

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І. І. МЕЧНИКОВА
БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА МОЛЕКУЛЯРНОЇ БІОЛОГІЇ, БІОХІМІЇ ТА ГЕНЕТИКИ



БІОХІМІЯ

Частина 2. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ, ВІТАМІНІВ, ГОРМОНІВ

ЕЛЕКТРОННІ МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до лабораторних робіт
для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти
біологічного факультету
зі спеціальності Біотехнології та біоінженерія

Одеса
ОНУ імені І. І. Мечникова
2026

**УДК 577.1
Б638**

Укладачі:

С. С. Чернадчук, кандидат біологічних наук, доцент кафедри молекулярної біології, біохімії та генетики;

О. К. Будняк, кандидат біологічних наук, доцент кафедри молекулярної біології, біохімії та генетики;

А. В. Сорокін, кандидат біологічних наук, доцент кафедри молекулярної біології, біохімії та генетики.

Рецензенти:

І. Л. Рижко, кандидат біологічних наук, доцент кафедри фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти ОНУ імені І. І. Мечникова;

К. Й. Черничко, кандидат біологічних наук, доцент кафедри зоології, гідробіології та загальної екології ОНУ імені І. І. Мечникова.

*Рекомендовано вченою радою біологічного факультету
ОНУ імені І. І. Мечникова.
Протокол № 9 від 28 травня 2026 р.*

Б638 **Біохімія** [Електронний ресурс] : електрон. метод. вказівки до лаб. робіт для здобувачів першого (бакалавр.) рівня вищ. освіти біол. ф-ту зі спец. Біотехнології та біоінженерія / уклад.: С. С. Чернадчук, О. К. Будняк, А. В. Сорокін. Одеса : ОНУ імені І. І. Мечникова, 2026. Ч. 2 : Фізико-хімічні властивості ферментів, вітамінів, гормонів. 62 с. 1,7 МБ.

Методичні вказівки до лабораторних робіт підготовлені відповідно до робочої програми дисципліни «Біохімія». Методичні вказівки призначені здобувачам першого (бакалаврського) рівня вищої освіти очної форми навчання, які навчаються за спеціальністю Біотехнології та біоінженерія.

УДК 577.1

ЗМІСТ

Розділ IV. ФЕРМЕНТИ ЯК БІОЛОГІЧНІ КАТАЛІЗАТОРИ	4
<i>Лабораторна робота № 7</i>	
ВИВЧЕННЯ ТЕРМОЛАБІЛЬНОСТІ ФЕРМЕНТІВ	12
<i>Лабораторна робота № 8</i>	
ВПЛИВ pH НА АКТИВНІСТЬ АМІЛАЗИ	14
<i>Лабораторна робота № 9</i>	
СПЕЦИФІЧНІСТЬ ДІЇ ФЕРМЕНТІВ	16
<i>Лабораторна робота № 10</i>	
ВПЛИВ АКТИВАТОРІВ І ІНГІБІТОРІВ НА АКТИВНІСТЬ АМІЛАЗИ	18
<i>Лабораторна робота № 11</i>	
КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АМІЛАЗИ СЛИНИ ЗА ВОЛЬГЕМУТОМ	20
<i>Лабораторна робота № 12</i>	
КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ В КРОВІ МЕТОДОМ БАХА-ЗУБКОВОЇ	22
Розділ V. ВІТАМІНИ	26
<i>Лабораторна робота № 13</i>	
КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНУ С ЗА МЕТОДОМ ТІЛЬМАНСА	29
<i>Лабораторна робота № 14</i>	
КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНУ Р ЗА МЕТОДОМ ЛЕВЕНТАЛЯ	31
<i>Лабораторна робота № 15</i>	
ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНУ Е	33
Розділ VI. ГОМОНИ	37
<i>Лабораторна робота № 16</i>	
КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АДРЕНАЛІНУ ЗА МЕТОДОМ ФОЛІНА	43
ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ	46
Список використаної літератури	61

РОЗДІЛ IV. ФЕРМЕНТИ ЯК БІОЛОГІЧНІ КАТАЛІЗАТОРИ

Мета: сформувати у здобувачів освіти цілісне уявлення про ферменти як високоспецифічні біологічні каталізатори, що забезпечують перебіг і регуляцію біохімічних реакцій у організмах; розкрити їхню хімічну природу, механізми дії, класифікацію та основні фактори, що впливають на ферментативну активність, а також показати роль ферментів у метаболізмі клітини, фізіологічних процесах і практичному застосуванні.

