

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 биохимии»***

(часть 2 – динамическая биохимия)

для студентов 3 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
пищеконцентратов»

Гродно 2012

УДК 577.1(076)

ББК 28.072

П 69

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

Рецензент:

заведующий кафедрой химии, доктор биологических наук

А.Ф. Макарьчиков

П 69 **Практикум для лабораторных работ по «Общей биохимии» (часть 2 – динамическая биохимия)/** Л.Б. Заводник, Т.Н. Будько, О.Н. Почебут – Гродно : ГГАУ, 2012 – 42 с.

УДК 577.1(076)

ББК28.072

Практикум для лабораторных работ по «Общей биохимии» 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 мясopодуlктов» и 1-49010202 «Технология переработки молока и молочных продукlтов» и предназначен для выполнения лабораторных работ по разделу «динамическая биохимия». Рассмотрены основные принципы обмена веществ и энергии в организме, анаболизма и катаболизма основных классов макромолекул и поддержания динамического гомеостаза для нормального функционирования органов и тканей.

Рекомендовано учебно-методической комиссией инженерно-технологического факультета УО «ГГАУ» (Протокол № от _ 2012 г).

© Т.Н. Будько, Л.Б. Заводник, О.Н. Почебут, 2012

© УО «ГГАУ», 2012

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.

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 методических пособиях.

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.

14. Включать в сеть электрические приборы разрешается с указания преподавателя и в его присутствии. Перед включением убедитесь в исправности прибора.

Тема 1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И ЭНЕРГИИ.

Контрольные вопросы

1. Что такое обмен веществ и энергии?
2. Что такое анаболизм и катаболизм?
3. Что такое «питательные вещества» и их биологическая роль?
4. Основные этапы обмена веществ и энергии.
5. Биологическое окисление и его особенности.
6. Макроэргические соединения.
7. Характеристика дыхательной цепи и отдельных ее компонентов.
8. Окислительное фосфорилирование как механизм аккумуляции энергии. Образование АТФ при окислении НАДН₂ и ФАДН₂ в дыхательной цепи.
9. Макроэргические соединения.

Обмен веществ и энергии – совокупность химических реакций, протекающих в живом организме, обеспечивающих превращение веществ и энергии и направленных на сохранение и самовоспроизведение живых организмов. Обмен веществ и энергии неразрывно связаны и представляют собой единство.

Обмен веществ – неперенный признак жизни, складывается из процессов *анаболизма* и *катаболизма*.

В процессе *анаболизма* осуществляется синтез сложных веществ из более простых с использованием энергии, тогда как при *катаболизме* сложные вещества распадаются на более простые с выделением энергии.

Соотношение и интенсивность процессов *анаболизма* и *катаболизма* зависит от возраста, пола, физиологического состояния живого организма и факторов внешней среды. Наиболее интенсивно процессы *анаболизма* происходят в молодом растущем организме, у беременных, в период лактации, а процессы *катаболизма* – у пожилых и при различных патологиях.

Между живыми организмами и окружающей средой осуществляется обмен веществ через поступающие в организм питательные вещества – белки, липиды, углеводы, их превращение и выведение в виде конечных продуктов. Организм для обеспечения жизненных процессов поглощает из внешней среды энергию в форме энергии химических связей питательных веществ. Превращение веществ осуществляется с помощью ферментов, которым отводится центральная роль. Энергия в организме выделяется постепенно в результате внутриклеточного окисления углеводов, жиров, белков.

В обмене веществ условно выделяют следующие *этапы*:

- I. Переваривание и всасывание (происходит в пищевом канале);
- II. Промежуточный обмен (метаболизм), состоящий из процессов анаболизма и катаболизма (протекает в клетках и тканях);
- III. Выделение конечных продуктов обмена веществ из организма.

Катаболизм углеводов, липидов, белков протекает в *три стадии*:

1. Расщепление сложных веществ до более простых, сопровождается выделением около 1% энергии, содержащейся в питательных веществах. Эта стадия совпадает с первым этапом обмена веществ;

2. Дальнейшее превращение образовавшихся веществ с помощью специфических реакций (для углеводов – это реакции гликолиза и гликогенолиза; для липидов – β -окисление жирных кислот; для белков – реакции дезаминирования, декарбоксилирования). При этом высвобождается 30-35% энергии.

3. Терминальное окисление включает: окислительное декарбоксилирование пирувата, ЦТК (цикл Кребса) и ЦПО (дыхательная цепь). На этой стадии катаболизма выделяется около 65-70% энергии.

Вторая и третья стадии этого процесса протекают в клетке и совпадают с промежуточным обменом.

Примерно 50% всей образующейся энергии рассеивается в виде тепла, 50% используется на синтез макроэргических

соединений. К макроэргическим соединениям относятся вещества, при гидролизе которых выделяется не менее 7 ккал/моль энергии. Это – АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ, 1,3-дифосфоглицериновая кислота, 2-фосфоенолпировиноградная кислота и др. Энергия макроэргических соединений используется организмом для осуществления биохимических и физиологических процессов.

99% всего энергоснабжения организма приходится на биологическое окисление.

Биологическое окисление – это совокупность окислительно-восстановительных реакций (ОВР), протекающих в живых организмах и обеспечивающих их энергией в доступной для усвоения форме. Основой биологического окисления является тканевое дыхание, присуще всем живым клеткам.

В процессе биологического окисления электроны и протоны, отщепляемые от субстратов (вещества, поступающие в клетку), переносятся на кислород с помощью ферментов дыхательной цепи. Ферменты дыхательной цепи включают коферментные формы витаминов В₂, В₅ и КоQ, цитохромы и находятся на внутренней мембране митохондрий.

Экспериментально доказано, что до 90% субстратов окисляется с участием дыхательной цепи и в ней содержатся три участка, где синтезируется АТФ.

Синтез АТФ из АДФ и неорганического фосфата с использованием энергии, выделяющейся при окислении веществ в живых клетках, и сопряженный с переносом электронов по дыхательной цепи, называется *окислительным фосфорилированием*.

Окисление веществ, не связанное с запасанием энергии в связях АТФ, называется *свободным окислением*. Выделяющаяся при этом энергия рассеивается в виде тепла.

РАБОТА 1. Качественное определение каталазы в крови

Принцип метода: фермент каталаза, содержащийся в различных клетках, включая клетки крови, разлагает образующуюся при окислительных процессах перекись водорода на воду и молекулярный кислород.

Реактивы: кровь; 3% р-р перекиси водорода.

Ход работы: в пробирку вносят 10-15 капель перекиси водорода и 3 капли крови. Наблюдается выделение пузырьков кислорода. При внесении в пробирку тлеющей лучинки она вспыхивает – выделяющийся кислород усиливает горение.

РАБОТА 2. *Количественное определение каталазы*

Принцип метода: метод основан на определении количества перекиси водорода, разложенной каталазой за определенный промежуток времени.

Реактивы: кровь (1:1000); 1% р-р перекиси водорода; 10% р-р серной кислоты; 0,1н р-р перманганата калия.

Ход работы: в две колбы или стакана вносят по 1.0 мл крови, разведенной в 1000 раз и по 70 мл дистиллированной воды. В первую колбу (опыт) добавляют 2.0 мл 1% р-ра перекиси водорода, а во вторую (контроль) 5,0 мл 10% р-ра серной кислоты. Колбы оставляют при комнатной температуре на 30 минут, затем добавляют в первую колбу 5,0 мл 10% р-ра серной кислоты, а во вторую 2,0 мл 1% р-ра перекиси водорода. Титруют содержимое каждой колбы 0,1н р-ром перманганата калия до розовой окраски, записывают объемы р-ра KMnO_4 , пошедшего на титрование.

Расчет: $\text{КЧ} = (A-B) \times 1,7$

где: КЧ – каталазное число (активность каталазы в мг перекиси водорода на 1 мл крови);

A – объем 0,1н р-ра KMnO_4 (мл), пошедший на титрование контрольной пробы;

B – объем 0,1н р-ра KMnO_4 (мл), пошедший на титрование опытной пробы;

1,7 – количество мл перекиси водорода, соответствующее одному мл перманганата.

