

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА И  
ПРОДОВОЛЬСТВИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
"ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ"

Кафедра фармакологии и физиологии

***ПРАКТИКУМ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ  
И ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ  
по «Общей биологической химии»***

(часть 1 – статическая биохимия)

для студентов 2 курса инженерно-технологического факультета  
по специальностям

1-49010202 «Технология переработки молока и молочных  
продуктов», 1-49010201 «Технология переработки мяса и  
мясопродуктов», 1-49010101 «Технология хранения и  
переработки зерна» и 1-4901012 «Технология хлебопекарного,  
макаронного, кондитерского производства и пищекокцентратов»

Гродно 2011

УДК 577.1(076)

ББК28.072

П 69

Авторы: Л.Б. Заводник, Т.Н. Будько, О.Н. Почебут

Рецензенты:

профессор, доктор биологических наук А.Ф.Макарчиков

доцент, кандидат биологических наук Н.Э. Петушок

П-69      **Практикум для лабораторных работ** по «Общей биологической химии» (часть 1 – статическая биохимия) / Л.Б. Заводник, Т.Н. Будько, О.Н. Почебут – Гродно : ГГАУ, 2011 – 70 с.

УДК 577.1(076)

ББК28.072

Практикум для лабораторных работ по «Общей биологической химии» составлен в соответствии с учебной программой для студентов инженерно-технологического факультета по специальностям 1-49010101 «Технология хранения и переработки зерна», 1-4901012 «Технология хлебопекарного, макаронного, кондитерского производства и пищекопцентратов», 1-49010201 «Технология переработки мяса и мясopодуKтов» и 1-49010202 «Технология переработки молока и молочных продуктоB» и предназначен для выполнения лабораторных работ за 2 курс. Рассмотрены основные принципы статической биохимии: структура, физико-химические свойства, биологическая роль и значение основных классов биологических макромолекул и ионов в организме человека.

Рекомендовано учебно-методической комиссией инженерно-технологического факультета УО «ГГАУ» (Протокол № 5 от 13.01.2011 года).

© Т.Н. Будько, Л.Б. Заводник, О.Н. Почебут, 2011

© УО «ГГАУ», 2011

## **ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В БИОХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ**

При работе в биохимической лаборатории особое внимание обращают на технику безопасности. Соблюдение техники безопасности обязательно при всех видах работ в лаборатории.

1. Обязательно ознакомьтесь с описанием работы по методическому указанию.

2. Соблюдайте меры предосторожности при работе со стеклом.

3. Реактивы для опытов берите в количествах, указанных в указаниях.

4. Работайте с раздражающими веществами в вытяжном шкафу.

5. Не пробуйте вещества на вкус и не нюхайте их.

6. Будьте особенно осторожны в обращении с концентрированными растворами кислот, щелочей, огнеопасными и ядовитыми веществами.

7. Не оставляйте банки и склянки с реактивами открытыми.

8. Не загрязняйте реактивы, используйте чистые пипетки.

9. Не выливайте и не выбрасывайте остатки реактивов в канализацию.

10. Правильно пользуйтесь нагревательными приборами и строго соблюдайте правила безопасности при нагревании.

11. Спиртовку гасите, накрывая пламя колпачком.

12. При нагревании пробирку сначала прогревают всю, а затем в нужном месте.

13. Отверстие пробирки при нагревании направляйте в сторону от себя и других.

## **Тема 1. ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ. КОНЦЕНТРАЦИЯ ИОНОВ ВОДОРОДА (pH) И БУФЕРНЫЕ СИСТЕМЫ**

### **Вопросы:**

1. Содержание предмета биологической химии. Роль и место ее среди других общетеоретических и профильных дисциплин.
2. История биохимии как науки.
3. Кислотно-основное равновесие и механизмы его регуляции.
4. Реакция среды: кислая, нейтральная, щелочная. Методы определения.
5. Механизм действия буферных растворов. Буферная емкость.
6. Буферные системы крови.
7. Значение постоянства pH для организма.
8. Нарушение кислотно-основного равновесия: ацидоз и алкалоз.

### **Понятие о буферной системе. pH среды и его значение**

В живом организме осуществляются процессы регуляции и координации происходящих физиологических и биохимических процессов. Направленность и скорость этих процессов во многом определяется влиянием целого ряда факторов. Одним из них является *концентрация водородных ионов (pH)*. Важность поддержания постоянства pH обусловлена тем, что ферменты и гормоны проявляют свое действие только при строго определенных значениях водородного показателя.

*Водородный показатель (pH)* – отрицательный десятичный логарифм концентрации ионов водорода в растворе, выраженный в моль/л

$$pH = -\lg[H^+].$$

Для определения pH в жидкостях используют *калориметрический* или *индикаторный* (точность  $\pm 0,1pH$ ) и *потенциометрический* ( $\pm 0,001pH$ ) методы.

Значения рН	Среда в растворе
0-3	Сильнокислая
3-7	Слабокислая
7	Нейтральная
7-11	Слабощелочная
11-14	Сильнощелочная

Индикаторные методы основаны на сравнении окраски изучаемых растворов, содержащих небольшое количество индикатора, с цветом раствора индикатора при соответствующих значениях рН.

Применяемые индикаторы представляют собой слабые органические кислоты или основания, диссоциирующие в зависимости от рН среды и изменяющие свою окраску. Недиссоциированные молекулы чаще бесцветны или имеют окраску, отличную от цвета образующихся при их диссоциации ионов. Одноцветные индикаторы – если окрашена молекула или ион индикатора; двуцветные индикаторы – молекула окрашена в один цвет, а ион – в другой. Например, метилоранж – молекула желтая (в щелочной среде), ион – красный (в кислой среде), а фенолфталеин – молекула бесцветная (в кислой среде), ион – малиново-красный (в щелочной среде).

*Универсальный индикатор* – смесь пяти различных индикаторов – изменяет окраску вдоль шкалы рН и служит для приближенного определения рН среды.

Затруднительно использование индикаторного метода при определении рН в мутноватых или имеющих собственную окраску растворах. Для более точного определения значений рН используют потенциометрические методы.

рН – это один из самых «жестких» параметров крови. Его колебания в норме крайне малы: 7,35-7,45. Даже незначительные отклонения рН в сторону уменьшения или увеличения приводят к существенным изменениям активности ферментов, проницаемости мембран и другим нарушениям с опасными последствиями для жизнедеятельности организма. При отклонениях порядка 0,3 единицы в ту или другую сторону

может наступить тяжелое коматозное состояние, а отклонение порядка 0,4 единицы может повлечь смертельный исход.

Сыворотка крови характеризуется постоянством и устойчивостью pH, хотя ежедневно в кровь поступают кислые продукты конечного распада белков, липидов, углеводов.

Поддержание постоянного уровня pH в крови и тканевых жидкостях достигается с помощью *буферных систем*. Важнейшим свойством буферных систем является их способность противодействовать влиянию добавляемых небольших количеств сильной кислоты или щелочи.

*Буферные системы* – двухкомпонентные системы, состоящие из слабого электролита, обладающего резервной кислотностью или основностью, и сильного электролита, имеющего одноименный ион со слабым электролитом и препятствующий диссоциации слабого электролита. По составу различают кислотные и основные буферы.

Например:

кислотный бикарбонатный буфер  $\text{H}_2\text{CO}_3$   
 $\text{NaHCO}_3$

основной аммонийный буфер  $\text{NH}_4\text{OH}$   
 $\text{NH}_4\text{Cl}$

Концентрация ионов водорода в буферном растворе зависит от концентрации и константы электролитической диссоциации слабой кислоты или слабого основания, от концентрации соли, имеющей с кислотой общий анион или с основанием общий катион. Вычисление pH буферных растворов производится по формуле

$$pH = pK_{HAn} - \lg \frac{[HAn]}{[KtAn]}$$

Молекулы кислот в составе буферных систем противодействуют влиянию добавляемых оснований, а анионы соли, второго компонента смеси, связывают водородные ионы, образующиеся при диссоциации молекул добавляемых сильных кислот, в молекулы слабо диссоциирующей кислоты, предотвращая заметное повышение кислотности.

Способность буферного раствора сохранять постоянство рН по мере добавления сильной кислоты или щелочи не беспредельна и ограничена величиной *буферной емкости*. Буферная емкость зависит от концентрации компонентов, составляющих буферную смесь, и выражается количеством моль эквивалентов сильной кислоты или щелочи, которое нужно добавить к 1 л данного буферного р-ра, чтобы изменить его рН на единицу. *Буферная емкость (V)* может быть рассчитана по формуле:

$$V = \frac{C}{pH_2 - pH_1},$$

где  $C$  – количество моль-эквивалентов сильной кислоты или щелочи.

Буферная емкость раствора возрастает по мере увеличения концентрации его компонентов.

Все буферные системы живого организма образуют единую взаимосвязанную систему. Буферные системы крови срабатывают в течение 30 секунд, легких – 1 – 2 мин, почек – 10 – 20 час. Гидрокарбонатная, фосфатная, гемоглобин-оксигемоглибиновая и белковая являются главными буферными системами крови. В большей мере буферным системам крови приходится противодействовать изменению рН в сторону уменьшения его значения.

Поскольку в результате обмена углеводов, липидов, белков в живом организме образуется значительное количество  $CO_2$  (до 550-775 г/сут), при взаимодействии которого с водой образуется угольная кислота в количестве, эквивалентном поступлению от 25 до 35 моль/сут ионов водорода.

Буферные системы крови:

1. Бикарбонатная (10% буферного действия)

а) в плазме  $\frac{H_2CO_3}{NaHCO_3} = \frac{1}{20}$  ;

б) в эритроцитах  $\frac{H_2CO_3}{KHCO_3} = \frac{1}{20}$ ;

2. Фосфатная (1% буферного действия):

в плазме  $\frac{NaH_2PO_4}{Na_2HPO_4} = \frac{1}{4}$ ;

3. Белковая (14% буферного действия)  $\frac{Pt - COOH}{Pt - COONa}$ ;

4. Гемоглобиновая и оксигемоглобиновая :

$$\frac{HNB}{KNB} \quad \text{и} \quad \frac{HNbO_2}{KNbO_2}.$$

Смещение кислотно-щелочного равновесия крови в сторону повышения концентрации ионов водорода (снижение рН) называется ацидозом, а смещение его в сторону снижения концентрации ионов водорода (повышения рН) – алкалозом. Ацидоз и алкалоз могут возникать как в результате непосредственного поступления в организм через пищевой тракт или органы дыхания избыточных количеств продуктов с повышенной кислотностью или щелочностью (пища, питье, загрязнение воздуха, лекарственные препараты), так и при нарушениях обмена веществ, функций дыхания и кровообращения.

### **РАБОТА 1. Приготовление буферных систем**

Реактивы: 0,1 н р-р уксусной кислоты; 0,1 н р-р уксуснокислого натрия.

Ход работы: в пять пробирок наливают р-ры 0,1н р-ра уксусной кислоты и 0,1н р-ра уксуснокислого натрия в объемах, указанных в таблице.

Приготовленные смеси хорошо перемешивают и измеряют рН калориметрическим и потенциметрическим методом. Полученные данные записывают в таблицу. Для каждого раствора рассчитывают рН теоретически по формуле:

$$pH = pK_{к-ты} - \lg \frac{[кислота]}{[соль]},$$

где pK уксусной кислоты – 4,7;

№ пробирок	Объемы (мл)		pH		
	0,1 н р-ра CH <sub>3</sub> COOH	0,1 н р-ра CH <sub>3</sub> COONa	Калориметрический метод	Потенциометрический метод	Теоретический расчет
1	0,5	9,5			
2	1,0	9,0			
3	5,0	5,0			
4	9,0	1,0			
5	9,5	0,5			

Сделать выводы о зависимости величины pH буферного раствора от соотношения взятых компонентов.

### **РАБОТА 2. Определение буферной емкости**

Реактивы: 0,1 н р-р уксусной кислоты; 0,1 н р-р уксуснокислого натрия; универсальный индикатор; 0,1 н р-р гидроксида натрия.

Ход работы: берут два стаканчика на 50 мл и готовят ацетатный буфер из 0,1 н растворов уксусной кислоты и уксуснокислого натрия. В первой колбе соотношение кислоты и соли 7:3 (мл), а во второй 3:7 (мл). В обе колбы добавляют 2-3 капли раствора универсального индикатора. В первой колбе определяют исходное значение pH. Затем титруют 0,1н раствором гидроксида натрия до изменения pH на единицу и записывают объем (мл) затраченной щелочи.

Во второй колбе приготовленную смесь тоже титруют 0,1н раствором щелочи и учитывают ее объем, пошедший на титрование.

Сравнивают результаты титрования обеих буферных смесей, рассчитывают буферную емкость р-ров и сравнивают их.

$$B = \frac{NV_2 \times 1000}{1000 \times V_1},$$

где: Н – нормальность раствора щелочи;

$V_1$  – объем буферной смеси;

$V_2$  – объем щелочи, затраченной на титрование.

### **РАБОТА 3. Определение рН продуктов**

Реактивы: образцы растительных продуктов; дистиллированная вода.

Ход работы: 10 г отвешенного образца измельчают с помощью ножниц (скальпеля), растирают в фарфоровой ступке до получения гомогенной массы, добавляя понемногу 20 мл дистиллированной воды. Полученную массу фильтруют, и определяют рН фильтрата индикаторным и потенциометрическим методами.

Результаты заносят в таблицу:

Образец	рН	
	Индикаторный метод	Потенциометрический метод

## Тема 2. ВИТАМИНЫ

### Занятие 2. *Жирорастворимые витамины.*

1. Понятие о витаминах, провитаминах, авитаминах.
2. Основные источники витаминов.
3. Классификация и номенклатура витаминов
4. Авитаминозы, гипо- и гипервитаминозы. Причины их вызывающие. Профилактические мероприятия.
5. Жирорастворимые витамины. Общая характеристика.
6. Витамин А, строение, основные источники, биологическая роль, проявления витаминной недостаточности.
7. Витамины группы Д, строение, основные источники, биологическая роль, проявления витаминной недостаточности.
8. Витамины Е строение, основные источники, биологическая роль, проявления витаминной недостаточности.
9. Витамин К строение, основные источники, биологическая роль, проявления витаминной недостаточности.

*Витамины* – низкомолекулярные органические соединения различного химического строения, поступающие в организм с пищей и обеспечивающие нормальное протекание биохимических и физиологических процессов, участвуя в регуляции обмена веществ в организме.

*Отличительные признаки витаминов:*

- не являются пластическим материалом;
- не используются организмом как источник энергии.

