МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ ТА НАУКИ УКРАЇНИ
ВСП «БЕРДЯНСЬКИЙ КОЛЕДЖ ТАВРІЙСЬКОГО ДЕРЖАВНОГО
АГРОТЕХНОЛОГІЧНОГО УНІВЕРСИТЕТУ»

РОБОЧИЙ ЗОШИТ

для проведення лабораторно-практичних робіт з дисципліни «Загальна біохімія» для студентів із спеціальності 181 «Харчові технології» «Зберігання, консервування та переробка плодів і овочів» «Бродильне виробництво і виноробство»

2018

Укладач: Левченко Гліб Юрійович – викладач
ВСП «Бердянський коледж Таврійського державного агротехнологічного університету»

Робочий зошит містить методичні рекомендації по виконанню лабораторних робіт, які включають елементи дослідження, пов’язаних з проведенням якісних і кількісних визначень фізико-хімічних властивостей речовин і сировини.

Призначений в якості посібника для студентів, які навчаються за спеціальністю «Зберігання, консервування та переробка плодів і овочів».

ЗМІСТ

Вступ 4
1. Загальні методичні рекомендації до проведення лабораторних робіт 5
2. Орієнтовний тематичний план 6
3. Правила техніки безпеки роботи в біохімічній
3.1 Правила техніки безпеки для студентів, які працюють в біохімічній лабораторії. 7
3.2 Перша допомога при нещасних випадках у біохімічній лабораторії. 8
4. Зміст лабораторних робіт.
Тема «Вода і мінеральні речовини»
4.1 Визначення масової частки сухих речовин у харчових продуктах рефрактометричним методом 9
Тема «Вуглеводи»
4.2 Реакції на виявлення вуглеводів 12
Тема «Ліпіди, жиророзчинні пігменти»
4.3 Кількісне та якісне визначення жирів. 20
Тема «Білки і нуклеїнові кислоти»
4.4 Кольорові реакції на білки. Фізико-хімічні властивості білків 26
Тема «Ферменти – біологічні каталізатори»
4.5 Вплив температури на активність амілази. Вплив РН середовища на активність амілази 34
4.6 Специфічність дії ферментів 37
Тема «Вітаміни»
4.7 Якісне визначення водорозчинних вітамінів. 41
4.8 Якісне визначення жиророзчинних вітамінів. 46
Тема «Обмін органічних кислот у рослинних організмах»
4.9 Визначення загальної кислотності харчових продуктів. 50
Додатки. 53
Література 57

ВСТУП

Загальна біохімія є фундаментальною наукою. Вона закладає теоретичні основи для засвоєння дисциплін технічного і біологічного профілів, у тому числі, пов'язаних з технологією консервування.

Програма з біохімії складається з двох розділів, які охоплюють найбільш важливі для даної спеціальності питання про хімічний склад організмів, біохімію вуглеводів, ліпідів, білків, нуклеїнових кислот, рослинних речовин вторинного походження, ферментів, вітамінів та обмін речовин.

Метою викладання курсу «Загальна біохімія» для студентів базового напряму «Харчова технологія та інженерія» є вивчення основних методів біохімії та біохімічних перетворень, що лежать в основі технологій харчових виробництв. Ця мета досягається шляхом послідовного викладання теоретичного матеріалу з паралельним проведенням лабораторних робіт і самостійною підготовкою студентів.

Лабораторні заняття передбачають методи якісного та кількісного біохімічного аналізу і сприяють кращому засвоєнню теоретичного матеріалу. Біохімічні методи дозволяють визначати якість сировини та готової продукції відповідних підприємств галузі, формують навички для практичної виробничої діяльності майбутніх спеціалістів.

Опису методів дослідження передує короткий виклад теоретичного матеріалу з даної теми, який є необхідним для пов'язування з ним лабораторної роботи. До кожної роботи наведено контрольні запитання, відповіді на які мають допомогти краще засвоїти теоретичний матеріал, грамотно зробити висновки і провести досліди.

Лабораторний практикум з біохімії, разом з органічною хімією, неорганічною, створюють теоретичну базу для засвоєння дисциплін спецкурсу і сприяє підвищенню якості підготовки фахівців.

I ЗАГАЛЬНІ МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДЛЯ ПРОВЕДЕННЯ ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ

Лабораторний практикум з дисципліни «Загальна біохімія» є невід'ємною частиною підготовки майбутніх фахівців, який сприяє закріпленню та поглибленню знань з даної дисципліни та надасть практичні навички при вивченні технології технохімічного контролю галузі.

Лабораторні роботи проводяться після вивчення відповідного теоретичного матеріалу.

Виконання лабораторних досліджень проводиться в умовах лабораторії біохімії коледжу. При проведенні лабораторних робіт студенти зобов'язані дотримуватись встановлених правил по санітарії та гігієни (мати білі халати), а також дотримуватись правил з техніки безпеки.

До виконання роботи допускаються студенти, які досконало володіють теоретичними знаннями, методиками проведення дослідів. Всі свої спостереження і висновки рекомендується студентам заносити в лабораторний журнал.

При проведенні лабораторної роботи вважається доцільним поділення студентів на підгрупи, з метою забезпечення самостійної роботи. Робота студентів проводиться під керівництвом викладача. Окрім методичних рекомендацій можливе використання наочних посібників (таблиць, схем, слайдів), які дозволяють поєднувати теоретичний матеріал з практичним та вміти робити висновки.

По закінченню лабораторних досліджень студенти складають звіт (форма якого надається в посібнику), куди заносять отримані результати, за допомогою викладача роблять висновки досліджень.

Після підсумків роботи проводиться захист звітів. Відмітка по лабораторній роботі може бути поставлена студенту при правильно виконаній роботі і після захисту звіту.

2 ОРІЄНТОВНИЙ ТЕМАТИЧНИЙ ПЛАН

Тематика лабораторних робіт наведена у відповідності з програмою предмету «Загальна біохімія» і наведена у таблиці 1.

Таблиця 1. Примірний тематичний план

№ теми програми	Назва теми програми	Найменування лабораторної роботи	Кількість годин
1.1	Вода і мінеральні речовини	Визначення масової частки сухих речовин у харчових продуктах рефрактометричним методом	2
1.2	Вуглеводи	Реакція на виявлення вуглеводів (реакція Троммера, Мюллера, Бертрана). Реакція на виявлення крохмалю	2
1.3	Ліпіди, жиророзчинні пігменти	Виявлення жиру. Емульгування жиру. Визначення кислотного числа жиру	2
1.4	Білки і нуклеїнові кислоти	Кольорові реакції на білки (біуретова і ксантопротеїнова). Реакція на триптофан (Адамкевича і Шульце-Распайля). Осадження білків нейтральними солями (висалювання), при нагріванні	2
2.1	Ферменти – біологічні каталізатори	Вплив температури на активність амілази. Вплив РН середовища на активність амілази. Специфічність дії ферментів	4
2.2	Вітаміни	Якісні реакції на жиророзчинні вітаміни (А, Д, Е). Якісні реакції на водорозчинні вітаміни (B_2, B_6, С, РР)	4
2.4	Обмін органічних кислот у рослинних організмах	Визначення загальної кислотності харчових продуктів	2
		Всього:	18

3 ПРАВИЛА ОХОРОНИ ПРАЦІ ТА ТЕХНІКИ БЕЗПЕКИ РОБОТИ В БІОХІМІЧНІЙ ЛАБОРАТОРІЇ

3.1 Правила техніки безпеки для студентів, які працюють в біохімічній лабораторії

Робота в лабораторії вимагає від студентів дотримуватись вимог з охорони праці, техніки безпеки, протипожежної безпеки. При виконанні цих вимог студенти несуть дисциплінарну відповідальність.

Починати проводити завдання можливо тільки після дозволу викладача.

Хімічні реакції виконувати з такою кількістю і концентрацією речовин, в такому посуді і пристроях, які указані в інструкції до лабораторної роботи.

Перед проведенням кожного досліду необхідно уважно прочитати етикетку, старанно оглянути апаратуру і посуд, а також переконатися, що всі хімічні реактиви, матеріали і розчини відповідають зазначеним у даній роботі.

Більшість хімічних речовин отруйні, тому ніякі речовини у лабораторії не можна куштувати. Під час розбавлення кислот водою, слід пам’ятати, що кислоту наливають у воду. Лити воду у кислоту категорично заборонено.

При роботі з концентрованими розчинами кислот і лугів необхідно користуватися піпеткою з гумовою грушею. Концентровані кислоти і луги виливати в посуд для зливу.

Забороняється відганяти ефір та інші займисті речовини на відкритому вогні. З цією метою слід використовувати колби-нагрівачі з закритою спіраллю або водяні бані.

У разі зіпсованості електричної, газової чи водопровідної мереж, приладів, тяги слід негайно повідомити викладача чи лаборанта.

Хімічні досліди проводити лише у чистому посуді.

Нагріваючи реактиви, не нахилятися над колбою так як можливий викид рідини. Нагріваючи пробірки, тримати їх похило, отвором від себе і товаришів.

Залишаючи лабораторію, необхідно перевірити, чи закриті газові, водопровідні крани, чи вимкнуті електроприлади і погашене світло.

У кожній лабораторії мають бути захисні окуляри, маски, респіратори і засоби протипожежного захисту: ящик із піском, азбестова ковдра.

У лабораторії мають знаходитися медикаменти для надання першої медичної допомоги: спиртовий розчин таніну, водяні розчини перманганату калію, борної кислоти, гідрокарбонату натрію, йодний настій, вата, пластир, бинти, мазь від опіків.

Після закінчення роботи необхідно прибрати свої робочі місця та здати їх черговим, а чергові – лаборантові.

3.2 Перша допомога при нещасних випадках у біохімічній лабораторії

При попаданні на шкіру концентрованого лугу вражену ділянку слід промити великою кількістю води, потім обробити 2%-м розчином борної кислоти, після цього засипати порошком лимонної кислоти і перебинтувати. У разі потрапляння їдкого лугу чи його парів у очі для промивання використовують 2%-ий розчин борної кислоти. При опіках шкіри концентрованим розчином кислоти уражену ділянку слід промити водою, обробити 3%-м розчином натрію гідрокарбонату, а потім знову промити водою.

При попаданні кислоти або лугу в очі слід одразу промивати то одне око, то друге струменем води. Потім очі необхідно промити розчином гідрокарбонату натрію (при опіках кислотою) або розчином борної кислоти (при опіках лугом). Після цього необхідно негайно звернутися до лікаря.

При термічних опіках першого ступеню обпечене місце слід присипати двовуглекислим натрієм (питна сода), картопляним крохмалем, або зробити примочки спиртовим розчином 96% етилового спирту, або свіжовиготовленим 2%-м розчином $NaHCO_3$ чи 5%-м $KMnO_4$.