РАБОТА 3. *Количественное определение макроэргических соединений мышц*

Принцип метода: богатые энергией два остатка фосфорной кислоты АТФ и фосфорный остаток креатинфосфата быстро отщепляется при гидролизе в кислой среде. Сравнение содержания неорганического фосфора, определяемого по

цветной реакции с молибдатом аммония и аскорбиновой кислотой до и после гидролиза, указывает на количество лабильно связанного фосфора макроэргов, что отражает количество макроэргических соединений в мышцах.

Реактивы: скелетная мышца; 2,5% р-р ТХУ; 1,0 Н р-р соляной кислоты; 1,0 Н р-р гидроксида натрия; 1% р-р молибдата аммония; 1% р-р аскорбиновой кислоты.

Ход работы: 0,5 г мышцы гомогенизировать в 5 мл 2,5% р-ра ТХУ (охлажденной во льду). Отфильтровать осадок, промыть 5 мл холодной дистиллированной воды и довести объем до 10 мл. Полученный фильтрат – безбелковый фильтрат.

В 2 пробирки – контрольную и опытную – наливают по 0,5 мл безбелкового фильтрата. В опытную пробирку добавляют 1 мл 1 моль/л HCl, закрывают фольгой и помещают на кипящую водяную баню на 10 мин для гидролиза фосфорных связей. Затем раствор охлаждают и добавляют 1 мл 1 моль/л NaOH.

В контрольную пробирку (без предварительного кипячения) добавляют 1 мл 1 моль/л раствора HCl и 1 мл 1 моль/л NaOH. Затем в обе пробирки добавляют по 7,5 мл дистиллированной воды (до получения объема 10 мл).

Дальнейшие процедуры проводят обязательно одновременно. Из обеих пробирок отливают по 5 мл жидкости, переносят в 2 другие пробирки и добавляют в каждую из них по 0,5 мл молибдата аммония, 0,5 мл аскорбиновой кислоты и 2 мл дистиллированной воды. Смесь в каждой пробирке быстро перемешивают и оставляют стоять при комнатной температуре строго в течение 10 минут.

Контрольную и опытную пробы колориметрируют на ФЭКе с красным светофильтром (длина волны 670 нм) в кюветах с толщиной слоя 1,0 см против воды. В опытной пробе (после гидролиза) определяемый неорганический фосфат представляет собой сумму лабильно связанного фосфора и солей фосфата, присутствующих в тканях. В контрольной пробе определяются только фосфатные соли. Из оптической плотности, найденной для опытной пробы, вычитают оптическую плотность, полученную для контрольной пробы. Концентрацию лабильно связанного неорганического фосфата в пробе находят по калибровочному графику. Для его построения

используют концентрации неорганического фосфата от 200 мкг до 20 мкг в пробе.

Рассчитывают количество лабильно связанного фосфора в миллиграммах на 100 г сырой массы, учитывая разведение:

$x = 100A (3,3 \cdot 400)$, где x – содержание макроэргических соединений в пересчете на 1 мг АТР в 100 г сырой ткани, мг/100 г; A – содержание АТР в пробе, мг; $(3,3 \cdot 400)$ – коэффициент пересчета на 1 г ткани с учетом разведения растворов.

Принцип метода и полученные результаты записывают в тетрадь.

Тема: ОБМЕН УГЛЕВОДОВ

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

Занятие 2, 3: Анаэробное окисление углеводов. Аэробное окисление углеводов. Петозофосфатный путь окисления глюкозы.

Контрольные вопросы

1. Где и с участием каких ферментов перевариваются углеводы.

2. Что такое гипо-, гипергликемия, глюкозурия? Содержание сахара в крови.

3. Как осуществляется регуляция обмена углеводов?

4. Каковы основные метаболические пути промежуточного обмена углеводов?

5. Что такое гликолиз и гликогенолиз? Их энергетическая эффективность.

6. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты. Ферменты, клеточная локализация.

7. Аэробное окисление углеводов. Основные этапы, энергетический баланс.

8. Цикл трикарбоновых кислот. Ферменты, энергетический баланс.

9. Глюконеогенез.

10. Биосинтез гликогена.

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 выполняют ряд важных функций в жизнедеятельности человека: *структурную, энергетическую, защитную, опорную, механическую, обезвреживающую.*

С пищей в организм человека углеводы поступают в виде *полисахаридов* (около 80%) (крахмал, клетчатка), *дисахаридов* (около 15%) и в незначительном количестве в виде *моносахаридов* (около 5%).

Обмен углеводов – составная часть общего обмена веществ и энергии в организме. Он является одним из важнейших связующих звеньев обмена других веществ. Он состоит из *следующих этапов: переваривание и всасывание, промежуточный и конечный обмены.*

Поступающие в организм ди- и полисахариды в желудочно-кишечном тракте подвергаются гидролитическому расщеплению. Начинается распад углеводов в ротовой полости под действием фермента *α-амилазы*. Однако основное место *расщепления углеводов* у человека – тонкий отдел кишечника, куда выделяются *амилазы* поджелудочной железы.

Клетчатка и целлюлоза не расщепляются ферментами пищеварительных соков. Эти углеводы только частично расщепляются в толстой кишке под действием ферментов целлюлазы и целлюбиазы, вырабатываемых микрофлорой толстого кишечника соответственно.

клетчатка $\xrightarrow{\text{целлюлаза}}$ целлюбиоза

целлюбиоза $\xrightarrow{\text{целлюбиоза}}$ 2β-глюкоза

Биологическое значение клетчатки очень велико:

- создание объема пищи;

- усиление перистальтики кишечника и продвижение пищи;
- усиление секреции ферментов;
- очистка кишечника.

Уровень сахара в крови является величиной постоянной и характеризует состояние углеводного обмена в организме. Снижение уровня сахара ниже нормы называется *гипогликемия*, а повышение выше нормы – *гипергликемия*.

Различают *гипогликемию* алиментарную и патологическую. *Гипергликемия* бывает алиментарная, стрессовая и патологическая.

В норме в моче глюкоза отсутствует, а при нарушении углеводного обмена отмечается ее наличие (*глюкозурия*).

Содержание глюкозы в крови регулируют многие гормоны. Инсулин является гипогликемическим гормоном, а другие гормоны: глюкагон, адреналин, тироксин, соматотропин, глюкокортикоиды обладают гипергликемическим действием.

Глюкоза доставляется по воротной вене прежде всего в печень, а затем разносится кровью к остальным органам и тканям, где подвергается дальнейшим превращениям. Эти превращения включают процессы биосинтеза и распада и составляют промежуточный обмен.

Промежуточный обмен часто называют межклеточным, внутриклеточным или внутритканевым обменом.

Промежуточный обмен (метаболизм) включает процессы *анаболизма* и *катаболизма* углеводов: биосинтез гликогена и глюкозы (глюконеогенез), расщепление гликогена и глюкозы. 3-5% глюкозы крови идет на *биосинтез гликогена*, 30-35% - на *биосинтез липидов* и большая часть (60-70%) используется для *энергетических потребностей*. Основными путями образования энергии являются процессы окисления моносахаридов и гликогена, протекающие в *аэробных* (с участием кислорода) и *анаэробных* (в отсутствии кислорода) условиях.

Если окисление углеводов начинается с гликогена, то процесс называется *гликогенолиз*, а если с глюкозы – *гликолиз*.

Анаэробный гликолиз включает 11 реакций, из которых 10 первых реакций – *общие с аэробным гликолизом*. Первые пять реакций подготовительные, а 5 последующих реакций приводят

к образованию энергии. 11-я реакция – биосинтез молочной кислоты (лактата) протекает в скелетных мышцах при недостатке кислорода.

Энергетический баланс гликогенолиза – выделение 3-х молекул АТФ, а гликолиза – 2-х молекул АТФ в расчете на 1 молекулу глюкозы.

Эффективность использования энергии при *гликолизе* и *гликогенолизе* составляет 35-40%, а остальные 60-65% рассеиваются в виде тепла.

С энергетической точки зрения анаэробное окисление углеводов малоэффективно, но физиологическое значение велико, в условиях, когда организм выполняет свои функции при дефиците кислорода.