Большинство витаминов содержится в достаточных количествах в пище. Частично потребность человека и животных, особенно у жвачных, в витаминах удовлетворяется за счет их синтеза микроорганизмами пищеварительного тракта. Потребность в витаминах зависит от многих *факторов*, как *внутренних* (пол, возраст, физиологическое состояние, сопутствующие болезни и др.), так и *внешних* (качество и количество пищи, стрессы, экологические условия, прием лекарственных и токсических средств и др.).

Отсутствие, недостаток или избыток витаминов в пище, нарушение процессов их усвоения приводят к *авитаминозам*,

*гипо*- и *гипер*витаминозам. Это отрицательно сказывается на обменных процессах, вызывает задержку роста и развития. К недостатку витаминов в пище особенно чувствительны дети.

Витамины согласно физической классификации *классифицируются по растворимости* на:

- Жирорастворимые : А, Д, Е, К;
- Водорастворимые: витамины группы В, Н, С, Р.

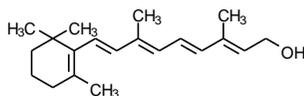
Выделяют еще *витаминноподобные* вещества: холин, карнитин, инозит, ПАБК, оротовая кислота ( $B_{13}$ ), витамин U, пангамовая кислота ( $B_{15}$ ), липоевая кислота.

Водорастворимые витамины, в отличие от жирорастворимых, не накапливаются в организме и образуют коферментные формы.

Для обнаружения витаминов в продуктах питания и биологических объектах используются качественные реакции, основанные на образовании характерной цветной реакции витамина с какими-либо химическими соединениями.

## ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

*Витамин А* (ретинол, антиксерофтальмический) содержит  $\beta$ -иононовое кольцо и боковую цепь из двух остатков изопрена и первичной спиртовой группы. Витамин А объединяет группы родственных соединений – *ретинол, ретиналь, ретиновую кислоту*.



Ретинол (витамин А)

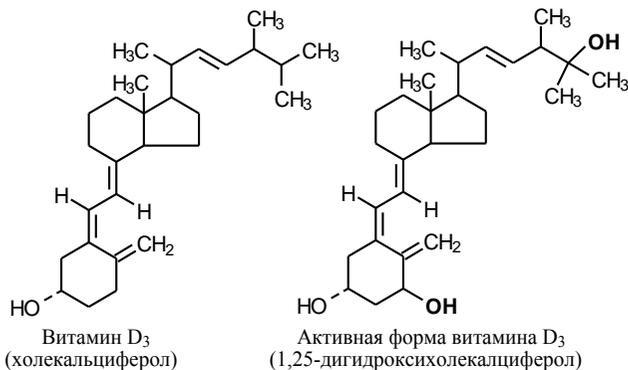
Известны витамин  $A_1$  и  $A_2$ . Витамин  $A_2$  отличается от витамина  $A_1$ , наличием дополнительной двойной связи в  $\beta$ -иононовом кольце. Биологическая активность витамина  $A_2$  для млекопитающих составляет 40% активности витамина  $A_1$ .

Витамин А содержится только в животных продуктах. Особенно богаты им рыбий жир, коровье масло, печень. В

растениях содержатся  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\beta$ -каротины предшественники витамина А.  $\beta$ -каротин обладает 1/6 активности витамина А. Каротин содержится в больших количествах в желто-оранжевых растениях (морковь и др.). В организме каротин превращается в витамин А.

Витамин А участвует в процессах зрения, входя в состав родопсина – зрительного пигмента, обуславливающего сумеречное зрение; в окислительно-восстановительных реакциях. При недостатке витамина у человека возникает сухость роговицы глаза (ксерофтальмия), сухость кожи и слизистых оболочек, приводящая в дальнейшем к поражению мочеполовых путей, дыхательного и пищеварительного тракта, что сопровождается нарушением репродуктивной функции, развитием легочных и желудочно-кишечных заболеваний.

*Витамин Д* (кальциферол, антирахитический) по химической природе представляет производное циклопентанопергидрофенантрена. Известны витамины  $D_2$  (эргокальциферол) и  $D_3$  (холекальциферол).

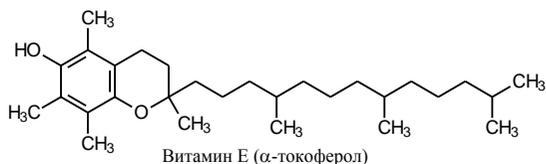


Витамин  $D_3$  образуется в коже под действием УФ из 7-дегидрохолестерина и поступает с рыбьим жиром, коровьим маслом, желтком яиц, печенью, дрожжами.

В растениях эргостерин под влиянием УФ превращается в витамин  $D_2$ .

Витамин Д<sub>3</sub> преобладает в животном организме (85% всех витаминов) и из него синтезируется (в печени, почках) гормон кальцитриол, регулирующий обмен кальция и фосфора. При недостатке витамина Д у детей развивается *рахит*, характеризующийся искривлением позвоночника, появлением Х- и О-образной постановки ног, западанием грудной клетки, задержкой развития зубов, гипотонией мышц. У взрослых наблюдается *остеомалация*, а у пожилых – *остеопороз*. При остеомалации размягчаются и деформируются кости. Остеопороз приводит к рассасыванию костной ткани, к самопроизвольным переломам.

*Витамин Е* (токоферол, антистерильный) по химической природе представляет собой α, γ, β и δ-токоферолы.

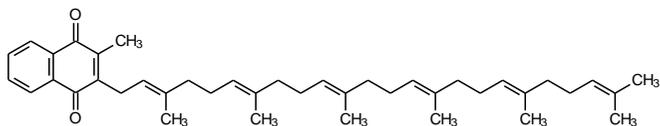


Источниками витамина являются растительные масла, семена злаков, капуста, салат, шиповник, яичный желток, молоко, мясо, сало, зеленые салаты и шпинаты. Витамин Е откладывается во многих тканях.

Витамин Е влияет на репродуктивную функцию, обмен селена в организме, выполняет *антиоксидантную роль*, защищая мембраны от перекисного окисления липидов.

При недостатке витамина Е наблюдаются дегенеративные изменения клеток репродуктивных органов, мышечная дистрофия, парезы, параличи. У самцов угнетается сперматогенез, половые функции, а при беременности нарушается развитие плода, и наблюдаются самопроизвольные аборт.

*Витамин К* (филлохинон, антигеморрагический) по химической природе представляет производное нафтохинонов.



Витамин К<sub>2</sub> (менахинон).

Источниками витамина К являются шпинат, томаты, тыква, капуста, ягоды рябины, арахисовое масло, печень. У взрослых потребность в витамине частично удовлетворяется за счет бактериального синтеза в пищевом канале.

Витамин К участвует в биосинтезе компонентов, необходимых для *свертывания крови*.

При недостатке витамина у человека возникают кровоизлияния, понижается свертываемость крови, развивается анемия.

### **РАБОТА 1.** Качественные реакции на витамин А

**ОПЫТ 1.** Реакция с концентрированной серной кислотой.

Принцип метода: витамин А в присутствии концентрированной серной кислоты дает красно – фиолетовое окрашивание.

Реактивы: масляный раствор витамина А или рыбий жир; концентрированный раствор серной кислоты.

Ход работы: в сухую пробирку или на сухое предметное стекло вносят 3 капли масляного раствора витамина А или рыбьего жира и осторожно добавляют 1 каплю концентрированной серной кислоты. В месте соприкосновения растворов появляется фиолетовое окрашивание, переходящее в вишнево-красное.

**ОПЫТ 2.** Реакция с треххлористой сурьмой.

Реактивы: масляный раствор витамина А или рыбий жир; 33% хлороформный р-р треххлористой сурьмы.

Ход работы: в сухую пробирку или на сухое предметное стекло вносят 2 капли масляного раствора витамина А или свежего рыбьего жира и добавляют 2-3 капли 33%

хлороформного р-ра треххлористой сурьмы. При смешивании появляется синее окрашивание.

## **РАБОТА 2.** *Качественные реакции на витамин Д*

### **ОПЫТ 1.** Бромхлороформная проба.

Принцип метода: раствор витамина Д при взаимодействии с бромхлороформом приобретает зеленовато – голубую окраску.

Реактивы: масляный раствор витамина Д или рыбий жир; раствор брома в обезвоженном хлороформе (в соотношении 1:60).

Ход работы: в сухую пробирку или на сухое предметное стекло вносят 2-3 капли витамина Д (или 2-3 капли рыбьего жира) и 2-3 капли раствора брома в хлороформе. Наблюдается постепенное появление зеленовато-голубого окрашивания.

### **ОПЫТ 2.** Анилиновая проба.

Принцип метода: раствор витамина Д при нагревании с анилиновым реактивом окрашивается в красный цвет.

Реактивы: масляный раствор витамина Д или рыбий жир; хлороформ; анилиновый реактив (15 частей анилина и 1 часть концентрированной соляной кислоты).

Ход работы: в сухую пробирку вносят 1 каплю раствора витамина Д (или 1 каплю рыбьего жира и 5 капель хлороформа) и добавляют 1 каплю анилинового реактива. Образовавшаяся эмульсия желтого цвета при нагревании приобретает красную окраску.

### **ОПЫТ 3.** Реакция с раствором хлорида сурьмы (V).

Реактивы: масляный раствор витамина Д; насыщенный раствор хлорида сурьмы (V).

Ход работы: в сухую пробирку к 2 мл витамина Д добавляют 0,2 мл насыщенного раствор хлорида сурьмы (V). Наблюдается появление желтого окрашивания.

## **РАБОТА 3.** *Качественные реакции на витамин К и на викасол (синтетический аналог витамина К)*

### **ОПЫТ 1.** Реакция на витамин К.

Реактивы: спиртовой раствор витамина К; 5% раствор диэтилдитиокарбамата; 2% раствор гидроксида натрия в этаноле.

Ход работы: в пробирку вносят 2 мл спиртового витамина К и прибавляют 2 мл 5% раствор диэтилдитиокарбамата и 0,5 мл 2% раствора гидроксида натрия в этаноле. Раствор приобретает голубую окраску.

#### ОПЫТ 2. Реакция на викасол.

Принцип метода: раствор викасола в щелочной среде при добавлении цистеина окрашивается в лимонно – желтый цвет.

Реактивы: 0,05% раствора викасола; 0,025% раствор цистеина; 10% раствор гидроксида натрия.

Ход работы: в пробирку вносят по 5 капель 0,05% раствора викасола и 0,025% раствора цистеина, добавляют 1 каплю 10% раствора гидроксида натрия. Появляется лимонно – желтое окрашивание.

### **РАБОТА 4. Качественные реакции на витамин E**

#### ОПЫТ 1. Реакция с концентрированной азотной кислотой.

Принцип метода: витамин E в реакциях с концентрированной азотной кислотой окисляется и образует соединения красного цвета.

Реактивы: 0,1% спиртовой раствор витамина E; концентрированная азотная кислота; кристаллическая сахароза.

Ход работы: в сухую пробирку вносят 5 капель 0,1% спиртового раствора витамина E и добавляют несколько крупинок сахарозы. Осторожно прибавляют 10 капель концентрированной азотной кислоты. Пробирку слегка встряхивают. Через 1-2 мин наблюдают красное или желтовато-красное окрашивание.

#### ОПЫТ 2. Реакция с хлоридом железа (III).

Принцип метода: витамин E в реакциях с раствором хлорида железа (III) окисляется и образует соединения красного цвета.

Реактивы: спиртовой раствор  $\alpha$ -токоферола; 1% раствор хлорида железа (III).

Ход работы: в сухую пробирку вносят 0,5 мл раствор витамина Е, добавляют 0,5 мл 1% раствор хлорида железа (III) и тщательно перемешивают содержимое пробирки. Появляется красное окрашивание.

**РАБОТА 5.** *Количественное определение витамина Е*

Реактивы: 0,1% спиртовой р-р витамина Е; 70% р-р азотной кислоты; абсолютный спирт.

Ход работы: в две пробирки вносят по 2,5 мл 0,1% спиртового раствора витамина Е и добавляют по 0,5 мл 70% р-р азотной кислоты и выдерживают на кипящей водяной бане 3 мин. Пробирки охлаждают, через 15 минут объем жидкости в каждой из них доводят абсолютным этанолом до 5 мл, перемешивают и определяют оптическую плотность при длине волны 470 нм (синий светофильтр) в кювете шириной 10 мм. Концентрацию витамина Е определяют по калибровочному графику, который строят на основании данных оптической плотности растворов с различным содержанием витамина. Для этого в четыре пробирки наливают по 0,5; 1,0; 1,5 и 2 мл спиртового раствора витамина и доводят объем жидкости в каждой пробирке до 2,5 мл абсолютным спиртом. Раствор витамина для калибровочного графика готовят из исходного спиртового раствора, содержащего 100 мг витамина в 1 мл. 0,5 мл этого раствора доводят до 50 мл абсолютным спиртом и получают р-р, содержащий 1 мг витамина в 1 мл.

## Занятие 3, 4. ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

### Контрольные вопросы

1. Витамин В<sub>1</sub>, строение, основные источники, биологическая роль, проявление витаминной недостаточности. Каталитические функции кофермента.

2. Витамин В<sub>2</sub>, строение, основные источники, биологическая роль, проявление витаминной недостаточности. Каталитические функции кофермента.

3. Витамин В<sub>3</sub>, строение, основные источники, биологическая роль, проявление витаминной недостаточности. Каталитические функции кофермента.

4. Витамин В<sub>5</sub>, строение, основные источники, биологическая роль, проявление витаминной недостаточности. Каталитические функции кофермента.

5. Витамин В<sub>6</sub>, строение, основные источники, биологическая роль, проявление витаминной недостаточности.

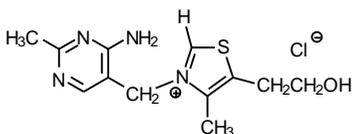
6. Витамины В<sub>12</sub> и В<sub>с</sub> основные источники, биологическая роль, проявления витаминной недостаточности.

7. Витамины С и Н: строение, основные источники. Биологическая роль, проявления витаминной недостаточности.

8. Какова связь между витаминами и ферментами? В состав каких коферментов входят тиамин, рибофлавин, пиридоксин, никотиновая кислота, пантотеновая кислота, кобаламин, фолиевая кислота?

9. Принципы методов качественного определения витаминов?

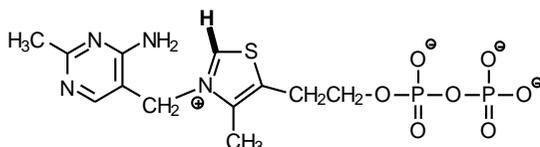
*Витамин В<sub>1</sub>* (тиамин, антиневритный) по химической природе представляет производное тиазола и пириимидина, соединенных метиленовым мостиком.