У випадку виникнення пожежі слід вимкнути електроприлади, засипати піском або накрити азбестовою ковдрою вогнище пожежі. Сильне полум’я гасять за допомогою вогнегасника. У випадку невеликих порізів рану треба промити перекиснем водню, обробити йодом і перев’язати стерильним бинтом, у разі кровотечі накласти джгут.

Лабораторна робота 1

Тема: **Визначення масової частки сухих речовин у харчових продуктах рефрактометричним методом**.

Мета: Набути практичних навичок та вмінь при визначенні рефрактометром вмісту сухих розчинних речовин у харчових продуктах.

Після проведення лабораторної роботи студент повинен:

- ***знати:*** порядок і методи визначення масової частки сухих речовин;
- ***вміти:*** готувати пробу і за допомогою рефрактометра робити вимірювання.

Контрольні питання

1. Що називають зольними елементами?
2. Які показники якості харчового продукту визначають за кількістю золи в ньому?
3. У чому полягає принцип визначення сухих речовин рефрактометром?
4. Як визначають сухі розчинні речовини рефрактометром?
5. Як за допомогою коефіцієнтів і показів рефрактометра можна визначити вміст сухих речовин і цукру?

Місце проведення: лабораторія біохімії.

Хід роботи:

1. Інструктаж з охорони праці.
2. Інструктаж по виконанню роботи.
3. Виконання студентами дослідів та обробка результатів.
4. Підведення підсумків заняття.
5. Оформлення звітів.
6. Захист звітів.
7. Прибирання робочих місць.

4.1 Визначення масової частки сухих речовин у харчових продуктах рефрактометричним методом

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Зразки плодів, ягід; рефрактометр лабораторний, ножі, тертушки, хімічні стакани, чашки, оплавлені палички чи пластмасові шпателі; паперові фільтри або марлеві серветки, марля, дистильована вода.

Сутність методу

Метод ґрунтується на вилученні соку з ягід і плодів та вимірюванні його показника заломлення світла за допомогою рефрактометра в одиницях масова частка сухих речовин у відсотках за цукрозою. За величиною цього показника з допомогою таблиць знаходять масову концентрацію цукрів у г/100 $см^3$. Отже, використовується залежність між показником заломлення світлового променя, що проходить крізь сусло, і концентрацією розчинних в ньому сухих речовин, що знаходяться у певному співвідношенні з концентрацією цукрів, які містить сік.

Під вмістом сухих речовин розуміють кількість усіх речовин, крім води. Для багатьох плодових культур вміст сухих речовин знаходиться в межах 10-20%, у овочах від 4-14%.

Техніка виконання аналізу

Для визначення вмісту сухих розчинних речовин готують пробу. З екземплярів середнього зразка вирізають часточки, які розтирають на тертушках, дрібні ягоди (200-300 г) подрібнюють цілими. Одержану м’язгу старанно перемішують, відокремлюють від неї 40-50 г. Через подвійний або потрійний шар сухої марлі видавлюють сік у склянку. Свіжовичавлений сік перемішують і скляною паличкою з оплавленим кінцем та пластмасовим шпателем наносять 2-3 краплі його на чисту і суху призму нижньої камери рефрактометра. Опускають верхню камеру і проводять визначення. Після збігання границі світлотіні з перехрестям сітки (візирною лінією) проводять відлік за шкалою сухих речовин. Проводять два визначення і після кожного з них призми промивають дистильованою водою та витирають м’якою серветкою.

З даних відліків виділяють середнє значення. Прилад градуйований при 20%, тому і вміст сухих речовин необхідно визначати при цій температурі. Якщо термометр фіксує іншу температуру, то треба визначити поправку (додаток 1).

Проведення розрахунків

Вміст сухих розчинних речовин у яблучному соці визначили при температурі 18° С. За шкалою рефрактометра одержали 12,2%.

За даними додатка 1 поправка становить 0,5%. Значить фактичний вміст речовин буде:

$$12{,}2\% - 0{,}1\% = 12{,}1\%$$

Для визначення вмісту загальної кількості сухих речовин і цукрів у свіжих плодах і ягодах показник, одержаний на відповідний коефіцієнт (додаток 2).

Приклад. За допомогою рефрактометра визначено вміст сухих розчинних речовин у соці малини 9,5%, приблизний вміст цукрів буде:

$$9{,}5 \cdot 0{,}58 = 5{,}5\%$$

Загальна кількість сухих речовин:

$$9{,}5 \cdot 1{,}48 = 14{,}1\%$$

Підведення підсумків

Зробити висновок про порядок і методи визначення масової частки сухих речовин і цукрів.

Висновок:

_____
_____
_____
_____
_____
_____

Лабораторна робота 2

Тема: **Реакція на виявлення вуглеводів (реакція Троммера, Мюллера, Бертрана). Реакція на виявлення крохмалю**.

Мета: Набуття практичних навичок та вмінь при проведенні реакцій на виявлення вуглеводів.

Після проведення лабораторної роботи студент повинен:

- ***знати:*** порядок і методи проведення реакцій на виявлення вуглеводів.
- ***вміти:*** проводити реакції на якісне та кількісне виявлення вуглеводів, гідролізу крохмалю.

Контрольні питання

1. Назвіть класифікацію вуглеводів.
2. Охарактеризуйте моносахариди, олігосахариди та полісахариди.
3. Назвіть продукти гідролізу крохмалю.
4. Яку роль відіграє крохмаль в харчовій промисловості?
5. У яких харчових продуктах містяться моносахариди, олігосахариди та полісахариди. Їх роль в життєдіяльності організму.
6. Які моносахариди містяться в овочах і фруктах?

Місце проведення: лабораторія біохімії.

Хід роботи:

1. Інструктаж з охорони праці.
2. Інструктаж по виконанню роботи.
3. Виконання студентами дослідів та обробка результатів.
4. Підведення підсумків заняття.
5. Оформлення звітів.
6. Захист звітів.
7. Прибирання робочих місць.

Реакція Троммера

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, піпетки на 1 $см^3$, 1% розчин глюкози, 1% розчин мальтози, 1% розчин фруктози, 1% розчин лактози, 1% розчин сахарози, 1% розчин крохмалю, 10% розчин натрій гідроксиду, 5% розчин купрум (II) сульфату, спиртівки. Об'єкт дослідження: набір вуглеводів.

Сутність методу

Всі моносахариди, а також більш складні вуглеводи, що мають вільну карбонільну (альдегідну або кетону) групу, мають здатність відновлюватися у лужному середовищі.

Реакція Троммера полягає у відновленні окисної міді в закисну. При цій реакції купрум (II) сульфат реагує з лугом, утворюючи блакитний купрум (II) гідроксид. При його нагріванні колір з блакитного змінюється на жовтий, а потім з жовтого на червоний.

Хімізм процесу:

$$CuSO_4 + 2NaOH = Cu(OH)_2 \downarrow + Na_2SO_4$$

$$CH_2OH-(CHOH)_4-C\begin{matrix}O\\H\end{matrix} + 2Cu(OH)_2 \xrightarrow{t^\circ} CH_2OH-(CHOH)_4-C\begin{matrix}O\\OH\end{matrix} + H_2O + 2CuOH$$

глюкоза — глюконова кислота — жовтий осад

$$2CuOH \xrightarrow{t^\circ} Cu_2O + H_2$$

червоний осад

Техніка виконання аналізу

У пробірки (за кількістю існуючих у лабораторії вуглеводів) наливають на 1 $см^3$ глюкози, фруктози, лактози, мальтози, сахарози, крохмалю, додають такий же об'єм натрій гідроксиду і по 2 краплі купрум (II) сульфат до появи блакитного осаду міді (II) гідроксиду. Усі пробірки нагрівають до кипіння. Моносахариди і редукуючи (відновлюючи) дисахариди (лактоза і мальтоза) відновлюють міді (II) гідроксид до міді (I) гідроксид-осад жовтого кольору, який при тривалому нагріванні перетворюється на купрум (I) оксид-осад цеглисто-червоного кольору. Сахароза і крохмаль (не відновлюючи вуглеводи) не змінюють забарвлення міді (II) гідроксиду.

Підведення підсумків

Зробити висновок про відновлюючи властивості вуглеводів в залежності від хімічної будови і заповнити таблицю 1.

Таблиця 1. Результати реакції на виявлення вуглеводів

Назва вуглеводів	Кількість реактивів, $см^3$			Спостереження за зміною кольору
	вуглеводів	Натрій гідроксид 10%	купрум (II) сульфат 5%	
Глюкоза 1%				
Фруктоза 1%				
Мальтоза 1%				
Сахароза 1%				
Крохмаль 1%				

Висновок:

_____
_____
_____
_____
_____
_____

Визначення вмісту редукуючих цукрів методом Мюллера

Забезпечення роботи

Прилади та реактиви: водяна баня, термостійка конічна колба на 250-300 $см^3$; мірна колба на 100 $см^3$, піпетки на 25, 10, 5; бюретки, реактив Мюллера, розчин концентрацією $C(CH_3COOH)$ = 5 моль/л; розчин концентрацією $C(½\ Na_2S_2O_3)$ = ⅓₀ моль/л; розчин концентрацією $C(½\ J_2)$ = ⅓₀ моль/л; 0,5% розчин крохмалю, досліджувальний розчин.

Сутність методу

Метод Мюллера є стандартним у цукровому виробництві, де необхідно визначати редукуючі цукри в присутності великої кількості сахарози.

Реактив Мюллера складається з сульфату міді, сегнетової солі та карбонату натрію.

Метод визначення ґрунтується на окисненні редукуючи цукрів сіллю двовалентної міді та прямому визначенні відновленої форми міді в присутності її окисленої форми.

До утвореного осаду Cu_2O додають надлишок титрованого розчину йоду, який окислює одновалентну мідь за реакціями:

$$2J_2 + 2H_2O \rightarrow 4HJ + O_2,$$

$$2Cu_2O + O_2 \rightarrow 4CuO,$$

$$CuO + 2HJ \rightarrow CuJ_2 + H^2O,$$

$$2CuJ_2 \leftrightarrow Cu_2J_2 + J_2$$

Розчинення оксиду міді (I) відбувається в кислому середовищі. Остання реакція зворотна, але у присутності надлишку йоду рівновага зсувається вліво, що забезпечує повне перетворення Cu_2O до CuJ_2.

Непрореагований йод титрують розчином тіосульфату натрію, а за різницею об'ємів розчинів взятого на реакцію йоду і тіосульфату натрію, витраченого на титрування, знаходять кількість прореагованого йоду.

Для аналізу використовують ⅓₀ н. розчину йоду і тіосульфату з врахуванням того, що 1 мл ⅓₀ н. розчину йоду, витраченого на окиснення оксиду міді (I), відповідає 1 мг інвертного цукру.

Відновлення інвертного цукру при визначенні цим методом відбувається повільніше, ніж в інших методах, але при цьому сахароза майже не окислюється і визначення інвертного цукру стає точнішим.