Аэробный гликолиз протекает однотипно, что и анаэробный до стадии образования ПВК.

Образующийся пируват в аэробных условиях подвергается в митохондриях *окислительному декарбоксилированию* при участии мультиферментного пируватдегидрогеназного комплекса (ПДГК).

Далее ацетил-КоА вступает в реакции *цикла трикарбоновых кислот* (ЦТК или цикла Кребса). Цикл Кребса представляет собой серию ферментативных реакций (8 реакций), протекающих в митохондриях, в ходе которых ацетил-КоА расщепляется до CO_2 и H_2O с выделением энергии. При окислении одной молекулы ацетил-КоА в цикле Кребса образуется 12 молекул АТФ.

Энергетическая эффективность полного окисления 1 молекулы глюкозы составляет 36-38 молекул АТФ.

В ЦТК превращаются не только остатки молекул углеводов. В его реакции включаются продукты окисления жирных кислот и аминокислот.

РАБОТА 1. *Определение активности альдолазы*

Принцип метода: показателем активности фермента является увеличение концентрации фосфотриоз, образующихся при расщеплении фруктозо–1,6-дифосфата сывороточной альдолазой.

Реактивы: сыворотка (без следов гемолиза); 2 Н р-р соляной кислоты, 0,005 М р-р фруктозо–1,6–дифосфата; 0,6 Н р-р гидроксида натрия; 0,1% р-р 2,4-динитрофенилгидразина.

Ход работы: в две пробирки; контроль и опыт вносят по 0,1 мл сыворотки и только в пробирку с контролем добавляют 0,1 мл 2 н р-ра соляной кислоты. Затем в обе пробирки приливают по 0,5 мл 0,005 м р-ра фруктозо–1,6–дифосфата и выдерживают 30 мин при 37⁰С. По истечении времени, в опытную пробирку добавляют 0,1 мл 2 н р-ра соляной кислоты и в обе пробирки по 0,5 мл 0,6н р-ра гидроксида натрия, перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 30 мин. Потом в обе пробирки вносят по 0,5 мл 0,1% р-ра 2,4-динитрофенилгидразина, оставляют еще на 30 минут при комнатной температуре и добавляют по 4,5 мл 0,6н р-ра гидроксида натрия. Доводят объем в обеих пробирках до 7 мл дистиллированной водой, перемешивают и колориметрируют на ФЭКе с зеленым светофильтром в кювете с шириной 1 см.

Активность альдолазы определяют по формуле

$$A=(E_k - E_o) \times 10 : 30 \text{ [нмоль/мл мин]}$$

РАБОТА 2. *Обнаружение крахмала в продуктах питания*

Крахмал основной резервный углевод растений, представляет смесь двух полисахаридов, линейного (амилозы) и разветвленного (амилопектина), дает цветную реакцию с раствором иода в иодиде калия - окрашивается в темно-синий цвет. Крахмал белое аморфное вещество, не растворимое в холодной воде, выделяют из картофеля.

Материалы и реактивы: крахмал; картофель; отварной рис; мука; яблоко; лимон; растительное масло; раствор йода в йодистом калии (1 г йодистого калия растворяют в нескольких миллилитрах воды, в концентрированном растворе соли растворяют 1 г йода и разбавляют водой до 300 см³) или спиртовой раствор йода; дистиллированная вода.

Оборудование: пробирки; ступка с пестиком.

Ход работы.

1. Исследуемые твердые продукты (картофель, отварной рис, яблоко, лимон) по отдельности разотрите до кашецеобразного состояния в ступе.

2. В семь пронумерованных пробирок поместите по 0,5-1 г растертых продуктов.
3. Во все пробирки добавьте по 2-3 см³ дистиллированной воды и пробы тщательно перемешайте.
4. Добавьте в пробирки по 1-2 капли раствора йода.
5. Отметьте пробирки, в которых наблюдается синее окрашивание.

Оформление результатов.

Оформите проведенные исследования в виде таблицы. Сделайте вывод о содержании крахмала в изученных продуктах.

№ пробирки	Исследуемый продукт	Наблюдаемая окраска	Содержание крахмала

РАБОТА 3. Качественная реакция на молочную кислоту в мышечном экстракте

Реактивы: а) 1% раствор фенола; б) 1% раствор хлорного железа; в) 0,5% раствор молочной кислоты; г) реактив Уффельманна (20 капель 1% раствора фенола и 2 капли 1% раствора хлорида железа (III)).

Ход работы: 1 г мышц растирают до гомогенного состояния в ступке с небольшим количеством кварцевого песка в течение 3-5 минут, добавив 5 капель воды. Затем приливают 3 мл дистиллированной воды и фильтруют через смоченную водой вату. Берут 3 пробирки. В первую вносят 15 капель фильтрата, во вторую – 15 капель 0,5% раствора молочной кислоты, в третью – 15 капель воды. Во все пробирки добавляют по каплям реактив Уффельманна.

В присутствии молочной кислоты фиолетовая окраска жидкости переходит в желто-зеленую (т.к. образуется лактат железа).

Тема: ОБМЕН ЛИПИДОВ

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

Занятие 4, 5: Переваривание и всасывание липидов. Промежуточный обмен липидов. Окисление насыщенных кислот с четным числом углеродных атомов.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Где и с участием каких ферментов перевариваются липиды?
2. Какова роль желчи в обмене липидов?
3. Промежуточный обмен липидов.
4. β -окисление жирных кислот. Клеточная локализация, ферменты.
5. Энергетический баланс β -окисления жирных кислот.
6. Биосинтез жирных кислот, триглицеридов, фосфолипидов.
7. Что такое кетоновые тела?
8. Регуляция липидного обмена.

В организме человека 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, E, K;
- 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 детей происходит расщепление эмульгированного жира молока желудочной липазой, поскольку имеются соответствующие условия. Переваривание жиров у взрослых преимущественно протекает в верхних отделах тонкого кишечника. *Эмульгирование* жира осуществляется *желчными кислотами*, которые присутствуют в желчи в свободной и связанной с глицином или таурином (конъюгированной) формах. Различают *холевую, дезоксихолевую, хенодезоксихолевую и литохолевую кислоты*. *Желчные кислоты* стабилизируют образовавшуюся эмульсию, активируют панкреатическую липазу, способствуют всасыванию продуктов расщепления.

Основными продуктами расщепления жиров являются *глицерин, жирные кислоты и β -моноглицериды*. В расщеплении жиров может также участвовать и *кишечная липаза*, но активность ее невысока.

Фосфолипиды пищи также эмульгируются желчными кислотами и расщепляются под действием *панкреатических фосфолипаз A₁, A₂, C, D*. Каждый фермент действует на определенную сложноэфирную связь фосфолипида.

Продуктами расщепления фосфолипидов являются *глицерин, высшие жирные кислоты, фосфорная кислота, аминокспирты* (холин, этаноламин) или аминокислота серин.

Жирные кислоты и глицерин, поступившие в ткани, могут использоваться для синтеза собственных жиров организма или окисляться до CO₂ и H₂O с образованием энергии.

Глицерин может быть использован в процессе образования триозофосфатов диоксиацетонфосфата или 3-фосфоглицеринового альдегида, которые включаются в реакции гликолиза или глюконеогенеза.

Окисление жирных кислот протекает несколькими путями. Основной тип окислительного превращения жирных кислот – β -окисление. Процесс β -окисления жирных кислот локализован в митохондриях и состоит из нескольких последовательных реакций, составляющих цикл, в результате которого активированная жирная кислота укорачивается на 2 углеродных атома, выделяющихся в форме активной уксусной кислоты – ацетил-КоА. Остаток жирной кислоты включается в реакции β -окисления до тех пор, пока полностью не распадется до ацетил-КоА, который далее окисляется в цикле трикарбоновых кислот.

Конечными продуктами расщепления жирных кислот являются CO_2 , H_2O и АТФ.

Биосинтез липидов включает процессы биосинтеза жирных кислот, глицерина, триглицеридов, фосфолипидов.