Тиамин (витамин В<sub>1</sub>)

Источником витамина являются растительные продукты: неочищенный рис, мука грубого помола, отруби, горох, семена, дрожжи, печень. Витамин В<sub>1</sub> синтезируется микрофлорой пищевого канала.

Тиамин образует кофермент *тиаминпирофосфат (ТПФ)*, составляющий 70-90% всех фосфорных эфиров тиамина тканей. Остальное количество представляют тиаминмонофосфат и тиаминтрифосфат.

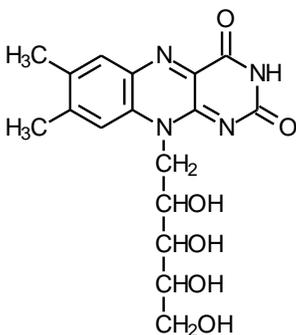


Тиаминпирофосфат (кофермент). Реакционноспособная группа выделена жирным шрифтом

В виде ТПФ витамин В<sub>1</sub> входит в состав многих ферментов, в том числе пируватдегидрогеназного и α-кетоглутаратдегидрогеназного комплексов, катализирующих окислительное декарбоксилирование пировиноградной (ПВК) и α-кетоглутаровой (α-КГК) кислот, соответственно.

При недостатке витамина В<sub>1</sub> развивается заболевание «*бери-бери*». При гиповитаминозе, в первую очередь, нарушается обмен углеводов: превращение ПВК в ацетил-КоА, цикл Кребса, что приводит к накоплению в тканях и крови кетокислот (ПВК, α-КГК) и возникновению явлений ацидоза. Наступают нарушения деятельности нервной (парез, параличи, потеря координации движений, энцефалопатия), сердечно-сосудистой систем, пищевого канала (отсутствие аппетита, снижение секреции пищеварительных желез), падает репродуктивная способность.

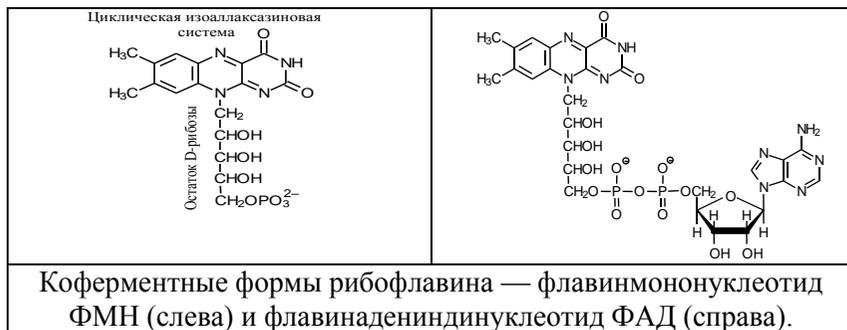
*Витамин В<sub>2</sub>* (рибофлавин, витамин роста) по химической природе представляет собой производное изоаллоксазина, связанного с пятиатомным спиртом рибитолом.



Рибофлавин

Источниками рибофлавина являются продукты животного, растительного и бактериального происхождения. Витамином В<sub>2</sub> богаты молочные продукты, яйца, мясо, печень, дрожжи, рыба.

Рибофлавин в виде двух коферментных форм – ФАД и ФМН входит в состав множества ферментов, участвующих в клеточном дыхании и других реакциях обмена.



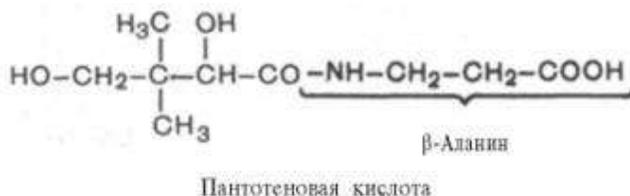
Первый признак гиповитаминоза у детей – задержка роста, снижение скорости набора веса. Возникают себорейные дерматиты в области глазницы, ушей, изъязвляются слизистые оболочки пищеварительного канала, развивается помутнение роговицы, анемия.

**Витамин В<sub>3</sub>** (пантотеновая кислота) образован α, γ-диокси-β,-β-диметилмасляной кислотой и β-аланином.

Витамин В<sub>3</sub> синтезируется растениями, дрожжевыми клетками, микрофлорой пищевого канала человека и животных.

Пантотеновая кислота входит в состав кофермента А (КоА), который выполняет ключевые функции в обмене веществ, участвуя в биосинтезе и окислении липидов, углеводов, в

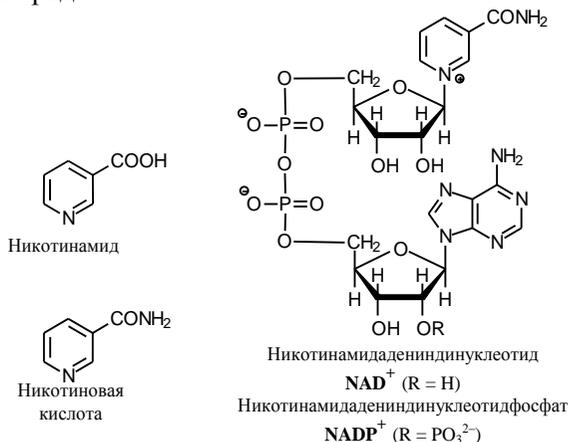
функционировании ЦТК, в завершающем этапе белкового катаболизма.



Недостаток витамина B<sub>3</sub> наблюдается при однообразном питании и чрезмерном использовании антибиотиков, подавляющих микрофлору пищевого канала, а, следовательно, биосинтез витамина.

Гипо- и авитаминоз приводят к задержке и остановке роста, уменьшению продуктивности и сопротивляемости к болезням, выпадению волос, появлению струпьев у глазниц, в углах рта, нарушению координации движений.

*Витамин B<sub>5</sub>* (витамин PP, никотинамид, ниацин, антипеллагрический) представляет собой соединение пиридинового ряда.



Витамин широко распространен в природе. Высшие растения и микроорганизмы способны синтезировать

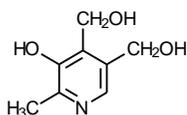
никотиновую кислоту. У животных и человека витамин В<sub>5</sub> вырабатывается микрофлорой пищевого канала при наличии триптофана. Богаты витамином дрожжи, рисовые и пшеничные отруби, зерно овса и гороха, мясо, рыба, печень. Дрожжи не только обогащают рацион белком и никотиновой кислотой, но стимулируют ее образование из триптофана.

Основные биохимические функции витамина В<sub>5</sub> реализуются через коферментные формы *НАД* (никотинамидадениндинуклеотид) и *НАДФ* (никотинамидадениндинуклеотид фосфат). В тканях содержится в 5-10 раз больше НАД, чем НАДФ. НАД – составная часть многих ферментов гликолиза, ЦТК, β-окисления жирных кислот. Эти реакции чаще локализованы в митохондриях и служат для освобождения энергии в сопряженных митохондриальных цепях переноса протонов и электронов. НАДФ входит в состав дегидрогеназ, которые чаще локализованы в цитоплазме и служат для восстановительных синтезов.

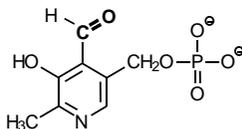
При авитаминозе возникает заболевание «пеллагра», для которой характерны три основных симптома – *три «Д»*:

- дерматит – поражение кожи;
- диарея – поражение пищевого канала;
- деменция – нарушение нервной деятельности.

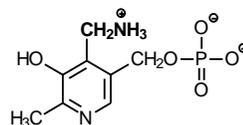
*Витамин В<sub>6</sub>* (адермин, пиридоксин, антидерматитный) является производным пиридина и объединяет три соединения: *пиридоксол*, *пиридоксаль*, *пиридоксамин*. Каждое из них обладает свойствами витамина, так как в организме способно перейти в коферментные формы – *фосфопиридоксаль* и *фосфопиридоксамин* – участвующие в обмене аминокислот.



Пиридоксин (витамин В<sub>6</sub>)



Пиридоксальфосфат



Пиридоксаминфосфат

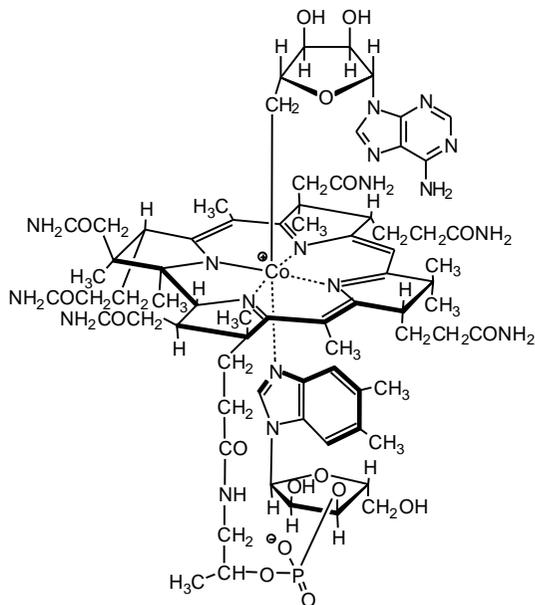
Витамин широко распространен в природе, синтезируется растениями и микроорганизмами, в том числе микрофлорой

ЖКТ. Богаты им печень, мясо, дрожжи, рыба, пшеничные отруби, горох, бобы.

Недостаток витамина  $B_6$  приводит к нарушению биосинтеза заменимых аминокислот, белка, биогенных аминов, ГАМК и обезвреживания биогенных аминов, нарушению распада белка.

При гипо- и авитаминозах возникают дерматиты, задерживаются и прекращаются рост и развитие, поражается нервная система.

*Витамин  $B_{12}$  (кобаламин, антианемический) состоит из хромофорной (плоскостной) и нуклеотидной частей. Хромофорная (окрашенная) часть представлена четырьмя пиррольными кольцами, соединенными координационными связями с кобальтом и обычными связями между собой. Нуклеотидная группа состоит из пуринового основания, остатков рибозы и фосфорной кислоты. Обе части соединяются за счет боковых цепей. Элементарный состав витамина  $B_{12}$  –  $C_{63}H_{90}N_{14}PO$ .*

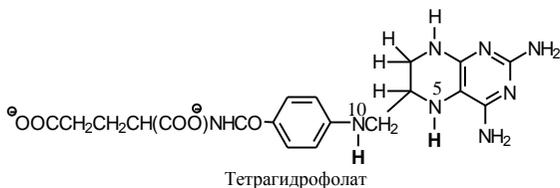
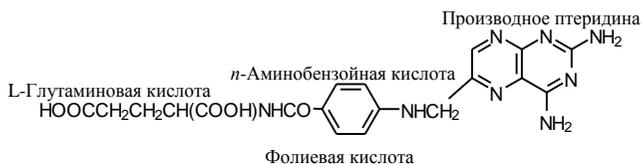


Витамин В<sub>12</sub> синтезируется микроорганизмами пищевого канала при наличии кобальта. Много витамина содержат говяжья печень, мясо, рыба, молоко, яйца.

Коферментные формы витамина В<sub>12</sub> – *метилкобаламин* и *дезоксаденозилкобаламин* – входят в состав ряда ферментов, участвующих в биосинтезе пуриновых и пиримидиновых оснований, нуклеиновых кислот, белков, гемоглобина, в превращении углеводов.

Гиповитаминоз В<sub>12</sub> характеризуется задержкой роста, развитием анемии, понижением аппетита, истощением организма, появлением неврозов и гибелью.

*Витамин В<sub>с</sub>* (фолиевая кислота, антианемический) состоит из трех компонентов: производного птеридина, *п*-аминобензойной и глутаминовой кислот.



Широко распространен в растительном мире, синтезируется в листьях растений, дрожжами и микрофлорой пищевого канала. Им богаты петрушка, укроп, картофель, мука грубого помола, пивные дрожжи. Витамин В<sub>с</sub> в виде кофермента ТГФК (*5,6,7,8-тетрагидрофолиевая кислота*) участвует в

биосинтезе белков, холина, метионина, тимина, серина, в транспорте одноуглеродных групп (формила, метила, метилена, оксиметилена). Вместе с витамином В<sub>12</sub> отвечает за *кроветворение*.

При недостатке витамина В<sub>с</sub> развиваются лейкопения и анемия, приостанавливается рост и снижается репродуктивная функция.

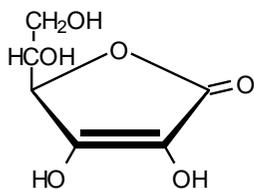
*Витамин Н* (биотин, антисеборейный) представляет собой производное мочевины и тиофена с валериановой кислотой в боковой цепи.

Биотином богаты пивные дрожжи, арахис, зерно ячменя, овса, кукурузы, желток яйца, дрожжи, печень, молоко, картофель, лук, томаты. Витамин является коферментом биосинтеза некоторых белков, нуклеиновых кислот, липидов, пуринов, мочевины, высших жирных кислот. Играет важную роль в формировании и функции роста волос, ногтей, кожи.

При авитаминозе наблюдаются дерматиты, себорея, отеки конечностей, выпадение волос.

*Витамин С* (аскорбиновая кислота, антицинготный, антискорбутный) является производным L-гулоновой кислоты.

Основной источник витамина С – продукты растительного происхождения. Он в некотором количестве синтезируется у животных в тканях и микрофлорой пищевого канала. Биосинтез витамина С происходит из углеводов. У жвачных животных (крупного рогатого скота, овец) биосинтез витамина идет более интенсивно за счет микрофлоры рубца.



аскорбиновая кислота

Много витамина С в шиповнике, черной смородине, цитрусовых, картофеле, хрене, укропе, капусте.

Витамин С участвует во многих реакциях обмена: в окислительно-восстановительных реакциях, в биосинтезе коллагена, стероидных гормонов, адреналина, карнитина, гемоглобина.

Гиповитаминоз аскорбиновой кислоты сопровождается ослаблением защитных функций. При авитаминозе развивается *цинга*, которая была распространена при длительных морских путешествиях. Она проявляется в кровоточивости десен, слизистых оболочек и мышц, расшатывании и выпадении зубов. Появляются кровоизлияния в коже и слизистых оболочках, опухают суставы, наступает резкое истощение и смерть.

### **РАБОТА 1. Качественные реакции на витамин В<sub>1</sub>**

**ОПЫТ 1.** Реакция с феррицианидом (III) калия.

Принцип метода: тиамин окисляется в щелочной среде ферриацианидом (III) калия в тиохром, обладающий синей флюоресценцией при УФ – облучении раствора.

Реактивы: Растворы витаминов 1 и 2 (один содержит 5% раствор тиамин); 10% раствор гидроксида натрия; 5% раствор феррицианида (III) калия; изобутиловый спирт.