Техніка виконання роботи

У термостійку конічну колбу вносять 25 мл досліджуваного розчину, в якому міститься 15-40 мг/100 мл редукуючи цукрів, і додають 10 мл реактиву Мюллера. Колбу витримують 10 хв у киплячій водяній бані так, щоб рівень розчину в ній був на 2-3 см нижчим, ніж рівень води у бані. Дно колби не повинне торкатися дна бані. Після десятихвилинного кип'ятінні колбу виймають з бані та, не перемішуючи її вмісту, швидко охолоджують до кімнатної температури під струменем холодної води.

Розчин повинен мати голубе або зелене забарвлення. Наявність жовтого забарвлення вказує на недостатню кількість реактиву Мюллера. У цьому випадку дослід необхідно повторити з меншою кількістю досліджуваного розчину. Після охолодження додають 5 мл розчину оцтової кислоти $C(CH_3COOH)$ = 5 моль/л і 5-20 мл розчину J_2 концентрацією с (½ J_2) = ⅓₀ моль/л, залежно від кількості утвореного осаду оксиду міді (I), але так, щоб йод постійно був у надлишку. Колбу закривають корком і залишають на 2 хв при кімнатній температурі, періодично перемішуючи суміш. Надлишок йоду титрують розчином $Na_2S_2O_3$ концентрацією с(½ $Na_2S_2O_3$) = ⅓₀ моль/л до

появи блідо-жовтого забарвлення, надалі додають 2-3 мл 0,5% розчину крохмалю. Титрування завершують після досягнення зеленого забарвлення розчину.

Паралельно ставлять контрольний дослід за цією ж методикою, але без кип'ятіння.

Вміст редукуючих цукрів (у г/100 мл) розраховують з врахуванням того, що 1 мл витраченого на реакцію розчину J_2 концентрацією с(½ J_2) = ⅓₀ моль/л відповідає 1 мл інвертного цукру:

$$c = \frac{100(V_1 - (V_2 - V_3))n}{1000V}, \qquad (3)$$

де V_1 – об'єм доданого розчину J_2, мл;

V_2 – об'єм розчину $Na_2S_2O_3$, витрачений на титрування, в контрольному досліді, мл;

V_3 – об'єм розчину $Na_2S_2O_3$, витрачений на титрування, в основному досліді, мл;

n – ступінь розбавлення досліджуваного розчину;

V – об'єм аналізованої проби, мл;

1000 – коефіцієнт перерахунку мл розчину J_2 концентрацією с (½ J_2) = ⅓₀ моль/л на 1 г інвертного цукру;

100 – коефіцієнт перерахунку на мас. %;

Результати аналізу заносять у табл. 2.

Таблиця 2. Результати визначення вмісту редукуючи цукрів методом Мюллера

№ дослі-ду	Об'єм розчину J_2, V_1, мл	Об'єм $Na_2S_2O_3$, витрачений на титрування, мл		Об'єм аналізованої проби, V, мл	Ступінь розбавлення аналізованого розчину, n	Вміст редукуючих цукрів, г/100 мл	Середнє значення вмісту редукуючих цукрів, г/100 мл	Абсолютна похибка Δ_c, г/100 мл	Відносна похибка, δ_c, %
		контр. дослід, V_2	основн. дослід, V_3						
1									
2									

Підведення підсумків

Знаходять вміст редукуючих цукрів методом Мюллера.

Висновок:

_____

_____

_____

_____

_____

_____

Визначення відновлюючих цукрів (за Бертраном)

Забезпечення роботи

Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, піпетки на 20 $см^3$, колби 250 $см^3$, Фелінг I і II, 1 н розчин їдкого натру, фільтри, розчин $KMnO_4$, лакмус, термометр, 0,1% розчин метилоранжу, бюретка, водяна баня.

Сутність методу

Сахароза не має редукуючих властивостей. При гідролізі під дією кислот або ферментів одна молекула сахарози розкладається на 2 молекули глюкози і фруктози, які відновлюють метали. Внаслідок такої інверсії утворюється суміш зазначених моносахаридів, яка називається інвертним цукром:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + C_6H_{12}O_6$$

сахароза глюкоза фруктоза

При визначенні сахарози осаджують білки і жири. У фільтраті визначають редукуючі властивості до і після інверсії сахарози. Різницю між показниками інверсії множать на 0,95 – коефіцієнт переведення інвертованого цукру в сахарозу.

Техніка виконання роботи

До 10 г продукту, що містить 5-7% сахарози, доливають 250 мл води і кількісно переносять у мірну колбу на 250 $см^3$. Потім вливають 5 $см^3$ реактиву Фелінга I, перемішують, витримують 1 хвилину і добавляють 2 $см^3$ 1 н розчину їдкого натру. Далі проводять фільтрацію.

Для титрування проби до інверсії сахарози піпеткою беруть 50 $см^3$ одержаного фільтрату у конічну колбу на 250-300 $см^3$, доливають по 250 $см^3$ реактивів Фелінга I і II, перемішують. Визначають кількість розчину $KMnO_4$, який затратили на титрування.

Для інверсії сахарози відмірюють 20 мл фільтрату в колбу (200 $см^3$), закривають пробкою з термометром і нагрівають до 70° С на водяній бані. Потім додають 2,5 $см^3$ розчину $HC\ell$ і помішуючи витримують 10 хвилин. Після охолодження колби доливають 0,1% розчину метилоранжу. Далі доливають розчин їдкого натру до появи жовтого кольору.

Для титрування сахарози після інверсії до нейтрального розчину доливають по 25 $см^3$ розчинів Фелінга I і II.

Кількість міді в міліграмах, відновленої в 20 $см^3$ фільтрату після інверсії сахарози (відповідає 0,8 або 0,4 г продукту), визначають як добуток титру розчину $KMnO_4$ на різницю між кількістю $см^3$ цього розчину, затраченого на титрування 20 $см^3$ фільтрату після і до інверсії.

Підведення підсумків

За додатком 4 знаходять вміст сахарози (6 мг) у 20 $см^3$ фільтрату і обчислюють її відсотковий вміст у продукті. Якщо кількість міді відновленої в досліджуваному розчині, з даними додатка 4 не збігається, то вміст сахарози розраховують методом інтерполяції. Наприклад, кількість знайденої міді становить 81,5 мг. За додатком 4 знаходять найближчі значення: 80,8 і 81,7. Різниця між цими цифрами (81,7 – 80,8 = 0,9 мг). 0,9 мг міді відповідає 0,5 мг сахарози (40,4 – 39,9). Величина 81,5 більша за 80,8 на 0,7. Цій кількості міді буде відповідати $\frac{0,7 \cdot 0,5}{0,9} = 0,39$ мг сахарози. 81,5 мг міді відповідає 39,9 + 0,39 = 40,29 мг сахарози.

Висновок:

_____
_____
_____
_____
_____
_____

Виявлення крохмалю в продуктах харчування

Забезпечення роботи

Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, ступка з товкачиком, розчин йоду в калій йодиду (1 г калію йодиду розчиняють в невеликій кількості дистильованої води, в концентрованому розчині солі розчиняють 1 г йоду і розчиняють водою до 3 $см^3$) або спиртовий розчин йоду, дистильована вода.

Об'єкт дослідження: крохмаль, яблуко, картопля, лимон, борошно.

Сутність методу

Крохмаль, резервна речовина рослин, дає кольорову реакцію з розчином йоду в йодиді калію. Крохмаль забарвлюється в темно-синій колір.

Техніка виконання аналізу

Тверді продукти (картоплю, яблуко, лимон) окремо розтирають товкачиком у ступках до кашоподібного стану. В пронумеровані пробірки вносять по 0,5-1 г розтертих продуктів, 2-3 $см^3$ дистильованої води, ретельно проби перемішують і потім додають по 1-2 краплини розчину йоду. Відмітити пробірки в яких з'явилося синє забарвлення.

Підведення підсумків

Зробити висновок про вміст крохмалю в продуктах і заповнити таблицю 3.

Таблиця 3. Результати визначення крохмалю в різних продуктах харчування

№ пробірки	Продукт, який досліджувався	Забарвлення	Вміст крохмалю

Висновок:

_____
_____
_____
_____

Біохімічні вправи

1) Написати структурні формули: мальтози, фруктози, лактози, сахарози, крохмалю.

_____
_____

2) Написати реакції гідролізу крохмалю.

_____
_____

3) Написати реакцію. Спиртового бродіння глюкози.

_____
_____

4) Написати реакцію маслянокислого бродіння глюкози.

_____
_____

5) Написати реакцію молочнокислого бродіння глюкози.

_____
_____

Лабораторна робота 3

Тема: **Кількісне та якісне визначення жирів**.

Мета: Набуття практичних навичок та вмінь при проведенні реакцій на виявлення жирів.

Після проведення лабораторної роботи студент повинен:

- ***знати:*** порядок і методи проведення реакцій на виявлення жирів;
- ***вміти:*** проводити реакції на якісне та кількісне виявлення жирів.

Контрольні питання

1. Охарактеризуйте жири за хімічною природою.
2. Охарактеризуйте складні та прості ліпіди.
3. Назвіть насичені і ненасичені жирні карбонові кислоти.
4. Які основні фізико-хімічні властивості жирів?
5. Охарактеризуйте хімічні константи, які використовують при оцінюванні якості ліпідів.
6. Що таке емульгування жирів?
7. Яке значення для харчової промисловості мають реакції гідролізу, гідрування, окиснення гліцеридів?
8. За яких умов відбувається гідролітичне псування жиру?

Місце проведення: лабораторія біохімії.

Хід роботи:

1. Інструктаж з охорони праці.
2. Інструктаж по виконанню роботи.
3. Виконання студентами дослідів та обробка результатів.
4. Підведення підсумків заняття.
5. Оформлення звітів.
6. Захист звітів.
7. Прибирання робочих місць.

Реакція на виявлення ліпідів

Забезпечення роботи:

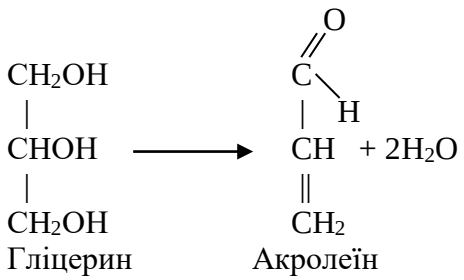
Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, піпетка на 1 $см^3$, скляна паличка, калій гідросульфат (сухий), фільтрувальний папір.

Харчові зразки: рослинна олія чи будь-який інший жир і віск.

Сутність методу

Реакцією на виявлення жирів може служити акролеїнова проба. Акролеїнова проба присутня у жирах у вигляді гліцеринового залишку, при нагріванні жиру цей залишок частково переходить у вільний гліцерин. При подальшому нагріванні гліцерин далі втрачає воду, як наслідок утворюється ненасичений альдегід – акролеїн, який легко виявити за специфічним подразливим запахом.



