

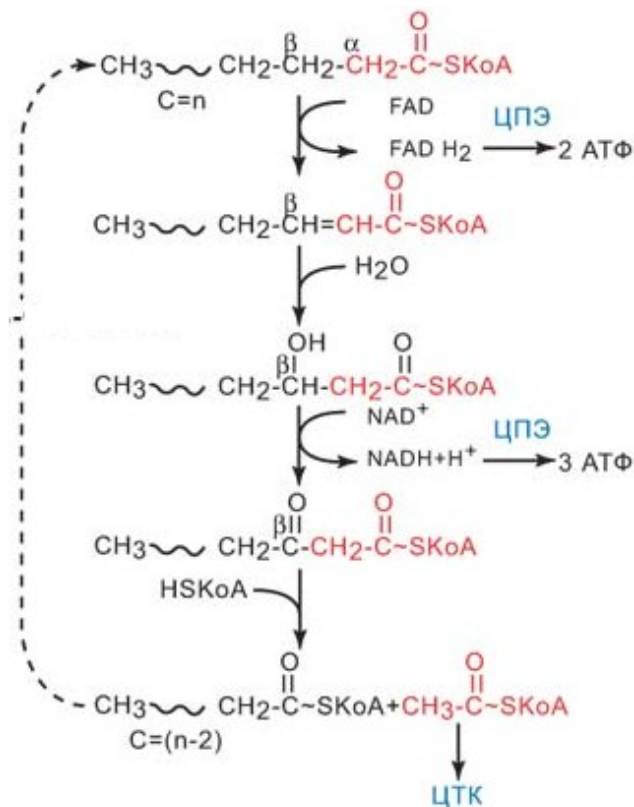
КАБІNET МІНІСТРІВ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ І
ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

КАФЕДРА БІОХІМІЇ ТВАРИН, ЯКОСТІ І БЕЗПЕКИ
СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОЇ ПРОДУКЦІЇ
ІМЕНІ АКАД. М.Ф. ГУЛОГО

РОБОЧИЙ ЗОШИТ З ДИСЦИПЛІНИ
“БІОХІМІЯ”

для студентів факультету харчових технологій
та управління якістю продукції АПК
(І ЧАСТИНА)

спеціальності – «Технологія зберігання, консервування та переробки м'яса»,
«Технологія зберігання, консервування та переробки риби та
морепродуктів»



УДК 37.022.547

Наведено рекомендації до лабораторних занять з дисципліни «Біохімія» по організації роботи в біохімічній лабораторії, поради з питань техніки безпеки, описані прилади та обладнання для проведення лабораторних робіт. Це дозволить студентам, які навчаються за спеціальностями «Технологія зберігання, консервування та переробки м'яса» та «Технологія зберігання, консервування та переробки риби та морепродуктів» набути практичних навичок щодо визначення показників, які характеризують стан основних метаболічних шляхів в організмі тварин.

Укладачі: Мельникова Н.М., Деркач Є.А., Шепельова І.А., Томчук В.А.

Навчальне видання
Робочий зошит з дисципліни «Біохімія» (І частина)

Укладачі: МЕЛЬНИКОВА Неля Миколаївна,
ДЕРКАЧ Євген Анатолійович,
ШЕПЕЛЬОВА Ірина Анатоліївна
ТОМЧУК Віктор Анатолійович

Відповідальний за випуск: Є.А. Деркач

Зав. видавничим центром НУБіП України А.П. Колесніков
Редактор З.І. Маренець
Підписано до друку Фотмат 60x84 1/16

Видавничий центр НУБіП України.
03041 Київ, вул. Героїв Оборони, 15.

КОРОТКА ІНСТРУКЦІЯ З ПРАВИЛ РОБОТИ І ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ В БІОХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

Хімічні реактиви та виконання більшості лабораторних робіт може нести певну небезпеку для самого виконавця та оточуючих. Щоб уникнути цього, потрібно, виконувати нижченаведені правила:

- приступати до виконання лабораторного завдання можна тільки після детального вивчення та усвідомлення теоретичної частини;
- не дозволяється виконувати процедури, які не описані в роботі;
- роботи виконувати у спеціальному одязі (халат, шапочка), на своєму робочому місці або під витяжною шафою у випадку використання токсичних, ароматичних або вогнебезпечних речовин;
- з усіх незрозумілих питань звертатися за порадою до викладача;
- в лабораторії заборонено приймати їжу, пити воду, палити та бешкетувати;
- забороняється куштувати речовини на смак;
- при роботі зі скляними піпетками необхідно користуватись спеціальними гумовими «грушами»;
- при роботі на центрифугах слід пам'ятати про врівноваження пробірок;
- дотримуватись правил роботи та безпеки при роботі з електроприладами;
- при роботі з кислотами, лугами, металічною ртуттю слід пам'ятати, що речовини слід знешкоджувати і не викидати у каналізаційні труби;
- у разі нещасного випадку негайно повідомити викладача та скористатися аптечкою першої допомоги;
- після завершення дослідів необхідно привести робоче місце, прилади та посуд у належний стан;
- прослідкувати щоб були вимкнені прилади, світло, вода.