Ход работы: в две пробирки вносят по 1 капле растворов витаминов, прибавляют 5-10 капель 10% раствора гидроксида натрия, 1-2 капли 5% раствора феррицианида (III) калия, тщательно перемешивают нагревают. Жидкость окрашивается в желтый цвет вследствие превращения тиамин в тиохром. В пробирку вносят 1 мл изобутилового спирта, и содержимое интенсивно взбалтывают в течение 1 мин. Наблюдают голубую флюоресценцию этого раствора в УФ-лучах.

Вывод о содержании витамина в одной из пробирок.

**ОПЫТ 2.** Реакция с diazo-реактивом.

Реактивы: Растворы витаминов 1 и 2 (один содержит 5% раствор тиамин), 1% раствор сульфаниловой кислоты; 5% раствор нитрита натрия; 10% раствор бикарбоната натрия.

Ход работы: в две пробирки вносят diazo-реактив, состоящий из 5 капель 1% раствора сульфаниловой кислоты и 5 капель 5% раствора нитрита натрия, добавляют 1-2 капли 5% раствора витаминов и затем по стенке, наклонив, осторожно добавляют 5-7 капель 10% раствора бикарбоната натрия. При наличии витамина В<sub>1</sub> на границе двух жидкостей появляется кольцо оранжевого цвета.

## **РАБОТА 2. Качественная реакция на витамин В<sub>2</sub>**

Принцип метода: водород восстанавливает желтый рибофлавин в бесцветный лейкофлавин.

Реактивы: Растворы витаминов 1 и 2 (один содержит 0,025% раствор витамина В<sub>2</sub>); концентрированная соляная кислота; металлический цинк.

Ход работы: в две пробирки вносят по 10 капель раствора витаминов и добавляют 5 капель концентрированной соляной кислоты и небольшой кусочек металлического цинка. Выделяющийся водород реагирует с рибофлавином, восстанавливая его, и жидкость постепенно окрашивается в розовый цвет, а затем обесцвечивается.

## **РАБОТА 3. Качественные реакции на витамин В<sub>5</sub>**

**ОПЫТ 1.** Реакция с ацетатом меди.

Принцип метода: витамин В<sub>5</sub> при нагревании с раствором ацетата меди образует плохо растворимый осадок медной соли.

Реактивы: 2 порошка (один содержит витамин В<sub>5</sub>); 5% раствор ацетата меди; 10% раствор уксусной кислоты.

Ход работы: в пробирку помещают 5-10 мг порошка витамина и растворяют при нагревании в 1-2 мл 10% раствора уксусной кислоты. К нагретому до кипения раствору прибавляют 1-2 мл 5% раствора ацетата меди и доводят до кипения. При охлаждении под струей холодной воды выпадает синий осадок медной соли витамина В<sub>5</sub>.

**ОПЫТ 2.** Реакция с гидросульфитом натрия.

Реактивы: 2 порошка (один содержит витамин В<sub>5</sub>); 10% раствор гидрокарбоната натрия; 5% свежеприготовленный раствор гидросульфита натрия.

Ход работы: в две пробирки помещают по небольшому количеству порошка витамина и добавляют 1-2 мл 10% раствора гидрокарбоната натрия, перемешивают и добавляют 1-2 мл 5% свежеприготовленного раствора гидросульфита натрия. Появляется желтое окрашивание.

## **РАБОТА 4. Качественная реакция на витамин В<sub>6</sub>**

Принцип метода: витамин В<sub>6</sub> образует с хлоридом железа (III) комплексное соединение красного цвета

Реактивы: 2 раствора (один содержит 1% витамин В<sub>6</sub>); 1% раствор хлорида железа (III)

Ход работы: в 2 пробирки вносят по 5-10 капель исследуемого раствора витамина и приливают равное количество 1% раствора хлорида железа (III) и перемешивают. Наблюдается окрашивание жидкости в красный цвет.

### **РАБОТА 5. Качественные реакции на витамин С**

ОПЫТ 1. Реакция с феррицианидом (III) калия.

Принцип метода: витамин С восстанавливает железо и образуется комплексное соединение синего цвета.

Реактивы: 2 раствора (один содержит 1% раствора витамин С); 1% раствор хлорида железа(III); 5% раствор феррицианида(III) калия; 10% раствор гидроксида натрия; 10% раствор соляной кислоты.

Ход работы: в две пробирки вносят по 1 капле 10% раствора гидроксида натрия и по 1 капле 5% раствора феррицианида (III) калия. В пробирки добавляют по 5 капель исследуемых растворов витаминов. Перемешивают, добавляют по 3 капли 10% раствора соляной кислоты и по 1 капле 1% раствора хлорида железа (III). В пробирке с витамином С появляется синее окрашивание.

ОПЫТ 2. Реакция с метиленовым синим.

Реактивы: 2 раствора (один содержит 1% раствора витамин С); 0,01% раствор метиленового синего; 10% раствор карбоната натрия.

Ход работы: в две пробирки вносят по 1 капле 0,01% раствора метиленового синего, по 1 капле 10% раствора карбоната натрия. В пробирки добавляют по 1 мл растворов витаминов. В пробирке с витамином С происходит обесцвечивание метиленового синего (при нагрвании).

### **РАБОТА 6. Качественная реакция на витамин Р**

ОПЫТ 1. Реакция с хлоридом железа (III).

Принцип метода: витамин Р образует с хлоридом железа(III) комплексное соединение изумрудно – зеленого цвета.

Реактивы: насыщенный водный раствор витамина Р; 5% раствор хлорида железа(III).

Ход работы: в пробирку вносят 1 мл насыщенного водного раствора витамина Р и добавляют 1-2 капли 5% раствор хлорида железа(III). Появляется изумрудно – зеленое окрашивание.

**ОПЫТ 2.** Реакция с концентрированной серной кислотой.

Принцип метода: витамин Р образует с концентрированной серной кислотой соли, растворы которых имеют ярко-желтую окраску.

Реактивы: насыщенный водный раствор витамина Р; раствор концентрированной серной кислоты.

Ход работы: в пробирку вносят 1 мл насыщенного водного раствора витамина Р и осторожно по стенкам приливают 0,5 мл концентрированной серной кислоты. На границе раздела двух жидкостей появляется кольцо, окрашенное в желтый цвет

**РАБОТА 7.** *Количественное определение витамина С*

Принцип метода: основан на способности аскорбиновой кислоты окисляться 2,6-дихлорфенолиндофенолом в дегидроаскорбиновую кислоту.

Реактивы: 2% раствор соляной кислоты; 0,001н раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола (ДХФИФ), раствор витамина С.

Ход работы: В колбу на 50-100 мл вносят 1 мл 2% раствора соляной кислоты, 8 мл раствора витамина и доводят объем дистиллированной водой до 15 мл. Полученный раствор титруют 0,001н раствором 2,6-дихлорфенолиндофенола до появления слабо-розового окрашивания.

Расчет по формуле:

$$X = \frac{0,088 \times A \times 100}{B},$$

где: X-содержание витамина С, мг %; А – результат титрования 2,6-дихлорфенолиндофенолом, мл; В – количество раствора, взятое для титрования, мл.

### **Тема 3: БЕЛКИ и НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ**

Белки и нуклеиновые кислоты занимают центральное место среди других органических веществ, поскольку именно они являются непременным атрибутом всего живого, включая вирусы. Они обеспечивают непрерывность воспроизводства и обновления живых организмов.

**Занятие 5, 6. Белки. Строение и роль в организме. Качественные реакции на белок. Аминокислоты и пептиды.**

#### ***Вопросы к практическому занятию***

1. Аминокислоты. Значение, классификация.
2. Строение белка.
3. Многообразие белков.
4. Значение белка для организма.
5. Функции белков в организме.
6. Вторичная, третичная и четвертичная структура белка.
7. Силы, удерживающие белковые молекулы.
8. Типы связей, определяющие структуры белка.

*Белки* – это биополимеры, мономерами которых являются  $\alpha$ -аминокислоты.

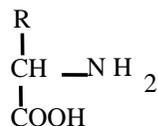
### **КЛАССИФИКАЦИЯ АК**

#### **I. По строению радикала**

1. Алифатические (гли, ала, вал, лей, илей).
2. Гидроксиаминокислоты (сер, тре).
3. Дикарбоновые (асп, глут).
4. Амиды дикарбоновых кислот (асн, глн).
5. Серосодержащие (мет, цис).
6. Циклические (фен, тир, три, гис).
7. Диаминомонокарбоновые (лиз, арг).
8. Иминокислота (про).

## II. По кислотно-основным свойствам

1. Нейтральные.
2. Кислые.
3. Основные.



общая формула  
аминокислот

## III. По полярности

1. Неполярные (ала, вал, лей, мет, про, иле, три, фен).
2. Полярные:
  - а) незаряженные (сер, тре, цис, гли, тир, асн, глн);
  - б) заряженные:
    - отрицательно заряженные (глу, асп);
    - положительно заряженные (лиз, арг, гис).

### *Нестандартные АК в составе белков:*

- $\gamma$ -карбоксиглутаминовая кислота (протромбин: свертывание крови);
- 4-гидроксипролин, 5-гидроксилизин (белки соединительной ткани: коллаген);
- десмозин (конденсация 4-х молекул лизина: соединительная ткань);
- дийодтирозин (гормоны щитовидной железы).

## ПЕПТИДЫ

Пептиды – это соединения, в состав которых входит несколько остатков аминокислот, связанных пептидными связями. В зависимости от количества остатков аминокислот и молекулярной массы различают низкомолекулярные (от двух до десяти аминокислотных остатков) и высокомолекулярные (более 10, молекулярная масса от 5 000 до 16 000 Д).

### *Функции пептидов:*

1. Регуляторная (пептиды ренин-ангиотензивной системы и др.).
2. Гормональная (окситоцин, инсулин, глюкагон).

3. Антибиотики (пенициллин, цефалоспорины).
4. Токсины (аманитотоксин).
5. Антиоксиданты (глутатион).
6. Нейропептиды (энкефалины, эндорфины — обезболивающий эффект).

Главные составные части белка — *аминокислоты*.

- протеиногенные, которые кодируются генетическим кодом (20);
- непротеиногенные (более 150).

Протеиногенные АК являются  $\alpha$ -АК (кроме пролина).

## БЕЛКИ

Известно свыше 2000 белков животного, растительного и бактериального происхождения. Белки подразделяют на *простые* (протеины) и *сложные*. *Простые* белки состоят только из остатков аминокислот, а *сложные* содержат еще и небелковые компоненты – *простетические* группы.

*Простые белки* по растворимости бывают *растворимые* и *нерастворимые*. Растворимые белки (растворяются в воде, разбавленных растворах солей, кислот, щелочей) представлены *альбуминами, глобулинами, гистонами, протаминами, проламинами, глютелинами*.

Нерастворимые белки выполняют опорные функции. Это *коллаген* – основной структурный компонент связок, сухожилий, хрящей, костей, кожи; *кератин* – составляет основу волос, шерсти, перьев, рогов, копыт, клюва, чешуи; *эластин* – входит в состав связок, сухожилий, и *фиброин* – белок шерсти, шелка.

Сложные белки различают в зависимости от природы *простетической* группы: *нуклео-, хромо-, фосфо-, липо- и гликопротеины*.

Сложные белки при гидролизе распадаются на простой белок и соответствующие небелковые компоненты: *нуклеопротеины* – нуклеиновые кислоты; *хромопротеины* – окрашенные группы; *липопротеины* – липиды; *гликопротеины* – углеводы; *фосфопротеины* – фосфорную кислоту.

Различают четыре уровня структурной организации молекулы белка: первичная, вторичная, третичная и четвертичная.

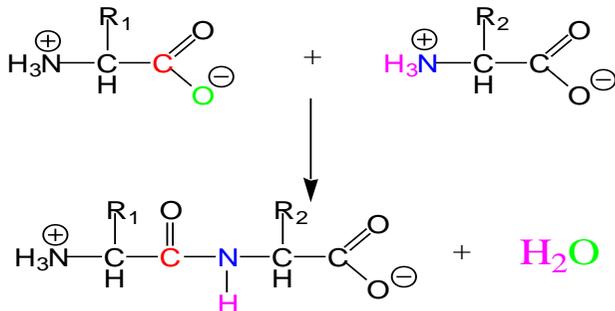
*Первичная структура* определяется последовательностью включения аминокислот (тип связи – пептидная или амидная).

*Вторичная структура* – это ориентация полипептидной цепи в пространстве в виде  $\alpha$ -спирали или  $\beta$ -структуры (водородная связь).

*Третичная структура* – это пространственная ориентация  $\alpha$ -спирали или  $\beta$ -структуры (связи дисульфидные межмолекулярные, ионные). Третичная – это нативная структура, определяющая функции белка.

*Четвертичная структура* возникает в результате ассоциации нескольких полипептидных цепей в единую белковую молекулу.

**Первичная структура** — это конфигурация полипептидной цепи, которая формируется в результате образования *пептидной связи* между остатками АК.



*Постулаты* (принципы формирования пептидной связи), сформулированные Л. Поллингом и Р. Кори:

- 1) атомы, образующие пептидную связь, копланарны (расположены в одной плоскости); вращение атомов или групп атомов вокруг пептидной связи невозможно;
- 2) принцип эквивалентности вклада АК-остатков в образование пептидной связи и, тем самым, в образование полипептидной цепи (исключение пролин);
- 3) принцип максимума водородных связей.

Первичную структуру белка стабилизируют (поддерживают):

- пептидные связи (между АК-остатками);
- дисульфидные связи (между свободными  $-SH$ -группами цистеина).

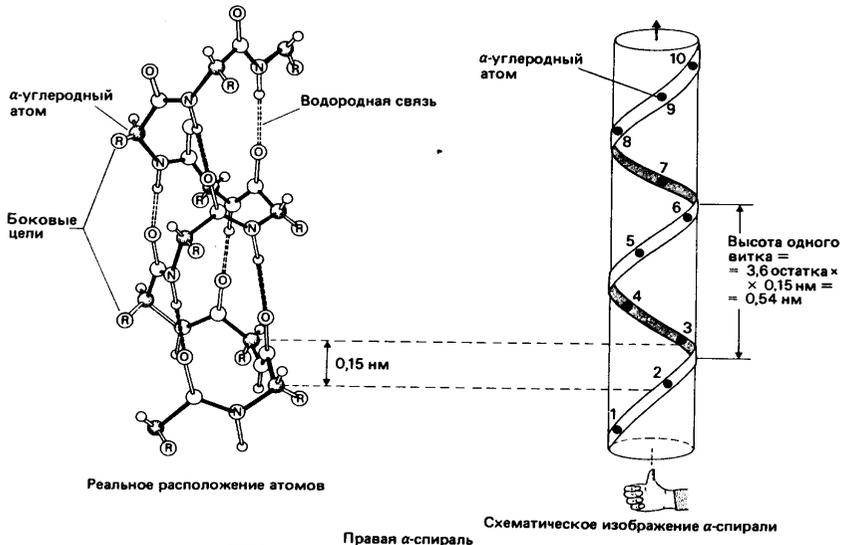
Первичная структура белка несет информацию о его пространственной структуре.

