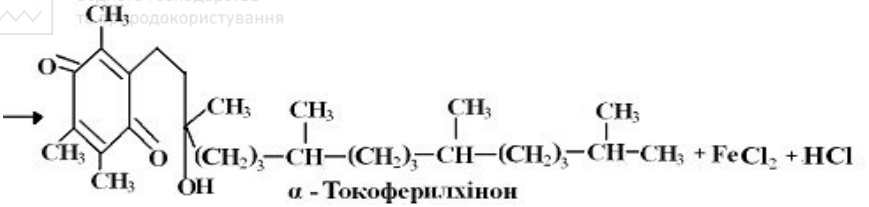
Взаємодія α–токоферолу з $HNO_{3КОНЦ.}$ призводить до забарвлення реакційної суміші в червоний колір. Це обумовлено тим, що продукт окиснення α–токоферолу має хіноїдну структуру.

При взаємодії з $FeCl_3$ α–токоферол окиснюється до α–токоферилхінона, який має червоний колір.



α - Токоферол

Національний університет
водного господарства
та природокористування



α - Токоферилхінон

Матеріали і реактиви: 0,1%-ний розчин α–токоферолу, $HNO_{3КОНЦ.}$, 1%-ний розчин $FeCl_3$, штатив з пробірками, крапельниці, піпетки.

Хід роботи:

А. Реакція з $HNO_{3КОНЦ.}$ В суху пробірку вносять 5 крапель вітаміну Е і добавляють 1 мл $HNO_{3КОНЦ.}$ Пробірки інтенсивно струшують і спостерігають появу червоного забарвлення.

Б. Реакція з $FeCl_3$. В суху пробірку вносять спиртовий розчин α–токоферолу, потім 0,5 мл $FeCl_3$ і ретельно перемішують вміст пробірки, спостерігають появу червоного забарвлення.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Запитання для самоконтролю

1. До яких сполук відноситься більшість вітамінів?
2. Яка добова потреба вітамінів становить для людини?
3. На які групи поділяються вітаміни за їхніми фізико-хімічними властивостями?
4. Що собою представляють вітаміноподібні речовини, яка їх потреба? Наведіть приклади таких речовин.
5. З яких джерел надходять вітаміноподібні речовини в організм людини?
6. Яка відмінність існує між вітамінами і антивітамінами? Наведіть приклади.
7. В чому полягає дія вітамерів? Наведіть приклади таких речовин.
8. Які сполуки називають провітамінами? В чому полягає їх дія, наведіть приклади.
9. В чому полягає відмінність між гіповітамінозом і гіпервітамінозом.?
10. Які причини можуть викликати гіповітаміноз і авітаміноз? Наведіть пояснення.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Контрольні завдання

1. Приведіть сучасну раціональну хімічну класифікацію вітамінів.
2. Приведіть схему синтезу аскорбінової кислоти з глюкози.
3. Приведіть визначення і класифікацію алкалоїдів.
4. Наведіть схему синтезу коніїну. До яких алкалоїдів він відноситься?
5. Опишіть сучасний метод одержання кокаїну з фурану.
6. Наведіть приклади рослинних інсектоцидів.
7. Які речовини відносяться до репелентів? Приведіть приклади.
8. Опишіть дію феромонів. Які речовини відносяться до них?
9. У чому полягає відмінність біологічної дії гетероауксинів, гіберелінів, брасиноетероїдів, олігосахарінів від дії абсцизової кислоти та етилену.
10. Опишіть дію фітонцидів. Наведіть приклади.
11. Приведіть дисульфідну і сульфогідрильну форми ліпоєвої кислоти. Яка її біохімічна дія й з чого її добувають?
12. Які сполуки відносяться до групи вітаміну F? Який їх вміст в ненасичених карбонових кислотах?
13. Приведіть схему синтезу пангамової кислоти (вітамін B_{15}) з D-глюкози.
14. Що собою представляє коензим А?
15. Наведіть схему розчеплення світлочутливого пігменту родопсину при дії світла.
16. Яка біологічна дія вітамінів групи D?
17. Опишіть будову і дію біофлавоноїдів (вітаміни групи Р).
18. В яких продуктах міститься вітамін B_1 (тіамін)?
19. Яка будова і біологічна дія природних токоферолів (вітамін Е)?
20. В чому полягає біологічна дія оротової кислоти (вітамін B_{13})?

Національний університет
водного господарства
та природокористування

РОЗДІЛ 5
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА „ФЕРМЕНТИ”

Мета роботи: вивчення хімічної будови і каталітичної дії ферментів в різноманітних біологічних процесах.

Ферменти

Ферменти (або ензими) – речовини білкової природи, що виконують функції каталізатора біохімічних реакцій.

Такі реакції відбувають в процесах росту, розмноження, травлення, рухів м’язів, енергозабезпечення, побудови структурних елементів, згортання крові тощо. Ферменти мають велику каталітичну силу – вони прискорюють реакції якнайменше в мільйон разів. Навіть така проста реакція: $CO_2 + H_2O \leftrightarrow H_2CO_3$ каталізується ферментом карбоангідраза зі швидкістю 10^5 молекул CO_2 за 1с.

У наш час відомо понад 3000 ферментів з молекулярною масою від кількох тисяч до мільйонів дальтон.

За хімічною будовою ферменти являють собою прості або здебільшого складні білкові речовини. До ферментів простої білкової природи належать відомі папаїн, пепсин, лізоцим, уреаза, рибонуклеаза, фосфаза тощо. Більшість ферментів побудовані з білкової та небілкової частини. Такі ферменти називаються **голоферментами.**

Небілкові складові називають **кофакторами**, а білкову складову – **апоферментом.**

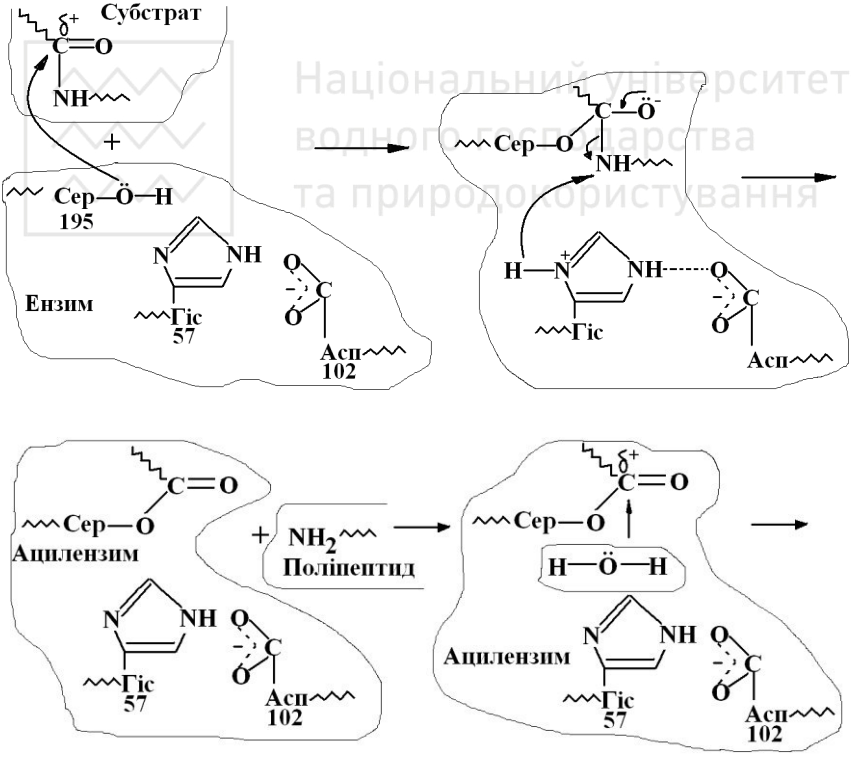
За типом взаємодії апоферменту з кофактором ферменти поділяють на коферменти і простетичні групи (кофактори).

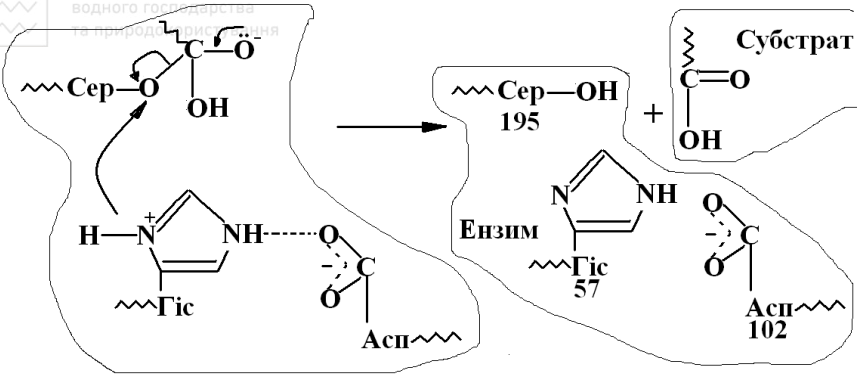
Коферменти у складі ферменту взаємодіють своїм активним центром з відповідним субстратом, переносячи при цьому електрони, атоми або групи атомів. При цьому утворюється фермент – субстративний комплекс, який після хімічних перетворень відщеплюється від ферменту.

Хімізм такого процесу можна прослідкувати на прикладі дії ферменту α-хімотрепсину. Так, у молекулі хімотрипсину формується активний центр у вигляді гідрофобної порожнини із залишків амінокислот з алкільними та арильними групами (I). Розмір порожнини складає 1,0 · 0,5 · 0,4 нм. На першій стадії

взаємодії в результаті ацилюванню серину утворюється фермент – субстративний комплекс (II).При подальшій перебудові хімічних зв'язків утворюється ацилензим і вільний поліпептид з кінцевою NH_2-групою (III). На другій стадії відбувається деацилювання з участю молекули води (IV) і розщеплення метеного зв'язку ланки серину із субстратом (V), що приводить до вивільнення субстрату від ферменту (VI).

Йони металів пов'язані з апоферментом або входять до складу небілкової простетичної групи – найчастіше порфірінового кільця гемінових ферментів (цитохромів, пероксидаз, каталази). Ферменти, які міцно пов'язані з йонами металів і не втрачають цього зв'язку за умов виділення та фракціонування ферменту, називаються метало ферментами.





У деяких випадках йони металів не входять до складу ферментів як інтегральні структурні компоненти, а виконують лише функцію їх активаторів.

Дія інгібіторів ферментів протилежна активаторам. Це речовини, які перешкоджають утворенню фермент субстратного комплексу, тобто викликають гальмування ферментативних процесів.

На швидкість ферментактивної реакції значною мірою впливає співвідношення концентрацій ферменту і субстрату.

Кількість молекул субстрату, які підлягають перетворенню однією молекулою ферменту на продукт у ході реакції за одиницю часу за повного насичення ферменту субстратом, прийнято називати числом обертів ферменту або молярною активністю.

Активність ферментів виражають у міжнародних одиницях активності. Кількість ферменту, яка каталізує перетворення одного мікромоля субстрату на продукт реакції за 1 хв у стандартних умовах з розрахунку на 1 г тканини, називається міжнародною одиницею (МО). **Питома активність** – це число одиниць ферментативної активності на 1 мг білка.

Міжнародним біохімічним союзом запропоновано використовувати як одиницю активності катал (кат). Активність в 1 кат – це така кількість ферменту, яка каталізує перетворення одного моля субстрату на продукт реакції за 1с. Отже, 1 кат = $60 \cdot 10^6$ МО.