Биосинтез карбоновых кислот осуществляется в цитоплазме из ацетил-КоА при участии мультиферментного комплекса – синтетазы жирных кислот- (6 ферментов, связанных с ацилпереносящим белком (АПБ)).

В организме животных и человека *не синтезируются* ненасыщенные жирные кислоты: *линолевая и линоленовая*, и поэтому должны поступать с кормами и пищей.

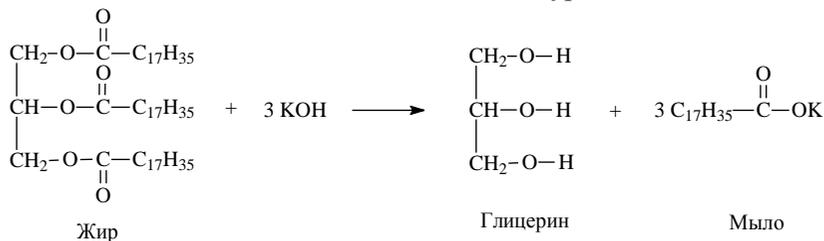
Скорость биосинтеза жирных кислот во многом определяется скоростью образования триглицеридов и фосфолипидов, т.к. свободные жирные кислоты присутствуют в тканях и плазме крови в небольших количествах и в норме не накапливаются.

Биосинтез триглицеридов (жира) происходит из глицерина и жирных кислот (преимущественно стеариновой, пальмитиновой и олеиновой) и активно протекает в печени, жировой ткани, в молочной железе в период лактации, в мышцах.

РАБОТА 1. Получение мыла и изучение его свойств

При взаимодействии жиров со щелочами происходит их

гидролиз с образованием солей высших жирных кислот (мыла) и глицерина. Натриевые соли представляют собой твердые мыла, калиевые – жидкие. Реакция идет согласно уравнению



Реактивы: растительное масло или животный жир; 30 %-ый спиртовой раствор гидроксида калия; 15%-ый раствор соляной кислоты; 10 %-ый раствор хлорида кальция; дистиллированная вода.

Оборудование: широкая пробирка с резиновой пробкой со вставленной в нее стеклянной трубкой; пробирки; водяная баня.

Ход работы. При выполнении данной работы необходимо соблюдать особую **ОСТОРОЖНОСТЬ!**

Задание 1. Омыление жира

1. В широкую пробирку внесите 1 см³ растительного масла или около 1 г животного жира и добавьте 10 см³ спиртового раствора гидроксида калия.
2. Пробирку закройте пробкой с воздушным холодильником и нагревайте на кипящей водяной бане в течение 25-30 мин. Эту часть работы необходимо проводить в ВЫТЯЖНОМ ШКАФУ.
3. После нагревания в пробирку налейте 10 см³ горячей воды. Образуется гомогенный раствор калиевых солей жирных кислот (калиевого мыла). Данный препарат использовать для мытья рук, лица и других хозяйственных целей КАТЕГОРИЧЕСКИ ЗАПРЕЩЕНО!

Задание 2. Образование нерастворимого мыла.

К 2 см³ раствора, полученного в задании 1, добавьте 1 см³ 10 %-го раствора хлорида кальция. Выпадают

хлопья нерастворимого в воде осадка кальциевой соли высших карбоновых кислот.

Оформление результатов:

Опишите ход выполнения работы. Приведите уравнения протекавших реакций.

РАБОТА 2. Качественная реакция на желчные кислоты

Принцип метода: основан на взаимодействии желчных кислот и оксиметилфурфурола, образующегося из фруктозы в присутствии концентрированной серной кислоты.

Реактивы: 20% р-р сахарозы; концентрированная серная кислота; желчь в разведении водой 1:2.

Ход работы: на сухое предметное стекло наносят 1 каплю разбавленной желчи и каплю 20% р-ра сахарозы, хорошо перемешивают стеклянной палочкой. Рядом наносят 3 капли концентрированной серной кислоты (стекло не сдвигать с места). Через некоторое время на месте слияния капель появляется красная окраска, переходящая при стоянии в красно-фиолетовую.

РАБОТА 3. Определение кетоновых тел экспресс-методом

Принцип метода: кетоновые тела при взаимодействии с реагентом, пропитывающим экспресс-полоски дают цветную реакцию.

Реактивы: тест-полоски на кетоновые тела; моча.

Ход работы: в пробирку с исследуемой мочой опускают тест-полоску на 10 секунд. Через 2 минуты сравнивают окраску тест-полоски с цветной шкалой сравнения, которая отражает концентрацию кетоновых тел (ацетоуксусная кислота) в моче.

Работа 4. Качественные реакции на кетоновые тела

Опыт 1. Проба Розера

Реактивы: а) концентрированная уксусная кислота; б) свежеприготовленный 10% раствор нитропруссид натрия; в) 10% раствор гидроксида натрия, два исследуемых раствора.

Ход работы: на предметное стекло наносят 1 каплю каждого из исследуемых растворов, 1 каплю 10% раствора

гидроксида натрия и 1 каплю свежеприготовленного 10% раствора нитропрусида натрия. Наблюдается появление оранжево-красного окрашивания. Добавляют 3 капли концентрированной уксусной кислоты – появляется вишневое окрашивание.

Опыт 2. Проба Герхарда

Реактивы: а) 5% раствор хлорида железа (III), два исследуемых раствора.

Ход работы: к 1 мл каждого из исследуемых растворов прибавляют по каплям 5% раствор хлорида железа (III) до выпадения осадка. При наличии ацетоуксусной кислоты дальнейшее прибавление хлорида железа приводит к появлению винно-красного цвета, постепенно бледнеющего при стоянии. При кипячении мочи этот процесс протекает очень быстро.

Опыт 3. Проба Либена

Реактивы: а) 10% раствор гидроксида натрия; б) реактив Люголя (1% раствор йода в 2% растворе иодида калия: 10 г иодида калия и 5 г йода растворяют в 50 мл воды), два исследуемых раствора.

Ход работы: к 1 мл каждого из исследуемых растворов добавляют 3-4 капли 10% раствора гидроксида натрия и затем по каплям раствор Люголя до слабо-желтой окраски раствора. При наличии ацетона жидкость мутнеет.

РАБОТА 5. *Определение липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) в сыворотке крови*

Принцип метода: ЛПНП образуют с гепарином комплекс, который под действием хлорида кальция выпадет в осадок. По степени помутнения раствора судят о концентрации ЛПНП в сыворотке крови.

Реактивы: 0,27% р-р кальция хлорида; 1% р-р гепарина; сыворотка крови негапаринизированная.

Ход работы: в пробирку вносят 2 мл 0,27% р-ра кальция хлорида и 0,2 мл сыворотки крови. Содержимое пробирки перемешивают. Определяют оптическую плотность р-ра (E_1) на ФЭКе против 0,27% р-ра кальция хлорида при красном СФ

(длина волны 630 нм). Раствор из кюветы переливают в пробирку, добавляют 0,04 мл 1% р-ра гепарина и точно через 4 минуты снова определяют оптическую плотность р-ра (E_2) в тех же условиях.

Расчет концентрации АПНП по формуле:

$X \text{ г/л} = (E_2 - E_1) \cdot 10$, где 10 – эмпирический коэффициент

Итоговый контроль по модулю 1. **Обмен углеводов. Обмен липидов.**

1. Что такое обмен веществ и энергии?
2. Что такое анаболизм и катаболизм?
3. Что такое «питательные вещества» и их биологическая роль?
4. Основные этапы обмена веществ и энергии.
5. Биологическое окисление и его особенности.
6. Макроэргические соединения
7. Характеристика дыхательной цепи и отдельных ее компонентов.
8. Окислительное фосфорилирование как механизм аккумуляции энергии. Образование АТФ при окислении НАДН₂ и ФАДН₂ в дыхательной цепи.
9. Где и с участием каких ферментов перевариваются углеводы.
10. Что такое гипо-, гипергликемия, глюкозурия? Содержание сахара в крови.
11. Как осуществляется регуляция обмена углеводов?
12. Каковы основные метаболические пути промежуточного обмена углеводов?
13. Что такое гликолиз и гликогенолиз? Их энергетическая эффективность.
14. Аэробное окисление углеводов. Основные этапы, энергетический баланс.
15. Окислительное декарбоксилирование пировиноградной кислоты. Ферменты, клеточная локализация.
16. Цикл трикарбоновых кислот. Ферменты, энергетический баланс.
17. Глюконеогенез. Биосинтез гликогена.