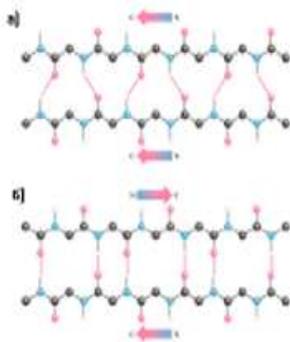
**Вторичная структура белка** — локальная конформация, обусловленная вращением отдельных участков полипептидной цепи вокруг одинарных ковалентных связей.

Основные связи, которые стабилизируют вторичную структуру, — *водородные*.

#### Виды вторичной структуры:

- $\alpha$ -спираль (правозакрученная)
- $\beta$ -структура
- $\beta$ -слой

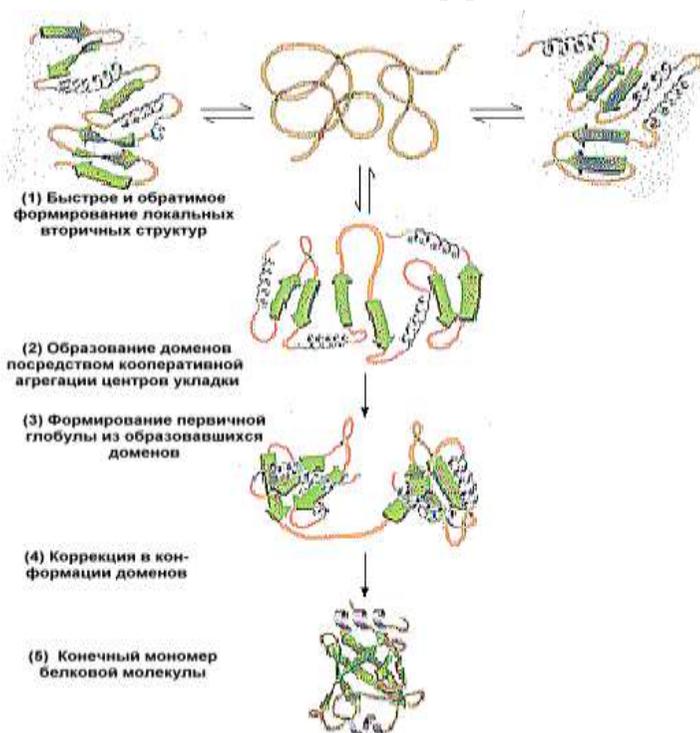




Параллельная

Антипараллельная

**Третичная структура белка** — это расположение в пространстве всей полипептидной цепи, отдельные участки которой имеют собственную локальную конформацию.

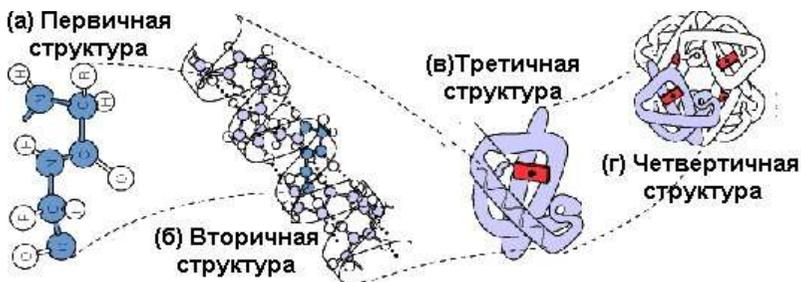


*Этапы формирования третичной структуры (см. рис.):*

Поддержанию третичной структуры белка способствуют *гидрофобные* связи, которые образуются внутри молекулы. В образовании этих связей принимают участие неполярные радикалы аминокислот. Могут также образовываться другие нековалентные связи.

У белка, имеющего третичную структуру, на поверхности молекулы формируется участок, который может присоединять к себе другие молекулы, называемые лигандами. Этот участок называется **активный центр** и формируется из радикалов аминокислот, которые сближаются друг с другом при формировании третичной структуры. Высокая специфичность взаимодействия белка с лигандом обеспечивается *комплементарностью* структуры активного центра структуре лиганда.

**Четвертичная структура** формируется при объединении нескольких полипептидных цепей, имеющих третичную структуру. Образованный таким образом белок обладает новой функцией.



Белки с четвертичной структурой называются олигомерными, а составляющие их индивидуальные полипептидные цепи — протомерами или мономерами. Такие соединения стабилизируются водородными связями и электростатическими взаимодействиями между АК-остатками, расположенными на поверхности протомеров.

Наиболее богаты белками ткани и органы животных и человека. Содержание белков в организме в среднем составляет 18-21% (в пересчете на свежие ткани).

*Элементный состав* белков в пересчете на сухое вещество представлен 50-54% *углерода*, 21-23% *кислорода*, 15-17% *азота*, 6,5-7,3% *водорода* и до 0,5% *серы* и в небольших количествах содержится *фосфор, железо, марганец, магний*.

*Структурными единицами* белков являются *α* – *аминокислоты* (известно 20 природных аминокислоты). Аминокислоты, синтезируемые в организме, называются *заменимыми*, а те, которые не могут синтезироваться, *незаменимыми*. В зависимости от вида животных выделяют от 8-10 незаменимых аминокислот, у человека – 10.

*Соотношение и содержание заменимых и незаменимых* аминокислот определяют *полноценность* белков. *Полноценными* являются белки животного происхождения. Растительные белки обычно содержат мало незаменимых аминокислот и их относят к *неполноценным*.

Примером *полноценного* белка является *казеин*.

Белки в организме выполняют разнообразные *функции*:

- структурная (входят в состав всех клеток, органов и тканей организма);
- защитная (иммунитет организма, свертывание крови);
- транспортная (перенос различных веществ);
- энергетическая;
- сократительная (участвуют в работе мышц);
- геннорегуляторная (играют роль в регуляции процессов трансляции);
- питательная;
- гормональная (около 50% гормонов – белки);
- каталитическая (известно 2000 различных ферментов).

С деятельностью белков связаны все основные проявления жизни: сократимость, раздражимость, приспособляемость к среде, рост, развитие, размножение, пищеварение и выделение конечных продуктов обмена.

## КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ АМИНОКИСЛОТ В РАСТВОРАХ

Присутствие белков в биологических объектах или растворах можно определить с помощью цветных реакций, протекание которых обусловлено наличием в белке специфических групп и пептидных связей.

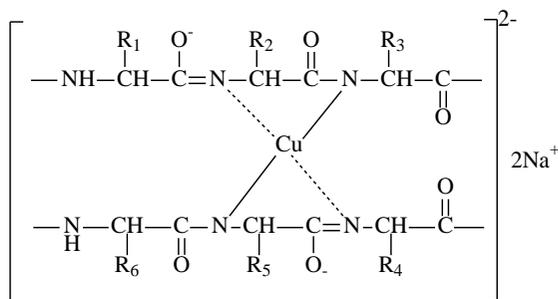
### Работа №1. Цветные реакции на белок.

**Реактивы:** водный раствор яичного белка (белок одного куриного яйца отделяют от желтка, растворяют в 15-20-кратном объеме дистиллированной воды, затем раствор фильтруют через марлю, сложенную в 3-4 слоя, и хранят в холодильнике); 10 %-ный раствор гидроксида натрия; 30 %-ный раствор гидроксида натрия; 1 %-ный раствор сульфата меди; 1 %-ный раствор ацетата свинца; концентрированная азотная кислота; 0,5% раствор нингидрина.

**Оборудование:** пробирки; водяная баня или спиртовка.

#### Задание 1. Биуретовая реакция.

В щелочной среде белки, а также продукты их гидролиза – пептиды дают фиолетовое или красно-фиолетовое окрашивание с солями меди. Реакция обязана наличию пептидных связей в белках:



Интенсивность окраски зависит от длины полипептида.

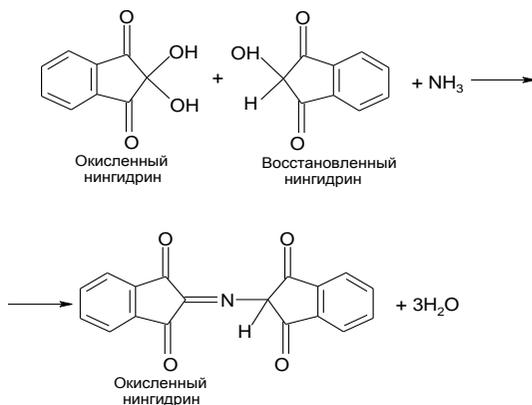
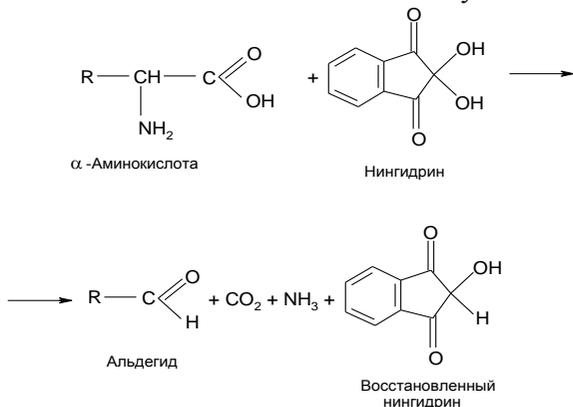
#### Ход работы:

1. В пробирку налейте 5 капель раствора яичного белка, затем 10 капель 10 %-го раствора щелочи.

2. Добавьте 1-2 капли раствора сульфата меди, смесь перемешайте. Появляется красно-фиолетовое окрашивание.

### Задание 2. Нингидриновая реакция

Реакция характерна для аминогрупп в  $\alpha$ -положении и обусловлена наличием  $\alpha$ -аминокислот в молекуле белка.



При нагревании белка с водным раствором нингидрина аминокислоты окисляются и распадаются, образуя двуокись углерода, аммиак и соответствующий альдегид. Восстановленный нингидрин конденсируется с аммиаком и

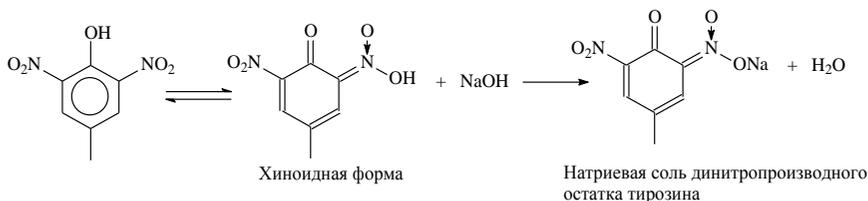
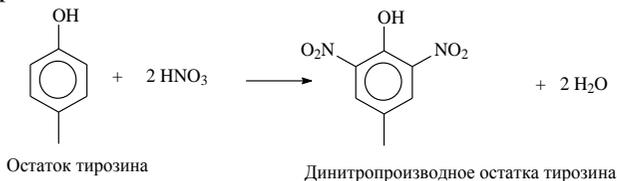
окисленной молекулой нингидрина, образуя соединение фиолетово-синего цвета.

**Ход работы.**

В пробирку вносят 5 капель 1% раствора яичного белка, добавляют 3 капли 0,5% раствора нингидрина и нагревают до кипения. Через 2 - 3 минуты появляется розовое, красное, а затем сине-фиолетовое окрашивание

**Задание 3. Ксантопротеиновая реакция.**

Реакция характерна для некоторых ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана), а также для пептидов, их содержащих. При действии азотной кислоты образуется нитросоединение желтого цвета. Далее нитропроизводные могут реагировать со щелочью с образованием натриевой соли, имеющей желто-оранжевое окрашивание:



**Ход работы:**

Данную работу необходимо выполнять в вытяжном шкафу, соблюдая особую **ОСТОРОЖНОСТЬ!**

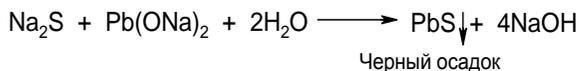
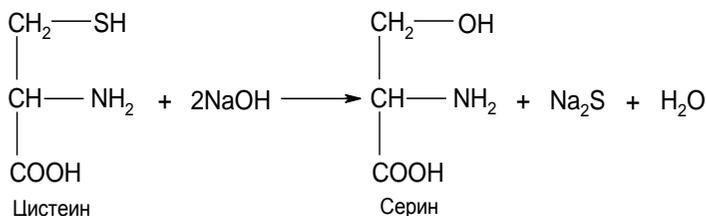
1. В пробирку налейте 5 капель раствора яичного белка и **ОСТОРОЖНО** по стенке прибавьте 3-4 капли концентрированной азотной кислоты.

2. Смесь осторожно нагрейте. Выпадает осадок, который окрашивается в желтый цвет.

3. После охлаждения в пробирку **ОСТОРОЖНО** по стенке прилейте 10 капель 30 %-ого раствора NaOH, желтая окраска переходит в оранжевую.

**Задание 4.** Реакция на серусодержащие аминокислоты (реакция Фолья).

В остатках серусодержащих аминокислот цистеина и цистина сера при щелочном гидролизе отщепляется, образуя сульфиды. Сульфиды, взаимодействуя с ацетатом свинца, образуют осадок сульфида свинца черного или буро-черного цвета.



***Ход работы.***

1. В пробирке смешайте 5 капель раствора яичного белка, 5 капель 30 %-го раствора щелочи и 2 капли раствора ацетата свинца.

2. Смесь осторожно нагрейте на спиртовке до кипения и кипятите. Через некоторое время появляется буровато-черное или черное окрашивание.

### *Оформление результатов.*

Оформите проведенные исследования в виде таблицы.

№ задания	Условия проведения реакции	Наблю-даемое явление	Проте-кающие реакции	Вывод

### **Физико-химические свойства белков.**

#### **Работа №2. Реакции обратимого осаждения белков**

Реакции осаждения белков бывают обратимыми и необратимыми.

При обратимом осаждении макромолекулы белка в основном не подвергаются глубокой денатурации, а осадки могут быть снова растворены в первоначальном растворителе. Обратимое осаждение вызывается действием нейтральных солей аммония, щелочных и щелочно-земельных металлов (высаливание), спирта, ацетона, эфира и некоторых других органических растворителей.