Акролеїн може утворюватись при пережовуванні їжі і від присутності його в значній мірі залежить різкий, удушливий запах кесонного чаду. Акролеїнову пробу проводять, нагріваючи жир в присутності бісульфату калія чи натрія (в якості водовіднімаючого засобу).

Ліпіди, що не містять гліцерину (воску, жирних кислот, стеринів та ін.) акролеїнової проби не дають.

Також для визначення жирів можна використовувати їх властивість залишати на папері характерну масляну пляму.

Техніка виконання аналізу

Проба на виявлення плями. Наносять скляною паличкою краплю жиру на шматок паперу. Спостерігають появу сальної плями, що не зникає при нагріванні.

Акролеїнова проба. Поміщають в суху пробірку 1-2 краплі жиру, додають трошки сухого сірчанокислого калію і нагрівають до появи білих густих парів. Різкий подразливий запах (обережно) свідчить про утворення акролеїну.

Проводять ту ж саму реакцію зі шматочком воску. Спостерігають за тим, що при його нагріванні не відбувається виділення акролеїну, так як молекула воску не містить залишку гліцерину.

Підведення підсумків

Зробити висновки про хімічний склад ліпідів.

_____

_____

_____

Емульгування жирів

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, піпетки на 1 $см^3$, воронки, фільтрувальний папір, 1% розчин мила, 1% розчин натрію гідрокарбонату, розчин яєчного білку, жовч.

Об'єкт дослідження: рослинна олія чи будь-який інший жир і віск.

Сутність методу

Емульгуванням називається розподіл однієї нерозчинної речовини в іншій у вигляді краплин. Таке подрібнення на краплини звичайно здійснюється при енергійному перемішуванні двох рідин. Щоб емульсія не розшаровувалась, використовують спеціальні речовини – емульгатори або стабілізатори. Емульгатор розподіляється на поверхні краплинок диспергованої рідині у вигляді тонкої плівки і перешкоджає їх злиттю. Стійкість одержаної емульсії в значній мірі залежить від природи емульгатора. Наприклад, молочно-жирова емульсія маргарину має високу стійкість і не розшаровується при механічній дії. У вітчизняному маргариновому виробництві як емульгатори застосовують суміш моно- і дигліцеридів, фосфатиди, сухе молоко. При виготовленні майонезів з цією метою використовують яєчний і гірчичний порошки.

Основними емульгаторами в шлунково-кишковому тракті є солі жовчних кислот, білки, фосфатиди, гідрокарбонати лужних металів. Емульгування жирів сприяє їх кращому всмоктуванню в кишечнику.

Техніка виконання аналізу

У п'ять пробірок наливають по 5 $см^3$ дистильованої води. До другої пробірки вносять 1 $см^3$ мила, до третьої – 1 $см^3$ жовчі, до четвертої – 1 $см^3$ розчину натрію

гідрокарбонату, до п'ятої – 1 $см^3$ розчину яєчного білка. Потім до всіх пробірок додають по 0,2 $см^3$ олії. Пробірки енергійно струшують і залишають на 5 хвилин. У першій пробірки емульсія швидко розшаровується на воду і олію. У всіх інших пробірках завдяки присутності жовчі, мила, білка і солі утворюються стійкі емульсії.

Вміст пробірок фільтрують через паперові фільтри у чисті пробірки. У першу пробірку крізь фільтр проходить прозорий розчин, а олія залишається на фільтрі. До всіх інших пробірок крізь фільтр проходить мутна рідина (емульсія).

Отже, такі речовини як жовч, мило, білок, сіль являються стабілізаторами, сприяють емульгуванню жирів і значно полегшує їх проходження через мембрани.

Підведення підсумків

Результати досліду занести в таблицю 4.

Таблиця 4. Результати емульгування жирів

Назва жиру	Кількість, $см^3$						Результати спостереження
	жир	вода	мило	жовч	натрій гідрокарбонат	яєчний білок	
Олія рослинна							
Жир							
Воск							

Висновок:

_____
_____
_____
_____

Визначення кислотного числа жиру

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Колби конічні на 50 $см^3$, 100 $см^3$ з пробками, бюретки, піпетки, нейтралізована суміші етилового спирту з етиловим етером (1:1), 0,1 н розчин їдкого калію, 1% розчин фенолфталеїну.

Харчові зразки: масло коров'яче, свіжа соняшникова олія, масло коров'яче після зберігання, олія соняшникова після зберігання, фритюрний жир.

Сутність методу

Природа жиру та його якість визначається за показниками, які називають «числами», або «константами жиру». З хімічних констант найбільше значення має кислотне число.

Кислотне число характеризується вмістом у жирі вільних жирних кислот. Його визначають кількістю міліграмів гідроксиду калію, яке потрібне для нейтралізації вільних жирних кислот в 1 г жиру. Кислотне число – важливий компонент якості жирів, тому що при зберіганні жирів або при їх термічній обробки його значення збільшується, за рахунок протікання реакції гідролізу гліцеридів.

Техніка виконання роботи

В колбу кладуть наважку масою 1 г матеріалу, що досліджується (з урахуванням різниці маси колби до і після внесення наважки) приливають 10 $см^3$ нейтралізованої суміші спирту. Вміст колби перемішують до повного розчинення жиру. Потім додають до колби 2-3 краплі розчину фенолфталеїну і титрують суміш 0,1 н розчином КОН до появи рожевого забарвлення. Об'єм розчинів у бюретці відраховувати від нуля; реактиви додавати краплями при постійному перемішуванні суміші у колбі. Титрування проводити до появи рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 1 хвилини.

Кислотне число розраховують за наступною формулою:

$$\hat{E}\times = \frac{\hat{A}\cdot\hat{E}\cdot 5{,}61}{\acute{I}}$$

де В – кількість 0,1 н розчину їдкого калію, витраченого на титрування наважки жиру, $см^3$;

К – поправковий коефіцієнт до титру 0,1 н розчину КОН;

5,61 – титр 0,1 н розчину КОН;

Н – наважка жиру, г.

_____

_____

_____

_____

Підведення підсумків

Зробити висновки про якість жирів, величині кислотного числа і заповнити таблицю 5.

Таблиця 5. Результати виявлення кислотного числа жиру

Назва жиру	Кількість				Величина кислотного числа
	наважка, г	суміш спиртово-етерна, $см^3$	фенолфта-леїн, крапель	калій гідроксид, $см^3$	
1	2	3	4	5	6
Масло коров'яче (свіже)					
Масло коров'яче (після зберігання)					
Олія соняшникова (свіжа)					
Олія соняшникова (після зберігання)					
Фритюрний жир					

Висновок:

_____
_____
_____
_____
_____

Біохімічні вправи

1) Напишіть реакцію гідролізу естерів.

_____
_____

2) Напишіть формули: три гліцерину, 1, 2 дигліцериду, 2-моногліцериду.

_____
_____

3) Напишіть реакцію гідрування жиру (основа маргарину).

_____
_____

4) Йодні числа дорівнюють:

   для вершкового масла – 30;

   для соєвої олії – 36;

   для конопляної олії – 150.

Охарактеризуйте йодні числа даних продуктів.

5) Напишіть формули пероксиду і гідропероксиду – первинних продуктів окиснення.

Лабораторна робота 4

Тема: **Кольорові реакції на білки. Фізико-хімічні властивості білків.**

Мета: Набуття практичних навичок та вмінь при проведенні реакцій на білки.

Після проведення лабораторної роботи студент повинен:

- ***знати:*** порядок і методи проведення реакцій на виявлення білків;
- ***вміти:*** проводити реакції на якісне та кількісне виявлення білків, аналізувати фізико-хімічні властивості білків.

Контрольні питання

1. Дайте визначення білків та їх структури. Їх біологічне значення.
2. Наведіть класифікацію білків.
3. Охарактеризуйте амінокислотний склад білків.
4. Назвіть незамінні α-амінокислоти та охарактеризуйте їх біологічне значення.
5. Особливості фізико-хімічного складу білків.
6. Який процес називається висолюванням білків?
7. Назвіть типи зв'язків, якими пов'язані амінокислоти в молекулі білка.

Місце проведення: лабораторія біохімії.

Хід роботи:

1. Інструктаж з охорони праці.
2. Інструктаж по виконанню роботи.
3. Виконання студентами дослідів та обробка результатів.
4. Підведення підсумків заняття.
5. Оформлення звітів.
6. Захист звітів.
7. Прибирання робочих місць.

Біуретова реакція на білки

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, піпетки на 1 $см^3$, крапельниці, 10% розчин їдкого натрію, 1% розчин купрум (II) сульфату.

Харчові зразки: М'ясний сік, молоко, соєве борошно, клітинний сік овочів та фруктів, водяний розчин яєчного білку (для приготування водневого розчину яєчного білка беруть білок одного курячого яйця, розчиняють в 15-20 кратному об'ємі дистильованої води, потім розчин фільтрують крізь 3-4 шари марлі). При необхідності розчин зберігають у холодильній шафі), молоко, 1% розчин желатину.

Сутність методу

В молекулах білків усі амінокислоти зв'язані пептидним зв'язком (первинна структура протеїнів). Пептидний зв'язок виявляється за допомогою біуретової реакції Петровського по утворенню фіолетово-чорвоної сполуки груп – CO-NH з міддю в сильно лужному середовищі. Червоно-фіолетовий чи синьо-фіолетовий колір утворюється в залежності від довжини поліпептидного ланцюга. Розчин білка дає синьо-фіолетове забарвлення, а продукти неповного гідролізу його – пептони – рожеве чи червоне забарвлення.

Техніка виконання аналізу

В одну пробірку наливають 5 крапель розчину білка, у другу – стільки ж молока, у третю – желатину. До кожної пробірки доливати по 10 крапель їдкого натрію, перемішують і додають по 1-2 краплі розчину купруму (II) сульфату, суміш перемішують. Слід уникати надміру $CuSO_4$, синій колір якого буде маскувати фіолетово-червоне забарвлення, яке свідчить про наявність пептидних зв'язків.

Підведення підсумків

Визначити зміну забарвлення в кожній пробірці і зробити висновок про наявність пептидних зв'язків і заповнити таблицю 6.

Таблиця 6. Результати проведення біуретової реакції

Харчові зразки	Кількість реактивів, $см^3$			Спостереження за зміною кольору
	об'єкт дослідження	їдкий натрій	купрум (II) сульфат	
Яєчний білок				
Молоко				
Желатин 1%				

Висновок:

_____

_____

_____

Ксантопротеїнова реакція на білки

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, піпетки на 1 см^3, крапельниці, 30% розчин їдкого натрію, концентрована нітратна кислота, їдкий амоній концентрований.

Харчові зразки: яєчний білок, 1% розчин желатину.