Рекомендовано також використовувати одиницю – нанокатал (нкат), яка дорівнює 10^9 кат.

Швидкість каталітичної реакції в присутності ферментів залежить також від присутності модуляторів ферментів-активаторів

Національний університет
водного господарства
та природокористування

або інгібіторів процесу. До активаторів належать неорганічні йони K^+, Ca^{2+}, Na^+, Zn^{2+}, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{3+}, Co^{3+}, Ni^{2+}, Fe^{2+}, Cu^+.

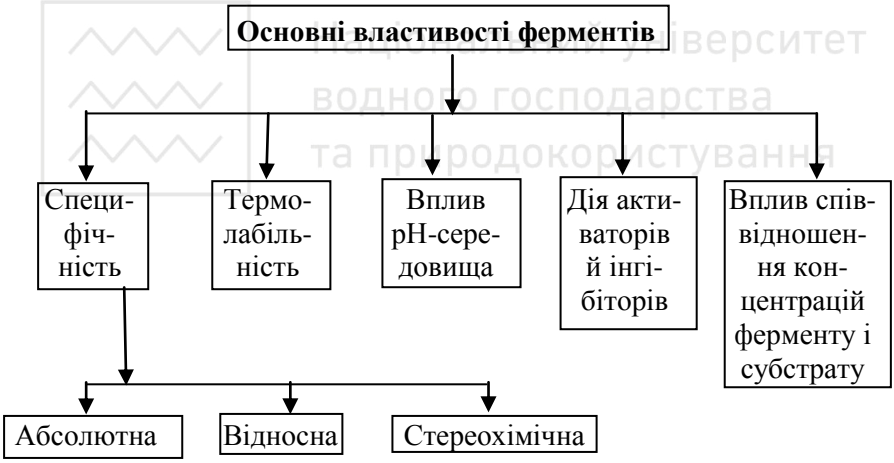
Властивості ферментів

Основні властивості ферментів зумовлені їх білковою природою (схема 1).

Для ферментів застосовують три типи номенклатур – тривіальну, систематичну і раціональну.

Відповідно до сучасної класифікації ферментів IUPAC/IUB вони поділяють на шість класів, залежно від типу реакції і природи субстрату. У свою чергу класи ферментів поділяють на підкласи, а далі ще на підкласи. Для кожного ферменту застосовують чотирикодовий шифр, цифри якого розділені крапками.

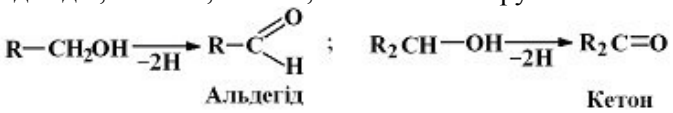
Перша означає клас, друга підклас, третя – підпідклас і четверта – порядковий номер ферменту у підкласі.



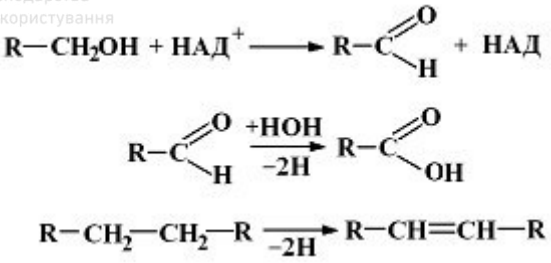
Класифікація ферментів

1 клас – оксидоредуктази. Їх відомо понад 500 видів. Вони подяляються на 17 підкласів.

Оксидоредуктази окиснюють $>CH-OH$, $-C=O$, $>CH-CH<$ групи до альдегідів, кетонів, кислот, ненасичених груп $-CH=CH-$:



Національний університет
водного господарства
та природокористування



2 клас – трансферази. Вони мають 8 підкласів. Всього їх відомо біля 200 ферментів.

Трансферази переносять різні хімічні групи, вільні радикали, атоми від одної молекули (донора) до іншої (акцептора):

$$R - X + R_1 \text{ L } R_1 - X + R.$$

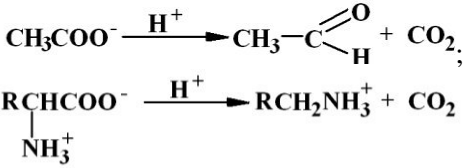
3 клас – гідролази. Існує поряд 450 ферментів цього класу. Вони поділяються на 11 підкласів.

Гідролази являють собою білкові речовини з молекулярною масою від 10-15 тисяч до 250-320 тисяч дальтон. Вони каталізують реакції гідролітичного розщеплення за схемою:

$$R - X - HOH \text{ L } R - OH + HX,$$

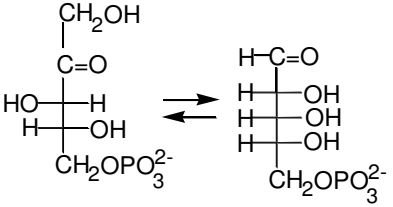
4 клас – ліази. Відомо шість основних підкласів ліаз.

Цей клас ферментів каталізує відщеплення від субстратів не гідролітичним шляхом які-небудь групи з утворенням подвійного зв'язку або, навіть, групи, що приєднуються по місцю розриву подвійного зв'язку або, навпаки, групи, що приєднується по місцю розриву подвійного зв'язку. В результаті таких реакцій часто утворюються такі прості продукти, як CO_2, H_2S, NH_3, H_2O та ін. Наприклад:

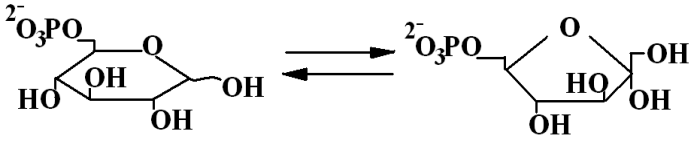


5 клас – ізомерази. Вони поділяють на 5 основних підкласів.

Ізомерази каталізують реакції ізомеризації у межах однієї молекули. Наприклад, іпемерази і рацемази сприяють інверсії хіральних центрів з утворенням енантіомерів:



Рибулозо-5-фосфат Ксилулозо-5-фосфат



Глюкозо-6-фосфат Фруктозо-6-фосфат

6 клас – лігази (синтетази). Відомо приблизно 80 ферментів лігаз, які поділяються на 5 підкласів.

Лігази сприяють сполученню двох субстратів з утворенням нового зв'язку при одночасному розриві пірофосфатних зв'язків в молекулі АТФ або ГТФ. Наприклад, кожна аміноацил-тРНК-синтетаза володіє спорідненістю до певної амінокислоти, а також до одної або декількох тРНК. Зписуючи тРНК у вигляді тРНК-ОН рівняння реакції, що каталізується аміноацил-тРНК-синтетазою можна записати у вигляді:

$$тРНК - OH + NH_3^+CHR_iCOO^- + PPP - Ado\ L$$

$$L\ тРНК - OCOCHR_iNH_3^+ + P - Ado + PP_i\ .$$

Експериментальна частина

1.1. Дія амілази

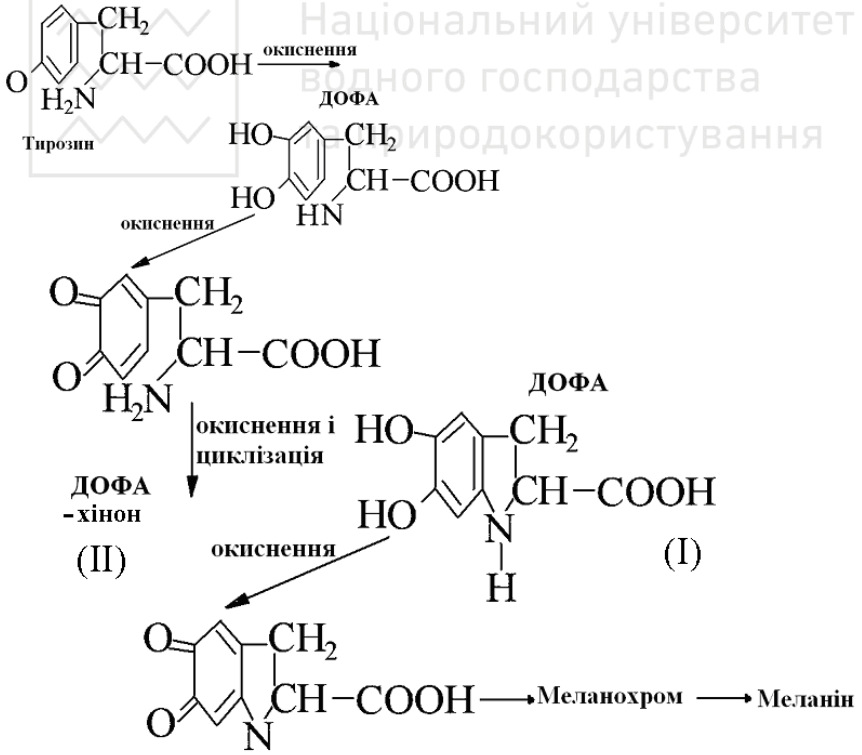
Принцип методу: амілаза – це фермент, який каталізує гідроліз α–глікозидного зв'язку α-1-4 крохмалю та глікогену до проміжних продуктів, які називаються декстринами. Крохмаль, володіє здатністю утворювати з йодидом сполуки синього кольору, амілодекстрин – фіолетового, еритродекстрин – червоно–бурого, ахродекстрин – жовтого.

Національний університет водного господарства та природокористування

Хід роботи: в дві пробірки вносять по 5 мл крохмального клейстеру, в одну з них додають 0,5 мл розчину слини, яка містить амілазу. Збовтати і дати відстоятись. Через 15 хвилин в обидві пробірки добавити по 5 крапель розчину йоду. В пробірці з амілазою слини розчин через деякій час стає безбарвним, а в пробірці без амілази колір розчину не зміниться, тобто залишиться фіолетовим.

1.2. Дія тирозинази

Принцип методу: перетворення тирозину в меланін (чорний азотовмісний пігмент) через зафарбовування в червоний колір проміжні продукти: 3, 4–диоксифенілаланін (ДОФА), який в наслідок окиснення перетворюється в 2, 3–дигідро –5, 6–диокси–β–індолкарбонову кислоту (I). Сполука (1) окиснюючись перетворюється в 2, 3–дигідро–5, 6–дикето–β–індолілкарбонову кислоту (II) – пігмент червоного кольору.



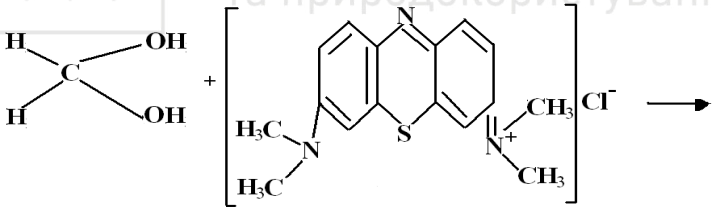
Матеріали і реактиви: препарат тирозин аза (10 г подрібненої картоплі розтираємо в ступі з 30 мл води і віджимаємо через декілька шарів марлі), насичений розчин тирозину, фарфорова ступа, пробірки, піпетки, водяна баня.