**Реактивы:** раствор яичного белка с добавлением хлорида натрия; насыщенный раствор сульфата аммония; сульфат аммония, растертый в порошок; 10 %-ый раствор гидроксида натрия; 1 %-ый раствор сульфата меди.

**Оборудование:** пробирки; воронка для фильтрования; бумажные фильтры.

#### ***Ход работы.***

**Задание 1.** Осаждение белков сульфатом аммония.

1. В пробирку отмерьте 2-3 см<sup>3</sup> раствора яичного белка, добавьте равный объем насыщенного раствора сульфата аммония и смесь перемешайте.

2. Выпадает осадок глобулинов, альбумины остаются в растворе. Осадок отфильтруйте на бумажном фильтре.

3. К фильтрату добавьте порошок сульфата аммония до получения насыщенного раствора (последняя порция не растворяется).

4. Выпадает осадок альбуминов, который также отфильтруйте.

### **Задание 2.** Осаждение белков спиртом.

Органические растворители вызывают осаждение белков вследствие разрушения гидратной оболочки макромолекул.

1. В пробирку налейте 1 см<sup>3</sup> раствора яичного белка с добавлением хлорида натрия.

2. По каплям прилейте 4-6 см<sup>3</sup> спирта и сильно взболтайте. Через 5-8 мин. выпадает осадок белков.

### **Задание 3.** Проба на проламины.

Испытуемый материал: измельченное зерно, мука  
Реактивы: 70 % раствор этилового спирта (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH).

В пробирку берут 1 г исследуемого материала и 10 см<sup>3</sup> раствора этилового спирта. Экстракцию белков ведут при 30-35<sup>0</sup>С, в течение 20 мин при периодическом перемешивании. Через 20 минут надосадочную жидкость отфильтровывают и в части фильтрата обнаруживают белок по биуретовой реакции. Оставшуюся часть фильтрата разбавляют водой в 2 раза. При этом концентрация спирта резко падает и спирторастворимые белки - проламины теряют растворимость. Раствор мутнеет.

### ***Реакции необратимого осаждения белков***

При необратимом осаждении происходит глубокая денатурация и агрегация белка. Денатурированный белок не способен к восстановлению своих первоначальных физико-химических и биологических свойств. Необратимое осаждение вызывается высокой температурой, действием концентрированных минеральных и некоторых органических кислот, ионов тяжелых металлов, алкалоидных реагентов, детергентов, красителей.

**Реактивы:** водный раствор яичного белка (раствор готовят, как указано в лабораторной работе № 1); концентрированные серная, соляная и азотная кислоты; 5 %-ый раствор ацетата свинца; 2,5 %-ый раствор нитрата серебра; 5 %-ый раствор сульфата меди.

**Задание 1.** Осаждение белков минеральными кислотами.

Реакция находит применение для быстрого определения белка в биологических жидкостях, например, моче.

**Ход работы:**

*Данную работу необходимо выполнять в вытяжном шкафу, соблюдая особую ОСТОРОЖНОСТЬ!*

1. В три пробирки налейте по 15-20 капель концентрированных кислот: в первую – серной; во вторую – азотной и в третью – соляной.

2. Пробирки наклоните под углом  $45^\circ$  и ОСТОРОЖНО (из пипетки) наложите по стенке раствор белка. Пробирку держите отверстием от себя. На границе белка и кислоты появляется белое кольцо.

3. Пробирки осторожно встряхните. Осадки растворяются в серной и соляной кислотах, но не растворяются в азотной кислоте.

**Задание 2.** Осаждение белков солями тяжелых металлов.

Белки осаждаются солями меди, свинца, ртути, цинка, серебра и других тяжелых металлов. Свойство белков связывать ионы тяжелых металлов используется в медицине при оказании первой помощи пострадавшим от отравления солями меди, свинца, ртути.

**Ход работы.**

1. В три пронумерованные пробирки налейте по 5-10 капель раствора белка.

2. В первую пробирку по каплям прибавьте раствор ацетата свинца. Образуется осадок. Добавьте еще несколько капель, осадок должен раствориться в избытке раствора соли.

3. Во вторую пробирку по каплям приливайте раствор нитрата серебра. Образовавшийся осадок в избытке соли не растворяется.

4. В третью пробирку прибавьте раствор сульфата меди до появления осадка. Убедитесь, что осадок растворяется в избытке соли.

*Оформление результатов:*

Оформите результаты проведенных исследований в виде таблицы.

Осаждающий реагент	Описание осадка	Растворимость осадка в избытке реагента

### Тепловая денатурация белка.

При нагревании белки денатурируют. На процесс денатурации оказывают сильное влияние рН раствора и добавление электролитов.

**Реактивы:** водный раствор яичного белка (раствор готовят, как указано в лабораторной работе № 1); 1%-ый раствор уксусной кислоты; 10 %-ый раствор уксусной кислоты; 10 %-ый раствор гидроксида натрия; насыщенный раствор хлорида натрия.

**Оборудование:** пробирки, водяная баня или спиртовка.

#### **Ход работы.**

1. В пять пронумерованных пробирок налейте по 10 капель раствора яичного белка.

2. Белок в первой пробирке нагрейте до кипения. Раствор мутнеет (разрушаются гидратные оболочки вокруг макромолекул), но осадок не образуется. Мицеллы, образованные макромолекулами, сохраняют одноименный заряд, что препятствует их осаждению.

3. К раствору белка во второй пробирке добавьте одну каплю 1 %-ого раствора уксусной кислоты и нагрейте до кипения. Осадок белка выпадает быстро. Заряд мицелл нейтрализован и белок близок к изоэлектрической точке.

4. К раствору белка в третьей пробирке прибавьте 1-2 капли 10 %-ого раствора уксусной кислоты и нагрейте до кипения. Осадок не образуется, так как мицеллы белка приобрели, присоединяя ионы водорода, положительный заряд, что препятствует их осаждению.

5. В четвертую пробирку добавьте 1-2 капли 10 %-ого раствора гидроксида натрия и нагрейте до кипения. Осадок не выпадает. Мицеллы за счет отщепления протонов от карбоксильных групп боковых цепей белка заряжены отрицательно.

6. В пятую пробирку прибавьте 1-2 капель насыщенного раствора хлорида натрия и нагрейте до кипения. Белок выпадает в осадок.

*Оформление результатов.*

Оформите результаты исследования, заполнив таблицу и кратко записав механизм денатурирующего действия исследуемого фактора в виде вывода.

№ пробирки	Добавляемый электролит	Наблюдаемый эффект денатурации	Вывод

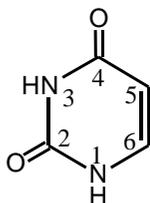
### **Занятие 7. Нуклеиновые кислоты.**

1. Виды нуклеиновых кислот.
2. Значение нуклеиновых кислот для организма.
3. Передача наследственной информации.
4. Синтез белка.

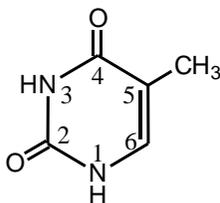
Нуклеиновые кислоты - важнейшие биополимеры с относительной молекулярной массой, достигающей  $5 \times 10^9$  Д. Они содержатся во всех без исключения живых организмах и являются не только хранителем и источником генетической информации, но и выполняют ряд других жизненно важных функций. Нуклеиновые кислоты являются полимерами, мономерными звеньями которых являются *нуклеотиды*.

### **СТРОЕНИЕ И НОМЕНКЛАТУРА**

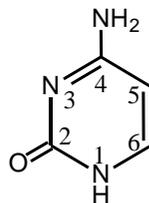
В *нуклеиновых кислотах* встречаются, в основном, пять нуклеиновых оснований, три пиримидиновых — урацил, тимин и цитозин и два пуриновых — аденин и гуанин.



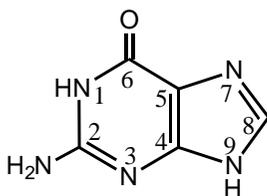
Урацил  
**Ura**



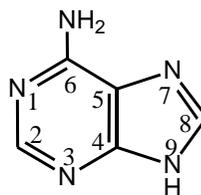
Тимин  
**Thy**



Цитозин  
**Cyt**



Гуанин  
**Gua**



Аденин  
**Ade**

### Строение нуклеиновых оснований

Существует два различных типа нуклеиновых кислот – *дезоксирибонуклеиновые кислоты* (ДНК) и *рибонуклеиновые кислоты* (РНК). ДНК представляет собой генетический материал большинства организмов. В клетках прокариот, кроме основной хромосомной ДНК, часто встречаются внехромосомные ДНК – плазмиды. В эукариотических клетках основная масса ДНК расположена в клеточном ядре, где она связана с белками в хромосомах. Клетки эукариот содержат ДНК также в митохондриях и хлоропластах.

Что же касается РНК, то по выполняемым ими функциям различают:

а) информационные РНК (иРНК) - в них записана информация о первичной структуре белка; б) рибосомные РНК (рРНК) - входят в состав рибосом; в) транспортные РНК (тРНК) - обеспечивают доставку аминокислот к месту синтеза белка. В

качестве генетического материала РНК входят в состав ряда вирусов. Например, вирусы, вызывающие такие опасные заболевания, как грипп и СПИД, являются РНК-содержащими.

Нуклеиновым кислотам присущи три важнейшие функции: хранение, передача и реализация генетической информации. Кроме этих, они выполняют и другие функции, например, участвуют в катализе некоторых химических реакций, осуществляют регуляцию реализации генетической информации, структурные функции и др. Роль хранителя генетической информации у большинства организмов (эукариот, прокариот, некоторых вирусов) выполняют двухцепочечные ДНК. Только у некоторых вирусов хранителем генетической информации являются одноцепочечные ДНК или одноцепочечные, а также двухцепочечные РНК. Генетическая информация записана в генах. Ген по своей природе является участком нуклеиновой кислоты. В них закодирована первичная структура белков. Гены могут также нести информацию о структуре некоторых типов РНК, например, тРНК и рРНК.

### **Лабораторная работа** **Выделение нуклеопротеинов из дрожжей**

Реактивы: дрожжи пекарские, прессованные; 1 %-ный раствор гидроксида натрия; ацетат натрия; речной песок, тщательно промытый и прокаленный.

Оборудование: ступка с пестиком; воронка для фильтрования, химические стаканы; стеклянная палочка.

Ход работы.

1. К 6 г пекарских дрожжей добавьте 2 мл воды, немного песка и полученную смесь разотрите в ступке с 1 %-ым раствором гидроксида натрия. Раствор щелочи добавляйте небольшими порциями (по 2 – 3 мл), всего расходуйте около 25 мл. Массу дрожжей растирайте около 15-20 мин до получения гомогенной массы.

2. Содержимое ступки профильтруйте через складчатый фильтр и перелейте в стакан.

3. Затем в стакан добавьте 5 г ацетата натрия и, перемешивая стеклянной палочкой, растворите его.
4. По стенке стакана осторожно наслоите 25 мл этанола. Медленно круговыми движениями перемешайте жидкости. Образуются крупные хлопья нуклеопротеинов, которые постепенно осаждаются на дно стакана.
5. Отделите осадок нуклеопротеинов фильтрацией на бумажном фильтре или декантацией. Полученные нуклеопротеины сохраните для следующего опыта.
6. Оформление результатов.  
Опишите ход выполнения работы.

## **Занятие 8. Модуль 1. Витамины. Белки.**

### **ВОПРОСЫ**

1. Содержание предмета биологической химии. Роль и место ее среди других общетеоретических и профильных дисциплин.
2. История биохимии как науки.
3. Понятие о витаминах, провитаминах, антивитаминах. Основные источники витаминов. Классификация и номенклатура витаминов
4. Авитаминозы, гипо- и гипервитаминозы. Причины их вызывающие. Профилактические мероприятия.
5. Классификация и номенклатура витаминов.
6. Жирорастворимые витамины. Общая характеристика.
7. Витамин А, строение, основные источники, биологическая роль, проявления витаминной недостаточности.
8. Витамины группы Д, строение, основные источники, биологическая роль, проявления витаминной недостаточности.
9. Витамины Е, строение, основные источники, биологическая роль, проявления витаминной недостаточности.
10. Витамин К, строение, основные источники, биологическая роль, проявления витаминной недостаточности.
11. Витамин В<sub>1</sub>, строение, основные источники, биологическая роль, проявление витаминной недостаточности. Каталитические функции кофермента.

12. Витамин В<sub>2</sub>, строение, основные источники, биологическая роль, проявление витаминной недостаточности. Каталитические функции кофермента.
13. Витамин В<sub>3</sub>, строение, основные источники, биологическая роль, проявление витаминной недостаточности. Каталитические функции кофермента.
14. Витамин В<sub>6</sub>, строение, основные источники, биологическая роль, проявление витаминной недостаточности. Каталитические функции кофермента.
15. Витамин В<sub>5</sub>, строение, основные источники, биологическая роль, проявление витаминной недостаточности. Каталитические функции кофермента.
16. Витамин В<sub>6</sub>, строение, основные источники, биологическая роль, проявление витаминной недостаточности.
17. Витамин В<sub>12</sub>, основные источники, биологическая роль, проявления витаминной недостаточности.
18. Витамины С и Н: строение, основные источники. Биологическая роль, проявления витаминной недостаточности.
19. Кислотно-основное равновесие и механизмы его регуляции. Значение постоянства рН для организма.
20. Буферные системы крови.
21. Нарушение кислотно-основного равновесия: ацидоз и алкалоз.
22. Понятие о буферной системе. рН среды и его значение.
23. Виды нуклеиновых кислот.
24. Аминокислоты. Значение, классификация.
25. Значение нуклеиновых кислот для организма. Передача наследственной информации. Синтез белка.
26. Строение белка. Многообразие белков. Значение белка для организма.
27. Функции белков в организме.
28. Вторичная, третичная и четвертичная структура белка. Силы, удерживающие белок.

## Тема 4: ФЕРМЕНТЫ

*Ферменты* – это биологические катализаторы белковой природы, обеспечивающие протекание физиологических и биохимических процессов в живом организме. Вещества, оказывающие подобное действие вне живого организма, называются катализаторами. Ферменты (от лат. fermentum – брожение, закваска) иногда называют *энзимами* (от греч. en – внутри, zyme – закваска). Все живые клетки содержат очень большой набор ферментов, от каталитической активности которых зависит функционирование клеток. Практически каждая из множества разнообразных реакций, протекающих в клетке, требует участия специфического фермента. Изучением химических свойств ферментов и катализируемых ими реакций занимается особая, очень важная область биохимии – энзимология, ферментология.