Питання для підготовки та обговорення:

1. Поняття про ферменти. Відмінності між біологічними та неорганічними каталізаторами.
2. Хімічна природа ферментів. Білкові та небілкові ферменти (рибозими).
3. Структурна організація ферментів: первинна, вторинна, третинна та четвертинна структура.
4. Активний центр ферменту: будова та функції.
5. Субстратна специфічність ферментів. Теорії взаємодії фермент-субстрат («ключ-замок», «індукована відповідність»).
6. Механізм дії ферментів та етапи ферментативної реакції.
7. Класифікація ферментів за міжнародною номенклатурою (класи ферментів).
8. Роль коферментів і кофакторів у ферментативному каталізі.
9. Фактори, що впливають на активність ферментів: температура, рН, концентрація субстрату та ферменту.
10. Інгібування ферментів: види інгібіторів та їх біологічне значення.
11. Регуляція активності ферментів у клітині.
12. Значення ферментів у метаболізмі організмів.
13. Практичне застосування ферментів у медицині, біотехнології та лабораторній діагностиці.

Ферменти – специфічні білки, які відіграють роль біологічних каталізаторів.

Ферменти як білки мають всі властивості білків:

- 1) є амфотерними сполуками;
- 2) вступають в ті ж якісні реакції, що й білки (біуретову, ксантопротеїнову, Фоліна та ін.);
- 3) подібно білкам розчиняються у воді з утворенням колоїдних розчинів;
- 4) володіють електрофоретичною активністю;
- 5) гідролізуються до амінокислот;
- 6) схильні до денатурації під впливом фізичних та хімічних факторів:

- 7) температури, зміни рН, солей важких металів, ультразвуку, іонізуючого випромінювання та ін.);
- 8) мають декілька рівнів організації макромолекул, що підтверджено даними рентгеноструктурного аналізу, ЯМР, ЕПР.

Основний напрям дії ферментів – збільшення швидкості хімічної реакції, знижуючи енергетичний бар'єр даної реакції. Ферменти мають специфічні властивості:

1. Залежність активності від величини рН;
2. Специфічність дії;
3. Термолабільність і температурний оптимум дії;
4. Залежність активності ферментів від дії різних речовин – активаторів і інгібіторів.

Біологічна роль ферментів полягає в тому, що вони каталізують контрольоване протікання всіх метаболічних процесів в організмі.

Ферменти по локалізації (компартменталізації) ділять на 3 групи:

- загальні ферменти (універсальні),
- органоспецифічні,
- органелоспецифічні.

Загальні ферменти виявляються практично у всіх клітинах, забезпечують життєдіяльність клітини, каталізують реакції біосинтезу білка і нуклеїнових кислот, утворення биомембран і основних клітинних органел, енергообмін. Загальні ферменти різних тканин і органів, проте, відрізняються за активністю.

Органоспецифічні ферменти властиві тільки певному органу або тканині. Наприклад: для печінки – аргіназа, для нирок і кісткової тканини – лужна фосфатаза, для передміхурової залози – кисла фосфатаза, для підшлункової залози – α -амілаза, ліпаза та інші.

Усередині клітин ферменти також розподілені нерівномірно. Одні ферменти знаходяться в колоїдно-розчиненому стані в цитозолі, інші вмонтовані в клітинних органелах (структурований стан).

Органелоспецифічні ферменти. Різним органелам притаманний специфічний набір ферментів, який визначає їх функції.

Органелоспецифічні ферменти – це маркери внутрішньоклітинних утворень, органел:

1. Клітинна мембрана: ЛФ (лужна фосфатаза), АЦ (аденілатциклаза), $K-Na^+$ -АТФ-ази.
2. Цитоплазма: ферменти гліколізу, пентозного циклу.
3. ЕПР: ферменти забезпечують гідроксилювання (мікросомальне окислення).
4. Рибосоми: ферменти забезпечують синтез білка.

5. Лізосоми: містять гідролітичні ферменти – протеази (кисла фосфатаза).
6. Мітохондрії: ферменти окислювального фосфорилування, ЦТК (цитохромоксидаза, сукцинатдегідрогеназа), β -окислення жирних кислот.
7. Ядро клітини: ферменти забезпечують синтез РНК, ДНК (ДНК-залежна-РНК-полімераза, ДНК-залежна-ДНК-полімераза, НАД-синтетаза).

В результаті в клітині утворюються компартменти, які відрізняються набором ферментів і метаболізмом.

НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТІВ

1. Тривіальна назва – назва, що склалася історично. Наприклад, пепсин, трипсин. Для деяких ферментів до назви субстрату додається закінчення «аза» – уреаза, амілаза, ліпаза.

2. Систематична назва – відповідно до сучасної класифікації. Як похідне систематичної назви у багатьох ферментів є одне або декілька робочих назв.

Відповідно до рекомендацій Міжнародного біохімічного союзу (1961 р.) усі ферменти розподілені на 6 класів:

І КЛАС – ОКСИДОРЕДУКТАЗИ

Ферменти каталізують окислювально-відновні реакції, що лежать в основі біологічного окислення. Клас налічує 22 підкласи. Коферментами цього класу є НАД, НАДФ, ФАД, ФМН, убіхінон, глутатіон, ліпоєва кислота.

Прикладом підкласів можуть служити ферменти, що діють на СН-ОН-групу донорів, на СН-СН-групу донорів, на СН-NH₂-групу донорів, на гем-вмісні донори.