Хід роботи: в дві пробірки наливаємо по 1 мл препарату тирозинази. Місткість однієї пробірки кип'ятять 3 хвилини і охолоджують. Потім в кожну пробірку додають по 0,5 мл насиченого розчину тирозину і ставлять в термостат (температура 40^0C). Кожні 5 хвилин пробірки струшують для кращої взаємодії рідини в пробірці з повітрям. В пробірку з неактивізованою тирозиназою рідина поступово зафарбовується в рожевий, бурий та чорний колір.

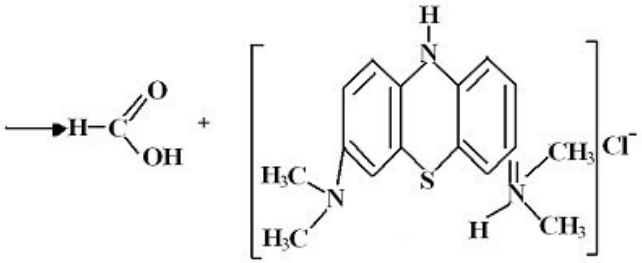
1.3. Дія альдегідоксидази

Принцип методу: альдегідоксидаза прискорює дегідрування різних аліфатичних та ароматичних альдегідів. В аеробних умовах фермент каталізує реакцію дегідрування шляхом переносу Гідрогену на Оксиген з утворенням перекису Гідрогену.

В аеробних умовах дія альдегід оксидази може бути знайдена за незбарвленню метиленової сині.



Метилова синь (окиснена форма)



Метилова синь (відновна форма)

Національний університет водного господарства та природокористування

Матеріали і реактиви: свіже молоко, 0,4%-ний розчин формальдегіду, 0,01%-ний розчин метиленової сині, вазелін, штатив з пробірками, піпетки, газовий пальник, водяна баня.

Хід роботи: в три пробірки наливають по 5 мл молока, ємність однієї пробірки кип'ятять 2–3 хвилини та охолоджують. В прокип'ячене молоко і в одну з пробірок з некип'яченим молоком добавляють по 1 мл розчину метиленової сині, перемішують, доливають по 0,5 мл вазеліну та ставлять на водяну баню при температурі 40 градусів. Через деякій час рідина в пробірці з некип'яченим молоком знебарвлюється внаслідок утворення відновленої форми метиленової сині. Якщо розчин в пробірці з відновленою метиленовою синню перемішати в повітрі, то він забарвлюється в синій колір. Оскільки в першій пробірці фермент інактивований нагріванням, а в другій пробірці з некип'яченим молоком був відсутній субстрат (формальдегіду), незбарвлення метиленової сині не спостерігається.

Національний університет водного господарства та природокористування

1.4. Дія сахарози

Принцип методу: сахароза каталізує гідроліз сахарози до глюкози та фруктози:

$$C_{12}H_{12}O_{11} \rightarrow 2C_6H_{12}O_6.$$

Утворені моносахариди визначаються реакцією Фелінга. Сахароза не має вільної альдегідної групи і тому не має відновлюючих здатностей.

Матеріали і реактиви: препарат сахарози (5 г пивних дріжджів розтирають в фарфоровій ступці з 2–3 мл дистильованої води з невеликою кількістю скляного піску; до розтертої маси добавляють біля 8–10 мл води, профільтровують через вату), 2%-ний розчин сахарози, реактив Фелінга, який складається: а) 40 г сегнетової солі і 30 г NaOH розводять в мірній колбі (V = 200 мл) і доводять водою до мітки; б) 8 г $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ розводять в колбі такого ж об'єму та заливають водою до мітки. Перед вживанням змішують рівні об'єми цих розчинів; пробірки, піпетки, фарфорова ступка з товкачиком, воронки, термостат, водяна баня.

Хід роботи: в дві пробірки наливають по 1 мл препарату ферменту. Місткість однієї із них кип'ятять 3 хвилини для руйнування сахарози, після чого додають в дві пробірки (охолоджені) по 3 мл розчину сахарози, добре перемішують та

Національний університет водного господарства та природокористування

ставлять в термостат при температурі 38 градусів. Через 15 хвилин в обидві пробірки вносять по 2 мл реактиву Фелінга, перемішують та нагрівають до кип'ятіння. В контрольній пробірці випадіння осаду не спостерігається, а в пробірці з активним ферментом утворюється червоний осад геміоксиду купруму.

1.5. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази

Принцип методу: активатором амілази є NaCl, а інгібітором - $CuSO_4$. Про плив цих речовин на активність амілази свідчать по ступеню гідролізу крохмалю під впливом ферменту в присутності NaCl і $CuSO_4$.

Матеріали і реактиви: розчин слини, 0,5% розчин крохмалю, 0,1% розчин йоду в 0,2 % розчині KCl, 1% розчин NaCl, 1% розчин $CuSO_4$.

Хід роботи: готують три пробірки. В першу наливають 2,5 мл води, в другу – 2 мл води і 0,5 мл розчину NaCl, в третю 2 мл води і 0,5 мл розчину $CuSO_4$. У всі пробірки вносять по 2,5 мл слини, обавляють по 2,5 мл розчину крохмалю, потім знову перемішують і ставлять в термостат при температурі 38 градусів. Через 5 хвилин добавляють по 5 крапель розчину йоду. Речовина в першій пробірці стає фіолетовою або червоною, в другій – синьою. Отримані результати свідчать про те, що активатором амілази є NaCl (друга пробірка), а інгібітором $CuSO_4$ (третя пробірка).

1.6. Специфічність дії амілази і сахарази

Принцип методу: амілаза розчіплює полісахариди не діє на дисахариди (мальтозу або сахарозу). Сахараза розчіплює тільки сахарозу, на глюкозу і фруктозу і не діє на крохмаль та інші дисахариди.

Хід роботи: в дві пробірки наливають по 3 мл розчину крохмалю і добавляють в першу пробірку 1 мл розчину слини (амілаза), в другу – 1 мл препарату сахарази, перемішують і ставлять у термостат при температурі 38 градусів.

В інші дві пробірки наливають по 3 мл 0,5 % розчину сахарози і в першу пробірку добавляють 1 мл препарату сахарази, в другу – 1 мл розчину слини і залишають при тих же умовах. Через 5 хвилин в перші дві пробірки з крохмалем добавляють по 5 крапель розчину йоду. В пробірці з амілазою синє забарвлення розчину зникає,

Національний університет водного господарства та природокористування

внаслідок розчеплення крохмалю амілазою. В другій пробірці розчин забарвлюється в синій колір, так як сахароза не діє на крохмаль

В пробірках з розчином сахарози дія ферменту прослідковується за позитивною реакцією з реактивом Фелінга, за наявностю моносахаридів. Для цього в пробірку добавляють по 1 мл розчину Фелінга і нагрівають до кип'ятіння. Сахароза не має вільних альдегідних груп і відновлювальними властивостями не володіє, тому в пробірці де під впливом сахарози відбулося розчеплення сахарози на глюкозу і фруктозу, спостерігається червоне забарвлення внаслідок утворення геміоксиду купруму.

1.7. Визначення активності амілази слини за методом Вольгемута

Принцип методу: метод Вольгемута застосовується на визначені мінімальної кількості ферменту здатного при деяких умовах повністю гідролізувати 1 мл 0,1% розчину крохмалю. Амілазна активність слини виражається кількістю мл 0,1% крохмалю, який може бути гідролізований 1 мл нерозбавленої слини при температурі 38 градусів протягом 30 хвилин. В нормі амілазна активність дорівнює 160–320. Метод Вольгемута широко використовується в клінічній практиці для визначення амілазної активності крові і сечі.

Матеріали і реактиви: слина, розбавлена в 10 разів, 0,1% розчин крохмалю, 0,1% розчин йоду в 0,2% розчині KI.

Хід роботи: В 10 пробірок наливають по 1 мл дистильованої води. В першу пробірку добавляють 1 мл розчиненої в 10 разів слини, перемішують, 1 мл суміші переносять в другу пробірку. Вміст цієї пробірки знову перемішують, 1 мл суміші переносять в третю пробірку і так до десятої пробірки. З останньої пробірки відбирають 1 мл суміші і виливають.

Таким чином, в кожній наступній пробірці вміст ферменту в 2 рази менше, ніж в попередній і розведення слини в десяти пробірках складе: 1:10; 1:20; 1:40; 1:80; 1:160: 1:320; 1:640; 1:1280; 1:2560; 1:5120; 1:10240.

Потім у всі пробірки додають по 1 мл води і по 2 мл розчину крохмалю, перемішують і поміщують в термостат при $t=38^0C$ на 30 хв.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Відмітив при якому розведенні відбувся повний гідроліз крохмалю з мінімальним вмістом ферменту (пробірка з жовтуватим забарвленням), за кількістю нерозведеної слини в даній пробірці розраховують амілазну активність слини.

Запитання для самоконтролю

1. Які речовини відносяться до ензимів?
2. Які ензими називають гало ензимами, із чого вони побудовані?
3. Приведіть визначення апоензиму, коензиму та їх хімічну будову.
4. За якими механізмами відбувається сполучення білкової частини ферменту з небілковою?
5. Які сполуки можуть грати роль коф акторів?
6. Від чого залежить швидкість ферментативної реакції?
7. Наведіть визначення числа обертів ферменту, або молярної активності?
8. В яких одиницях виражають активність ферментів?
9. Який характер має залежність реакції від концентрації ферменту?
10. Як впливають активатори й інгібітори на зміну активності ферментів?
11. Які реакції каналізуються оксиредуктази?
12. В чому полягає каталітична дія гідролаз?
13. Що собою представляють модулятори ензимів?
14. Яким чином позначаються класи ензимів за чотири-кодовим шифром?
15. Які реакції каналізуються ізомерази?
16. Які типи номенклатур застосовують для ензимів?
17. З чого добувають ензими у промисловості? Які методи при цьому застосовують?
18. Наведіть коензими, які беруть участь в окисно-відновних реакціях або процесах перенесення груп?
19. Яфункцію виконують трансферази?

Контрольні завдання

1. Що вивчає константа Міхаєліса-Ментена? Покажіть це на графіку.

Національний університет водного господарства та природокористування

2. Як впливає температура і зміна pH середовища на активність ферментів? Наведіть їх графічну залежність.

3. Опишіть процес інгібування ферментів (зворотне і незворотне), а також конкуренте, неконкурентне і безконкурентне інгібування.

4. Користуючись графічною залежністю оберненої швидкості реакції від оберненої концентрації субстрату визначити значення константи Міхаеліса і максимальну швидкість реакції.

5. Шляхом побудови графіків Лайнуівера-Берка показати тип конкурентного і неконкурентного гальмування.

6. Навести класифікацію і номенклатуру, згідно якої ферменти поділяють на класи відповідно до типу каталізованих реакцій.

7. Опишіть механізм утворення фермент-субстратних комплексів (активних центрів) і виконувану ними функцію в каталізі.

8. Приведіть графічну залежність і лінійне рівняння (Корніш-Боуден) для визначення константи Міхаеліса і максимальної швидкості реакції, якщо для побудови цього графіка не потрібні розрахунки, тому що кожна пряма відповідає одному спостереженню.

9. Приведіть графічну залежність початкової швидкості ферментативної реакції і рівняння Міхаєліса-Ментена для односубстратної реакції.