18. Где и с участием каких ферментов перевариваются липиды?

19. Какова роль желчи в обмене липидов?

20. Промежуточный обмен липидов.

21. β -окисление жирных кислот. Клеточная локализация, ферменты, энергетический баланс.

22. Биосинтез жирных кислот, триглицеридов, фосфолипидов.

23. Что такое кетоновые тела?

24. Регуляция липидного обмена.

Тема: ОБМЕН БЕЛКОВ

Белковый обмен занимает центральное место среди других обменов, поскольку обеспечивает непрерывность воспроизводства и обновления живых организмов.

Белки – это биополимеры, мономерами которых являются α -аминокислоты. Известно свыше 2000 белков животного, растительного и бактериального происхождения.

Занятие 7, 8. Обмен протеинов. Биологическая роль белков. Азотистый баланс. Обмен сложных белков. Биосинтез гемоглобина.

Контрольные вопросы:

1. Биологическая роль белков.
2. Структура белков.
3. Силы, связывающие белки.
4. Азотистый баланс, его виды.
5. Где и при участии, каких ферментов перевариваются белки?
6. Гниение белков в кишечнике и пути обезвреживания токсических продуктов.
7. Каковы пути превращения аминокислот в тканях?
8. Типы дезаминирования.
9. Трансаминирование и его биологическая роль?
10. Декарбоксилирование аминокислот и роль биогенных аминов в организме животных.

11. Токсичность аммиака и пути его нейтрализации.
12. Биосинтез мочевины.
13. Что такое гликогенные и кетогенные аминокислоты?
14. Нарушения обмена белков в организме?

Белки подразделяют на *простые* (протеины) и *сложные*. *Простые* белки состоят только из остатков аминокислот, а *сложные* содержат еще и небелковые компоненты – *протетические* 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 ногтей, шерсти, перьев, рогов, копыт, чешуи; *эластин* – входит в состав связок, сухожилий, и *фиброин* – белок шерсти, шелка.

Сложные белки различают в зависимости от природы *протетической* 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.

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

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 животных выполняют разнообразные *функции*:

- каталитическая (известно 2000 различных ферментов).
- структурная (входят в состав всех клеток, органов и тканей организма);
- защитная (иммунитет животного 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);

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

Интенсивность белкового обмена и обмена в целом характеризуется *балансом азота*, который рассчитывается из потребленного азота пищи и выделенного в виде конечных продуктов обмена. Различают три вида *азотистого баланса*: *положительный, азотистое равновесие и отрицательный*.

Положительный - в организм поступает больше азотистых веществ, чем выводится. Такой баланс свидетельствует о преобладании синтеза белков над их распадом. Он наблюдается

в условиях нормального обеспечения белком в период их роста и развития, во время лактации, беременности, выздоровления.

Азотистое равновесие характеризуется равным количеством поступивших азотистых веществ и выведенных из организма. Оно наступает у взрослых людей.

Отрицательный азотистый баланс – выводится больше азота, чем поступает, т.е. распад белков органов и тканей не компенсируется белками пищи. Это бывает чаще всего при голодании, при питании неполноценным белком, при стрессах, при гиповитаминозах, различных заболеваниях.

Важное физиологическое значение имеет существование в организме механизмов срочной мобилизации белковых ресурсов в экстремальных условиях (голодание, отравление и др.). Такими условно «резервными» белками являются *белки плазмы крови, печени и мышцы*, которые служат поставщиками аминокислот для синтеза ферментов, гормонов и др.

Обмен белков – центральное звено всех биохимических процессов, лежащих в основе существования живого организма. Он состоит из процессов переваривания и всасывания, промежуточного и конечного обменов.

В *желудочно-кишечном тракте* белки пищи под действием *протеолитических ферментов* лишаются видовой и тканевой специфичности, расщепляются до аминокислот. Ферменты, расщепляющие белки, относят к классу гидролаз или пептидаз. Известны две группы *пептидаз*: *экзопептидазы*, катализирующие разрыв концевой пептидной связи, и *эндопептидазы*, гидролизующие пептидные связи внутри полипептидной цепи.

К *эндопептидазам* относятся: *пепсин, трипсин, химотрипсин, эластаза, коллагеназа*. К *экзопептидазам* – *карбоксипептидазы, ди- и трипептидазы*.

Пепсин основной фермент желудочного сока, расщепляет большинство белков до высокомолекулярных полипептидов. Дальнейшее расщепление белка происходит в тонком кишечнике под действием протеолитических ферментов поджелудочной железы и кишечника. *Все они вырабатываются в неактивной форме, в виде проферментов*, и их превращение в активные ферменты осуществляется в тонком кишечнике.

Сложные белки: глико-, липо-, фосфо-, нуклео- и хромопротеины перевариваются в ЖКТ под действием ферментов на небелковую и белковую части. Далее белки под действием протеолитических ферментов расщепляются как простые белки. Небелковые части (углеводы, липиды, нуклеиновые кислоты) подвергаются действию соответствующих ферментов ЖКТ.

Таким образом, белки распадаются под действием *протеолитических ферментов* ЖКТ до свободных аминокислот.

Нерасщепившиеся белки и их производные поступают в *толстый отдел* кишечника, где подвергаются *гниению*. Под влиянием бактериальных ферментов белки гидролизуются до аминокислот, а они либо используются для синтеза белков, либо подвергаются дальнейшим превращениям: дезаминированию, декарбоксилированию, внутримолекулярному расщеплению, окислению, восстановлению. В результате образуются амины, жирные кислоты, спирты и ряд *ядовитых* продуктов: *фенол, крезол, индол, скатол*, которые всасываются через слизистую оболочку кишечника в кровеносную и лимфатическую системы и разносятся по всему организму, отравляя его. Эти токсические продукты после всасывания попадают в печень, где *обезвреживаются*. Процессы *гниения* белков интенсивно протекают при нарушении режима питания, при заболеваниях пищевого канала, инфекционных и инвазионных болезнях.

Продукты гидролиза белков *всасываются* в кишечнике в основном виде свободных аминокислот и отчасти ди- и трипептидов.

Аминокислоты в первую очередь используются в качестве строительного материала для *синтеза специфических тканевых белков, ферментов, гормонов* и др. биологически активных соединений. Некоторое количество аминокислот подвергается распаду с образованием конечных продуктов белкового обмена (CO_2 , H_2O , NH_3) и освобождением энергии.

Промежуточный метаболизм аминокислот, как и других питательных веществ, в живых организмах, включает *катаболические* (распад до конечных продуктов обмена) и *анаболические* (синтез более сложных веществ) процессы. Условно *промежуточный* метаболизм аминокислот можно

разделить на *общие* пути обмена и *индивидуальные* превращения отдельных аминокислот.

Общие пути обмена аминокислот включают реакции: *дезаминирования, декарбоксилирования, трансаминирования.*

Деаминирование аминокислот – процесс отщепления аммиака от аминокислоты.

Декарбоксилирование аминокислот - процесс отщепления карбоксильной группы аминокислоты в виде CO_2 . Реакции декарбоксилирования, в отличие от других процессов промежуточного обмена аминокислот, являются *необратимыми*. Образующиеся продукты реакции, названные *биогенными аминами*, оказывают сильное фармакологическое действие на множество физиологических функций человека и животных.

Трансаминирование аминокислот – процесс межмолекулярного переноса аминогруппы от аминокислоты на α -кетокислоту без промежуточного образования аммиака. Реакции трансаминирования являются обратимыми и универсальными для всех живых организмов.