Найбільш поширені такі робочі назви оксидоредуктаз:

1. Дегідрогенази – оксидоредуктази, що каталізують дегідрування субстрату з використанням в якості акцептора водню будь-яких молекул, крім кисню.

2. Якщо перенесення водню від молекули донора важко довести, то такі оксидоредуктази називають редуктази.

3. Оксидази – оксидоредуктази, що каталізують окислення субстратів з молекулярним киснем в якості акцептора електронів без включення кисню в молекулу субстрату.

4. Монооксигенази – оксидоредуктази, що каталізують впровадження одного атома кисню в молекулу субстрату з молекулярним киснем в якості донора кисню.

5. Діоксигенази – оксидоредуктази, що каталізують впровадження двох атомів кисню в молекулу субстрату з молекулярним киснем в якості донора кисню.

6. Пероксидази – оксидоредуктази, що каталізують реакції з пероксидом водню в якості акцептора електронів.

Наприклад систематична назва ферментів утворюється:

Донор електронів : акцептор електронів – оксидоредуктаза.

	Характеристика ферменту
Систематична назва	Алкоголь:НАД-оксидоредуктаза
Робоча назва	Алкогольдегідрогеназа
Клас	1. Оксидоредуктази
Підклас	1.1. Діючі на СН-ОН-групу донорів
Підпідклас	1.1.1. з НАД ⁺ або НАДФ ⁺ в якості акцептора
Класифікаційний номер	КФ 1.1.1.1.
Кофактори	Нікотинамідаденіндинуклеотид. Залізо або цинк.

II КЛАС – ТРАНСФЕРАЗИ

Каталізують реакції перенесення різних груп (аміногруп, залишків фосфорної кислоти, метильних груп і т. д.) від одного субстрату (донор) до іншого (акцептор), беруть участь в реакціях взаємоперетворення різних речовин, знешкодження природних і чужорідних сполук. Коферментами є піридоксальфосфат, коензим А, тетрагідрофолієва кислота, метилкобаламін.

Клас розподіляється на 9 підкласів залежно від будови груп, які вони переносять. Прикладом підкласів є ферменти, які переносять одновуглецевий фрагмент, альдегідні або кето-залишки, ацильні залишки, азотвмісні групи, фосфатні групи.

	Характеристика фермента
Систематична назва	АТФ:D-гексоза-6-фосфотрансфераза
Робоча назва	Гексокіназа
Клас	2. Трансферази
Підклас	2.7. Переносять фосфорвмісні групи
Підпідклас	2.7.1. Зі спиртовою групою в якості акцептора
Класифікаційний номер	КФ 2.7.1.1.
Кофактор	Магній

III КЛАС – ГІДРОЛАЗИ

Гідролази – каталізують реакції гідролітичного розпаду складних сполук на більш прості. До цього класу відносяться численні ферменти, що діють на складноефірні зв'язки (естерази, ліпази), глікозильні сполуки (глікозидази), пептидні зв'язки (пептидази або пептидилгідролази), кислотноангідридні зв'язки (поліфосфатази) і ін. Гідролази – ферменти, які здійснюють розрив внутрішньомолекулярних зв'язків в субстраті (за винятком С – С зв'язків) шляхом приєднання елементів Н₂О. Налічується 13 підкласів. Зважаючи на складність багатьох субстратів, у ряду ферментів збережені тривіальні назви, наприклад, пепсин, трипсин. Коферменти відсутні. Гідролази представлені

ферментами шлунково-кишкового тракту (пепсин, трипсин, ліпаза, амілаза та інші) і лізосомальними ферментами. Здійснюють розпад макромолекул, утворюючи мономери, що легко адсорбуються. Історично назви гідролаз склалися з назви субстрату з закінченням «аза» – колагеназа, амілаза, ліпаза, ДНК-аза. Найбільш часто зустрічаються такі робочі назви гідролаз:

1. Естерази – гідроліз складноефірних зв'язків.
2. Ліпази – гідроліз нейтральних жирів.
3. Фосфатази – гідроліз моноефірів фосфорної кислоти.
4. Глікозідази – гідролізують О- і S-глікозидні зв'язки.
5. Протеази, пептидази – гідроліз білків і пептидів.
6. Нуклеази – гідроліз нуклеїнових кислот.

	Характеристика ферменту
Систематична назва	Триацилгліцерол:ацилгідролаза
Робоча назва	ТАГ-ліпаза
Клас	3. Гідролази
Підклас	3.1. Діючі на складні ефіри
Підпідклас	3.1.1. Гідролази карбонових кислот
Класифікаційний номер	КФ 3.1.1.3.

IV КЛАС – ЛІАЗИ

Ліази – каталізують відщеплення від субстратів хімічних груп та розрив С-О, С-С, С-N та інших зв'язків, а також зворотні реакції з утворенням подвійного зв'язку негідролітичним шляхом.