10. Якими групами і яких амінокислотних залишків забезпечується каталітична активність α-хімотрипсину? Наведіть приклад механізму каталізу.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

РОЗДІЛ 6
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА „ГОРМОНИ”

Гормони-органічні молекули, що утворюються в ендокринних залозах і регулюють метаболізм та розвиток організму. Вони є тими хімічними речовинами, які передають інформацію у відповідь на специфічні сигнали.

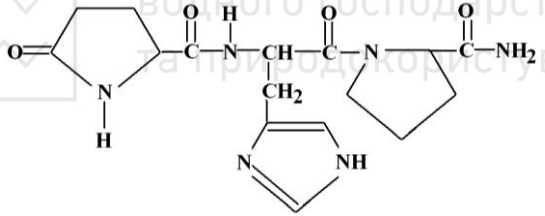
Залежно від хімічної будови гормони поділяють на три групи: білково-пептидні, стероїдні і пептидні (похідні амінокислот).

На сьогодні відомо понад 60 гормонів. Більшість із них білкові та пептидні речовини.

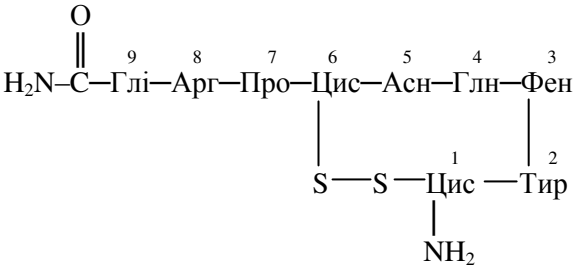
За морфологічною класифікацією вони поділяються на гормони гіпотамуса і гіпофіза, щитовидної залози, підшлункової залози, надниркових і статевих залоз та інші.

Білково-пептидні гормони

До гормонів пептичної природи належать трипептидтиромберин, вазопресин, кортикотропін:



Тиромберин



Вазапресин

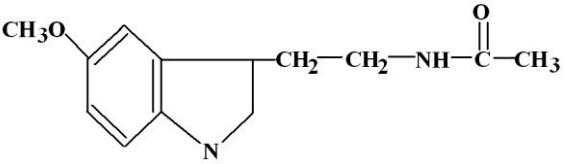
Гормон передньої частки гіпофіза кортикотропін складається з 39 амінокислот.

Національний університет водного господарства та природокористування

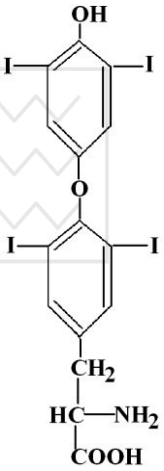
До гормонів щитовидної залози належить поліпептид кальцитонін, який складається з 32 амінокислот, підшлункової залози – глюкагон ($C_{153}H_{225}O_{49}N_{43}$).

Пептидні гормони

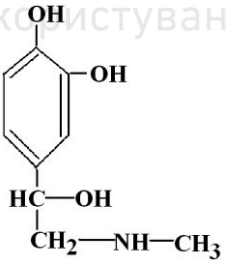
До гормонів – похідних амінокислот належать тироксин, адреналін, мелатонін:



Мелатонін



L-Тироксин



Адреналін

Стероїди

До стероїдів належать тритерпенові сполуки рослинного і тваринного походження. Стероїди виявлено у всіх організмах, де вони виконують різні функції.

Всі стероїди мають подібну структуру, в основі якої лежить конденсована система пергідроциклопентано-фенантрену. Різноманітність структури стероїдів зумовлена різною мірою не насичення і наявністю кількох груп в різних положеннях.

Національний університет водного господарства та природокористування

Попередником стероїдів є холестерол, утворений, у свою чергу, зі сквалену.

До сполук стероїдної будови відносяться стероли (стерини) й ацилстероли (стерини), жовчні кислоти, жовчні спирти, стероїдні гормони, аглікони серцевих гліказидів, стероїдних сапонінів, а також вітаміни D, стероїдні алкалоїди, глікозиди, сульфати тощо.

Стероли

Стеролами називаються одноатомні вторинні спирти. Найважливішими представниками стеролів є холістерол (холестерин). Він бере участь в утворенні клітинних мембран і виявляє захисні функції в організмі. При порушенні холестеринового обміну він відкладається в на стінках кровоносних судин, що викликає хворобу – атеросклероз.

Стероли організмів тварин називаються зоостеролами, рослин – фітастеролами, різних грибів – мікостеролами.

До зоостеролів належать ланостерол, який виявлений в натуральному латексі, вовні овець, багатьох рослин, дріжджів.

Рослинні стероли виявлені в талової і соєвої оліях, в насінні пшениці, у кукурудзі, горосі. Це β-ситостерол ($C_{29}H_{49}OH$) і стигма стерол ($C_{29}H_{47}OH$).

З мікостеролів заслуговує на увагу ергостерол та бразикастерол, які входять до складу дріжджів.

До ацилстеролів належать сполуки, що являють собою естери стеролів і вищих карбонових кислот, які в організмі тварин містяться поряд з холестерином. Їх кількість в організмах значно менша ніж холестерину.

Жовчні кислоти

Жовчні кислоти представляють собою циклопентанофенантренове ядро та аліфатичний залишок із карбоксильною групою. Вони утворюються з холестеролу в печінці та виділяються у складі жовчі і відіграють значну роль у процесах травлення та всмоктування ліпідів.

До складу жовчі входять холева, літохолева, глікохолеві та таурохолеві кислоти. Глікохолеві кислоти складають приблизно 75% від загального вмісту жовчних кислот в організмі, а таурохолеві – до 25%.

Холеву кислоту, з якої синтезують гормон надниркових залоз кортизон та інші похідні, отримують шляхом виділення з жовчі великої рогатої худоби.

До стероїдних гормонів належать статеві гормони, гормони кори надниркових залоз, гормони ліньки комах.

Статеві гормони

Найважливішими статевими гормонами стероїдної будови є естрогени, гестоени (жіночі) та андрогени (чоловічі). Єстрогенні гормони естрон, естрадіол та естриол були виявлені в плодах кокосової пальми, плодах і квітах верби, пшениці. У деяких інших рослинах. Уперше естрон був виявлений із сечі вагітної жінки. Ест радіол синтезується, в основному, яєчниками і в меншій кількості плацентою, надниркovими залозами і яєчниками. Він контролює комплекс біологічних функцій, пов'язаних із розмноженням.

Естріол синтезується плацентою. В організмі частина естріолу перебуває у вільному стані, основна його частина – у вигляді глюкуронілових і сульфопірованих похідних.

Ці гормони регулюють обмін білків, збільшують стійкість організму до дії зовнішнього середовища. Крім того, вони сприяють уповільненню старіння.

Гестагенний гормон прогестерон проявляє властивості ненасиченого кетону, що містить 4-ен-3-онове угрупування. Він утворюється в жовтому тілі, плаценті і надниркових залозах. Через гормонрецепторний комплекс прогестерон зв'язується з певною ділянкою хроматину до ДНК, що призводить до транскрипції певних генів.

Андрогенні гормони тестостерон і андростерон беруть участь у розвитку і функціонуванні чоловічої генітальної системи.

Тестостерон регулює розвиток вторинних статевих ознак, а частина його перетворюється на більш активну сполуку – дігідростерон.

Крім того, тестостерон сприяє затриманню в організмі Нітрогену, Фосфору, Кальцію, що прискорює утворення білків, нуклеїнових кислот. Це призводить до збільшення маси м'язів (анаболізм). Тому такі сполуки ще називають анаболічними стероїдами.

Національний університет водного господарства та природокористування

Слід зазначити, що статеві гормони в живому організмі, проявляють також протипухлинну дію.

Гормони кори надниркових залоз

Гормони кори надниркових залоз (кортикостероїди) виконують функції регуляторів процесів обміну. Їх відомо близько 50 кортикоїдів. Ці гормони умовно поділяють на глюкокортикоїди та мінералокортикоїди.

До глюкортикоїдів належать картизол (гідрокортизон), кортизон, кортикостерон. Вони регулюють обмін вуглеводів, підвищують вміст глюкози у крові, сприяють накопиченню глікогену в печінці.

Гідрокортизон – основний глюкокортикоїдний гормон, який утворюється в пучковій зоні кіркової речовини надниркових залоз. Кортизон і його продукти метаболізму становлять 80% гідроксикортикостероїдів плазми крові. Вони стимулюють синтез глюкози шляхом глюконеогенезу.

Відомі також гормони мозкової речовини надниркових залоз – адреналін та норадреналін. Андреналін впливає на внутрішньоклітинні процеси, а особливо на глікогеноліз і гліколіз. Він спричиняє мобілізацію захисних сил організму в умовах стресової дії шляхом активації системи гіпофіз – гіпоталамус кіркова речовина надниркових залоз.

Симпатична нервова система, зв'язуючи норадреналін, відіграє центральну роль у мобілізації вільних жирних кислот.

До мінералокортикоїдів відносяться альдостерон, кортикостерон, дезоксикортикостерон тощо. Вони регулюють в організмі водно-солевий обмін йонів K^+, Na^+, а також води. Це сприяє утриманню йонів Na^+ і Cl^- в організмі та вилучення йонів K^+ із сечею.

Альдостерон – найбільш активний з усіх мінералокортикоїдів, який секретує в клубочковій зоні кори надниркових залоз. Він дуже швидко усувається з крові печінкою. Це спричинено відсутністю в плазмі відповідного транспортного білка. У печінці альдостерон перетворюється на тетрагідроальдостерон-3-глюкуронід, який екскретується із сечею. Він діє на нирки, що проявляється в затримці йонів Na^+ в організмі і виділенні йонів K^+, H^+, NH_4^+.

Відомі синтетичні аналоги мінералоартикоїдів такі як дезоксикортикостеронацетат спіронолактон тощо.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Серцеві глікозиди

Англікони серцевих глюкозидів і стероїдних сапонінів є глікозидами рослинного походження. Англікони серцевих глікозидів містяться в рослинах: олеандрі, конвалії звичайній, наперстянці тощо. Вони у малих дозах стимулюють діяльність серцевого м'язу, а у великих дозах є сильними отрутами.

Залежно від будови аглікони серцевих глікозидів поділяють на дві групи: карденоліди і буфадієноліди. До них входять: D-глюкоза, D-фруктоза, D-ксилоза, D-рамноза, D-фукоза, дигітоксигенін, строфантин, сциларен тощо.

Стероїдні сапоніни

Англікони стероїдних сапонінів представляють собою групу глікозидів рослинного походження. Вони мають високу поверхневу активність і можуть викликати гемоліз еритроцитів. Найбільший їх вміст виявлений в рослинах родин лілійних, бобових, ранникових, амарилісових тощо. Найпоширеними є похідні спіростану, фур остану, це амірини, ланостан, дамаран, кукурбітан, діогенін, дигітогенін тощо.

З англіконів стероїдних сапонінів добувають синтетичні гормони прогестерон, кортизон та інші.

Ліпіди простагландини, тромбоксани, лейкотрієни, ліпоксини належать до низькомолекулярних біологічних регуляторів. Вони є гормонами місцевої дії, тобто стимулюють роботу кишківнику, бронхів, легенів, інгібують згортання крові, активують синтез глікогену в печінці, викликають скорочення або послаблення м'язів, впливають на артеріальний тиск.

Більшість простагландинів утворюється в організмі при окисненні арахідонової кислоти під дією внутрішньоклітинних ензимів, нейромедіаторів.