В результате реакций *дезаминирования* и *окисления биогенных* аминов освобождается большое количество *аммиака*, являющегося высокотоксичным соединением. Поэтому его концентрация в организме должна сохраняться на низком уровне, то есть аммиак должен подвергаться связыванию в тканях с образованием нетоксичных соединений, легко выделяемых с мочой. *Существуют различные пути обезвреживания аммиака.*

Одним из путей связывания и *обезвреживания аммиака* (около 10% выводимого азота) в организме, в частности в мозге, сетчатке, почках, печени, мышцах, является *биосинтез аспарагина и глутамина.*

Аммиак (около 10%) обезвреживается в почках путем образования *аммонийных солей* органических и минеральных кислот.

Основным путем (до 85%) обезвреживания аммиака является биосинтез мочевины, выводимой с мочой в качестве главного конечного продукта белкового, соответственно, аминокислотного обмена. *Основным местом* синтеза мочевины является *печень*. Процесс биосинтеза мочевины имеет

циклический характер и называется *орнитиновым* циклом, или *циклом Кребса*.

Биосинтез белка протекает во всех клетках, органах и тканях. Наибольшее количество белка синтезируется в печени. Синтез его осуществляют рибосомы.

Белки подвергаются постоянным процессам синтеза и распада. В зависимости от степени повреждения белковой молекулы происходит ее частичное или полное обновление. Степень обновления уменьшается при старении, болезнях.

РАБОТА 1. Определение изоэлектрической точки желатины

В изоэлектрической точке растворы белков неустойчивы. Молекулы белка с одинаковым количеством положительных и отрицательных зарядов легко выпадают в осадок. Значение рН, соответствующее изоэлектрической точке, является характерным для каждого белка. Выпадение белка в осадок можно ускорить добавлением водоотнимающих веществ, например, этилового спирта.

Желатина (желатин) – полидисперсная смесь полипептидов (молекулярная масса – 50 - 70 тыс. Д), образуемая из коллагена.

Реактивы: 0,5 %-ый раствор желатины; 0,1 М раствор уксусной кислоты; 0,1 М раствор ацетата натрия; 96 %-ый этиловый спирт.

Оборудование: пробирки; мерные пипетки.

Ход работы.

1. В пять пронумерованных пробирок прилейте растворы уксусной кислоты и ацетата натрия в количествах, указанных в табл.
2. После чего в каждую пробирку добавьте по 1 см³ раствора желатины и хорошо перемешайте.
3. В каждую пробирку прибавьте по 4 см³ этилового спирта и снова перемешайте.
4. Через 5-10 мин. просмотрите все пробирки и оцените степень мутности полученных смесей. рН наиболее мутной смеси соответствует изоэлектрической точке желатины.

Оформление результатов.

Результаты опыта оформите в виде таблицы. Определите изоэлектрическую точку желатини.

№ пробирки	Состав буферной смеси, см ³		рН см-еси	0,5 %-ый раствор желатини, см ³	Этило-вый спирт, см ³	Степень мутности (по 5 балльной шкале)
	0,1 М CH ₃ COOH	0,1 М CH ₃ COONa				
1	1,8	0,2	3,8	1	4	
2	1,4	0,6	4,4	1	4	
3	1,0	1,0	4,7	1	4	
4	0,6	1,4	5,1	1	4	
5	0,2	1,8	5,7	1	4	

РАБОТА 2. *Качественная реакция на белок.* Проба Геллера

Реактивы: 2 раствора, в одном из которых яичный белок; концентрированная азотная кислота.

Ход работы: в две пробирки наливают по 0,5 - 1 мл концентрированной азотной кислоты и в каждую из них осторожно по стенке пробирки наслаивают исследуемый раствор. В присутствии белка на границе обеих жидкостей образуется белый аморфный слой или муть – белковое кольцо. При отсутствии белка на границе двух жидкостей цвет не меняется.

ТЕМА: Водно-солевой обмен

Среди неорганических веществ в организме особое место занимает вода. Жизнь первично зародилась в жидкой среде, поэтому, несмотря на то, что многие животные организмы далеко ушли от своих предков в плане эволюционного совершенствования, вода остается существенным компонентом всех живых организмов

Занятие 9, 10: Структура и свойства воды, ее роль в обмене веществ. Минеральный обмен в организме.

Контрольные вопросы:

1. Структура и свойства воды, ее роль в обмене веществ.
2. Макроэлементы: калий, натрий, кальций, магний, фосфор, хлор, сера. Их биологическая роль.
3. Микроэлементы: железо, кобальт, фтор, йод, селен, марганец, цинк. Их биологическая роль. Участие в обмене веществ.
4. Регуляция водно-солевого обмена.

ВОДА В ОРГАНИЗМЕ

Процентное содержание воды в организме человека:

- внеклеточная (экстрацеллюлярная) - 20- 25 % массы тела;

- **внутриклеточная (интерстициальная) - 15 %:**

1. жидкость костной ткани;
2. жидкость соединительной ткани;
3. другие ткани;
4. жидкая часть плазмы - 4,5- 5 %;

внутриклеточная, или интрацеллюлярная, жидкость - 30-45 % массы тела:

1. эмбрион - 97 %;
2. - новорожденный - 66- 74 %;
3. - грудной ребенок - 62- 70 %;
4. - взрослый - 58- 67 %.

Функции воды:

1. служит растворителем продуктов питания и обмена;
2. активно участвует во многих реакциях обмена;
3. транспортирует растворенные в ней вещества;
4. играет механическую роль, ослабляя трение в организме человека;
5. регулирует температуру тела.

Потребность в воде:

Всего, мл за сутки на 1 кг веса за сутки

- грудной ребенок 330- 1000 /105- 100
- ребенок от 1 до 15 лет 1000- 1800 /100- 45
- взрослый человек 1800- 2500/ 45- 30

Потребность в воде детского организма значительно выше, чем взрослого, вследствие:

1. большей интенсивности процессов обмена;
2. относительно больших количеств принимаемой пищи;
3. меньшей концентрационной способности почек;
4. усиленного роста.
5. Все химические и физико-химические процессы, протекающие в организме, осуществляются в водной среде.

При избытке в организме воды наблюдается общая гипергидратация (водное отравление). Потеря 10% воды приводит к состоянию дегидратации (обезвоживание) и нарушению метаболизма, при потере 20% воды наступает смерть.

Около 4% сухой массы пищи должны составлять минеральные соединения.

Минеральные вещества (катионы и анионы), растворенные в тканевой жидкости, плазме крови, лимфе, создают осмотическое давление, являющееся важным фактором распределения в тканях организма воды и растворенных веществ.

В тканях и органах человеческого организма минеральные вещества содержатся в форме солей, составляющих примерно 0,9% общей массы тела. В цитоплазме клеток содержится 140 ммоль/л ионов K^+ , 120 - 125 ммоль/л ионов Mg^{2+} , 10 ммоль/л ионов Na^+ , 4 ммоль/л ионов Cl^- . Во внеклеточной жидкости ионы K^+ составляют всего 5 ммоль/л, тогда как ионы Na^+ - 140 ммоль/л, т. е. в 14 раз больше, чем внутри клетки. Количество ионов Cl^- - составляет 103 ммоль/л, ионов Ca^{2+} и Mg^{2+} соответственно 10 и 6 ммоль/л.

В зависимости от количества минеральных веществ в организме и пищевых продуктах их подразделяют на макро- и микроэлементы. К макроэлементам относятся кальций, калий, магний, натрий, фосфор, хлор, сера. Они содержатся в количествах, измеряемых сотнями и десятками миллиграммов на 100 г тканей или пищевого продукта. Микроэлементы - это железо, кобальт, цинк, фтор, йод и др. Они входят в состав тканей организма в концентрациях, выражаемых десятками, сотыми и тысячным долями миллиграмма.

Работа 1. Открытие хлоридов в смеси растворов

Реактивы: а) 1% р-р нитрата серебра; б) 10% р-р азотной кислоты, два исследуемых раствора.

Ход работы: к 10 каплям каждого из исследуемых растворов добавляют 2 капли 1% раствора нитрата серебра и 3 капли 10% раствора азотной кислоты. Выпадает белый осадок.

Работа 2. Открытие сульфатов в смеси растворов

Реактивы: а) 10% р-р хлорида бария.

Ход работы. К 10 каплям каждого из исследуемых растворов добавляют 5 капель 10% раствора хлорида бария. Выпадает осадок белого цвета.