Виділяють 7 підкласів. Ліази є складними ферментами. Коферментами служать піридоксальфосфат, тіаміндифосфат, бере участь магній, кобальт.

	Характеристика ферменту
Систематична назва	АТФ: фруктозо-6-фосфат-фосфотрансфераза
Робоча назва	Фосфофруктокіназа
Клас	2. Трансферази
Підклас	2.7. Переносять фосфорвміщуючі групи
Підпідклас	2.7.1. Із спиртовою групою в якості акцептора
Класифікаційний номер	КФ 2.7.1.11.

V КЛАС – ІЗОМЕРАЗИ

Ізомерази – ферменти, що каталізують різноманітні реакції ізомеризації: перетворення цис-форми в транс-форму, взаємоперетворення альдоз і кетоз, внутрішньо-молекулярний перенос груп (в останньому випадку ферменти називаються мутазами) і т. д. Ізомерази – складні ферменти. До їх коферментів відносяться піридоксальфосфат, дезоксіденозилкобаламін, глутатіон, фосфати моносахаридів (глюкозо-1,6-дифосфат) і ін.

Виділяють 6 підкласів ізомераз в залежності від типу реакції. Наприклад, в перший клас виділяють рацемази (зворотне перетворення L- і D-стереоізомерів)

і епімерази (перетворення D-, L-ізомерів, що мають більше одного центру асиметрії, наприклад, α -D-глюкозу в β -D-глюкозу), в інші підкласи – цис-транс-ізомерази, внутрішньо-молекулярні трансферази (мутази), далі внутрішньо-молекулярні оксидоредуктази.

Характеристика ферменту

Систематична назва	D-гліцеральдегід-3-фосфат-альдозо-кетозо-ізомераза
Робоча назва	Триозофосфат-ізомераза
Клас	5. Ізомерази
Підклас	5.3. Внутрішньо-молекулярні оксидоредуктази
Підпідклас	5.3.1. Каталізують взаємоперетворення альдоз і кетоз
Класифікаційний номер	КФ 5.3.1.1.

VI КЛАС – ЛІАЗИ

Ліази (синтетази) – ферменти, що каталізують реакції приєднання молекул одна до одної, спряження з використанням енергії високоенергетичних зв'язків, що пов'язане з розривом пірофосфорного зв'язку в молекулі АТФ (або аналогічних трифосфатів). До цього класу відносяться ферменти, що утворюють зв'язки між молекулами вуглецю і кисню, сірки, азоту або між молекулами вуглецю.

Ліази – складні ферменти. Вони містять нуклеотидні (УТФ), біотинові, фолієві коферменти. Виділяють 6 підкласів, які формують зв'язки:

- 6.1. вуглець-кисень;
- 6.2. вуглець-сірка;
- 6.3. вуглець-азот;
- 6.4. вуглець-вуглець;
- 6.5. фосфор-кисень;
- 6.6. азот-метал.

Систематична назва утворюється: Субстрат 1 : субстрат 2 – ліаза.

Характеристика ферменту

Систематична назва	Піруват:карбокси-ліаза (АДФ-утворююча)
Робоча назва	Піруваткарбоксилаза
Клас	6. Ліази
Підклас	6.4. Утворюючи зв'язки вуглець-вуглець
Підпідклас	6.4.1. Утворюючи зв'язки вуглець-вуглець
Класифікаційний номер	КФ 6.4.1.1.

Крім цієї класифікації існують і інші. За структурою ферменти класифікуються на два класи: однокомпонентні (протеїни), до яких відносяться більшість гідролаз, і двокомпонентні (протеїди, що складаються з білка апоферменту і коферментної групи), до яких відносяться дегідрогенази, трансферази і багато інших ферментів.

Одиниці ферментативної активності

Визначення активності ферментів має значення щодо контролю метаболічних процесів в організмі. Для точності результатів повинно дотримуватись стандартизації й оптимізації умов тестування. За оптимальних умов температури (25 °C), рН середовища й повному насиченні ферменту субстратом швидкість реакції, що каталізується, пропорційна концентрації ферменту.

Більшість біохімічних аналізів є кількісними, хоча якісний і напівкількісний аналізи також мають місце при біохімічних дослідженнях.

Багато тестів вимірюють кількість аналізованої речовини в невеликому обсязі зразків, таких, як кров, плазма, сироватка, сеча або інші рідини і тканини.

Результати тестів виражаються в молярних одиницях. Моль будь-якої речовини містить 6×10^{23} молекул. Молярний вираз концентрації характеризує, скільки молекул аналізованої речовини знаходиться в зразку.

Молярні одиниці можуть бути переведені в масові одиниці: один моль – це молекулярна маса речовини в грамах.

Результати біохімічних досліджень зазвичай представляються як концентрації речовин – число молей в одному літрі (моль / л).

Результати ензимологічних досліджень зазвичай виражаються не в молях, а в одиницях ферментативної активності. Великі молекули (білки, нуклеїнові кислоти) вимірюються в грамах або міліграмах.