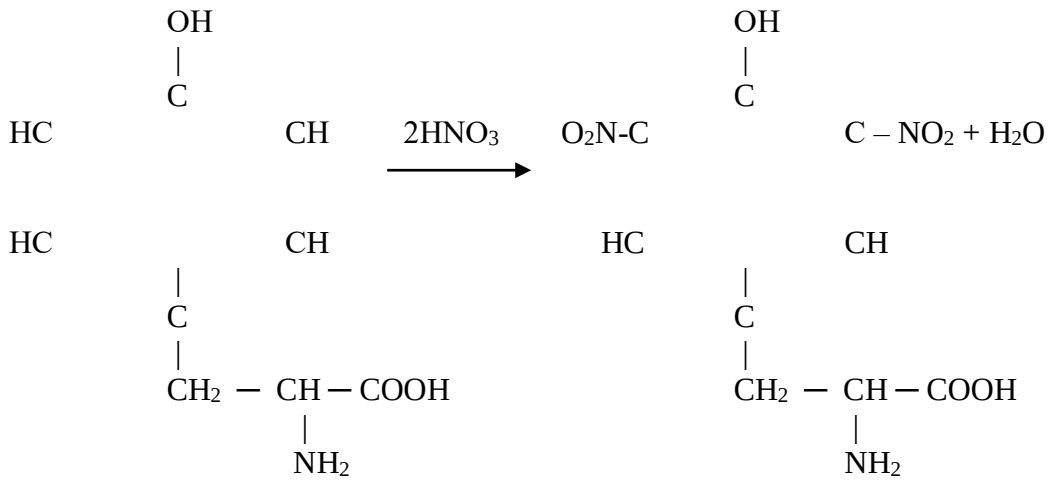
Сутність методу

Ксантопротеїнова реакція відкриває наявність в білках циклічних амінокислот – триптофану, фенілаланіну, тирозину, що містять у своєму складі бензольне ядро.

Більшість білків при нагріванні з концентрованою азотною кислотою дають жовте забарвлення, що переходить в помаранчеве при підлужуванні.

Ксантопротеїнова реакція забезпечує появу жовтого забарвлення при потраплянні концентрованої нітратної кислоти на шкіру, нігті та ін. Ксантопротеїнову реакцію також дають більш прості ароматичні сполуки (наприклад, феноли).

Реакція обумовлена нітруванням бензольного кільця цих амінокислот з утворенням нітросполук жовтого кольору. При взаємодії азотної кислоти з тирозином реакція нітрування протікає за наступною схемою:



Тирозин

Динитротирозин
(жовтого кольору)

Техніка виконання аналізу

У дві пробірки вносять по 0,5 $см^3$ розчину яєчного білка, у другу – желатину додають по 0,5 $см^3$ концентрованої нітратної кислоти і обережно (!) нагрівають. У разі появи жовтого забарвлення суміш охолоджують і додають концентрований розчин NH_4OH або 30% NaOH по краплинах до появи помаранчевого забарвлення.

Підведення підсумків

Визначити зміну забарвлення в обох пробірках і зробити висновок про наявність бензольного кільця і заповнити таблицю 7.

Таблиця 7. Результати проведення ксантопротеїнової реакції

Харчові зразки	Кількість реактивів, $см^3$				Спостереження за зміною кольору
	об'єкт дослідження	нітратна кислота концентрована	їдкий амоній концентрований	їдкий натрій, 30%	
Яєчний білок					
Желатин 1%					

Висновок:

_____

_____

_____

Реакція на виявлення триптофану (реакція Адамкевича)

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, піпетки на 1 $см^3$, крапельниці, концентрована оцтова кислота, концентрована сірчана кислота.

Харчові зразки: яєчний білок, 1% розчин желатину.

Сутність методу

При додаванні до розчину білка незначної кількості гліоксилової кислоти (H-CO-CO-OH) в присутності концентрованої H_2SO_4 одержимо червоно-фіолетове забарвлення, зумовлене здібністю триптофану в кислому середовищі взаємодіяти з альдегідами, даючи забарвлені продукти конденсації червоно-фіолетового кольору. Як джерело гліоксилової кислоти використати льодяну оцтову, в якій гліоксилова кислота завжди присутня в невеликій кількості.

Техніка виконання аналізу

У дві пробірки вносять по 0,5 $см^3$ розчину яєчного білка і розчину желатину. Добавляють до кожної по 0,5 $см^3$ концентрованої оцтової кислоти (діє, як водовідбір на речовина), злегка нагрівають. Після охолодження по стінці доливають 1 $см^3$ концентрованої H_2SO_4.

Підведення підсумків

Спостерігати появу червоно-фіолетового забарвлення і зробити висновок про наявність триптофану у досліджених розчинах та заповнити таблицю 8.

Таблиця 8. Результати проведення реакції на виявлення триптофану

Харчові зразки	Кількість реактивів, $см^3$			Спостереження за зміною кольору
	об'єкт дослідження	оцтова кислота концентрована	сульфатна кислота концентрована	
Яєчний білок				
Молоко				
Желатин 1%				

Висновок:

_____

_____

_____

Реакція осадження білків

Існує велика кількість різних реакцій осадження білків. Реакцій осадження в залежності від використовуємо осаджувача можуть бути зворотною і незворотною. У разі зворотних реакцій білки не піддаються глибоким змінам, а осади, що отримують, можуть бути знов розчинені (в воді), тільки при цьому зберігають свої природні властивості. При незворотних реакціях осаджені білки піддаються глибоким змінам. Осади, що отримують, не можуть бути знову розчинені, тобто білки денатурують.

При денатурації змінюється внутрішня будова поліпептидних ланцюгів білків, розриваються деякі зв'язки, за винятком ковалентних, змінюється вторинна, третинна та четвертинна структура. Білки втрачають гідрофільні та набувають гідрофобні властивості.

Денатурація білків відбувається внаслідок дії високої температури, ультрафіолетового випромінювання, дії сильних кислот, солей важких металів.

Більшість білків при нагріванні коагулюють (зсідаються), перетворюючись у гель. Теплова денатурація різних білків відбувається при різних температурах. Одні білки коагулюють при 40-50° С, а інші можуть витримувати недовгочасне кип'ятіння.

Зовсім не зсідаються (протаміни, гістони, желатина, казеїн). З підвищенням тебмператури теплова коагуляція прискориться.

Осадження білків нейтральними селями

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, піпетка на 1 $см^3$, крапельниці, паперові фільтри, концентрована оцтова кислота, натрій хлорид (насичений розчин).

Харчовий зразок: яєчний білок.

Сутність методу

Натрій хлорид осаджує глобуліни при повному насичені розчину (100%), а для осадження альбумінів потрібне ще і підкислення розчину. Висолювання білків являється зворотною реакцією.

Техніка виконання аналізу

У пробірку вносять 3 $см^3$ розчину яєчного білка та натрій хлориду до повного насичення. Спостерігають випадіння в осад глобулінів. Суміш фільтрують крізь паперовий фільтр. У фільтраті будуть знаходитися альбуміни. До фільтрату додати 1 $см^3$ розчину оцтової кислоти і нагріти суміш до кипіння на водяній бані, внаслідок чого альбуміни випадають в осад.

Підведення підсумків

Зробити висновок про здатність білків випадати в осад за допомогою солей.

Висновок:

_____

_____

_____

Осадження білків при нагріванні

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, 1%-ий розчин яєчного білка або водна витяжка із м'яса; 1%-ий розчин оцтової кислоти; 10%-ий розчин оцтової кислоти; насичений розчин

натрій хлориду; 10%-ий розчин їдкого натру; концентрована оцтова кислота; натрій хлорид (насичений розчин).

Сутність методу

Білки, які мають кислотні властивості, осаджуються в слабо кислому середовищі, а білки, що мають основні властивості – в слабо лужному середовищі. В сильно кислих (за винятком нітратної, три хлороцтової і сульфосаліцилової кислот) і сильно лужних розчинах денатурований при нагріванні білок не випадає в осад, тому що частинки білка перезаряджуються (або відбувається підсилення наявного заряду) і несуть у першому випадку позитивний, а в другому негативний заряд. Це підвищує їх стійкість у розчині в результаті дії електростатичних сил відштовхування. Однак у сильно кислих розчинах білки при нагріванні можуть коагулювати, якщо добавити достатню кількість якої-небудь нейтральної солі, що зумовлено нейтралізацією заряду частинки білка адсорбованими іонами солі .

Техніка виконання аналізу

Наливають у п’ять пробірок по 2 мл 1%-го яєчного білка або водної витяжки із м’яса. Нагрівають вміст першої пробірки і спостерігають поступове випадання білка в осад. У другу пробірку добавляють краплину 1%-го розчину оцтової кислоти і нагрівають. Осад білка випадає швидше і повніше. В третю пробірку доливають 0,5 мл 10%-го розчину оцтової кислоти і нагрівають. Осад білка не утворюється навіть при кип’ятінні.

В четверту пробірку добавляють 0,5 мл 10%-ої оцтової кислоти, 3-4 краплини насиченого розчину натрій хлориду і підігрівають. Утворюється осад білка. В п’яту пробірку доливають 0,5 мл 10%-го їдкого натру і підігрівають. Осад білка не утворюється і при кип’ятінні.

Підведення підсумків

Зробити висновок про осадження білків при нагріванні і заповнити таблицю 9.

Таблиця 9. Результати проведення реакції при нагріванні

№ пробірки	1% розчин CH_3COOH, t°	10% розчин CH_3COOH, t°	1% розчин NaOH, t°	Висновки

Висновок: _____
_____
_____

Лабораторна робота 5

Тема: **Властивості ферментів.**

Мета: Набуття практичних навичок та вмінь при проведенні реакцій за участю ферментів.

Після проведення лабораторної роботи студент повинен:

- ***знати:*** фактори, що впливають на активність ферментів;
- ***вміти:*** проводити реакції на якісне та кількісне виявлення ферментів.

Контрольні питання

1. Наведіть визначення ферментів.
2. Яка біологічна роль ферментів?
3. Охарактеризуйте властивості ферментів.
4. Наведіть фактори, які впливають на активність ферментів?
5. Охарактеризуйте класифікацію ферментів.
6. Як впливають на крохмаль α- і β- амілази? Оптимальні умови їх дії.
7. Яка будова активного центру простих та складних ферментів?

Місце проведення: лабораторія біохімії.

Хід роботи:

1. Інструктаж з охорони праці.
2. Інструктаж по виконанню роботи.
3. Виконання студентами дослідів та обробка результатів.
4. Підведення підсумків заняття.
5. Оформлення звітів.
6. Захист звітів.
7. Прибирання робочих місць.

Вплив температури на активність амілази

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Термостат нагрітий до 37° С, холодильник, піпетки на 1,2 $см^3$, крапельниці, нагрівальний прилад, 1% розчин крохмалю картопляного, 0,1 н розчин йоду, розбавлений безпосередньо перед визначенням до 0,004 н.

Об'єкт дослідження: слина, розбавлена у 5 разів.