Работа 3. Открытие фосфатов в смеси растворов.

Реактивы: а) молибденовый реактив.

Ход работы в пробирку наливают 20 капель молибденового реактива, нагревают почти до кипения и добавляют несколько капель каждого из исследуемых растворов. Выпадает желтый осадок (кристаллический) фосфатных солей молибдата аммония.

Работа 4. Количественное определение кальция в молоке.

Реактив: а) 9н р-р гидроксида натрия; б) мурексид; в) 0,01 н р-р ЭДТА.

Ход работы: в одну колбу отмерить 2 мл молока (опыт), а в другую 2 мл дистиллированной воды (контроль). Добавляют в обе колбы по 0,4 мл 9 н раствора гидроксида натрия и шпателем немного мурексида и титруют 0,01 н раствором ЭДТА до тех пор, пока окраска смеси не станет фиолетовой. Значение, полученное при титровании контрольной пробы (В), вычитается из значения опытной пробы (А).

Расчет: $X = 0,2 \cdot (A - B) \cdot 50$

Где: X-содержание кальция, мг %;

0,2-количество мл кальция, соответствующее 1 мл 0,01 н р-ра ЭДТА; А – количество мл 0,01 н р-ра ЭДТА, пошедшее на титрование опытной пробы; В – контроля; 50-пересчет на мг %.

Итоговый контроль по модулю 2. **Обмен белка. Водно-солевой обмен.**

1. Биологическая роль белков.
2. Структура белков.
3. Силы, связывающие белки.
4. Азотистый баланс, его виды.
5. Где и при участии, каких ферментов перевариваются белки?
6. Гниение белков в кишечнике и пути обезвреживания токсических продуктов.
7. Каковы пути превращения аминокислот в тканях?
8. Типы дезаминирования.
9. Трансаминирование и его биологическая роль?
10. Декарбоксилирование аминокислот и роль биогенных аминов в организме животных.
11. Токсичность аммиака и пути его нейтрализации.
12. Биосинтез мочевины.
13. Что такое гликогенные и кетогенные аминокислоты?
14. Нарушения обмена белков в организме?
15. Структура и свойства воды, ее роль в обмене веществ.
16. Макроэлементы: калий, натрий, кальций, магний, фосфор, хлор, сера. Их биологическая роль.
17. Микроэлементы: железо, кобальт, фтор, йод, селен, марганец, цинк. Их биологическая роль. Участие в обмене веществ.
18. Регуляция водно-солевого обмена

Тема 12: Взаимосвязь обменов.

Обмен веществ складывается из химических превращений различных по природе веществ. Но можно назвать несколько общих целей метаболизма: генерация энергии и восстановленных эквивалентов, образование строительных блоков для биосинтеза.

Контрольные вопросы

1. Взаимосвязь обменов.
2. Общность субстратов метаболизма
3. Общность промежуточных продуктов
4. Общие возможности регуляции обменов
5. Взаимное превращение субстратов.

Генерация энергии

Из различных по химической природе веществ высвобождается энергия их химических связей в результате ряда окислительно-восстановительных реакций. Катализируют такие реакции ферменты класса оксидоредуктаз, который насчитывает 17 подклассов. Восстановленные коферменты транспортируют электроны к единой структуре, обеспечивающей постепенное высвобождение и запасание энергии – электронтранспортной цепи. Конечным акцептором этой цепи является молекулярный кислород, который доставляется посредством транспорта с кровью оксигемоглобина. Конечными продуктами длительного и многоступенчатого процесса генерации энергии являются макроэргические соединения (АТФ, УТФ и др.), вода и энергия в виде тепла.

Генерация восстановленных эквивалентов

В результате окислительно-восстановительных реакций, происходящих на этапах углеводного или липидного обменов, образуются восстановленные коферменты (НАДН₂, НАДФН₂, ФАДН₂, ФМНН₂), которые затем могут использоваться как общие для всех метаболических путей доноры водорода.

Образование строительных блоков для биосинтеза

Строительные блоки возникают как промежуточные продукты процессов катаболизма, ведущих к образованию энергии и восстановленных эквивалентов. Следовательно, все эти этапы объединены в единый многофункциональный

процесс, направленный на поддержание жизнедеятельности клетки и постоянное обновление ее структур.

Объединение нескольких метаболических путей в единый процесс неизбежно приводит к возникновению общих промежуточных метаболитов (рис).

Глюкозо-6-фосфат образуется из глюкозы и гликогена. Может расходоваться на:

1. синтез глюкозы и гликогена;
2. гликолиз до образования пирувата, у которого также несколько путей использования;
3. поступать на ПФП и превращаться в рибозо-5-фосфат.

Пируват образуется в результате гликолиза, или в ходе превращения липидов, а также из аланина (реакцией переаминирования). Превращается

1. в лактат;
2. в аланин (синтез белка);
3. в оксалоацетат (глюконеогенез);
4. в ацетил КоА (ЦТК).

Ацетил-КоА образуется из пирувата (следовательно, из глюкозы, аланина, глицерола) и ЖК. Поступает в цикл Кребса (ЦТК).

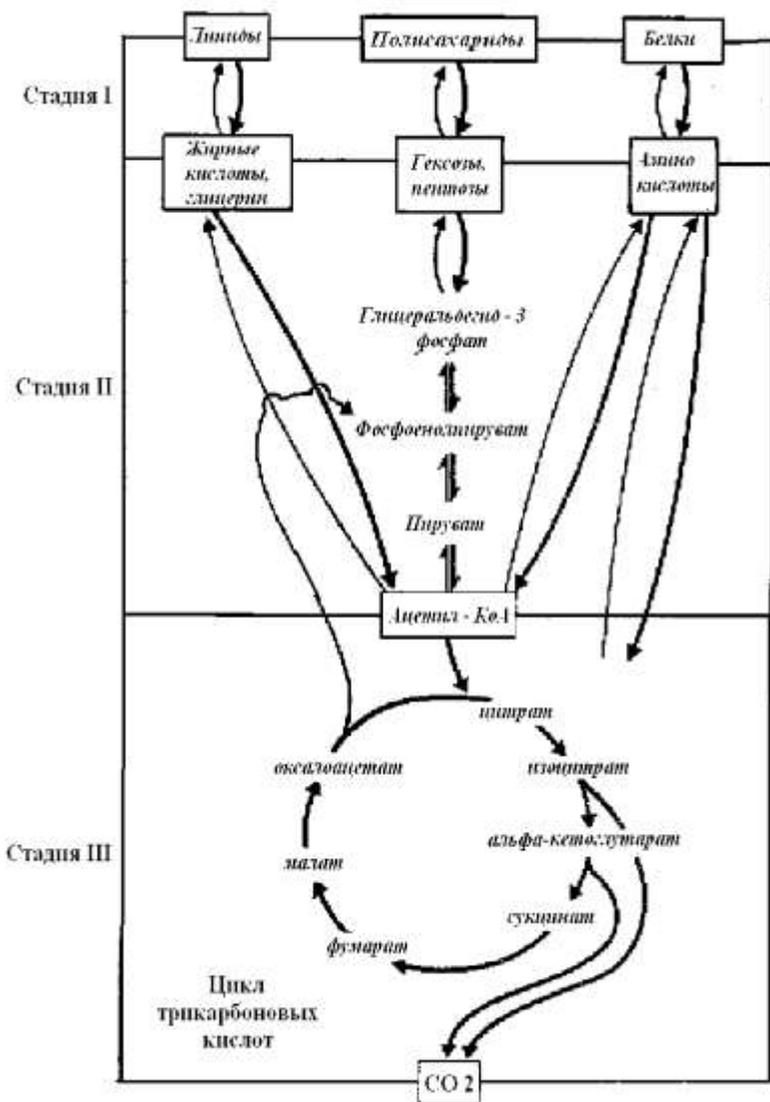


Рис. Общность процессов метаболизма в организме.