Простагландини знайшли широке використаня у сільського господарстві як препарати для ефективного штучного запліднення.

Тромбоксани як і простангландини проявляють високу біологічну активність, викликають агрегацію тромбоцитів. Вони синтезуються з поліненасичених вищих карбонових кислот. Їхнім попередником є арахідонова кислота.

Лейкотрієни є групою ліпідних біорегуляторів, які синтезуються в організмі при окисненні ейкозаполієнових кислот під дією ензиму

ліпоксигенази. Вони виявлені у тварин, а також знайдені у бульбах картоплі. Лейкотрієни є важливими регуляторами імунної системи, вони відіграють суттєву роль при розвитку деяких паталогічних станів, впливають на процес дихання, є важливими медіаторами запальних процесів та анафілаксії.

За аналогією до лейкотрієнів ліпоксини є також важливими регуляторами імунної системи. Вони є метаболітами арахідонової кислоти (ейкозаноїдів).

Експериментальна частина

1.1. Реакція на гормон залози тироксин

1.1.1. Виявлення йоду

Принцип методу: гормони щитовидної залози, є йодовмісними сполуками. При їх руйнуванні утворюється йодид калію, який окиснюється йодатом калію в кислому середовищі з утворенням молекулярного йоду:

$$5KCl + PIO_3 + 6HCl \rightarrow 3I_2 + 6KCl + 3H_2O.$$

Результатом реакції йоду з крохмалем є сполука синього кольору.

Матеріали і реактиви: таблетки тиреоїдина чи висушена тканина щитовидної залози, 10%-ний розчин NaOH, 10%-ний розчин H_2SO_4, 1%-ний розчин крохмалю, 2%-ний розчин KIO_3, лакмус.

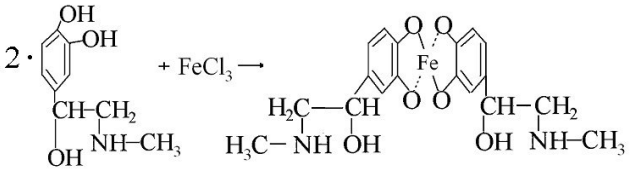
Обладнання: фарфорова ступка з товкачиком, газовий пальник, піпетка, колба.

Хід роботи: в фарфоровій ступці ретельно розтирають 5 таблеток тиреїдину чи 100–200 г подрібненої висушеної тканини щитовидної залози. Утворену масу переносять у колбу для гідролізу, добавляють 5 мл розчину NaOH чи 5 мл води. Кип'ятять на азбестовій сітці на протязі 10–15 хвилин. До 3 мл охолодженого гідролізату добавляють розчин сірчаної кислоти до кислої реакції на лакмус. Після підкислення приливають 5 крапель розчину KIO_3. Йод, який виділяється, дає синє забарвлення з крохмалем.

1.2. Реакції на гормони (адреналін, норадреналін)

1.2.1. Реакція з хлоридом феруму(III)

Принцип реакції: при добавлені до розчину адреналіну хлориду феруму(III) рідина забарвлюється в оксамитово – зелений колір внаслідок утворення комплексного сполучення типу фенолята феруму:



Адреналін володіє слабколужною реакцією, легко окиснюється на повітрі з утворенням адренохрома, внаслідок чого розчин забарвлюється в червоний колір.

Матеріали і реактиви: 1% ний розчин $FeCl_3$, 10% ний розчин NaOH, 0,1%-ний розчин адреналіну.

Обладнання: пробірки, крапельниця, піпетки.

Хід роботи: в пробірку вносять 1 мл розчину адреналіну, приливають 1 краплю розчину $FeCl_3$ і перемішують. Спостерігають появу оксамитово–зеленого забарвлення, потім добавляють 1 краплю розчину лугу – виникає вишнево–червоне забарвлення.

1.2.2. Реакція з діазореактивами

Принцип методу: при взаємодії діазореактива з адреналіном рідина забарвлюється в червоний колір внаслідок утворення складної сполуки типу азобарвника.

Матеріали і реактиви: розчин адреналіну (1:1000), 1%-ний розчин сульфосаліцилової кислоти, 5%-ний розчин нітриту калію, 10%-ний розчин Na_2CO_3.

Обладнання: пробірки, піпетки.

Хід роботи: до 1 мл розчину сульфосаліцилової кислоти приливають 1 мл розчину нітриту натрію (суміш діазореактиву), 1,5 мл розчину адреналіну і 1 мл розчину Na_2CO_3. Перемішують, спостерігають забарвлення розчину в червоний колір.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

1.2.3.Реакція з йодатом калію

Принцип реакції: адреналін в кислому середовищі з йодовато кислим калієм утворює сполуки червоно–фіолетового кольору.

Матеріали і реактиви: розчин адреналіну (вміст ампули розчиняють в 100 мл води), 10%-ний розчин KIO_3, 10%-ний розчин оцтової чи ортофосфатної кислоти.

Обладнання: пробірки, піпетки, крапельниця.

Хід роботи: до 0,5 мл розчину адреналіну приливають 1 мл розчину KIO_3, 10 крапель розчину оцтової чи ортофосфатної кислоти і суміш підігрівають до температури 60–65 ^{0}С. З'являється інтенсивне червоно – фіолетове забарвлення.

1.3. Кількісне визначення адреналіну за Фоліним

Принцип методу: метод заснований на колориметричному визначенні інтенсивності синього забарвлення, викликаного при взаємодії адреналіну з реактивом Фоліна.

Реактив Фоліна складається із солей фосфорновольфрамової і фосфорномолібденової кислот. Ці солі при взаємодії з адреналіном відновлюється з утворенням більш низьких оксидів металів, комплекси яких забарвлюються в синій колір.

Матеріали і реактиви: стандартний розчин адреналіну (в мірну колбу 25 мл відмірюють 1 мл розчину адреналіну (1:1000) і доводять до риски водою – 1 мл такого розчину містить 0,04 мг адреналіну), 10%-ний свіжоприготований розчин Na_2CO_3, реактив Фоліна.

Обладнання: фотоколориметр, пробірки, піпетки, мірні колби на 25 мл.

Хід роботи: готують дві мірні сухі пробірки ємкістю 10 мл. В першу вносять 1 мл стандартного розчину адреналіну, в другу 1 мл досліджуваного розчину, приливають по 4 мл розчину Na_2CO_3 і по 0,5 мл реактиву Фоліна. Вміст обох пробірок струшують. Рідина поступово забарвлюється в синій колір, досягається найбільшої інтенсивності через 3-5 хвилин. Далі об'єм рідини в пробірках доводять до риски розчином Na_2CO_3. Вміст пробірок перемішують і забарвлення досліджуваного розчину порівнюють в колориметрі із забарвленням стандартного розчину адреналіну.

Масову концентрацію адреналіну в дослідному розчині (мг/мл) розраховують за формулою:

Національний університет водного господарства та природокористування

$$l = l_0 \cdot \varepsilon_{дос.}/\varepsilon_{ст.},$$

де l_0 – масова концентрація адреналіну в стандартному розчині (0,04 мг/мл), $\varepsilon_{дос.}/\varepsilon_{ст}$ – екстинкція досліджуваного і стандартного розчинів адреналіну відповідно.

1.4. Реакція на гормон підшлункової залози (інсулін)

1.4.1. Реакції, що свідчать про білкову природу інсуліну

Принцип реакції: інсулін дає ряд реакцій, специфічних для білків: біуретову, Фоля, Геллера, Міллона. Для якісних реакцій використовують розчин інсуліну в ампулах.

Матеріали і реактиви: розчин інсуліну в ампулах, 0,1%-ний розчин гідроксиду натрію, 0,5%-ний розчин оцтової кислоти, 20%-ний розчин сульфосаліцилової кислоти.

Обладнання: штатив з пробірками, піпетки, крапельниця.

Хід роботи:

А. Реакція з розбавленим розчином гідроксиду натрію. До 1–1,5 мл розчину інсуліну приливають по краплях розчин гідроксиду натрію до випадання пластівкоподібного осаду, який розчиняється при підкисленні розчином оцтової кислоти (до pH = 2,5–3,5).

Б. Осадження інсуліну сульфосаліциловою кислотою. В пробірку до 1 мл розчину інсуліну приливають 3–5 крапель розчину сульфосаліцилової кислоти. Спостерігається осадження осаду.

Запитання для самоконтролю

1. Що таке глікозиди? На які групи їх поділяють?
2. Розкажіть про особливості О-глікозидів та їх класифікацію.
3. Що являють собою ціаногенні глікозиди? Розкажіть про їх утворення і знешкодження HCN.
4. Розкажіть про стероїдні глікозиди – серцеві глікозиди та сапоніни. Які їхні будова і дія на людський організм?
5. Що ви знаєте про S-глікозиди, про N- і C-глікозиди?
6. Розкажіть про роль глікозидів у рослині та їх практичне застосування.
7. Дайте загальну характеристику терпенам і терпеноїдам. Як вони класифікуються? Розкажіть про ізопрен і його похідні.
8. Розкажіть про терпении і терпеноїди – компоненти ефірних олій.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

9. Що таке ефірні олії? Які їхній склад і поширення? Які функції ефірних олій у рослин та їх практичне застосування? Розкажіть про способи одержання ефірних олій.

10. Що таке бальзами і смоли? Які терпении і терпеноїди входять до складу смол?

11. Які терпении і терпеноїди належать до групи поліпренолів?

12. Розкажіть про каучук і гуту.

13. Як відбувається біосинтез терпенів? Яка сполука є вихідною? Які – проміжними?

14. Які функції терпенів і терпеноїдів у рослині?

15. Яку роль грають гормони в живому організмі?

16. До яких сполук відносяться ейкозаноїди? Яка їх функція в організмі?

17. Яку фізіологічну дію проявляють простагландини?

18. Дайте загальну характеристику стероїдам. Як вони класифікуються?

19. Що являють собою ліпоксини?

20. Що ви знаєте про стероїди-сапонини?

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Контрольні завдання

1. На які групи поділяються гормони за їх хімічною будовою? Наведіть приклади.

2. Як поділяють гормони за морфологічною модифікацією? Наведіть приклади.

3. Які функції виконує соматотропний гормон в організмі?

4. Яка біологічна функція адренокортикотропного гормону?

5. Які процеси контролюють в організмі тиреоїдинні гормони (наприклад, тироксин-тетрайодтионін).

6. В чому проявляється дія гормону альдостерону на нирки в організмі?

7. Опишіть шлях синтезу лейкотриєнів в організмі.

8. Приведіть хімічну будову тромбоксанів і їх позначення. Яку біологічну дію вони проявляють?

9. Як відбувається процес біотрансформації арахідонової кислоти?

10. Приведіть схему йодування високомолекулярного білка тиреоглобуліну з утворенням йодотиронінів.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

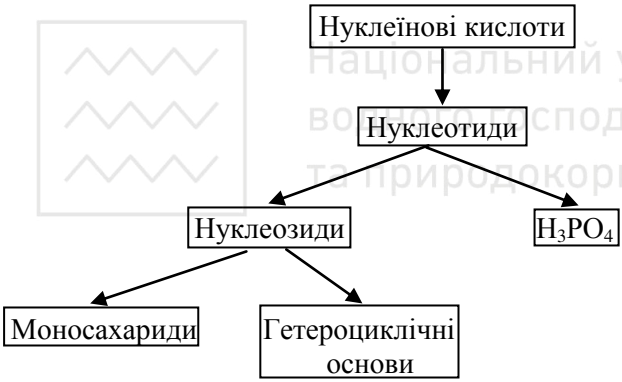
РОЗДІЛ 7
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА „НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ”

Мета роботи – вивчення хімічного складу нуклеопротеїдів і продуктів їх гідролізу.