З інструкцією ознайомився, студент ____ курсу, _____ групи

(підпис)

(П.І.Б.)

ЗАНЯТТЯ. МОНОСАХАРИДИ.

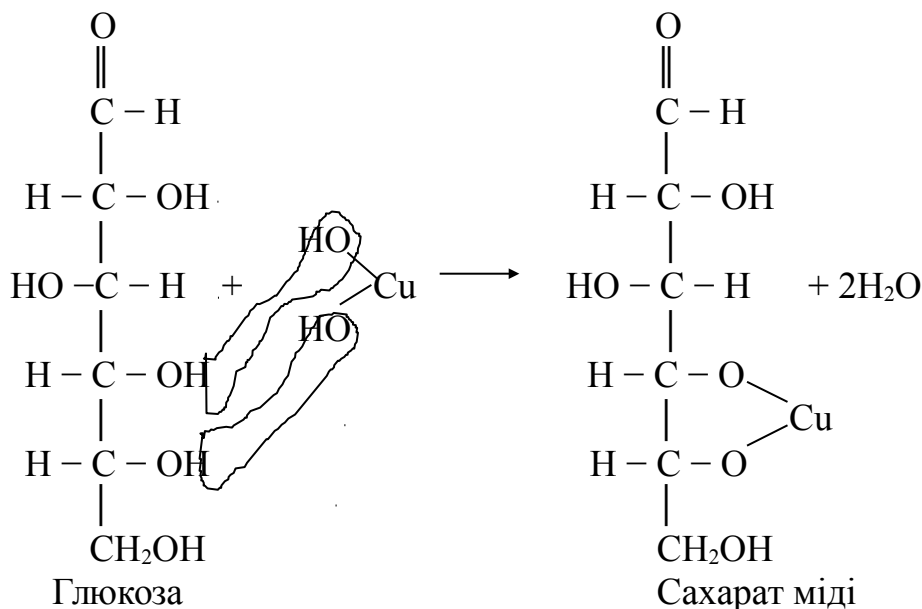
Обладнання та матеріали: пробірки; водяна баня; ложки-шпателі; фільтрувальний папір; піпетки.

Реактиви: глюкоза (0,5 %, 1 %, 5 % розчин та кристали); 1 % фруктоза; сахароза (порошок); крохмаль (порошок); 10 % NaOH; 2 % сульфат міді; 5 % AgNO₃; 10 % NH₄OH; реактив Фелінга; H₂SO₄конц.; реактив Селіванова (розчин 0,01 г резорцина в суміші 10 мл води та 10 мл концентрованої соляної кислоти); 10 % водний розчин аміаку.

1. Доказ наявності гідроксильних груп у глюкозі

Хід роботи: В пробірку вносять 1 краплю 0,5 % розчину глюкози і 6 крапель 10 % NaOH. До отриманої суміші додають 1 краплю 2 % розчину сульфату міді. Осад гідроксиду міді Cu(OH)₂, що утворюється, миттєво розчиняється, і утворюється прозорий сахарат міді слабо-блакитного кольору.

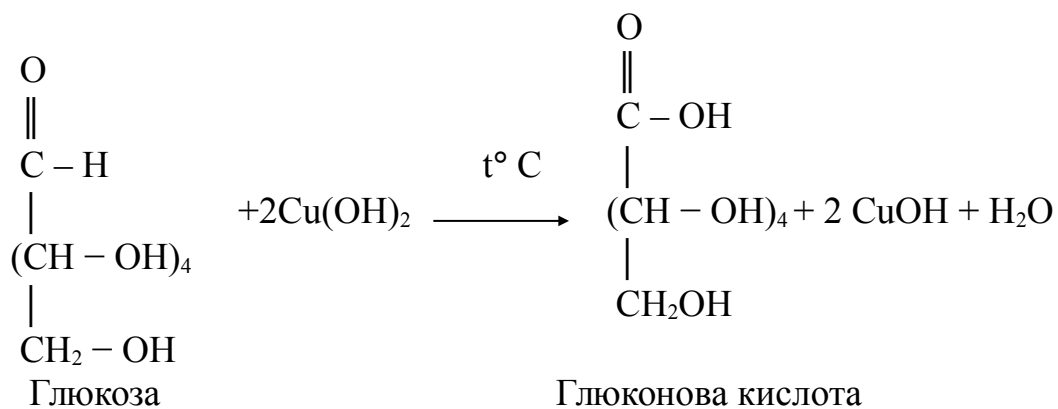
Рівняння реакції: $\text{CuSO}_4 + 2 \text{NaOH} \rightarrow \text{Cu(OH)}_2 + \text{Na}_2\text{SO}_4$