Общие механизмы регуляции обменных процессов

Скорость метаболических превращений зависит в большинстве случаев от концентрации и активности лимитирующих ферментов. Они еще называются регуляторными и катализируют обычно необратимые реакции. Активность таких ферментов как правило регулируется концентрацией одного из последующих продуктов или конечного продукта данного метаболического пути. Так при накоплении АТФ угнетается активность фосфофруктокиназы – ключевого фермента гликолиза, т.е. клетке на данный момент достаточно макроэргов. Активируется этот фермент при накоплении АДФ и АМФ.

Активность ферментов в свою очередь напрямую зависит от концентрации коферментов (витаминов) и кофакторов (минеральных веществ). Так, дефицит витамина В₁ (ТДФ) тормозит реакции окислительного декарбоксилирования альфа-кетокислот. При этом замедляются отдельные этапы гликолиза, ЦТК, тормозится окисление ЖК, химическое превращение АК и синтез белка, возникает дефицит НАДФН, который образуется в пентозофосфатном шунте.

Снижение концентрации общих метаболитов сказывается на уровне обменных процессов во всей клетке. В то же время, уровень таких метаболитов может восполняться за счет различных биохимических реакций.

Материал для КСР: Регуляция обменов в организме

Контрольные вопросы

- 1.Что такое гормоны и какова их функция в организме?
- 2.Как классифицируются гормоны?
- 3.Какие гормоны синтезируются в гипоталамусе? Их биологическая роль.
- 4.Гормоны гипофиза и их биологическая роль?
- 5.Какие гормоны синтезируются в щитовидной железе? Их биологическая роль?

6. Какие гормоны вырабатываются мозговым и корковыми слоями надпочечников? Их биологическая роль?

7. Какие гормоны вырабатываются в поджелудочной железе? Их биологическая роль?

8. Каково биологическое действие половых гормонов?

Гормоны – биологические активные вещества, выделяемые железами внутренней секреции в кровь и оказывающие регуляторное влияние на метаболизм в организме.

Наука о железах внутренней секреции – эндокринология.

Центральная роль в нейрогуморальной регуляции обмена веществ отводится ЦНС, непосредственно влияющей на деятельность эндокринных желез. Железы внутренней секреции непосредственно контролируют деятельность органов и тканей и оказывают влияние на ЦНС.

Термин «гормон» (от греч. *Ногмао* – возбуждаю, побуждаю) был введен в 1905 г. У. Бейлисом и Э. Старлингом. К настоящему времени открыто более ста различных веществ, наделенных гормональной активностью, синтезирующиеся в железах внутренней секреции и регулирующие процессы обмена веществ.

Для всех гормонов *общим* является следующее:

- действие на расстоянии от места выделения;
- специфичность эффекта;
- высокая биологическая активность;
- высокая скорость образования и распада;
- роль посредника между ЦНС и тканями;
- действие по принципу прямой и обратной связи.

В организме гормоны выполняют ряд *функций*:

- поддерживают гомеостаз (изоосмию, изотермию, изогидрию);
- обеспечивают адаптацию организма к изменяющимся условиям внешней среды;
- поддерживают циклические изменения (день-ночь, пол, возраст и др.);
- поддерживают циклические, морфологические и функциональные изменения в онтогенезе.

Гормоны *классифицируются по ряду признаков*: по месту выработки, по характеру и механизму действия, по химической природе.

По *месту синтеза* выделяют гормоны гипоталамуса, гипофиза, щитовидной, паращитовидной, поджелудочной, половых желез, надпочечников. По *химической структуре* гормоны подразделяются на гормоны *пептидно-белковой природы*, *производные аминокислот* и *стероидные*. В зависимости от расположения белков-рецепторов и химической природы гормонов различают *два механизма* передачи гормонального сигнала в клетки-мишени.

I механизм для гормонов-белков, пептидов и производных аминокислот. Белки-рецепторы расположены на наружной поверхности цитоплазматической мембраны. Взаимодействие гормона с белком-рецептором приводит к активации аденилатциклазы и образованию цАМФ или цГМФ, который в клетке запускает каскадный механизм активации ряда ферментов, изменяющих интенсивность обмена углеводов, белков, липидов.

II механизм для гормонов стероидной природы. Гормоны проникают через цитоплазматическую мембрану в цитоплазму и взаимодействуют с белками-рецепторами, находящимися в цитозоле. Образованный комплекс «гормон-белок-рецептор» проникает в ядро клетки и на уровне оперона является индуктором или репрессором трансляции белков-ферментов.

По *характеру действия* гормоны делятся на пусковые и гормоны-исполнители. К пусковым относятся гормоны гипоталамуса. Они стимулируют деятельность соответствующих желез внутренней секреции. Гормоны – исполнители, оказывающие действие на основные реакции обмена веществ организма, обеспечивающие его рост, развитие, адаптацию, размножение и др.

В клинике часто встречаются гормональные нарушения – гипо- и гиперфункции желез внутренней секреции.

Гормоны в организме находятся в связанном и свободном состояниях. Между действием различных гормонов существует взаимосвязь.

РАБОТА 1. *Качественные реакции на инсулин*

ОПЫТ 1. Обнаружение инсулина биуретовой реакцией.

Реактивы: р-р инсулина; 10% р-р гидроксида натрия; 1% р-р сернокислой меди.

Ход работы: в пробирку вносят 5 капель раствора инсулина, прибавляют 5 капель 10% р-ра гидроксида натрия и 1 каплю 1% р-ра сернокислой меди. Перемешивают, встряхивают. Наблюдается появление фиолетового окрашивания.

ОПЫТ 2. Обнаружение инсулина реакцией с сульфосалициловой кислотой.

Реактивы: р-р инсулина; 20% р-р сульфосалициловой кислоты.

Ход работы: в пробирку вносят 1 мл р-ра инсулина, добавляют 5 капель 20% р-ра сульфосалициловой кислоты. Наблюдают выпадение осадка белого цвета.

РАБОТА 2. *Качественная реакция на адреналин с хлоридом железа (III)*

Реактивы: р-р адреналина (1:1000); 3% р-р хлорида железа; 10% р-р гидроксида натрия.

Ход работы: в пробирку вносят 1 мл адреналина (1:1000), прибавляют 1 каплю 3% р-ра хлорида железа и перемешивают. Появляется изумрудно-зеленое окрашивание, затем добавляют 1 каплю 10% р-ра гидроксида натрия – появляется вишнево-красное окрашивание.

РАБОТА 3. *Качественная реакция на фолликулин с концентрированной серной кислотой*

Реактивы: спиртовой раствор фолликулина; раствор концентрированной серной кислоты.

Ход работы: в пробирку помещают 20-30 капель спиртового раствора фолликулина и выпаривают спирт на кипящей водяной бане в течение 5-10 минут. Затем добавляют 20 капель концентрированной серной кислоты и пробирку вновь ставят в кипящую водяную баню на 5-10 минут. Жидкость в пробирке постепенно приобретает соломенно-желтый цвет. С

масляным раствором фолликулина реакцию проводят при комнатной температуре.

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», 2002-512с.

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.

ОГЛАВЛЕНИЕ

		Стр
1	Техника безопасности при работе в биохимической лаборатории	3
2	Общая характеристика обмена веществ и энергии	4
3	Обмен углеводов	9
4	Обмен липидов	14
5	Итоговый контроль по модулю 1. Обмен углеводов. Обмен липидов.	21
6	Обмен белков	22
7	Водно-солевой обмен	29
8	Итоговый контроль по модулю 2. Обмен белка. Водно-солевой обмен.	33
9	Взаимосвязь обменов	33
10	Материал для КСР: Регуляция обменов в организме. Гормоны	37
12	Литература	41

Учебное издание

Будько Тамара Николаевна
Заводник Лев Борисович
Коноваленко Ольга Владимировна

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ ПО
«БИОЛОГИЧЕСКОЙ ХИМИИ»

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

Подписано к печати . . .2012.
Формат 60x84/16. Бумага офсетная. Гарнитура Таймс.
Печать Riso. Усл. печ. л. 2,42. Уч.-изд.л. 2,58.
Тираж 100 экз. Заказ №

Учреждение образования
«Гродненский государственный аграрный университет»
Л.И. №2330/0133326 от 29.06.2004.
230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28.

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