### Занятие 9. Общие свойства Ферментов. Классификация.

1. Ферменты, определение, химическая природа ферментов. Однокомпонентные (мономерные) и многокомпонентные (полимерные) ферменты.
2. Понятие о холоферментах, кофакторах, коферментах, их роль в катализе.
3. Активный, аллостерический центры ферментов.
4. Номенклатура и классификация ферментов.
5. Характеристика ферментов класса оксидоредуктаз и трансфераз. (на примере обмена веществ).
6. Характеристика ферментов класса гидролаз и лиаз (на примере обмена веществ).
7. Характеристика ферментов класса изомераз и синтетаз (на примере обмена веществ).

Ферменты участвуют в ряде важнейших процессов жизнедеятельности, таких как реализация наследственной информации, биоэнергетике, синтезе и распаде биомолекул.

Являясь катализаторами, ферменты имеют ряд общих с небиологическими катализаторами свойств:

- Ферменты не входят в состав конечных продуктов реакции и не расходуются в процессе катализа.
- Ферменты не могут возбудить те реакции, протекание которых противоречит законам термодинамики.

В тоже время ферменты отличаются рядом характерных особенностей от неорганических катализаторов. Прежде всего ферменты чрезвычайно эффективны и проявляют в миллионы раз более высокую каталитическую активность в условиях температуры тела, атмосферного давления и в диапазоне физиологических значений pH. Ферменты отличаются высокой специфичностью действия.

Существенной особенностью ферментов является то, что их активность в клетках строго контролируется как на генетическом уровне, так и посредством определенных низкомолекулярных соединений.

Молекула фермента характеризуется универсальностью структуры, которая и определяет уникальность ее функций.

По химической природе бывают *мономерные* (однокомпонентные) ферменты, состоящие только из *белковой части* и *олигомерные* (двухкомпонентные), содержащие наряду с *белковой частью* (апофермент) и *небелковую часть* (кофактор). В роли *кофактора* могут выступать *коферменты*, непрочно связанные с белковой частью, и *простетические группы*, прочно связанные с белком. Кофактор может быть представлен коферментными формами водорастворимых витаминов (В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>5</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, Н) и многими двухвалентными металлами (Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>).

Отличительная особенность двухкомпонентных ферментов – ни *кофактор* отдельно, ни апофермент сами по себе не обладают каталитической активностью, а только в комплексе, образуя *холофермент*.

### **РАБОТА 1. Ферментативный гидролиз крахмала**

Реактивы: слюна; 1% раствор крахмала; 1% раствора йода или раствора Люголя.

Ход работы: В две пробирки наливают по 2 мл 1% раствора крахмала. В одну из них добавляют 1 мл разведенной слюны (1:10), в другую - 1 мл воды. Обе пробирки помещают на 10 минут в водяную баню (термостат), нагретую до 37-38°C. По истечении времени пробирки охлаждают и проводят качественную реакцию с реактивом Люголя, добавляя 1 каплю реактива.

Результаты записывают в таблицу:

№ пробирок	Субстрат	Фермент	Окраска с раствором Люголя
1	Крахмал	Амилаза слюны	
2	Крахмал	Вода	

Выводы:

**РАБОТА 2.** *Определение активности амилазы слюны (по Вольгемуту)*

Принцип метода: основан на определении наименьшего количества амилазы (при максимальном разведении слюны), полностью расщепляющего весь добавленный крахмал. Оценивается пробой с йодом.

Реактивы: 0,1 р-р крахмала; слюна; 0,1% р-р йода.

Ход работы: берут десять пробирок и вносят во все по 2 мл 0,1% р-ра крахмала и по 1 мл дистиллированной воды, добавляя по 1 мл слюны, разведенной соответствующим образом: в 1-ю – 1:20; во 2-1:40; в 3 – 1:80; в 4 – 1:160; в 5 – 1:320; в 6 – 1:640; в 7 – 1:1280; в 8 – 1:2560; в 9 – 1:5120; в 10 – 1:10240.

Перемешивают, стряхивают пробирки и помещают на водяную баню при 38°C на 30 мин или при 45°C на 15 мин. Охлаждают и добавляют по 1-2 капли 0,1% р-ра йода. Тщательно перемешивают и результаты заносят в таблицу.

№ пробирок	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Окраска										
Степень гидролиза крахмала										

Вывод:

### **Занятие 10. Факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций**

1. Понятие об изоферментах и мультиферментных комплексах.
2. Основные свойства ферментов.
3. Механизм действия ферментов.
4. Факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций.
5. Активаторы, ингибиторы ферментов. Типы ингибирования.
6. Что такое специфичность действия ферментов и виды специфичности?
7. Что называется термолабильностью ферментов?

Ферменты, являясь белками, обладают рядом характерных *свойств*. Ферменты – *амфотерные* соединения, растворимы в воде, растворах кислот, солей, оснований, обладают высокой биологической активностью. Для большинства ферментов теплокровных животных и человека *оптимальна* температура 33<sup>0</sup>- 40<sup>0</sup>С. При низких температурах (0<sup>0</sup>С и ниже) ферменты, как правило, не разрушаются, хотя активность их падает почти до нуля.

При температуре выше 50<sup>0</sup>С отмечается тепловая денатурация белка-фермента. При 100<sup>0</sup> почти все ферменты утрачивают свою активность (исключение мышечный фермент миокиназа, которая выдерживает нагревание до 100<sup>0</sup>С). Во всех случаях имеет значение время воздействия соответствующей температуры.

На активность ферментов оказывают влияние *pH среды*. Ферменты обычно наиболее активны в диапазоне физиологических значений pH (6,0-8,0).

Ферменты обладают *высокой специфичностью* действия.

В зависимости от механизма действия различают ферменты с *относительной* (или групповой), *абсолютной и стереохимической* специфичностью. *Относительной* специфичностью действия называют способность фермента катализировать превращение различных субстратов с одним типом химической связи. Так, для действия некоторых гидролитических ферментов наибольшее значение имеет тип химической связи в молекуле субстрата. Например, пепсин расщепляет белки животного и растительного происхождения, хотя они могут существенно отличаться друг от друга как по химическому строению и аминокислотному составу, так и по физико-химическим свойствам. Местом действия пепсина является пептидная – CO-NH-связь. Для действия липазы, катализирующей гидролиз жиров на глицерин и жирные кислоты, таким местом является сложноэфирная связь. *Абсолютной* специфичностью действия называют способность фермента катализировать превращение только единственного субстрата. Любые модификации в структуре субстрата делают его недоступным для действия фермента.

*Стереохимическая* специфичность ферментов обусловлена существованием оптически изомерных L- и D-форм или геометрических (цис- и транс-) изомеров химических веществ. Так, известны оксидазы L- и D-аминокислот, хотя в природных белках обнаружены только L-аминокислоты. Каждый из видов оксидаз действует только на свой специфический стереоизомер.

Наглядным примером стереохимической специфичности является бактериальная аспарататдекарбоксилаза, катализирующая отщепление CO<sub>2</sub> только от L-аспаргиновой кислоты с превращением ее в L аланиин.

Скорость реакции зависит от концентраций субстрата, фермента, кофактора.

Активность фермента определяется также присутствием в среде активаторов и ингибиторов: первые увеличивают скорость реакции, вторые тормозят реакцию.

В качестве основы принятой классификации и номенклатуры ферментов положен *тип катализируемой реакции*, который является специфичным для действия любого фермента. Этот принцип используется в качестве основы для

классификации и номенклатуры ферментов. Согласно этой классификации ферменты делят на *6 классов*.

В живом организме существует преемственность в действии ферментов различных классов.

Все классы подразделяются на подклассы, которые делятся на *подподклассы*, состоящие из отдельных представителей.

*Единая система классификации* ферментов основана на четырехзначном коде, согласно которому классам, подклассам, подподклассам и индивидуальным ферментам присваиваются номера (шифры). Первая цифра шифра показывает класс, вторая – подкласс, третья – подподкласс, четвертая – порядковый номер фермента.

В настоящее время пользуются двумя номенклатурами – *тривиальной и систематической*. Тривиальные названия ферментов краткие, например, амилаза, пепсин, уреазы. Название по систематической номенклатуре состоит из двух частей: первая часть отражает наименование главного субстрата, вторая – характер катализируемой реакции и добавляется суффикс – аза. Так, фермент, расщепляющий гидролитически пептидную связь между двумя остатками глицина, называется глицилглицин – гидролаза, его шифр – К Ф 3.4.3.1.

Ферменты нашли широкое применение в народном хозяйстве: хлебопечение, пивоварение, виноделие; чайное, кожевенное, меховое производство; сыроварение, кулинария (для обработки мяса); промышленная энзимология, являющаяся основой биотехнологии. Успехи энзимологии находят все большее применение в медицине, ветеринарии, животноводстве.

### **РАБОТА 1.** *Определение оптимальной температуры действия ферментов*

Реактивы: слюна, разведенная в 10 раз; 0,5% раствор крахмала; в) 1% раствор йода или раствор Люголя.

Ход работы: берут два ряда пробирок по 4 пробирки в каждом ряду, и во все пробирки первого ряда (1-4) вносят по 10 капель 0,5% раствора крахмала, а во все пробирки второго ряда (5-8) вносят по 10 капель разведенной в 10 раз слюны. Пробирки 1 и 5 на 10 минут ставят на лед; пробирки 2 и 6 оставляют при комнатной температуре, пробирки 3 и 7 ~ в водяную баню при

температуре 37°C, а пробирки 4 и 8 - в кипящую водяную баню. Через 10 минут сливают вместе содержимое пробирок 1 и 5, 2 и 6, 3 и 7, 4 и 8, тщательно перемешивают и оставляют стоять 10 минут в тех же условиях. Затем из каждой пробирки отбирают по 3 капли жидкости и на предметном стекле продельвают реакцию с каплей 1% раствора йода или 1 каплей раствора Люголя.

Результаты записывают в таблицу:

№ пробирок	Температура инкубации <sup>0</sup> С	Окраска
1 и 5	0	
2 и 6	20	
3 и 7	37	
4 и 8	100	

Выводы:

### **РАБОТА 2. Специфичность действия ферментов**

**Реактивы:** слюна, разведенная в 5 раз; 1% раствор сахарозы; 1% раствор крахмала; 1% раствор йода или раствор Люголя; 30% раствор гидроксида натрия; 7% раствор сульфата меди.

**Ход работы:** В одну пробирку наливают 10 капель 1% раствора крахмала, а в другую - 10 капель 1% раствора сахарозы. В обе пробирки добавляют по 5 капель слюны, разведенной в 5 раз, перемешивают содержимое и ставят на 10 минут в водяную баню при температуре 37°C. По истечении времени пробирки охлаждают, отбирают по 5 капель из каждой пробирки и продельвают с ними реакцию Троммера, убеждаясь, что расщепился только крахмал. К 5 каплям отобранных образцов добавляют 5 капель 30% раствора гидроксида натрия и несколько капель 7% раствора сульфата меди до появления не исчезающего осадка гидроксида меди (||). При нагревании до кипения выпадает осадок кирпично – красного цвета, если в растворе имеется моносахарид со свободным гликозидным гидроксилом.

С оставшимися образцами прodelывают реакции с 1 каплей раствора Люголя, для чего к 5 каплям образца добавляют 1-2 капли реактива Люголя. Результаты заносят в таблицу:

Субстрат	Фермент	Окраска	
		реакция Троммера	реакция с раствором Люголя
Крахмал	Амилаза слюны		
Сахароза	Амилаза слюны		

Выводы:

**РАБОТА 3.** *Влияние активаторов и ингибиторов на активность ферментов*

Реактивы: слюна, разведенная в 5 раз; 1% раствор хлорида натрия; 1% раствор сульфата меди; 1% раствор йода или раствор Люголя.

Ход работы: в первую пробирку добавляют 10 капель воды, во вторую пробирку - 8 капель воды и 2 капли 1% раствора хлорида натрия; в третью пробирку - 8 капель воды и 2 капли 1% раствора сульфата меди. Во все три пробирки добавляют по 10 капель слюны (1:5), перемешивают и добавляют по 5 капель 0,5% раствора крахмала, перемешивают и оставляют на 5 минут при комнатной температуре. Готовят три пробирки с водой – по 1 мл в каждой, затем добавляют в них по 1 капле раствора йода или Люголя и по 2-3 капли содержимого опытных проб.

Результаты записывают в таблицу:

№ пробирки	Фермент	Субстрат	Окраска
1	Амилаза	Крахмал + вода	
2	Амилаза	Крахмал + 1% раствор хлорида натрия	
3	Амилаза	Крахмал + 1% раствор сульфата меди	

Выводы:

## Тема 5: УГЛЕВОДЫ

*Углеводы* – это многоатомные спиртоальдегиды или спиртокетоны и продукты их поликонденсации. В соответствии с этим углеводы бывают *простые* и *сложные*.

### Занятие 11, 12: Углеводы.

#### **Классификация. Роль в организме. Определение содержания углеводов в различных объектах.**

#### **Вопросы:**

1. Классификация и номенклатура углеводов. Биологическая роль и распространение в природе.
2. Особенности строения, изомерии, конформации и биохимических свойств моносахаридов. Практическая значимость моносахаридов и их производных.
3. Олигосахариды. Строение, свойства и биологическая роль основных природных дисахаридов.
4. Полисахариды: гомо- и гетерогликаны.
5. Строение, свойства и значение крахмала, гликогена, целлюлозы, хитина.
6. Протеогликаны. Гликозаминогликаны. Практическое использование олиго- и полисахаридов

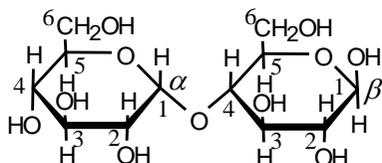
*Простые углеводы* – моносахариды, представлены *альдозами* и *кетозами* и содержат от 3 до 10 атомов углерода в молекуле, не подвергаются гидролизу.

*Сложные углеводы* подразделяются на *олигосахариды* (ди-, три-, тетрасахариды и т.п.) и *полисахариды*. *Полисахариды* бывают по строению *гомополисахариды* (образованы множеством остатков одного и того же моносахарида) и *гетерополисахариды* (образованы множеством остатков различных моносахаридов), а по функции – резервные и структурные.

К олигосахаридам относятся следующие дисахариды ( $C_{12}H_{22}O_{11}$ ): мальтоза (солодовый сахар), лактоза (молочный сахар), сахароза (свекловичный или тростниковый сахар) и целлобиоза. К резервным гомополисахаридам –  $(C_6H_{10}O_5)_n$  – крахмал, гликоген, а к структурным  $(C_6H_{10}O_5)_n$  – клетчатку, или целлюлозу.