Сутність методу

При низькій температурі ферментативні реакції проходять повільно. По мірі підвищення температури швидкість ферментативних реакцій зазвичай підвищується. При досягненні деякого оптимуму підвищення температури вже призводить до падіння активності ферментативних реакцій. Так вже при температурі розчину 50-60° С часто відбувається температурна інактивація ферментів. Для більшості ферментів температурний оптимум лежить в межах 37-50° С. Низькі температури не ін активують ферментів. Як правило вони лише уповільнюють чи зупиняють їх дію.

Вплив температури на активність ферментів легко можна прослідити на прикладах дії на крохмаль ферментів слини.

Фермент амілаза каталізує гідроліз крохмалю до декстринів і мальтози. Такий процес відбувається, наприклад, у ротовій порожнині при вживанні з їжею продуктів, що містять крохмаль: картоплі, хліба, макаронних виробів.

Джерелом амілази є слина. Цей фермент знаходиться і в інших відділах травного тракту, а також в печінці та інших тканинах. Різні типи амілаз використовуються в харчовій промисловості, у пивоварінні, де їх джерелом є рослини (ячмінь).

Дію амілаз розпізнають по зникненню синього забарвлення, яке утворюється при додаванні йоду.

Техніка виконання аналізу

У 3 пробірки наливають по 1 $см^3$ джерела амілази, одну з них кип'ятять протягом не менше 5 хвилин і дають охолонути; другу кладуть у холодильник для охолодження до 10° С; третю – ставлять у термостат. Потім до всіх трьох пробірок приливають по 3 краплі крохмалю і ставлять у термостат на 10 хвилин при температурі 37° С. Через 10 хвилин до всіх пробірок приливають по 1-2 краплі розчину йоду. Якщо крохмаль не перетравився амілазою, утворюється синє забарвлення. При наявності продуктів гідролізу колір з йодом стає фіолетовим, червоним або жовтим в залежності

від розміру утворених молекул декстринів. Амілодекстрини забарвлюються йодом у фіолетовий колір, еретродекстрини – у червоний, ахродекстрини – утворюють жовте забарвлення, як і мальтоза. По кольору визначають глибину розщеплення крохмалю..

Проведення підсумків

Зробити висновок про вплив різних температур на активність амілази, судячи по забарвленню, що утворилось у кожній із трьох пробірок.

Висновок: _____
_____
_____
_____

Вплив pH середовища на активність амілази

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Буферний розчин, pH якого дорівнює 5,0 (10,30 см^3 0,2М $NaHPO_4 \cdot H_2O$ змішується з 9,70 см^3 0,1М розчину лимонної кислоти); буферний розчин pH = 6,8 (15,45 см^3 0,2М розчину $NaHPO_4$ змішується з 4,55 см^3 0,1М розчину лимонної кислоти); штатив із пробірками, закритими пробками; піпетки на 1-2 см^3; буферний розчин pH = 8 (19,45 см^3 0,2М $NaHPO_4$ змішується з 0,55 см^3 0,1М розчину лимонної кислоти); крохмаль, 1% розчин йоду в калій йодиду 0,004Н, приготовлений шляхом розбавлення з 0,1Н безпосередньо перед дослідженням. У такій концентрації, йод забарвлює крохмаль у синій колір і не припиняє дії амілази.

Об'єкт дослідження: джерело амілази слина, розбавлена у 5 разів.

Сутність методу

Ферменти дуже чутливі до зміни кислотності середовища, в якому вони діють. Для кожного ферменту є певна оптимальна концентрація водневих іонів, при якій він найбільш активний. Зміна активності кислотності середовища в ту чи іншу сторону від оптимуму pH викликає зниження активності ферменту.

Вплив pH на дію ферментів можна проілюструвати на прикладі дії амілази слини на крохмаль. Активність амілази слини вище за все при майже нейтральній реакції (pH=6,8-6,9) і пригнічується як кислотами, так і лугами.

Техніка виконання роботи

У 3 пробірки наливають по 1 см^3 джерела амілази, в одну з них додають 1 см^3 буфера з pH 5,0; у другу – стільки ж із pH 6,8; у третю – із pH 8. Для приготування

буферних розчинів змішують 0,2М розчин натрій ортофосфат і 0,1М розчин лимонної кислоти у співвідношеннях, наведених у таблиці 3.1.

В кожну пробірку приливають по 2 краплі йоду і по 3 краплі крохмалю. Пробірки закривають пробками і залишають їх при кімнатній температурі, спостерігають за зникненням синього забарвлення в кожній пробі.

Примітка: якщо під дією двох крапель йоду крохмаль не посинів, додають ще однакову кількість розчину крохмалю в усі пробірки, доки не з'явиться синє забарвлення.

Підведення підсумків

Визначити, при якому значенні pH швидше гідролізується крохмаль, і зробити висновок про вплив pH середовища на активність амілази. Результати і висновки навести у вигляді таблиці 10.

Таблиця 10. Результати досліду про вплив pH на активність амілази

№	Кількість 0,2М розчину Na_2HPO_4, $см^3$	Кількість 0,1М розчину лимонної кислоти, $см^3$	pH суміші	Час знебарвлення синього кольору, хв	Висновки
1	10,3	9,7	5		
2	15,45	4,55	6,8		
3	19,45	0,55	8		

Висновок: _____
_____
_____
_____
_____

Лабораторна робота 6

Тема: **Специфічність дії ферментів**.

Мета: Набути практичні навички при проведенні дослідів з амілазою.

Після проведення лабораторної роботи студент повинен:

- ***знати:*** специфічність дії амілази;
- ***вміти:*** проводити реакції на виявлення ферментів.

Контрольні питання

1. Ферменти, їх хімічна природа.
2. Охарактеризуйте особливості дії ферментів. Чим вони відрізняються від інших каталізаторів?
3. Номенклатура ферментів.
4. Механізм дії ферментів?
5. Використання ферментів.

Місце проведення: лабораторія біохімії.

Хід роботи:

1. Інструктаж з охорони праці.
2. Інструктаж по виконанню роботи.
3. Виконання студентами дослідів та обробка результатів.
4. Підведення підсумків заняття.
5. Оформлення звітів.
6. Захист звітів.
7. Прибирання робочих місць.

Визначення специфічної дії ферментів

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, термостат, або водяна баня 38° С, крапельниці, піпетки, сахароза, 1% і 0,5% розчин; крохмаль, 1% розчин; їдкий натр, 10% розчин; реактив Фелінга.

Об'єкт дослідження: джерело амілази слина, розбавлена у 5 разів, дріжджі.

Сутність методу

Ферментам притаманна специфічність дії, оскільки вони здатні каталізувати тільки певні хімічні реакції.

Ферменти специфічні відносно як типу реакцій, що каналізують, так і субстратів, на які вони діють деяким ферментам притаманна абсолютна специфічність, що виявляється з дії тільки на один будь-який субстрат. Висока специфічність ферментів визначається тим, що тільки деякі строго визначені групи, що входять до складу ферментів, можуть брати участь в утворенні фермент-субстратних комплексів.

Амілаза слини прискорює гідроліз дисахариду мальтози, що утворюється при гідролізі крохмалю, але зовсім не впливає на інший дисахарид – сахарозу. Сахароза не має вільної альдегідної групи, тому не дає реакції з реактивом Фелінга. Реакція може бути позитивною тільки в тому разі, якщо сахароза розщепиться на свої складові – глюкозу і фруктозу.

Техніка виконання роботи

У 2 пробірки приливають 5 крапель слини, розведеної у 5 разів. У першу пробірку додають 10 крапель 1% розчину крохмалю, у другу – 10 крапель 1% розчину сахарози. Обидві пробірки ставлять на 10 хвилин у термостат або водяну баню при температурі 38° С, після чого проводять реакцію Фелінга, тобто в обидві пробірки одають рівний об'єм реактиву Фелінга і нагрівають до кипіння.

Позитивна реакція Фелінга має місце в пробірці, де зустрічається субстрат та відповідний фермент, результатом дії якого є гідроліз, наприклад, крохмалю та амілази слини. При цій реакції утворюється мальтоза, а потім глюкоза, яка має вільну альдегідну групу, що забезпечує появу червоного осаду закису міді.

Підведення підсумків

Зробити висновок про специфічність дії амілази, з огляду на те, в якій з пробірок пройшла реакція з реактивом Фелінга і що цим пояснюється. Заповнити таблицю 11.

Таблиця 11. Результати визначення специфічної дії ферментів

№ пробірки	Кількість , краплі			Температура в термостаті, °С	Кількість реактиву Фелінга, краплі	Температура в термостаті, °С
	слина	1% розчин крохмалю	1% розчин сахарози			
І пробірка						
ІІ пробірка						

Висновки: _____

_____

_____

_____

Специфічність амілази можна провести іншими методами (проба Троммера)

Техніка виконання роботи

У 2 пробірки вносять по 1 $см^3$ слини, розведеної у 5 разів. У першу пробірку додають 5 $см^3$ 0,2% розчину крохмалю, у другу – 5 $см^3$ 0,5% розчину сахарози. Обидві пробірки ставлять на 20 хвилин у термостат при температурі 37° С, після чого проводять в них по 1 $см^3$ 10% розчину гідроокису натрію і по 0,5 $см^3$ 5% розчину купруму (ІІ) сульфату і доводять до кипіння. В пробірці з крохмалем під дією амілази утворюється мальтоза, яка здатна відновлювати купрум (І) оксиду до закису (червоний колір), позитивна проба Троммера. На сахарозу амілаза не діє, купрум (І) оксиду не відновлюється.

Підведення підсумків

Зробити висновок про специфічність дії амілази, з огляду на те, в якій з пробірок пройшла реакція з купрум (ІІ) сульфату. Заповнити таблицю 12.

Таблиця 12. Результати визначення специфічної дії ферментів

№ пробірки	Кількість, $см^3$			Температура в термостаті, °С	Кількість 10% їдкого натрію	Кількість 5% купрум (ІІ) сульфату
	слина	0,2% розчин крохмалю	0,5% розчин сахарози			
І пробірка						
ІІ пробірка						

Висновки: _____

_____

_____

_____

Біохімічні вправи

а) Дати характеристику окремих представників ферментів: трансфераз, ліаз, лігаз _____
_____
_____;

б) Навести механізм дії ферментів. _____
_____
_____;

в) До якого класу ферментів належать тирозиназа, глюкокіназа. Їх значення.

_____
_____
_____;

Лабораторна робота 7

Тема: **Якісне визначення водорозчинних вітамінів**.

Мета: Набуття практичних навичок та вмінь при проведенні якісних реакцій на виявлення водорозчинних вітамінів.

Після проведення роботи студент повинен:

- ***знати:*** порядок і методи проведення реакцій на виявлення вітамінів;
- ***вміти:*** проводити реакції на якісне виявлення вітамінів.