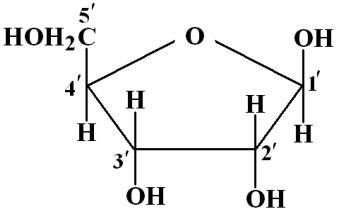
Нуклеїнові кислоти

Нуклеїнові кислоти є високомолекулярними біополімерами, які побудовані з ланок полісахариду, гетероциклічної основи і фосфатної кислоти. Вони містяться у всіх рослинних і тваринних клітинах, бактеріях, вірусах.

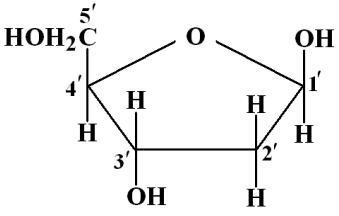
При гідролізі нуклеїнових кислот утворюються структурні одиниці – нуклеотиди, нуклеозиди, фосфатна кислота, моносахариди та гетероциклічні основи:



Залежно від виду моносахариду (пентоди) розрізняють два типи нуклеїнових кислот: рибонуклеїнову кислоту (РНК), яка містить D-рибозу та дезоксирибонуклеїнову кислоту (ДНК), яка містить 2-дезокси-D-рибозу:



D-Рибоза
(β-D-рибофураноза)

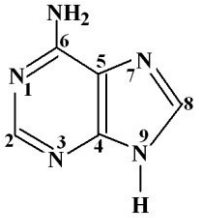


2-Дезокси-D-рибоза
(2-дезокси-β-D-рибофураноза)

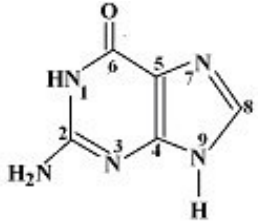
Національний університет
водного господарства
та природокористування

В обох типах нуклеїнових кислот містяться азотисті основи груп пурину – аденін (А), гуанін (Г) і піримідину – цитозин (Ц), тимін (Т) або урацил (У):

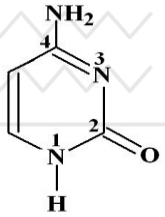
Всі азотисті основи прийнято позначати першою літерою їхньої назви: А, Г, Ц, Т, У. Слід зазначити, що урацил завжди міститься лише в РНК, а тимін – в ДНК. Назву „кислоти" нуклеїнові кислоти дістали завдяки наявності в їхній молекулі залишку фосфатної кислоти.



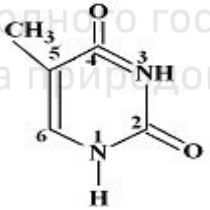
Аденін (А),
або 6-амінопурин



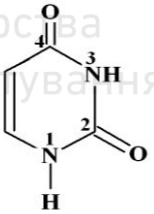
Гуанін (Г),
або 2-аміно-6-оксопурин



Цитозин (Ц),
або 4-аміно-2-
оксопіримідин



Тимін (Т), або 5-метил-
2,4-діоксопіримідин

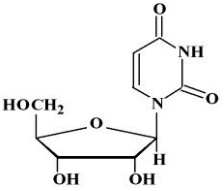


Урацил (У), або 2,4-
діоксопіримідин

Нуклеозиди та нуклеотиди

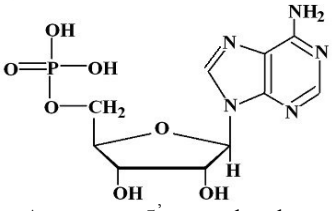
Нуклеозиди побудовані з цукру та основи, а нуклеотиди – з цукрів, основи та фосфатної кислоти.

Приклад нуклеозиду:



Уридин

Приклад нуклеотиду:

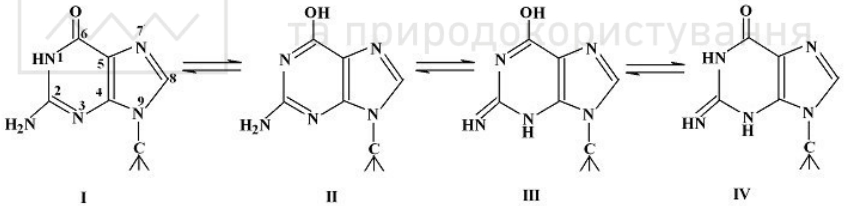


Аденозин-5'-монофосфат

Встановлено, що в молекулі нуклеозиду гетероциклічні основи сполучаються з рибозою N-глікозидним зв'язком за участю NH-групи дев'ятого за нумерацією атома Нітрогену для пуринових і першого для піримідинових основ.

Утворення N-глікозидних для цитозину, тиміну й урацилу вимагає таутомерізації їх до лактамної форми.

Здатність гетероциклічних основ до таутомерних перетворень відіграє важливу роль при формуванні просторової структури ДНК і РНК. Для пуринових основ можливе існування відповідних таутомерних форм (на прикладі гуаніну):



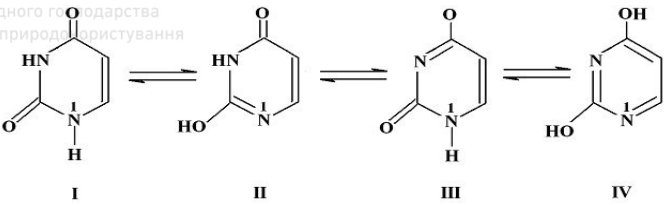
I II III IV

Таутомерні форми гуанінового фрагменту

У випадку піримідинових основ спостерігається лактим-лактамна й імін-енамінна таутомерії. Наприклад, для цитозину можлива амінна таутомерія з двох форм, а для урацилу можливе існування чотирьох таутомерних форм:

Амінна форма Цитозин Імінна форма

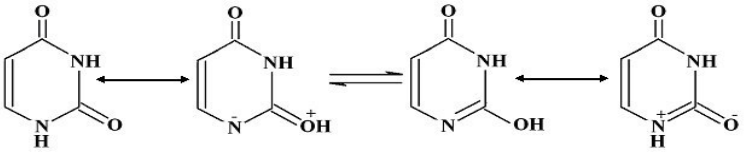
Національний університет
водного господарства
та природокористування



I II III IV

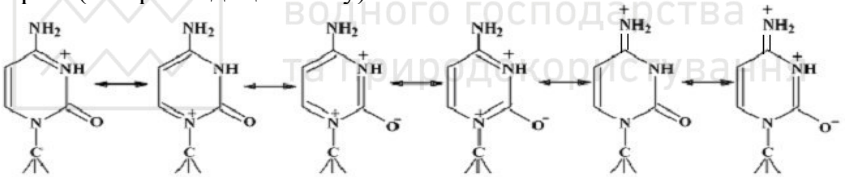
Урацил

Кожну з таутомерних форм можна показати двома резонуючими структурами (на прикладі урацилу):



Резонуючі структури таутомерів урацилу

Гетероциклічні основи можуть також утворювати протонові форми (на прикладі цитозину):



Протонові форми цитозину

В молекулі ДНК цукор кожного нуклеотиду зв'язаний через фосфатний залишок із цукром сусіднього нуклеотиду, тобто молекула складена з полінуклеотидних ланцюгів, закручених в правосторонні спіралі й переплетених таким чином, що утворюється подвійна спіраль діаметром 1,8-2,0 нм і довжиною до 2 мм (рис.5).

Більшість РНК на відміну від ДНК – одно ланцюгові. Основна роль РНК полягає в трансляції генетичної інформації з утворенням білків.

За функціональною дією розрізняють такі РНК: транспортну (тРНК), інформаційну матричну (мРНК) та рибосомальну (рРНК). Вміст РНК у клітинах перевищує вміст ДНК у 5-10 разів.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

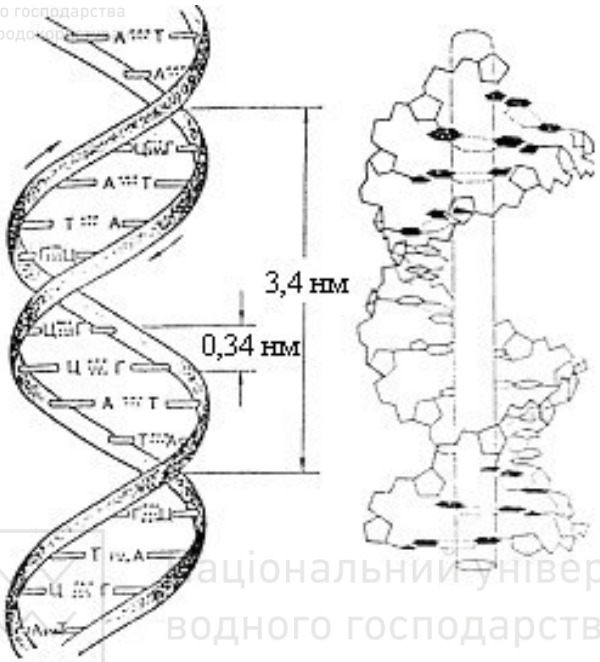


Рис.5. Подвійна спіраль ДНК за Дж.Уотсоном і Ф.Кріком

Транспортна тРНК складається з 75-85 нуклеотидів. Міститься вона у цитоплазмі, кількість якої досягає 10-15%. тРНК може бути різних типів, ймовірно, по одному специфічному типу для кожного кодону генетичного коду. За допомогою відповідного ензиму такі тРНК „розпізнають" лише свою амінокислоту і активують її.

Матрична мРНК налічує до 10000 нуклеотидів. Вона знаходиться в ядрі клітини. Її кількість складає до 5% від усіх РНК, що входять до складу клітини.

Матрична мРНК синтезується в ядрі і зв'язується з ДНК за допомогою водневих зв'язків. Вона є копією різних ділянок подвійної спіралі ДНК і служить носієм спадкової інформації та виконує матричну функцію при синтезі білка.

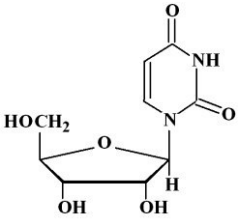
Рибосомні рРНК в усіх клітинних кислотах становлять 80-85%. Вони беруть участь у синтезі білків, з якими утворюють зв'язки.

Рибосомальну рРНК виявлено в рибосомах разом із специфічними білками, в евкаріот вона утворюється на ДНК ядерець.