Комісія з ферментів Міжнародного біохімічного союзу для вираження концентрації ферменту й кількісної оцінки його активності в умовних одиницях рекомендувала використання стандартної міжнародної одиниці (позначається E або U).

За одиницю активності будь-якого ферменту приймається та кількість його, яка в оптимальних умовах каталізує перетворення 1 мікромоля субстрату або утворення 1 мікромоля продукту за хвилину.

$$1 \text{ E} = 1 \text{ мкмоль} / \text{хв.}$$

У відповідності до вимог Міжнародної системи одиниць запропоновано вираження активності ферменту в каталах (кат, kat): 1 кат – каталітична активність, здатна здійснювати реакцію зі швидкістю, рівною 1 молу за 1 секунду:

$$1 \text{ кат} = 1 \text{ моль} / \text{с}$$

Для вираження активності в практичній роботі з ферментами часто користуються довільними поняттями питомої й молярної активності.

Питома активність ферменту це число одиниць ферментативної активності на 1 мг білка (або число каталів на 1 кг активного білка). Питома ферментативна активність є мірою чистоти ферменту.

Молярна активність (число оборотів ферменту) це кількість молекул субстрату, що перетворюються у процесі реакції однієї молекулою ферменту за одиницю часу при повному насиченні ферменту субстратом.

Визначення активності ферментів має значення в біологічних дослідженнях, в медицині з **цілью** перевірки метаболічного стану організму, а також при застосуванні ферментів в технологічних та інших напрямках.

Лабораторна робота № 7

ВИВЧЕННЯ ТЕРМОЛАБІЛЬНОСТІ ФЕРМЕНТІВ

Ферменти відрізняються від інших каталізаторів здатністю руйнуватися під час нагрівання. Ця властивість називається термолабільністю.

Мета роботи: дослідити вплив температури на активність ферментів, встановити межі температурної стійкості та оптимум дії ферментів, а також з'ясувати механізми термічної інактивації ферментів, пов'язаної з порушенням їхньої просторової структури та властивостей активного центру.

Матеріали та реактиви:

Слина

Розчини гідроксиду натрію, сульфату міді (всі 0,5 %-ві або 5 %-ві)

Розчин крохмалю (0,5 %-й)

Розчин йоду

Реактив Фелінга, який складається з двох розчинів (для виготовлення першого розчину 200 г сегнетової соді (тарtrat K^+Na^+) та 150 г гідроксиду натрію розчиняють у дистильованій воді до об'єму 1 л. Для виготовлення другого розчину 40 г перекристалізованого сульфід міді розчиняють у дистильованій воді до об'єму 1 л. Рівні об'єми першого та другого розчинів змішують перед роботою. Інший спосіб виготовлення реактиву Фелінга – змішують рівні об'єми лужного розчину сегнетової солі (34,6 г $C_4H_4O_6KNa \times 4H_2O$ і 14,0 г NaOH в 100 мл води) та розчину мідного купоросу (6,928 г $CuSO_4 \times 5 H_2O$ в 100 мл води))

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, крапельниці, штатив для пробірок, пальник.

Завдання роботи:

- ознайомитися з теоретичними основами термолабільності ферментів як білкових біокаталізаторів;
- дослідити вплив різних температур на активність ферментів;
- визначити температурний оптимум дії ферменту;
- встановити температурні межі збереження ферментативної активності;
- оцінити ступінь інактивації ферментів за підвищених температур;
- пояснити роль денатурації білка у втраті ферментативної активності;
- проаналізувати отримані результати та сформулювати відповідні висновки.

Хід роботи. У дві пробірки налити по 5 крапель слини і по 20 крапель дистильованої води (розведення 1:5). В одній пробірці розчин слини прокип'ятити 2-3 хв і охолодити під струмом водопровідної води, а в іншій –

залишити без кип'ятіння. В обидві пробірки додати по 10 крапель 0,5 % розчину крохмалю; рідину в пробірці перемішати і залишити при кімнатній температурі. Через 5 хвилин вміст кожної пробірки поділити на дві частини: з однією частиною провести реакцію з йодом на крохмаль, з іншою – пробу Фелінга і Троммера на цукор (мальтоза, глюкоза).

Реакція Троммера

У пробірку внести 3 мл розчину глюкози (або фруктози чи галактози), додати розчини гідроксиду натрію (1 мл) і сульфату міді (п'ять крапель). Спостерігати випадіння осаду гідроксиду міді(II), який внаслідок перемішування чи струшування пробірки розчиняється, а розчин набуває блакитного забарвлення. Пробірку обережно нагріти до кипіння на водяній бані до утворення жовтого осаду CuOH , який з часом внаслідок перетворення CuOH на Cu_2O змінює забарвлення на червоне, що вказує на позитивну реакцію Троммера.