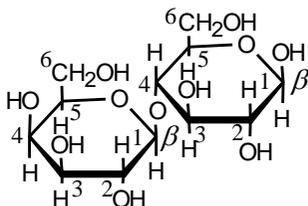
#### Мальтоза

$O$ - $\alpha$ -D-Глюкопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-глюкопираноза



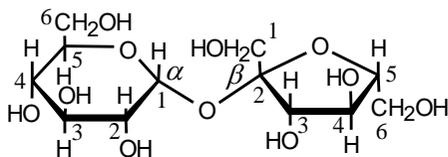
#### Лактоза

$O$ - $\beta$ -D-Галактопиранозил-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -D-глюкопираноза



## Сахароза

O- $\alpha$ -D-фруктофуранозил-(2 $\rightarrow$ 1)- $\beta$ -D-глюкопиранозид



Углеводы широко распространены в природе. Они образуются в растениях в результате фотосинтеза и составляют 80-90% сухой массы растений. В организме животных и человека углеводы присутствуют в меньшем количестве (около 2% от сухой массы тела), чем белки и липиды.

Углеводы играют важную роль в жизнедеятельности животных и человека: *структурную, энергетическую, защитную, опорную, механическую, обезвреживающую.*

### РАБОТА 1. Качественные реакции на глюкозу

#### ОПЫТ 1. Проба Гайенса.

Реактивы: 0,25н р-р сульфата меди; 2н р-р гидроксида натрия; глицерин; два раствора (один содержит 1% глюкозы).

Ход работы: в 2 пробирках смешивают 1 мл 0,25н раствора сульфата меди с 1-2 мл 2н раствора гидроксида натрия и растворяют выпавший осадок прибавлением нескольких капель глицерина. Затем добавляют по 2 мл из каждого раствора в соответствующую пробирку и нагревают в пламени. При наличии глюкозы образуется осадок красного или оранжевого цвета.

#### ОПЫТ 2. Реакция Троммера.

Ход работы: в 2 пробирки вносят по 5 капель раствора, добавляют 5 капель 2н раствора гидроксида натрия и по каплям 0,25н раствора сульфата меди до образования голубого осадка гидроксида меди (II), не исчезающего после энергичного встряхивания. Нагревают до кипения. При наличии сахара окраска переходит в желто-красную (избыток сульфата меди мешает определению сахара).

## **РАБОТА 2.** *Ориентировочный экспресс-метод определения сахара*

Реактивы: сульфат меди (порошок); карбонат натрия (безводный, порошок).

Ход работы: в ступке растирают в тонкий порошок 1 г сульфата меди с 10 г безводного карбоната натрия. На предметное стекло насыпают немного порошка и добавляют несколько капель исследуемого раствора. Подогревают до кипения. Появляется окраска: синяя – указывает на отсутствие глюкозы; желто-зеленая – свидетельствует о наличии в пределах 0,5% (41,6 ммоль); зеленая – 1% (83,2 ммоль); коричнево-красная – 2% (166,4 ммоль); интенсивно красная – свыше 2%.

## **РАБОТА 3.** *Гидролиз полисахаридов*

**Реактивы:** 1 %-ый раствор сахарозы; 1,5 %-ый крахмальный клейстер; фильтровальная бумага; 10 %-ый раствор серной кислоты; 5 %-ый раствор сульфата меди; 10 %-ый раствор гидроксида натрия; концентрированная серная кислота.

**Оборудование:** пробирки, водяная баня.

**Ход работы.**

**Задание № 1.** Гидролиз сахарозы.

1. В две пробирки поместите по 10 капель раствора сахарозы.
2. В одну пробирку добавьте 1-2 капли 10 %-го раствора серной кислоты.
3. Пробирку с подкисленным раствором сахарозы поставьте в почти кипящую водяную баню. Через 20 минут пробирку достаньте и охладите.
4. В обе пробирки прибавьте по 1 капле раствора сульфата меди и по каплям прибавляйте 10 %-ый раствор гидроксида натрия до появления интенсивно-синей окраски, свидетельствующий о полной нейтрализации кислоты.
5. Нагрейте обе пробирки на водяной бане. В обеих ли пробирках появилась оранжево-желтая окраска?

**Задание № 2.** Гидролиз крахмала.

1. Поместите в пробирку 10 капель крахмального клейстера и добавьте 2 капли 10 %-го раствора серной кислоты.
2. Поставьте пробирку в кипящую водяную баню. Через 30 минут пробирку выньте. Раствор стал прозрачным.
3. К полученному раствору добавьте 1 каплю раствора сульфата меди и по каплям добавляйте 10 %-ный раствор гидроксида натрия до появления интенсивно-синей окраски.
4. Нагрейте пробирку на водяной бане. Появляется оранжево-желтая окраска.

### Занятие 13. Модуль 2. Ферменты. Углеводы.

#### Вопросы.

1. Ферменты, определение, химическая природа ферментов.
2. Однокомпонентные (мономерные) и многокомпонентные (полимерные) ферменты.
3. Понятие о холоферментах, кофакторах, коферментах, их роль в катализе.
4. Активный, аллостерический центры ферментов.
5. Номенклатура и классификация ферментов.
6. Характеристика ферментов класса оксидоредуктаз и трансфераз. (на примере обмена веществ).
7. Характеристика ферментов класса гидролаз и лиаз (на примере обмена веществ).
8. Характеристика ферментов класса изомераз и синтетаз (на примере обмена веществ).
9. Понятие об изоферментах и мультиферментных комплексах.
10. Основные свойства ферментов.
11. Механизм действия ферментов.
12. Факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций.

13. Активаторы, ингибиторы ферментов. Типы ингибирования.
14. Классификация и номенклатура углеводов.
15. Биологическая роль углеводов и распространение в природе.
16. Особенности строения, изомерии, конформации и биохимических свойств моносахаридов. Практическая значимость моносахаридов и их производных.
17. Олигосахариды. Строение, свойства и биологическая роль основных природных дисахаридов.
18. Полисахариды: гомо- и гетерогликаны. Строение, свойства и биологическая роль основных природных дисахаридов.
19. Строение, свойства и значение крахмала, гликогена, целлюлозы, хитина. Классификация, распространение и биологическая роль.
20. Протеогликаны. Гликозаминогликаны. Практическое использование олиго- и полисахаридов.

## **Тема 6: ЛИПИДЫ**

*Липиды* – это соединения различного химического строения, нерастворимые в воде, но растворимые в различных органических растворителях.

Занятие 14, 15. **Липиды. Значение и роль в организме.**

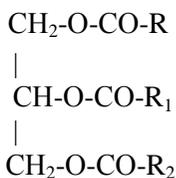
### **Вопросы**

1. Строение, физико-химические свойства и функциональная роль липидов. Классификация и номенклатура жирных кислот.
2. Строение и физико-химические свойства природных жирных кислот (насыщенных; моно- и полиеновых). Принципы химического строения и функции эйкозаноидов.
3. Воски.
4. Фосфолипиды: глицерофосфолипиды и сфингомиелины.
5. Гликолипиды: цереброзиды и ганглиозиды.

6. Стероиды: структура, свойства важнейших представителей липидов (холестерол желчные кислоты, стероидные гормоны, витамины группы Д).
7. Биологическая роль и практическое использование липидов.

По химическому строению липиды подразделяются на *простые* и *сложные*. К *простым* - относятся *жиры* и *воски*, к *сложным* – *фосфолипиды* (фосфатиды), *гликолипиды* и *стериды*.

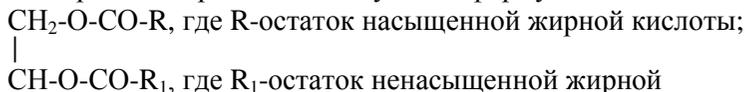
По химической природе жиры (триацилглицерины) и воски представляют собой сложные эфиры, образованные остатками спирта и карбоновых кислот. Чаще всего это насыщенные (C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>COOH) пальмитиновая, (C<sub>17</sub>H<sub>35</sub>COOH) стеариновая и ненасыщенные кислоты: (C<sub>17</sub>H<sub>33</sub>COOH) олеиновая, (C<sub>17</sub>H<sub>31</sub>COOH) линолевая и (C<sub>17</sub>H<sub>29</sub>COOH) линоленовая. В состав жира входит трехатомный спирт глицерин, а в состав воска – высшие одноатомные спирты. Общая формула, выражающая строение жира:



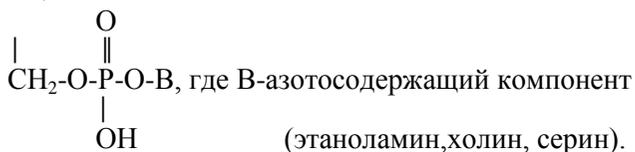
где R, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>– остатки высших карбоновых кислот

В состав фосфолипидов, кроме глицерина и остатков высших жирных кислот, входят остаток фосфорной кислоты, аминок спирта или аминокислоты.

Их строение отражается следующей формулой:



кислоты;



В организме животных содержание липидов колеблется от 10,5 до 23%. Липиды выполняют *многообразные функции* в организме:

- структурную (входят в состав клеточных мембран);
- терморегуляционную (обеспечивают терморегуляцию);
- защитную (защищают органы и ткани от механических повреждений);
- энергетическую (при расщеплении 1г жира выделяется энергии почти в 2 раза больше, чем при расщеплении 1г углеводов или белков);
- растворитель жирорастворимых витаминов А, D, F, Е, К;
- участвуют в передаче нервного импульса;
- гормональную;
- источник воды;
- резервную.

Липиды бывают *растительные и животные, резервные и структурные*.

*Структурные липиды* участвуют в формировании структурных компонентов протоплазмы клеток. *Резервные* располагаются в подкожной жировой клетчатке и в жировых депо внутренних органов.

*Основная масса липидов пищи* представлена *жирами и фосфолипидами*. У взрослых жиры практически не расщепляются в желудке, поскольку рН желудочного сока 1,5, а оптимальное значение для действия *желудочной липазы* 5,5-7,5. Кроме того, *липаза* может расщеплять только предварительно *эмульгированные жиры*, а в желудке отсутствуют условия для эмульгирования. Только у грудных детей происходит расщепление эмульгированного жира молока желудочной липазой, поскольку имеются соответствующие условия.

### ***РАБОТА 1.*** Физико-химические свойства жиров

***Реактивы и материалы:*** растительное масло; твердый жир; яблоко; картофель; гексан (бензин); этиловый спирт; ацетон; 2 %-ый раствор карбоната натрия; 2 %-ый раствор мыла; дистиллированная вода.

***Оборудование:*** пробирки; водяная баня; фильтровальная бумага.

### ***Ход работы.***

#### **Задание 1.** Образование масляного пятна.

1. Каплю растительного масла нанесите на кусочек бумаги. Образуется пятно.
2. Кусочек свиного сала, яблока, картофеля раздавите на кусочке бумаги с образованием пятна.
3. Нагрейте бумагу с пятнами на слабо нагретой плитке. Пятно, образованное жиром, не исчезает при нагревании.

#### **Задание 2.** Растворимость жиров.

1. Поставьте два ряда пробирок по 4 в каждом.
2. В пробирки первого ряда внесите по 3 капли растительного масла, в пробирки второго ряда – по кусочку твердого жира.
3. В первую пробирку каждого ряда прилейте 2 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, во вторую – столько же гексана или бензина; в третью – ацетона и в четвертую – спирта.
4. Все пробирки взболтайте и наблюдайте за растворимостью жиров в различных растворителях. Пробирки со спиртом рекомендуется нагреть на водяной бане.

#### **Задание 3.** Эмульгирование жирных масел.

1. В три пробирки внесите по 5 капель растительного масла.
2. В первую пробирку добавьте 2 см<sup>3</sup> дистиллированной воды, во вторую – 2 см<sup>3</sup> 2 %-го раствора карбоната натрия, в третью – столько же 2 %-го раствора мыла.
3. Содержимое пробирок сильно взболтайте. В первой пробирке образуется неустойчивая эмульсия масла в воде, в остальных – устойчивая эмульсия благодаря действию эмульгаторов, которые, адсорбируясь на поверхности жировых капель, придают им одинаковый заряд и снижают поверхностное натяжение.

*Оформление результатов исследований в виде таблицы.*

№ задания	Краткое описание опыта	Наблюдаемое явление	Вывод

## Литература:

1. Пустовалова Л. В. Практикум по биохимии. – Ростов-на Дону: Феникс, 1999 – 541 с.

2. Чиркин А.А. Практикум по биохимии. – Минск ООО «Новое знание», 2002 – 512 с.

3. Кушманова О.Д., Ивченко Г.М. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – Москва: «Медицина», 1983 – 272 с.

4. Под редакцией: Березова Т.Т. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – Москва: «Медицина», 1976 – 294 с.

5. Конспект лекций.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр

1	Техника безопасности при работе в биохимической лаборатории	3
2	Тема 1. Техника безопасности. Концентрация ионов водорода (рН) и буферные системы	4
3	Тема 2. Витамины	11
4	Жирорастворимые витамины	11
5	Водорастворимые витамины	19
6	Тема 3: Белки и нуклеиновые кислоты	31
7	Белки. Строение и роль в организме. Качественные реакции на белок. Аминокислоты и пептиды	31
8	Белки. Физико-химические свойства белков.	43
9	Нуклеиновые кислоты	47
10	Модуль 1. Витамины. Белки.	50
11	Тема 4. Ферменты	52
12	Общие свойства Ферментов. Классификация.	52
13	Факторы, влияющие на скорость ферментативных реакций	55
14	Тема 5. Углеводы	60
15	Классификация. Роль в организме. Определение содержания углеводов в различных объектах.	60
16	Модуль 2	64
17	Тема 6. Липиды	65
18	Литература	69

Учебное издание

**Заводник Лев Борисович**  
**Будько Тамара Николаевна**  
**Почебут Оксана Николаевна**

*ПРАКТИКУМ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ  
И ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ*  
*по «Общей биологической химии»*  
(часть 1 – статическая биохимия)

Ст. корректор Ж.И. Бородина  
Компьютерная верстка: Л.Б. Заводник, Р.Н. Лях

Подписано к печати . . . 2011.  
Формат 60x84/16. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс.  
Печать Riso. Усл. печ. л. . Уч.-изд.л. .  
Тираж экз. Заказ №

Учреждение образования  
«Гродненский государственный аграрный университет»  
Л.И. № 2330/0548516 от 16.06.2009  
230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28.

Отпечатано на технике издательско-полиграфического отдела  
Учреждения образования «Гродненский государственный  
аграрный университет».  
230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28.