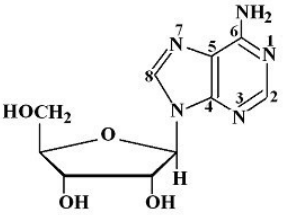
Національний університет водного господарства та природокористування

Рибонуклеозиди та дезоксирибонуклеотиди

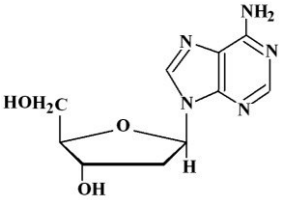
За аналогією з РНК і ДНК існують рибонуклеозиди і дезоксирибонуклеозиди, що відрізняються від природної рибозної альдопентози:



Уридин (1-β-рибофуранозилурацил)



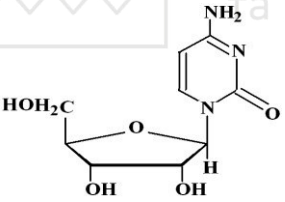
Аденозин (9-β-D-рибофуранозиладенін)



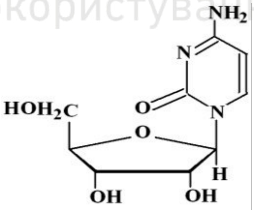
2'-Дезоксиаденозин (9-β-2'-дексози-D-рибофуранозиладенін)

Національний університет водного господарства та природокористування

Відносно рибозного циклу для нуклеотидів характерна син- або анти-конформація пуринових і піримідинових основ:



анти-Цитидин



син-Цитидин

Нуклеозидам характерні всі властивості моносахаридів і відповідних гетероциклічних основ. Вони розчиняються у воді, здатні до кристалізації, проявляють основні властивості тощо.

Наявність у молекулі моносахариду гідроксильних груп OH^- дозволяє рибозному фрагменту взаємодіяти з фосфатною кислотою з утворенням нуклеотидів. Назви нуклеотидів приведені в табл.10.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Таблиця 10

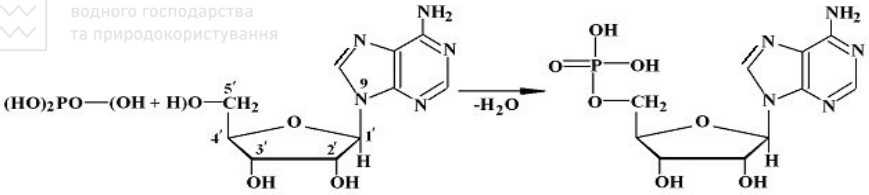
Назви нуклеотидів

Гетеро-циклічна основа	Монофосфати	Кислоти	Позна-чення
1	2	3	4
Урацил	Уридин-5’-монофосфат	5’-Уридилова	УМФ
Цитозин	Цитидин-5’-монофосфат	5’-Цитидилова	ЦМФ
Цитозин	Дезоксицитидин-5’-монофосфат	Дезоксицитидилова	дЦМФ
Тимін (тільки до ДНК)	Тимідин-5’-монофосфат	Тимідилова	ТМФ
Аденін	Аденозин-5’-монофосфат	5’-Аденілова	АМФ
Гуанін	Гуанозин-5’-монофосфат	5’-Гуанілова	ГМФ
Аденін	Дезоксиаденозин-5’-монофосфат	Дезоксиаденілова	дАМФ
Гуанін	Дезоксигуанозин-5’-монофосфат	Дезоксигуанілова	дГМФ
Аденін	Аденозин-5’-монофосфат	3’-Аденілова	3’-АМФ

Нуклеотиди та дезоксирибонуклеотиди

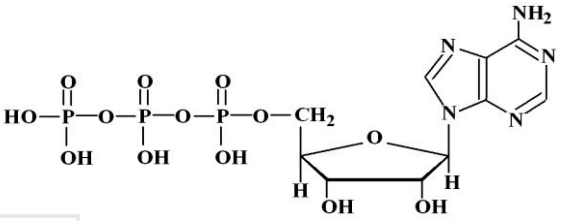
Залежно від природи моносахариду розрізняють рибонуклеотиди і дезоксирибонуклеотиди. При взаємодії аденозин-нуклеотиду з фосфатною кислотою утворюється аденозин-5’-монофосфатний нуклеотид (АМФ), а при подальшій взаємодії утворюється аденозинодифосфат (АДФ) і аденозинотрифосфат (АТФ):

Національний університет
водного господарства
та природокористування



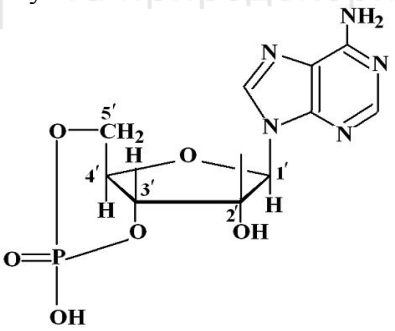
Аденозин-нуклеотид (9-β-рибофуранозиладенін)

Аденозин-5’-монофосфат-нуклеотид (АМФ)



Аденозин -5’-трифосфат (АТФ)

Окрему групу нуклеотидів складають такі циклічні нуклеотиди, як цАМФ, цГМФ, які є важливими регуляторами дії гормонів у процесах метаболізму:



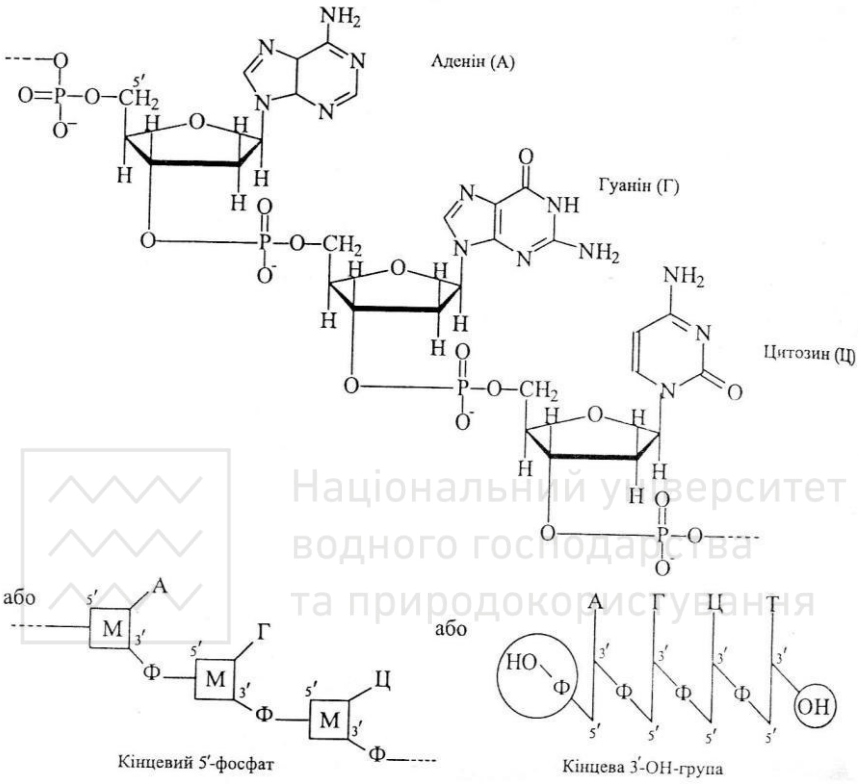
Аденозин -3’-5’-цикломонофосфат (цАМФ)

Крім АТФ, існують інші нуклеозидотрифосфати. Так, ЦТФ є учасником синтезу фосфоліпідів, ГТФ – білків тощо.

Нуклеотиди є безбарвними кристалічними речовинами, які добре розчиняються у воді. Їхні основні властивості проявляють азотисті фрагменти, а кислотні – залишки фосфатної кислоти.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Полінуклеотидний ланцюг ДНК прийнято зображати первинною структурою або стислою формою, що нагадує проекції Фішера:



де М – залишки моносахаридів; А, Г, Ц і Т – відповідні гетероциклічні основи і Ф – залишки фосфатної кислоти.

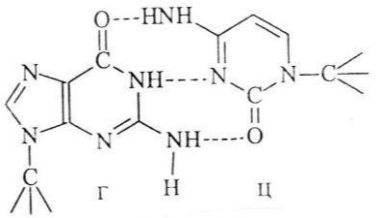
Вторинною структурою макромолекули ДНК є два макроланцюги у формі подвійної спіралі за яку Дж.Уотсон і Ф.Крік в 1962 році отримали Нобелівську премію з фізіології та медицини.

Згідно правила еквімолекулярності Е.Чаргаффа в молекулі ДНК кількість піримідинових основ відповідає кількості пуринових, тобто

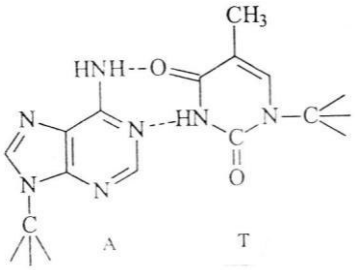
$$А + Г = Т + Ц.$$

Між ними виникають водневі зв’язки (гідрогенні), при цьому стабільність комплементарної пари А-Т забезпечується двома водневими зв’язками, а Г-Ц – трьома:

Національний університет
водного господарства
та природокористування



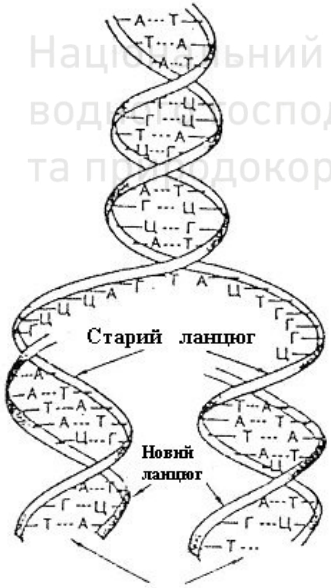
Взаємодія гуаніну (Г)
з цитозином (Ц)



Взаємодія аденіну (А)
з тиміном (Т)

При реплікації із однієї подвійної спіралі ДНК у клітинному ядрі утворюються дві нові подвійні спіралі (рис.2).

Подвійна спіраль ДНК



Нові ланки ДНК
Схема реплікації ДНК

Таким чином розвиток існування біологічног життя, передавання спадкових ознак полягає у перенесенні молекулами РНК відповідної хімічної інфомації від ДНК на новий білок.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Експериментальна частина

Матеріали і реактиви: гідролізат нуклеопротеїдів дріжджів (див.роботу 1.1), 10%-ний розчин натрію гідроксиду, 1%-ний розчин сульфату купруму(II).

Обладнання: пробірки, піпетки, крапельниця.

Хід роботи: в пробірку вносять 0,5 мл гідролізату, нейтралізують (за лакмусом) розчином NaOH, потім додають 0,5 мл розчину NaOH і 2-3 краплі розчину $CuSO_4$. Суміш перемішують і спостерігають появу забарвлення, яке свідчить про наявність в пробі полі пептидів, що утворюються в результаті гідролізу білкової частини нуклеопротеїдів.

1.1. Знаходження пуринових основ в складі нуклеопротеїдів

Принцип методу: метод полягає в утворенні комплексів пуринових основ з Аргентумом.

Матеріали і реактиви: концентрований розчин амоніаку, 1%-ний розчин $AgNO_3$, дріжджі (в круглодону колбу для гідролізу поміщують 1 г пекарських дріжджів, доливають 20 мл 10%-ного розчину сульфатної кислоти і 20 мл дистильованої води, колбу закривають пробкою, в яку вставлена скляна трубка довжиною 20-30 см (холодильник), кип'ятять під тягою протягом 1 год на азбестовій сітці при слабкому нагріванні, після закінчення гідролізу рідину охолоджують, доводять водою до початкового об'єму і фільтрують.

Обладнання: колба, піпетки, пробірки, лійка, скляна трубка довжиною 20-30 см, газовий пальник.