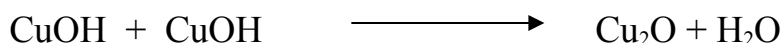
Висновки:

2. Окислення альдегідної групи глюкози (реакція Троммера)

Хід роботи: До отриманого в попередньому досліді розчину додають 1–2 мл води і повільно нагрівають. Суть реакції:



При тривалішому нагріванні може утворюватись червоний осад Cu_2O :



Ця реакція використовується для виявлення глюкози в сечі.

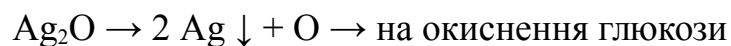
Висновки:

3. Окислення глюкози аміачним розчином оксиду срібла (реакція «срібного дзеркала»)

Хід роботи: В пробірку вносять 1 краплю 5 % розчину AgNO_3 додають 2 краплі 10 % розчину NaOH та 3 краплі 10 % водного розчину аміаку до розчинення осаду гідроксиду срібла.

До отриманої суміші додають 1 краплю 0,5 % розчину глюкози і трохи підігривають на водяній бані до початку побуріння розчину. Далі реакція іде самостійно, і металічне срібло випадає або у вигляді чорного осаду, або осідає на стінках пробірки у вигляді блискучого срібного шару (звідки і назва реакції).

Рівняння реакції:



Висновки:

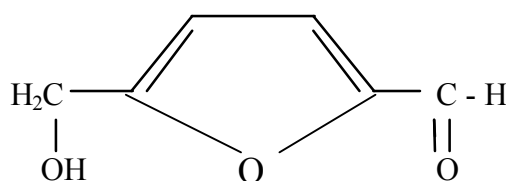
4. Окислення глюкози реактивом Фелінга

Хід роботи: До 2 мл 5 % глюкози додають 1,0 мл реактива Фелінга (змішують 0,5 мл реактива Фелінга 1 та 0,5 мл реактива Фелінга 2). Обережно нагрівають. Випадає червоний осад одновалентної міді.

Висновки:

5. Реакція Селіванова на кетози

Хід роботи: В одну пробірку вносять 0,5 мл 1 % розчину фруктози, а в другу – 0,5 мл 1 % розчину глюкози. До обох пробірок додають по 2 мл реактиву Селіванова (розчин 2 мл HCl конц. та резорцину), після чого нагрівають 2 хв на киплячій водяній бані. В пробірці з фруктозою виникає інтенсивне вишнево-червоне забарвлення. Кетози в цих умовах перетворюються в оксиметилфурфурол, який конденсується з резорцином, даючи кольорову сполуку.



Оксиметилфурфурол

Ця реакція, відкрита Ф.Ф. Селівановим в 1887 р., дозволяє швидко виявляти в суміші цукрів кетогексози, як вільні, так і зв'язані в молекулах дисахаридів. Кетози при короткочасному нагріванні перетворюються в оксиметилфурфурол в 15–20 разів швидше, ніж альдози.

Висновки:

ДОМАШНЄ ЗАВДАННЯ

Що відображають проекційні формули Хеуорса?

Роботу прийнято

Підпис викладача

Дата

ЗАНЯТТЯ. ПОЛІСАХАРИДИ.

Обладнання та матеріали: пробірки; водяна баня; лакмусовий папір; піпетки; колби.

Реактиви: 1 % розчин сахарози, 1 % розчин лактози, 1 % розчин глюкози; 2 н NaOH; 0,2 н CuSO₄; 2 н розчин соляної кислоти; резорцин; 1 % розчин крохмалю; розчин Люголя; H₂SO₄ конц.