Реакція з реактивом Фелінга

У чотири пробірки внести по 2 мл 2 %-го розчину відповідного вуглеводу (надані в таблиці). В кожну пробірку додати по 2 мл фелінгової рідини. Вміст пробірок перемішати і нагріти у полум'ї пальника до кипіння. Спостерігати утворення червоного осаду геміоксиду міді (Cu_2O), що вказує на позитивну реакцію з реактивом Фелінга.

Зробити висновок щодо отриманих результатів (якщо виявлені відхилення від теоретичних закономірностей, вказати передбачувану причину розбіжностей):

За умов проведення навчання в on-line форматі, з методикою проведення досліду можна ознайомитись за посиланням: <https://www.youtube.com/watch?v=lsV7sgVJWok>

Лабораторна робота № 8

ВПЛИВ pH НА АКТИВНІСТЬ АМІЛАЗИ

Мета роботи: дослідити залежність активності амілази від реакції середовища, визначити оптимальне значення pH для дії ферменту та з'ясувати вплив кислотності й лужності середовища на функціональний стан активного центру амілази.

Матеріали та реактиви:

Слина

Розчин 0,2 М двозаміщеного фосфорнокислого натрію

Розчин 0,1 М лимонної кислоти

Розчин 0,5 % крохмалю

Розчин йоду 0,1 %

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, штатив для пробірок.

Завдання роботи:

- ознайомитися з теоретичними основами впливу pH середовища на активність ферментів;
- дослідити активність амілази за різних значень pH;
- визначити оптимум pH для дії амілази;
- оцінити зміну швидкості ферментативної реакції в кислому, нейтральному та лужному середовищах;
- пояснити механізм впливу pH на іонізацію активного центру ферменту та субстрату;
- проаналізувати отримані результати та сформулювати обґрунтовані висновки.

Хід роботи. У 7 пробірок налити розчини 0,2 М двозаміщеного фосфорнокислого натрію і 0,1 М лимонної кислоти у кількостях, зазначених у таблиці:

№ проби	Кількість 0,2 М розчину двозаміщеного фосфату натрію, мл	Кількість 0,1 М розчину лимонної кислоти, мл	pH середовища	Кількість 0,5 % розчину крохмалю, краплі	Кількість розведеної 1:100 слини (амілази), краплі	Забарвлення (реакція з йодом)
1	0,58	0,42	5,6	10	10	
2	0,63	0,37	6,0	10	10	
3	0,69	0,31	6,4	10	10	
4	0,77	0,23	6,8	10	10	
5	0,87	0,13	7,2	10	10	
6	0,94	0,06	7,6	10	10	
7	0,97	0,03	8,0	10	10	

Приготувати буферні розчини з рН від 5,6 до 8,0. У кожену пробірку додати по 10 крапель 0,5 % розчину крохмалю і по 10 крапель слини, розведеної в 100 разів. Вміст пробірок перемішати і залишити при кімнатній температурі (або у водяній бані при 37 °С). Через 5 хв з четвертої пробірки, у якій рН середовища передбачається оптимальним для амілази, взяти краплинну пробу для реакції з йодом. Якщо з'явиться синє забарвлення, пробу повторити через 5 хв. Коли в краплинній пробі буде отримано червоне або жовте забарвлення, в усі пробірки додати по 1 краплі 0,1 % розчину йоду; вміст пробірок перемішати і відмітити колір. Оптимум рН для дії амілази визначити по тій пробірці, у якій відбулося більш глибоке розщеплення крохмалю (при реакції з розчином йоду спостерігається червоний або жовтий колір).

Зробити висновок щодо отриманих результатів (якщо виявлені відхилення від теоретичних закономірностей, вказати передбачувану причину розбіжностей):

За умов проведення навчання в on-line форматі, з методикою проведення дослідів можна ознайомитись за посиланням: <https://www.youtube.com/watch?v=8W0gOGdTJyM>

Лабораторна робота № 9
СПЕЦИФІЧНІСТЬ ДІЇ ФЕРМЕНТІВ

Мета роботи: дослідити явище специфічності ферментів щодо субстратів, з'ясувати механізми вибіркової взаємодії фермент–субстрат та підтвердити роль будови активного центру у забезпеченні високої селективності ферментативних реакцій.

Матеріали та реактиви:

Слина

Дріжджі

Розчин 0,5 % крохмалю

Розчин 0,5 % сахарози

Розчин йоду 0,1 %

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, штатив для пробірок, пальник.

Завдання роботи:

- ознайомитися з поняттям специфічності дії ферментів та її видами (абсолютна, групова, стереоспецифічність);
- дослідити дію одного ферменту на різні субстрати;
- порівняти швидкість або інтенсивність ферментативної реакції з різними субстратами;
- встановити наявність або відсутність ферментативної активності залежно від природи субстрату;
- пояснити отримані результати з позицій будови активного центру ферменту;
- сформулювати висновки щодо біологічного значення специфічності дії ферментів.