1.2. Знаходження фосфатної кислоти в складі нуклеопротеїдів

Принцип методу: метод полягає у взаємодії фосфатної кислоти з молібденовим реактивом з утворенням забарвленої сполуки – фосфатної солі молібдата амоніаку:

$$12(NH_4)_2MoO_4 + H_3PO_4 + 21HNO_3 \rightarrow$$
$$21NH_4NO_3 + (NH_4)_3PO_4 \cdot 12MoO_3 \cdot 6H_2O + 6H_2O.$$

Матеріали і реактиви: гідролізат нуклеопротеїдів дріжджів (див.роботу 1.1) молібденовий реактив (7,5 г молібдата амоніаку розчиняють в 100 мл води і додають 100 мл 32%-ного розчину

Національний університет водного господарства та природокористування

нітратної кислоти з відносною густиною 1,2 (повне розчинення $(NH_4)_2MoO_4$) відбувається після додавання нітратної кислоти).

Обладнання: пробірки, піпетки, газовий пальник.

Хід роботи: до 1 мл гідролізату додають 1 мл молібденового реактиву і кип'ятять. Рідина забарвлюється в лимонно-жовтий колір, а при охолодженні випадає кристалічний осад жовтого кольору, що вказує на утворення фосфатмолібденового амоніаку.

1.3. Знаходження білків в складі нуклеопротеїдів

Принцип методу: для підтвердження білків в складі нуклеопротеїдів проводять біуретову реакцію. Ця реакція характерна для сполук, які містять не менше двох пептидних зв'язків. Такі полімери)білки) в лужному середовищі утворюють із сульфатом купруму забарвлені комплексні сполуки, колір яких залежить від довжини поліпептидного ланцюга. Розчин нативного білка дає синьо-фіолетове забарвлення, а продукти його гідролізу (пептиди) – червоно-фіолетове.

Національний університет водного господарства та природокористування

Запитання для самоконтролю

1. До складу яких сполук входять нуклеїнові кислоти?
2. Які сполуки утворюються при гідролізі нуклеїнових кислот?
3. З яких типів структурних одиниць складаються макромолекули нуклеїнових кислот?
4. На які сполуки поділяються нуклеїнові кислоти в залежності від природи моносахариду?
5. Що собою представляють рибонуклеїнові кислоти (РНК) і дезоксирибонуклеїнові кислоти (ДНК)?
6. Які гетероциклічні азотисті основи (аглікони рибози) входять до складу нуклеїнових кислот?
7. На які нуклеотиди поділяються нуклеїнові кислоти в залежності від природи моносахариду?
8. Яка особливість будови дезоксирибонуклеїнових кислот, яка визначально впливає на їхню здатність до передавання генетичної інформації?
9. В чому полягає процес реплікації ДНК?
10. На які види поділяються РНК за їх функціональною дією?

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Контрольні завдання

1. Наведіть таутомерні форми гуанінового фрагменту.

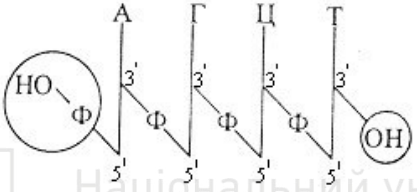
2. Приведіть схему утворення N-глікозидних зв'язків для цитозину при утворенні цитидину.

3. Покажіть усі можливі протонові форми цитозину.

4. Для урацилу покажіть можливе існування чотирьох таутомірних форм, а також кожну із форм показати двома резонуючими структурами.

5. Напишіть рівняння реакції послідовного утворення монофосфату (АМФ) і адезінотрифосфату (АТФ).

6. За стислою формою приведіть первинну структуру ДНК:



7. В чому полягає стадія ініціації синтезу білка? Опишіть її, наведіть схеми.

8. Опишіть стадію лонгації біосинтезу білка.

9. На якій стадії блокується подальше зростання поліпептидного ланцюга при біосинтезі білка і в чому вона полягає?

10. Що представляє собою мутація і як поділяються мутагени за характером їх дії?

Національний університет
водного господарства
та природокористування

РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Холодова Ю.Д., Шатурський Я.П. „Біонеорганічна хімія” - К., „Альфа-Принт”, 2000.

2. Ю.О.Ластухін „Хімія природних органічних сполук”, Навч.посібник. – Львів; Національний університет „Львівська політехніка”, „Інтелект-захід”, 2005.

3. Гудвин Т., Мерсер Э. „Введение в биохимию растений”. М., Мир, 1986.

4. Кнорре Д.Г., Мизина С.Д. „Биологическая химия”. - М., „Высшая школ”, 1998.

5. „Практикум з біологічної хімії”. За редакцією професора О.Я.Солярова. - К., „Здоров’я”, 2002.

6. Кретович В.Л. „Біохімія растений”. – М.: Высшая школа, 1980.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Допоміжна література

1. Степаненко Б.Н. Химия и биохимия углеводов (полисахариды). – М.: Высшая школа, 1978.

2. Растительных белки и их биосинтез/ Под ред. В.Л.Кретовича. – М.: Наука, 1975.

3. Стаценко А.П. О криозащитной роли амінокислот в растениях// Физиология и биохимия культурных растений, т.24, №6, 1991.

4. Беззубов А.П. Химия жиров. – М.: Пищевая промышленность, 1975.

5. Негруцкий С.Ф. Липидный обмен растений. – Донецк, 1986.

6. Верещагин А.Г. Биохимия триглицеридов. – М.: Высшая школа, 1972.

7. Березовський В.М. Химия витаминов. – Пищевая промышленность, 1973.

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Додатки

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Навчальне видання

Турчин Петро Феофанович
Турчина Катерина Петрівна

БІОНЕРОРГАНІЧНА ТА БІООРГАНІЧНА ХІМІЯ

Практикум

Навчальний посібник

Національний університет
водного господарства
та природокористування

Друкується в авторській редакції
Комп'ютерний набір і верстка Данилюк Т.Й.

Підписано до друку 00.00.2008 р. Формат 60 × 84 $^{1}/_{16}$
Папір друкарський №1. Гарнітура Times. Друк ізографічний.
Ум.- друк.арк. 0,0 Обл.-вид.арк.9,5.
Тираж 000 прим. Зам. №

Редакційно-видавничий цент
Національного університету
водного господарства та природокористування
33000, Рівне, вул.Соборна,11.

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до державного Реєстру видавців, виготівників і розповсюджувачів видавничої Продукції РВ №31 від 26.04.2005 р.

Вміст вітамінів у деяких продуктах

№ з.п.	Продукти	Вітаміни														
		аліфатичні			ациклічні			аромати-чні	гетероциклічні							
		С, мкг 100г	B_3, мкг г	B_4, мкг 100г	А, мкг 100г	D, мкг 100г	B_8, мкг 100г	К, мкг г	Е, мкг г	B_5, мкг г	B_6, мкг г	B_C, мкг 100г	B_2, мкг г	B_{12}, мкг 100г	Н, мкг 100г	B_1, мкг г
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	Плоди шипшини	2000-4500														
2	Горіх грецький	До 3000													37	
3	Смородина чорна	100-400														
4	Перець червоний	100-400														
5	Кріп	135														
6	Полуниця	60														
7	Цитрина	55														
8	Печінка та селезінка	20-55				0,2-1,2	0,5							50-130		
9	Мандарини	25-45														
10	Капуста	30-40			6			20-40				15				1,6-2,6
11	Картопля молода	20-40														
12	Томати	20-40			3										40-100	

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
13	Яблука	5-40														
14	Цибуля зелена	16,5-33			9							11				
15	Виноград	0,4-12														
16	Цибуля)ріпка)	2-10														
17	Молоко	0,7-2,6	22	24		0,01-0,25				0,1	0,09-0,32		1,0	0,2-0,6		0,4-0,8
18	М’язи	0,9					0,1									
19	Дріжджі пивні		200			2500-12500					5,2-41	1470	30		71	27-66
20	Печінка рогатої худоби		80-180			0,2-1,2		1,0		2500	7-31	160			96-112	0,2-4,2
21	Яєчний жовток		125		1,5-2,5	3,5-12,5					4-11			50-130		
22	М’ясо		38							47		27	1-2			1,2-2,5
23	Картопля		28					1,0		14			0,4			0,8-1,8
24	Риба (лосось)		28							30						1,2
25	Гречка		26													
26	Рис		17-21	85												
27	Морква		13		9			20		3	0,3-7				28-40	1,2-1,6
28	Пшениця		11					0,5	9	29	1,9-3,7	37				4,4-6,8
29	Яблука		0,3													
30	Соя			270											78-90	

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
31	Горох			200									1,5		24	8,0
32	Овес			110											17-24	
33	Ячмінь			110												
34	Крупа вівсяна			94												5,0
35	Баранина			90						38						
36	Молоко сухе			81												
37	Крупа рисова			78												
38	Борошно пшениці 1 сорту			76					15							
39	Свинина			75						26				0,1-5		5-6
40	Яловичина			70						47				2-8		1,2-2,5
41	Борошно з пшениці II сорту			61												
42	Вершки (20%			47												
43	Сир			46									4	1,4-3,6		
44	Жир печінки морського окуня				37000											
45	Жир печінки палтуса				2500-15000											
46	Печінка бика				15-30			1,0					10-25			
47	Жир печінки тріски				0,2-27,5											
48	Риб'ячий жир				15											

1	2	3	4		6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
49	Нирки				2,0-2,5							56	10-20			
50	Масло вершкове				1,2	1-8										
51	Пальмова олія				202											
52	Облепихова олія				80-100											
53	Перець червоний				10											
54	Селезінка свиняча						4									
55	Серце волове						2,7							25		
56	Легені свинячі						2									
57	Селезінка волова						1,9									
58	Нирки свинячі						1,4									
59	Легені волові						0,8									
60	Печінка свиняча					0,2-1,2	0,6	1,0		2500						
61	Серце свиняче						0,5									
62	Шпинат							60				53				
63	Гарбуз							40				20				
64	Олія з зародків пшениці								2620-2740				7,8-14,5			27-54
65	Олія соєва								1150							
66	Олія бавовняна								830-1100							
67	Олія соняшникова								510							
68	Олія арахісова								340							

Національний університет водного господарства та природокористування

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
69	Висівки дрібні								32	300						8,8
70	Яйця									0,8	0,14-0,39	13	2		9	
71	Квасоля											36				
72	Боби											160				
73	Петрушка											117				
74	Салат											40				
75	Жито											35	1,7-2,9			
76	Капуста цвітна											25				
77	Смородина чорна											16				
78	Буряк столовий											13				
79	Диня											10				
80	Кавун											0,5				
81	Какао														94	
82	Чай чорний														82	
83	Малина														46-59	
84	Зерно вівса															
85	Банани														18	
86	Рисові висівки														15-20	
87	Манна крупа														12	
88	Оселедець													11		
89	Печінка оселедця													34		
90	Кукурудза			71								24				
91	Перець зелений										8,2-53					

Національний університет водного господарства та природокористування

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
92	Овочі												0,1-0,5			
	Добова потреба людини у вітаміні	До 100 мг і навіть до 1 г	10-15 мг	1-4 г	1-2.% мг	0,02-0,4 мг	10-1,5 г	20-30 мг	20-50 мг	15-25 мг	2-3 мг	0,2-0,5 мг	2-3 мг	2,5-5 мг	150-200 мг	