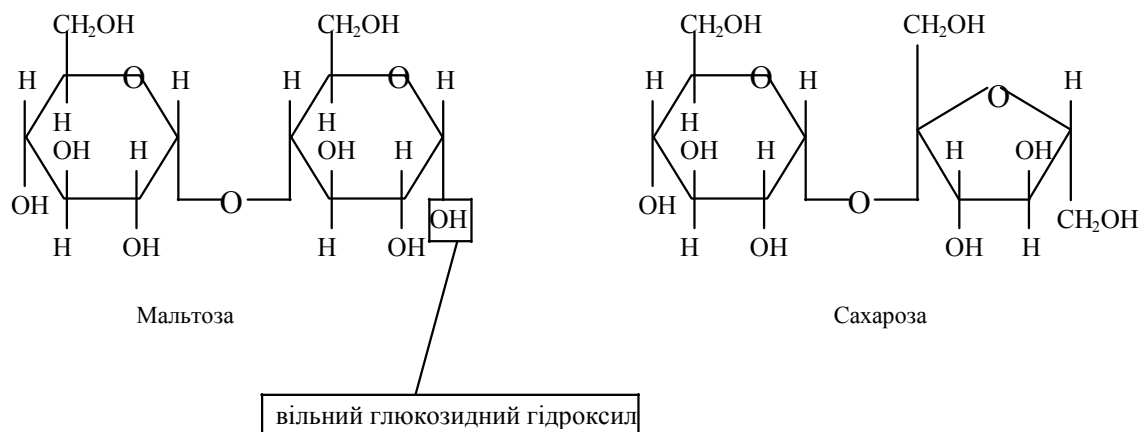
1. Доказ наявності гідроксильних груп у дисахаридах

Хід роботи: В 2 пробірки вносять по 2 краплі 1 % розчинів сахарози та мальтози, по 6 крапель 2 н NaOH, 6 крапель води і одну краплю 0,2 н CuSO₄. Суміші набувають слабо-блакитного забарвлення, типового для сполук з двома і більше вільними гідроксильними групами (спирти, оксикислоти, вуглеводи). Проби зберігають для наступного дослідження.

Висновки:

2. Перевірка відновлюючих властивостей дисахаридів

Хід роботи: Одержані в попередньому досліді суміші, що містять дисахариди (сахарозу та мальтозу), CuSO₄ та NaOH, обережно нагрівають так, щоб нагрівалась тільки верхня частина рідини. Якщо цукор здатний окислюватись, то синє забарвлення змінюється на зелене, а потім зникає. Одночасно утворюється жовтий, червоний чи коричневий осад Cu(OH)₂ та Cu₂O. Відновлювати сполуки двохвалентної міді в лужному середовищі при нагріванні здатні лише ті дисахариди, які мають в молекулі вільний глюкозидний гідроксил:

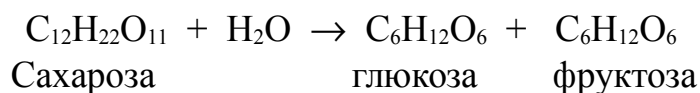


Відновлюючі властивості мають дисахариди, що мають вільний глюкозидний (напівацетальний) гідроксил: мальтоза, лактоза.

Висновки:

3. Гідроліз (інверсія) сахарози

Хід роботи: В дві пробірки вносять по 3 мл 1 % розчину сахарози. В одну пробірку додатково додають 4 краплі 2 н розчину HCl і обидві пробірки нагрівають на киплячій водяній бані 10–15 хв. В присутності кислоти відбувається гідроліз сахарози з утворенням однакової кількості глюкози та фруктози:



Суміш однакової кількості глюкози та фруктози, яка утворюється в результаті гідролізу сахарози, називається інвертованим цукром. Природним інвертованим цукром є мед.

Гідроліз сахарози призводить до зміни повертання площини поляризації світла, що проходить через розчин цукру, тому реакція має ще назву “інверсія”, тобто “повертання”.

Проби охолоджують, ділять на три частини і з кожною проводять досліди:

а) Проба на наявність гідроксильних груп

Додають 4 краплі 2 н розчину NaOH та 1 краплю 0,2н розчину CuSO₄.
Спостерігаємо, що утворюється.

Висновки:

б) Проба на відновлюючу здатність

Пробу “а” обережно нагрівають. Пробірка, де відбувся гідроліз сахарози, дає реакцію з окисненням глюкози.

Висновки:

в) Проба на наявність фруктози

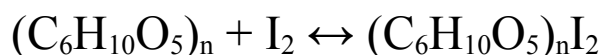
Додають 5 крапель реактиву Селіванова і нагрівають до кипіння. З'являється вишнево-червоне забарвлення тільки в тій пробірці, де відбувся гідроліз, що виявляє в розчині фруктозу.

Висновки:

4. Реакція крохмалю з йодом

Хід роботи: До 1 мл 1 % розчину крохмалю додають 1 краплю розчину Люголя (розчин йоду в йодиді калію). Вміст пробірки забарвлюється в синій колір внаслідок утворення комплексних сполук йоду з крохмальом та ефектів зв'язування (сорбції) йоду на полімері. Отриману суміш темно-синього кольору нагрівають до кипіння. Забарвлення при цьому зникає внаслідок зворотності процесів, а при охолодженні з'являється знову.