Хід роботи. У дві пробірки налити по 10 крапель 0,5 % розчину крохмалю і додати у першу пробірку 5 крапель розведеної в 5 разів слини (амілаза), у другу – 5 крапель витяжки з дріжджів, що містить β -фруктофуранозидазу (сахаразу) (0,5 г дріжджів розтерти у порцеляновій ступці з 3 мл води, фільтрують; фільтрат – джерело сахарази), перемішати і залишити при кімнатній або температурі 38–40 °С. У 2 інші пробірки налити по 10 крапель 0,5 % сахарози, у першу додати 5 крапель розведеної в 5 разів слини, у другу – 5 крапель витяжки з дріжджів і залишити за тих самих умов. Через 5 хв у перші дві пробірки із крохмалем додати по одній краплі 0,1 % розчину йоду і відзначити забарвлення. З вмістом 2 інших пробірок (дослід із сахарозою) провести реакції Фелінга або Троммера. Дія

ферментів виявляється або по зникненню субстрату, або по появі продуктів розщеплення (мальтоза, глюкоза, фруктоза).

Спостереження внести до таблиці:

№ п/п	Субстрат	Фермент	Реакція на крохмаль з йодом	Реакція Троммера	Висновок
1	Крохмаль	Амілаза			
2	Крохмаль	Амілаза			
3	Сахароза	Сахараза			
4	Сахароза	Сахараза			

Зробити висновок щодо отриманих результатів (якщо виявлені відхилення від теоретичних закономірностей, вказати передбачувану причину розбіжностей):

За умов проведення навчання в on-line форматі, з методикою проведення дослідів можна ознайомитись за посиланням: <https://www.youtube.com/watch?v=1rP-zqms4sA>

Лабораторна робота № 10

ВПЛИВ АКТИВАТОРІВ І ІНГІБІТОРІВ НА АКТИВНІСТЬ АМІЛАЗИ

Активаторами і інгібіторами називають речовини, здатні прискорювати чи гальмувати дію ферментів.

Мета роботи: дослідити дію активаторів та інгібіторів на ферментативну активність амілази, з'ясувати характер їх впливу на швидкість гідролізу крохмалю та встановити роль хімічної природи регуляторів у зміні активності ферменту.

Матеріали та реактиви:

Слина

Розчин 1 % NaCl

Розчин 1 % CuSO₄

Розчин 0,5 % крохмалю

Розчин йоду 0,1 %

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, штатив для пробірок.

Завдання роботи:

- ознайомитися з теоретичними основами регуляції активності ферментів активаторами та інгібіторами;
- дослідити активність амілази за наявності активаторів, інгібіторів;
- порівняти інтенсивність ферментативної реакції в контрольному та дослідних зразках;
- оцінити ступінь активації або інгібування амілази залежно від введеної речовини;
- пояснити механізм дії активаторів і інгібіторів на активний центр амілази;
- проаналізувати отримані результати та сформулювати відповідні висновки щодо регуляції ферментативної активності.

Хід роботи. У три пробірки налити: у першу – 10 крапель дистильованої води, у другу – 8 крапель води і 2 краплі 1 % розчину NaCl, а в третю – 8 крапель води і 2 краплі 1 % розчину CuSO₄. У кожену пробірку додати по 5 крапель слини, розведеної 1:5, перемішати, додати 10 крапель 0,5 % розчину крохмалю, знову перемішати і залишити при кімнатній температурі. Через 5 хв у 3 пробірки з водою, підфарбованою краплею розчину йоду, відлити по 2-3 краплі вмісту кожної дослідної пробірки. У першій пробірці рідина забарвлюється у

фіолетовий чи червоний, у другій – у червоний чи жовтий, у третій – у синій колір.

Спостереження внести до таблиці:

№ п/п	Варіант	Реакція з йодом	Висновки
1	Контроль		
2	+ NaCl		
3	+ CuSO ₄		

Зробити висновок щодо отриманих результатів (якщо виявлені відхилення від теоретичних закономірностей, вказати передбачувану причину розбіжностей):

За умов проведення навчання в on-line форматі, з методикою проведення досліду можна ознайомитись за посиланням: <https://www.youtube.com/watch?v=J81U68Xbm-Y&t=70s>

Лабораторна робота № 11
КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АМІЛАЗИ СЛИНИ
ЗА ВОЛЬГЕМУТОМ

Мета роботи : освоїти метод кількісного визначення активності амілази в слині за методом Вольгемута, визначити ферментативну активність амілази шляхом оцінки її здатності гідролізувати крохмаль та набути практичних навичок біохімічного аналізу ферментів.

Цей метод ґрунтується на визначенні мінімальної кількості ферменту, що здатна за певних умов (37 °C, 30 хв) розщепити певну кількість крохмалю.

Амілазну активність виражають у кількості субстрату (крохмалю), що розщеплюється 1 мл слини за певний проміжок часу (30 хв).

Матеріали та реактиви:

Слина

Розчин 0,85 % NaCl

Розчин 1 % CuSO₄

Розчин 0,1 % крохмалю

Розчин йоду 0,1 %

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, штатив для пробірок.