Контрольні питання

1. Дайте визначення вітамінів та їх класифікацію.
2. Охарактеризуйте водорозчинні вітаміни.
3. Яка фізіологічна роль вітамінів.
4. Які основні вітаміни містяться у борошні? Який їх вміст залежно від виду і сорту борошна?
5. Біологічна роль вітамінів (B_2, B_6, C, PP).

Місце проведення: лабораторія біохімії.

Хід роботи:

1. Інструктаж з охорони праці.
2. Інструктаж по виконанню роботи.
3. Виконання студентами дослідів та обробка результатів.
4. Підведення підсумків заняття.
5. Оформлення звітів.
6. Захист звітів.
7. Прибирання робочих місць.

Якісні реакції на водорозчинні вітаміни

Забезпечення роботи:

Якісна реакція на вітамін С

Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, крапельниці, піпетки, колби мірні, вогнестійкі, 3% розчин перекису водню, розчин, 10% розчин Лориної кислоти, 2,6 дихлорфеноліндофенолят натрію (фарба Тільманса).

Харчові зразки: сік картоплі, сік моркви або капусти.

Сутність методу

Аскорбінова кислота (вітамін С) широко розповсюджена в рослинних продуктах. Особливо багаті на вміст цього вітаміну свіжі овочі і ягоди, цитрусові, чорна смородина, гілки хвої, болгарський перець та ін.

Відсутність вітаміну С призводить до тяжкого захворювання – цинги або скорбуту.

Виявлення аскорбінової кислоти відбувається за допомогою 2,6 дихлорфеноліндофенолята натрію синього кольору (фарба Тільманса). Це сполука є слабким окислювачем, який швидко реагує з сильними відновлювачами, до яких відносять вітамін С. В кислому середовищі фарба стає червоною, а при відновленні – втрачає забарвлення (додаток 3).

Техніка виконання роботи

Виявляють вітамін С в соках, які вироблено з картоплі, моркви або капусти. Для одержання соку матеріал, який досліджують, пропускають через тертушку і одержану масу віджимають через марлю. Потім сік повторно фільтрують крізь марлю. В дві пробірки наливають по 2 $см^3$ розчину, який досліджують. До однієї з них додають кілька крапель 3%-го розчину перекису водню, вміст пробірки нагрівають. За цих умов вітамін С руйнується.

Далі в обидві пробірки додають по 2 краплі 10% розчину хлоридної кислоти та по одній краплі натрієвої солі 2,6 дихлорфеноліндофенолята натрію. У кислому середовищі барвник набуває рожевого кольору, але в присутності аскорбінової кислоти розчин знебарвлюється внаслідок відновлення барвника. У тій пробірці, де вітамін був зруйнований, рожеве забарвлення зберігається.

Підведення підсумків

Зробити висновок про наявність вітаміну С в дослідженому розчині, судячи за знебарвленням фарби Тільманса під дією вітаміну і заповнити таблицю 13.

Таблиця 13. Результати визначення аскорбінової кислоти

Харчові зразки	Кількість			
	сік, $см^3$	перекис водню, крап	10% розчин хлоридної кислоти, крап	фарба Тільманса, крап
Сік картоплі				
Сік капусти				
Сік моркви				

Висновок: _____
_____
_____
_____

Якісна реакція на вітамін B_2

Забезпечення роботи

Прилади і реактиви:

Штатив із пробірками, крапельниці, піпетки, колби мірні, вогнестійкі, 10% розчин хлоридної кислоти, 0,025% розчин вітаміну B_2, цинк металічний.

Об'єкт дослідження: рибофлавін (вітамін B_2).

Рибофлавін або вітамін B_2, є складовою частиною флавінових ферментів, які каналізують окислювально-відновні процеси. Рибофлавін міститься в продуктах рослинного та тваринного походження (печінка, нирки, яйця, зерно пшениці, морква, дріжджі). При недостатній кількості цього вітаміну в організмі тварин спостерігається зниження ваги, порушення апетиту, запалення слизової оболонки та інші патологічні зміни.

Виявлення рибофлавіну зумовлено відновленням рибофлавіну цинком при наявності хлоридної кислоти в проміжну сполуку червоного кольору, а потім у безбарвний лейкофлавін.

Техніка виконання роботи

У пробірку з 1 $см^3$ розчину вітаміну B_2 додають концентровану хлоридну кислоту, 1 кристал металічного цинку. Виділяються бульбашки водню, рідина поступово стає рожевою, потім знебарвлюється.

Підведення підсумків

По утворенні забарвлення розчину роблять висновок про наявність в пробірці вітаміну B_2 і заповнюють таблицю 15.

Таблиця 15. Результати визначення вітаміну B_2 – рибофлавіну.

Назва об'єкту	Кількість, краплі		Колір
	вітамін B_2	хлоридна кислота, Zn	
Рибофлавін			

Висновок: _____

_____

_____

Якісна реакція на вітамін B_6

Забезпечення роботи

Прилади і реактиви:

Штатив із пробірками, 5% розчин ферум (III) хлориду.

Об'єкт дослідження: 5% водного розчину піридоксину (вітамін B_6).

Сутність методу

Наявність вітаміну B_6 можливо виявити по утворенню комплексної сполуки червоного кольору з залізом (III).

Техніка виконання роботи

У пробірку наливають 5 крапель 5% водного розчину піридоксину і 1 краплю 5% розчину ферум (III) хлориду. Перемішують і спостерігають появу червоного забарвлення.

Підведення підсумків

По утворенні забарвлення розчину роблять висновок про наявність в пробірці вітаміну B_2 і заповнюють таблицю 16.

Таблиця 16. Результати визначення вітаміну B_6 - піридоксину

Назва об'єкту	Кількість, краплі	
	вітамін B_6	ферум (III) хлорид
Піридоксин		

Висновок: _____

_____

_____

_____

Якісна реакція на нікатинову кислоту (вітамін РР)

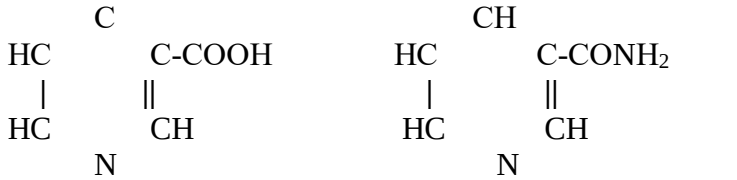
Забезпечення роботи

Прилади і реактиви:

Штатив із пробірками, крапельниці, піпетки, 0,1% розчин нікотинової кислоти, 10% розчин натрій гідрокарбонату, 5% розчин натрій дитіоніту.

Об'єкт дослідження: нікотинова кислота (вітамін РР).

В організмі нікотинова кислота, або вітамін РР, перебуває у вигляді аміду:



Нікотинова кислота Амід нікотинової кислоти

Відсутність або нестача нікотинової кислоти в їжі викликає захворювання на пелагру (ураження нервової системи, шлунково-кишкового тракту і шкіри). Амід нікотинової кислоти є складовою частиною кодегідраз, тобто входить до складу небілкового компоненту ферментів, які забезпечують окислення білків, вуглеводів та жирів за рахунок відняття атомів водню. Людина одержує нікотинову кислоту з хлібом, крупами, м'ясом та іншими продуктами рослинного і тваринного походження.

Виявлення нікотинової кислоти ґрунтується на появі кольорового забарвлення при відновленні нікотинової кислоти дитіонітом натрію

Техніка виконання роботи

У пробірку з 1 см3 розчину нікотинової кислоти добавляють 1,5 $см^3$ розчину натрій гідрокарбонату, перемішують і доливають 1,5 $см^3$ свіжоприготованого розчину натрій дитіоніту. Рідина забарвлюється в жовтий колір.

Підведення підсумків

По утворенні жовтого забарвлення роблять висновок про наявність в пробірці вітаміну РР і заповнюють таблицю 17.

Таблиця 17. Результати визначення вітаміну РР – нікотинової кислоти

Назва об'єкту	Кількість			Колір
	$см^3$	натрій гідрокарбонат	натрій дитіоніт	
Нікотинова кислота	1,5			

Висновок: _____

_____

_____

Лабораторна робота 8

Тема: **Якісне визначення жиророзчинних вітамінів**.

Мета: Набуття практичних навичок та вмінь при проведенні якісних реакцій на виявлення жиророзчинних вітамінів.

Після проведення роботи студент повинен:

- ***знати:*** порядок і методи проведення реакцій на виявлення вітамінів;
- ***вміти:*** проводити реакції на якісне виявлення вітамінів.

Контрольні питання

1. Джерело вітамінів для людини.
2. Біологічне значення вітамінів А, Д, Е.
3. Які сполуки називають вітамінами?
4. Дайте визначення поняттям: гіповітаміноз, авітаміноз, гіпервітаміноз.
5. Які продукти рослинного походження містять каротин?

Місце проведення: лабораторія біохімії.

Хід роботи:

1. Інструктаж з охорони праці.
2. Інструктаж по виконанню роботи.
3. Виконання студентами дослідів та обробка результатів.
4. Підведення підсумків заняття.
5. Оформлення звітів.
6. Захист звітів.
7. Прибирання робочих місць.

Якісна реакція на вітамін А

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, піпетки або крапельниці, хлороформ, концентрована сульфатна кислота.

Об'єкт дослідження: ретинол (вітамін А).

Сутність методу

Вітамін А утворюється в організмі тварин і людей при ферментативному гідролізі провітамінів – α, β і γ – каротинів, рослинних пігментів. Вітамін А може потрапляти в організм людини з риб'ячим жиром, вершковим маслом.

При нестачі вітаміну А спостерігається зупинка чи затримка росту, втрата ваги, знижується стійкість організму проти інфекцій.

Вітамін А виявляють по утворенню червоно-бурого забарвлення в присутності хлороформу в кислому середовищі

Техніка виконання роботи

У пробірку наливають 2 краплі вітаміну А (риб'ячого жиру) і 5 краплин хлороформу. Перемішують і додають 2 краплі концентрованої сульфатної кислоти. Спостерігають появу забарвлення.

Підведення підсумків

По утворенню червоно-бурого забарвлення зробити висновок про наявність у пробірці вітаміну А і заповнити таблицю 18.

Таблиця 18. Результати визначення вітаміну А - ретинолу

Назва об'єкту	Кількість		
	вітамін А	хлороформ	концентрована сульфатна кислота
Ретинол			

Висновок: _____
_____
_____
_____

Якісна реакція на вітамін Е

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Штатив із пробірками, крапельниці, концентрована хлоридна кислота.

Об'єкт дослідження: 1% спиртовий розчин токоферолу (вітамін Е).

Сутність методу

Вітамін Е (токоферол) виявляють по утворенню червоного кільця на межі розподілу емульсії в кислому середовищі.

Відсутність вітаміну Е викликає порушення фізіологічних функцій. Джерелом вітаміну є салат, зародки пшениці, різна олія, м'ясо, яйця.