Це можна виразити схемою:



Висновки:

5. Кислотний гідроліз крохмалю

Хід роботи: В колбу наливають 25 мл 1 % розчину крохмалю і додають 5 мл 2 н розчину HCl. Перемішують. З цієї суміші беруть по 5 мл розчину і вносять до 5 пробірок. Пробірки нумерують і ставлять їх в киплячу водяну баню для гідролізу крохмалю. Пробірки виймають через певні проміжки часу і охолоджують в холодній воді: першу через 3 хв, другу – через 5 хв, третю – через 8 хв, четверту – через 12 хв, п'яту – через 20 хв. До кожної пробірки додають по краплі розчину Люголя і визначають інтенсивність гідролізу крохмалю по реакції з йодом. Найвищий ступінь гідролізу – в п'ятій пробірці.

Висновки:

ЗАНЯТТЯ. ЛІПІДИ

Обладнання та матеріали: пробірки; бюретки; фарфорові чашки; скляні палички; спиртівки; водяна баня.

Реактиви: дистильована вода; рослинна олія (соняшникова); 2 н розчин натрію карбонату; 0,1 н розчин калію перманганату; 0,1 н розчин натрію їдкоого; 10 % розчин сірчаної кислоти; 0,1 н розчин свинцю ацетату; розчин мила; розчин білка.

1. Окислення рослинних олій

Хід роботи: В пробірку вносять 2 краплі соняшникової олії, додають 2 краплі 2 н розчину натрію карбонату та 2 краплі 0,1 н розчину калію перманганату. Пробірку струшують. Що спостерігається?

Висновки:

2. Емульгування жирів

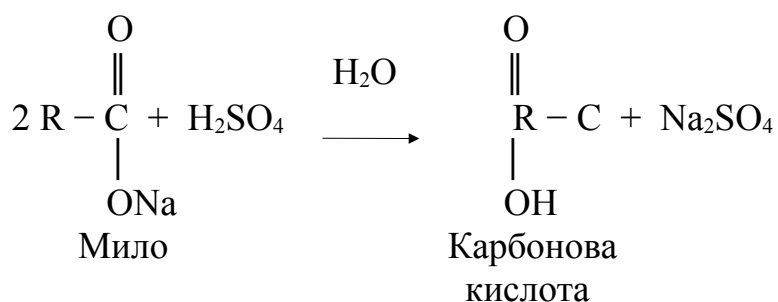
Хід роботи: В п'ять пробірок послідовно вносять по 1 краплі соняшникової олії. Потім додають по 5 крапель: у першу пробірку – води; у другу – 0,1 н розчину їдкоого натрію; у третю – 2 н розчину натрію карбонату; у четверту – розчину мила; у п'яту – розчину білка. Вміст кожної пробірки сильно струшують. Спостерігають утворення емульсій. Пробірки з емульсіями залишають в штативі на декілька хвилин. Ведуть спостереження і записують, в якій пробірці відбулося розшарування, а які речовини утворили стійкі емульсії. Чим зумовлюється емульгуюча дія мила та соди?

Висновки:

3. Одержання жирних кислот з мила

Хід роботи: В пробірку вносять 10 мл дистильованої води і додають 0,5 г мила, отриманого в попередньому досліді. Струшують до розчинення мила і переносять 4 мл розчину в іншу пробірку. Додають 2 мл 10 % розчину сірчаної кислоти і нагрівають на киплячій водяній бані. Виділяються вільні жирні кислоти, які спливають на поверхню у вигляді маслянистого шару. При цьому нижня частина розчину стає прозорою.

Рівняння реакції:



Висновки:

Роботу прийнято _____

Підпис викладача

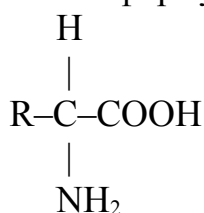
Дата

« _____ » _____ 20__ р.

ЗАНЯТТЯ. АМІНОКИСЛОТИ І БІЛКИ.

Кожна амінокислота побудована з аміногрупи, карбоксильної групи, атому водню та певної R-групи (бокового радикалу), які приєднані до атому вуглецю (α -вуглецю):

Загальна формула амінокислоти



Обладнання та матеріали: мікроскоп; водяна баня; лабораторні пробірки; універсальний індикаторний папір; предметне та покривне скло; електроплитка.

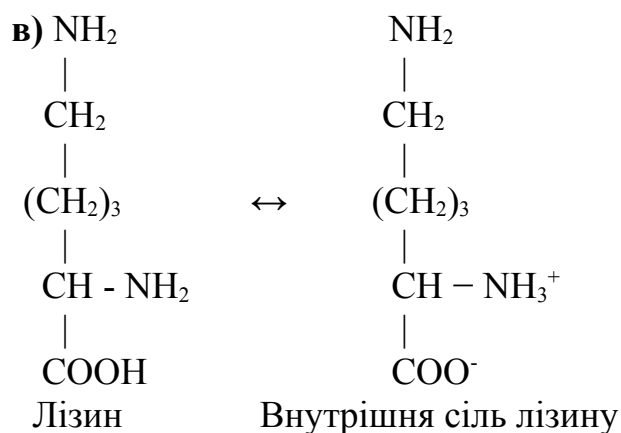
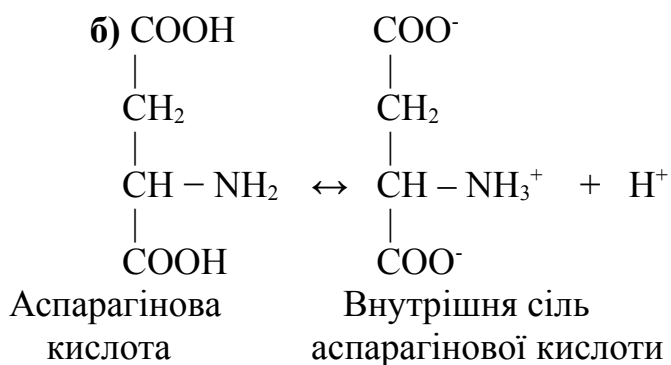
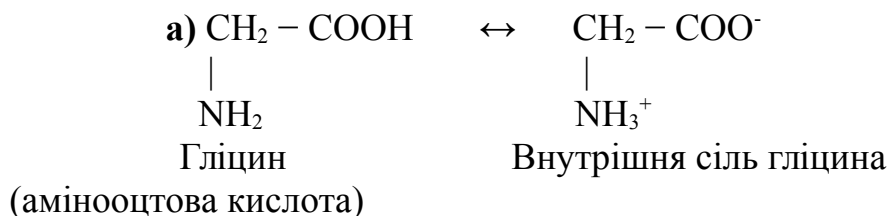
Реактиви: 0,1 н розчини гліцину, аспарагінової кислоти і лізіна; гліцин (суха речовина) та 0,2 н розчин; насичений розчин NaHCO_3 ; оксид міді (порошок CuO); 2 н розчин NaOH ; 0,2 н розчин NaNO_2 ; 0,1 % розчин нінгідрину; 0,9 % розчин гідрохлориду цистеїну; розчин яєчного альбуміна, сироватка або плазма крові; 1 % розчин желатину; концентрований та 10 % розчини NaOH ; концентрована HNO_3 ; 1 % розчин CuSO_4 ; 0,5 н розчин аміаку; HNO_3 (конц.); розчин білка; 0,1 н $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$.

1. Визначення активної реакції розчинів амінокислот

Хід роботи: В ряд пробірок вміщують по 0,5 мл 0,1 н розчину гліцину, аспарагінової кислоти та лізіна. Змочують розчинами амінокислот смужку універсального індикатора, яка забарвлюється в різний колір. Порівнюють забарвлення смужки універсального індикатора зі стандартною шкалою, визначаючи таким чином активну реакцію (рН) розчинів амінокислот. Дати

пояснення, чому активна реакція розчинів таких амінокислот як гліцин, аспарагінова кислота та лізин є різною?

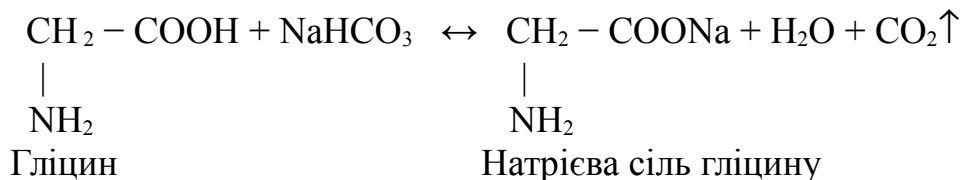
РЕАКЦІЇ ДИСОЦІАЦІЇ АМІНОКИСЛОТ:



Висновки:

2. Дослідження амфотерних властивостей гліцину

Хід роботи: В пробірку вносять декілька кристалів амінокислоти гліцину і додають 1 мл насиченого розчину NaHCO_3 . Утворюється натрієва сіль гліцину.
Рівняння реакції:



Висновки:

3. Взаємодія гліцину з CuO

Хід роботи: В пробірку вносять 0,1 г порошка CuO і додають 0,5 мл 0,2 н розчину гліцину. Перемішують і кип'яють суміш в пробірці впродовж 2 хв. Утворюється комплексна мідна сіль гліцина. Суміш залишають на 5 хв і додають 1 краплю 2 н розчину NaOH . Осад гідроксиду міді не випадає.