Техніка виконання роботи

У пробірку наливають 5 краплин розчину вітамін Е, додають 10 краплин хлоридної кислоти і енергійно струшують. Спостерігають появу забарвлення, що свідчить про наявність вітаміну Е.

Підведення підсумків

По утворенню забарвлення зробити висновок про наявність у пробірці вітаміну Е і заповнити таблицю 19.

Таблиця 19. Результати визначення вітаміну Е - токоферолу

Назва об'єкту	Кількість, краплі	
	вітамін Е	HNO_3
Токоферол		

Висновок: _____
_____
_____
_____

Якісна реакція на вітамін D

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Штатив з пробірками, крапельниці, хлороформ, аніліновий реактив.

Об'єкт дослідження: кальциферол (вітамін D) або риб'ячий жир.

Сутність методу

В основу методу полягає взаємодія кальциферолу з гідрохлоридом аніліну з утворенням темнозабарвлених сполук червоного кольору. Нестача вітаміну D призводить до захворювання – рахіту. Джерелом вітаміну D є печінка, жовтки яєць, вершкове масло, риб'ячий жир.

Техніка виконання роботи

У пробірку наливають 1-2 краплі розчину вітаміну D і додають 5 крапель хлороформу і перемішують. Потім додають 1 краплю анілінового реактиву. Нагрівають пробірки і спостерігають появу жовтого, а згодом червоного забарвлення, що свідчить про наявність вітаміну D.

Підведення підсумків

По утворенню забарвлення зробити висновок про наявність у пробірці вітаміну D і заповнити таблицю 20.

Таблиця 20. Результати визначення вітаміну D – кальциферолу

Назва об’єкту	Кількість		
	вітамін D	хлороформ	аніліновий реактив
Кальциферол			

Висновок: _____
_____
_____
_____

Лабораторна робота 9

Тема: **Визначення загальної кислотності харчових продуктів**.

Мета: Набуття практичних навичок та вмінь при проведенні титрування соку.

Після проведення роботи студент повинен:

- ***знати:*** що таке титруєма кислотність;
- ***вміти:*** визначати титруєму кислотність.

Контрольні питання

1. Як утворюється лимонна кислота у нижчих рослин?
2. Чому змінюється вміст органічних кислот у вищих рослин протягом доби?
3. Як залежить вміст органічних кислот у вищих рослин від температури, газообміну?
4. Який хімізм утворення органічних кислот у рослинному організмі?
5. Яку роль відіграють органічні кислоти у різних галузях харчової промисловості?

Місце проведення: лабораторія біохімії.

Хід роботи:

1. Інструктаж з охорони праці.
2. Інструктаж по виконанню роботи.
3. Виконання студентами дослідів та обробка результатів.
4. Підведення підсумків заняття.
5. Оформлення звітів.
6. Захист звітів.
7. Прибирання робочих місць.

Визначення титруємої кислотності виноградного соку

Забезпечення роботи:

Прилади і реактиви:

Конічна колба на 300 $см^3$, бюретка, піпетка на 10 $см^3$, електроплитка, дистильована вода, індикатор – бром-тимоловий синій, 0,1 н розчин лугу.

Сутність методу

По зміні забарвлення бромтимолового синього визначають кислотність соку.

Техніка виконання роботи

У конічну колбу відмірюють 10 $см^3$ соку і доливають 10 $см^3$ дистильованої води, додають 1-3 краплі бромтимолового синього, нагрівають до кипіння. Зараз же титрують 0,1 н розчином лугу до появи жовтого або синьозеленого кольору в білих соках або темно-червоного і синьо-зеленого в червоних соках.

Розрахунок:

Титруєма кислотність розраховується за формулою:

$$x = 0,75 \cdot a \cdot Кн.$$

x – вміст винної кислоти

0,75 – коефіцієнт перерахунку на винну кислоту

0,67 – коефіцієнт перерахунку на яблучну кислоту

а – кількість лугу, яке пішло на титрування

Кн – коефіцієнт поправки 0,1 н розчину лугу.

Підведення підсумків

По утворенню забарвлення зробити висновок про наявність у пробі винної або яблучної кислоти.

Висновок: _____

_____

_____

_____

Біохімічні вправи

а) описати хімізм перетворення піровиноградної кислоти в щавлевооцтову, яблучну, фумарову, бурштинову;

_____

_____

б) описати хімізм реакції утворення:

фумарової кислоти із оцтової кислоти;

оцтової кислоти із етилового спирту.

Додаток 1

Температурні поправки для рефрактометра

Температура, °С (при відліку)	Вміст сухих розчинних речовин, %		
	до 10	від 11 до 20	від 21 до 30
	Відняти від визначеного вмісту сухих речовин, %		
10	0,6	0,6	0,7
11	0,5	0,6	0,6
12	0,5	0,5	0,5
13	0,4	0,5	0,5
14	0,4	0,4	0,4
15	0,3	0,3	0,3
16	0.2	0.3	0.3
17	0,2	0,2	0,2
18	0,1	0,1	0,1
19	0,1	0,1	0,1
21	0,1	0,1	0,1
22	0,1	0,1	0,2
23	0,2	0,2	0,2
24	0,3	0,3	0,3
25	0,4	0,4	0,4
26	0,4	0,4	0,5
27	0,5	0,5	0,6
28	0,6	0,6	0,6
29	0,7	0,7	0,7
30	0,7	0,7	0,8

Додаток 2

Коефіцієнти для переходу від показників рефрактометра до оцінки якості плодів і ягід знімальної стиглості

Культура	Для сухих речовин м’якоті	Для суми цукрів
Вишні (без кісточок)	1,01	0,62
Суниці	1,15	0,68
Аґрус	1,18	0,72
Милина	1,48	0,58
Смородина чорна	1,30	0,56
Яблука (без насінневого гнізда)	1,14	0,80

Додаток 3

Вміст вітамінів у продуктах тваринного походження, *мг%*

Продукт	B_2	PP	B_6	C	A	D (влітку)	E
Молоко коров'яче	0,10	0,08	0,09	2,0	0,03	0,005	0,4
Сир	0,45	0,1	-	-	0,45	-	-
М'ясо і птиця	0,19	3,4	0,65	25	15	-,001	25
Печінка	1,8	1,54	0,65	-	2,2	-	-
Нирки	1,8	8,6	0,35	-	-	-	-
Серце бичаче	-	8,1	-	-	-	-	9
Сосиски свинячі	-	-	-	-	8,2	0,009	-
Яйця	-	-	0,02	-	-	-	-
Жовток яєчний	0,04	-	6,02	-	-	-	-
Білок яєчний	0,08	-	0,014	-	-	-	-
Тріска	0,05	2,3	1,0	-	-	-	-

Додаток 4

Визначення сахарози за Бертраном, *мг*

Мідь	Сахароза	Мідь	Сахароза	Мідь	Сахароза	Мідь	Сахароза
80,8	39,9	112,8	56,0	144,7	72,2	176,7	88,6
81,7	40,4	113,7	56,4	145,6	72,7	177,6	89,1
82,6	40,9	114,5	56,9	146,5	73,0	178,5	89,5
83,5	41,3	115,4	57,3	147,4	73,5	179,4	90,0
84,4	41,7	116,3	57,8	148,3	74,0	180,3	90,4
85,2	42,2	117,7	58,2	149,2	74,5	181,2	90,7
86,1	42,6	118,1	58,7	150,1	74,9	182,0	91,4
87,0	43,0	119,0	59,2	151,0	75,4	182,9	91,8
87,9	43,5	119,9	59,6	151,8	75,9	183,8	92,2
88,8	44,0	120,8	60,0	152,7	76,4	184,7	92,7
89,7	44,4	121,6	60,5	153,6	76,9	185,6	93,2
90,6	44,8	122,5	60,9	154,5	77,3	186,5	93,7
91,5	45,2	123,4	61,4	155,4	77,8	187,4	94,1
92,3	45,5	124,3	61,8	156,3	78,3	188,3	94,6
93,2	46,1	125,2	62,3	157,2	78,7	189,1	95,1
94,1	46,5	126,1	62,7	158,1	79,1	190,0	95,6
95,0	47,0	127,0	63,2	159,0	79,7	190,9	96,0
95,9	47,4	127,9	63,6	159,8	80,1	191,8	96,5
96,8	47,9	128,8	64,1	160,7	80,5	192,7	97,0
97,7	48,3	129,6	64,5	161,6	80,9	193,6	97,5
98,6	48,8	130,5	65,0	162,5	81,4	194,5	97,9
99,4	49,2	131,4	65,5	163,4	81,9	195,4	98,4
100,3	49,7	132,3	65,8	164,3	82,3	196,2	98,9
101,2	50,2	133,2	66,3	165,2	82,7	197,1	99,4
102,1	50,5	134,1	66,8	166,1	83,2	198,0	99,8
103,0	51,0	135,0	67,3	166,9	83,7	198,9	100,3
103,9	51,5	135,9	67,6	167,8	84,1	199,8	100,8
104,8	52,0	136,8	68,1	168,7	84,5	200,7	101,3
105,7	52,4	137,6	68,6	169,7	85,0	201,6	101,7
106,6	52,9	138,5	69,1	170,5	85,5	202,5	102,2
107,4	53,3	139,4	69,5	171,4	85,9	203,4	102,7
108,3	53,7	140,3	69,9	172,3	86,3	204,2	103,2
109,2	54,1	141,2	70,4	173,2	86,8	205,1	103,6
110,1	54,6	142,1	70,9	174,0	87,3	206,0	104,1
111,0	55,1	143,0	71,3	174,9	87,7	206,9	104,6
111,9	55,6	143,9	71,7	175,8	88,3	207,8	105,1

ЛІТЕРАТУРА

1. Боєчко Ф.Ф., Боєчко Л.О. Основні біохімічні поняття, визначення і терміни. – К. – Вища ШК. – 1993.
2. Дуденко М.В. та ін. Біологічна хімія: навчальний посібник. – Х. – Прапор. – 1999.
3. Вороніна Л.М., Денисенко В.Ф., Мадієвська Н.М. та ін. Біологічна хімія. – Х. – Основа. – 2000.
4. Дуденко Н.В., Павлодська Л.Ф., Артеменко В.С., Герус Л.Д. Практикум з біологічної хімії. – Х. – 2004.
5. Ємельяненко С.Н. Хімія і біологічна хімія. – К. – Вища ШК. – 1988.
6. Кучеренко М.Є., Виноградов Р.П. Біохімія / Підручник для вузів. – К. – Либідь. – 1995.
7. Храмкина М.Н. Практикум по органическому синтезу. Изд. 3-е, испр. – Л. – Химия. – 1974.
8. Яковлева М.Н., Осташкова В.В. Методические указания к лабораторным занятиям по биологической химии. Биохимия белков. Петрозаводский государственный университет. – 1999.
9. Остапець М.Г., Романська Н.М. Практикум з біохімії. – К. – 1974.