Зробіть висновок.

Рівняння реакції:



Висновки:

4. Взаємодія амінокислот з нінгідрином

Хід роботи: На смужку фільтрувального паперу наносять скляною паличкою декілька крапель 0,1 н розчину аланіну і висушують над електроплиткою. Потім на те ж місце наносять розчин нінгідрину і знову висушують. З'являється синьо-фіолетове забарвлення.

Висновки:

ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ

1. Біуретова реакція на білок

Хід роботи: В пробірку вносять 1 мл 10 % розчину NaOH, 0,1 мл 1 % розчину CuSO_4 і 0,1 мл розчину білка. З'являється фіолетове забарвлення, яке зумовлене утворенням мідного комплексу білкової молекули. Реакція вказує на наявність пептидних зв'язків в молекулі білка і використовується для визначення концентрації білка в плазмі чи сироватці крові тварин.

Висновки:

2. Ксантопротеїнова реакція на білок

Хід роботи: В пробірку вносять 0,5 мл розчину білку і 2 краплі концентрованої HNO_3 . З'являється осад, який при нагріванні суміші в полум'ї спиртівки розчиняється і забарвлює розчин в жовтий колір. Потім до розчину в пробірці додають 2 краплі 2 н розчину NaOH . З'являється яскраво-рожеве забарвлення. Виникнення забарвлення пов'язане з нітруванням ядер бензолу ароматичних амінокислот.

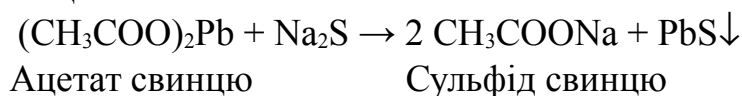
Ксантопротеїнова реакція зумовлена наявністю в білковій молекулі залишків ароматичних амінокислот.

Висновки:

3. Сульфгідрильна реакція (реакція на сірковмісні амінокислоти в білках)

Хід роботи: В пробірку вносять шматочок шерсті або пучок волосся, додають 2 краплі 2 н розчину NaOH і 1 краплю 0,1 н розчину ацетату свинцю $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Pb}$. Суміш нагрівають в полум'ї спиртівки. З'являється коричнево-чорний осад сульфїду свинцю ($\text{PbS}\downarrow$).

Рівняння реакції:



Висновки:

Роботу прийнято

_____ Підпис викладача

_____ Дата

ЗАНЯТТЯ. АМІДИ КИСЛОТ.

Обладнання та матеріали: пробірки; лакмусовий папір.

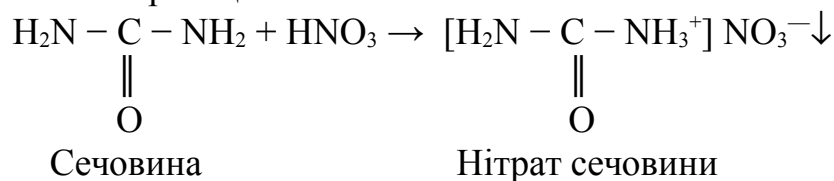
Реактиви: сечовина (кристали та 20 % розчин); концентрована азотна кислота; насичений розчин щавлевої кислоти; 10 % розчин нітриту натрію; 10 % розчин сірчаної кислоти; 10 % розчин їдкого натрію; 1 % розчин сульфату міді.

1. Утворення солей сечовини з кислотами

Хід роботи: 1 г сечовини розчиняють в 5 мл води і цей розчин використовують для наступних дослідів.

а) До 1 мл розчину сечовини обережно додають 1 мл HNO_3 конц. На межі шарів двох рідин утворюється біле кільце кристалів. При збовтуванні випадає кристалічний осад нітрату сечовини.

Рівняння реакції:



Висновки:

б) В пробірку наливають насичений розчин щавлевої кислоти і додають рівний об'єм розчину сечовини. Випадають кристали оксалату сечовини.

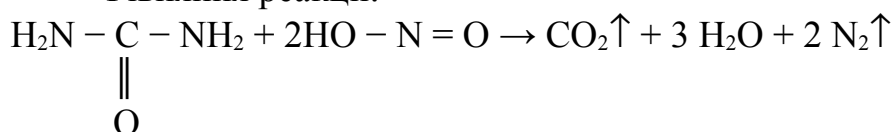
Солі сечовини погано розчинні, тому реакції з утворенням її солей можуть бути використані для виявлення сечовини.

Висновки:

2. Взаємодія сечовини із азотистою кислотою

Хід роботи: До 1 мл розчину сечовини додають 0,5 мл 10 % розчину нітрату натрію та краплями (при струшуванні) 10 % розчин сірчаної кислоти. Виділяється газ, який є сумішшю азоту і діоксиду вуглецю.

Рівняння реакції:

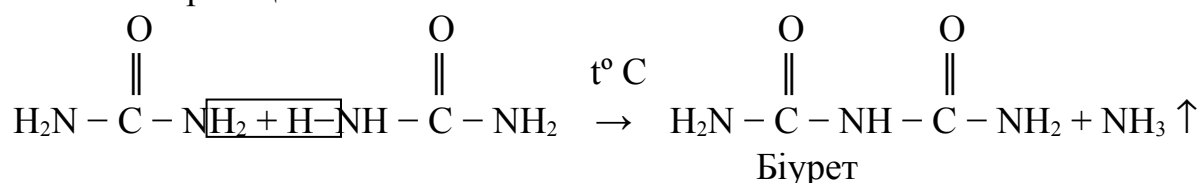


Висновки:

3. Утворення біурету і біуретова реакція

Хід роботи: В суху пробірку вносять 0,2 г сечовини і нагрівають. Сечовина плавиться, і виділяється аміак (визначають за запахом і посинінням червоного лакмусового папірця). При подальшому нагріванні вміст пробірки поступово затвердіває. Утворюється біурет. Пробірку охолоджують і вміст розчиняють в 2 мл води. До отриманого розчину біурету додають 4 краплі 10 % розчину їдкого натрію і 2 краплі 1 % розчину сульфату міді. З'являється характерне червоно-фіолетове забарвлення.

Рівняння реакції:



Висновки:

ЗАНЯТТЯ. НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ.

Реактиви: свіжі або сухі пекарські дріжджі, 10 % розчин H_2SO_4 , 10 % та 30 % розчини $NaOH$, 1 % розчин $CuSO_4$, 1 % розчин $AgNO_3$, концентрований розчин аміаку, 30 % розчин $NaOH$, реактив Фелінга (I та II), 0,5 % розчин флороглюцина в концентрованій HCl , молібденовий реактив (розчин молібденовокислого амонію в азотній кислоті).

При t 100° С в присутності сірчаної кислоти нуклеопротеїди розщеплюються (гідролізуються) на ряд сполук: поліпептиди, пуринові та піримідинові основи, вуглеводи, фосфорну кислоту.

1. Біуретова реакція на пептиди

До 0,5 мл гідролізату дріжджів додають 1 мл 10 % розчину $NaOH$ і 0,5 мл 1 % розчину $CuSO_4$. Поява синьофіолетового забарвлення (або червонофіолетового) свідчить про наявність поліпептидів.

Висновки:

2. Проба на пуринові основи

До 0,5 мл гідролізату дріжджів додають 1–2 краплі концентрованого розчину аміаку для нейтралізації і 0,5 мл 1 % розчину $AgNO_3$. При відстоюванні випадає рихлий осад бурого кольору, обумовлений утворенням срібних з'єднань пуринових основ.

Висновки:

3. Якісні реакції на вуглеводний компонент

а) Проба Троммера. До 5 крапель гідролізату дріжджів додають 5 крапель 30 % розчину NaOH і 2–3 краплі 1 % розчину CuSO_4 до появи незникаючого помутніння міді гідроксиду $\text{Cu}(\text{OH})_2$. При нагріванні до кипіння випадає жовтий осад гідрату закису міді $\text{Cu}(\text{OH})_2$ або червоний осад закису міді Cu_2O .

Висновки:

б) Проба Фелінга. До 5 крапель гідролізату дріжджів додають 5–7 крапель реактиву Фелінга (рівні об'єми реактиву Фелінга-1 та Фелінга-2), перемішують і нагрівають до кипіння. Випадає осад $\text{Cu}(\text{OH})_2$ або Cu_2O .

Висновки:

в) Проба Толленса на пентози. В пробірку вносять 5–7 крапель гідролізату дріжджів, 2–3 краплі 0,5 % розчину флороглюцина в концентрованій соляній кислоті і кип'яють упродовж 1 хв.

З'являється рожеве забарвлення, що переходить в червоне, останнє обумовлене взаємодією флороглюцина з фурфуролом.

Висновки:

4. Якісна реакція на наявність фосфорної кислоти

Молібденова проба. До 0,5 мл гідролізату дріжджів додають 1 мл молібденового реактиву і кип'яють. При охолодженні пробірки проточною водою випадає кристалічний осад лимонно-жовтого кольору, обумовлений утворенням фосфорномолібденовокислого амонію.