Завдання досліджу:

- ознайомитися з принципом і теоретичними основами методу Вольгемута;
- підготувати зразки слини та необхідні реактиви для проведення аналізу;
- провести серійні розведення слини відповідно до методики;
- визначити мінімальну кількість амілази, здатну повністю гідролізувати крохмаль за заданих умов;
- оцінити активність амілази слини в умовних одиницях за Вольгемутом;
- проаналізувати отримані результати та порівняти їх з нормативними значеннями;
- зробити обґрунтовані висновки щодо ферментативної активності амілази слини.

Хід роботи. Налити з бюретки в 10 пронумерованих пробірок по 1 мл 0,85 % NaCl.

У першу пробірку відміряти 1 мл слини, розведеної в 10 разів водою. Перемішати вміст першої пробірки шляхом трикратного втягування піпеткою рідини з

пробірки і наступного випускання з піпетки. 1 мл отриманого розчину перенести з першої пробірки в другу. Перемішати у такий же спосіб вміст другої пробірки і перенести 1 мл із другої пробірки в третю і т. д. З десятої пробірки 1 мл рідини вилити як зайвий. Далі налити з бюретки в усі 10 пробірок (починаючи з десятої) – по 2 мл 0,1 % розчину крохмалю і перемішати вміст кожної пробірки. Одночасно помістити кожну пробірку в нагріту до 45 °С водяну баню. Через 15 хв вийняти пробірки з бані, швидко охолодити їх струмом холодної води, перемішати вміст кожної пробірки і розмістити одну за одною в штатив. Додати у кожну пробірку по 2 краплі йоду, перемішати і відзначити ту пробірку, у якій немає синього відтінку. Наприклад, якщо розчеплення крохмалю відбулося (жовтий колір з йодом) в пробірках 1, 2 та 3, то активність амілази розраховують за пробіркою 3, де слина розведена в 8 разів. Тобто, амілазна активність A_{15}^{45} дорівнює: $A_{15}^{45} = 2 \times 8 = 16$, де 2 – кількість 0,1 % крохмалю, мл.

Зробити висновок щодо отриманих результатів (якщо виявлені відхилення від теоретичних закономірностей, вказати передбачувану причину розбіжностей):

За умов проведення навчання в on-line форматі, з методикою проведення дослідів можна ознайомитись за посиланням: https://www.youtube.com/watch?v=leu5a_00QN8&t=51s

Лабораторна робота № 12

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ В КРОВІ МЕТОДОМ БАХА-ЗУБКОВОЇ

Мета роботи: засвоїти метод кількісного визначення активності каталази в крові, що ґрунтується на здатності ферменту розкладати пероксид водню, та оцінити рівень антиоксидантного захисту організму за показником каталазної активності.

Метод заснований на вимірюванні кількості пероксиду водню, розчепленого каталазою. Каталаза каталізує розкладання пероксиду водню на молекулярний кисень і воду:



За хімічною природою каталаза є гемоферментом, тому що до складу простетичної групи цього ферменту входить гем.

Кількісне визначення активності каталази – це визначення «каталазного числа» і «показника активності каталази». Каталазним числом називається кількість міліграмів H_2O_2 , що розкладається 1 мікролітром (1мм^3) досліджуваної крові. Принцип визначення каталазного числа ґрунтується на наступній реакції:



тобто про кількість зруйнованого пероксиду водню судять по різниці кількостей марганцевокислого калію, витраченого на титрування до і після дії каталази.

Показником активності каталази називають дріб, у якому чисельником є каталазне число, а знаменником – число мільйонів еритроцитів в одному мм^3 досліджуваної крові.

Матеріали та реактиви:

Розчин крові

Розчин 1% H_2O_2

Розчин 10% H_2SO_4

Розчин 0,1 н. KMnO_4

Обладнання: Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, штатив для пробірок, пальник

Завдання досліду:

- ознайомитися з теоретичними основами дії каталази та її роллю в антиоксидантній системі організму;
- вивчити принцип і послідовність проведення методу Баха-Зубкової;
- підготувати зразки крові та необхідні реактиви для аналізу;
- провести визначення кількості пероксиду водню, розкладеного каталазою за певний проміжок часу;

- розрахувати активність каталази в крові за результатами титрування;
- проаналізувати отримані дані та порівняти їх із нормативними значеннями;
- зробити висновки щодо стану антиоксидантного захисту організму на основі показників каталазної активності.

Хід роботи. Внести піпеткою 0,1 мл досліджуваної крові, попередньо протерши кінчик капіляра від крові. Піпетку промити шляхом втягування і випускання рідини з мірної колби на 100 мл, куди попередньо налили 10 мл дистильованої води. Долити мірну колбу водою до мітки і відмітити час, коли кров була розведена. Цей розчин називають основним розчином крові (1:1000), що використовують для визначення каталазного числа.

У дві конічні колби налити 7-8 мл дистильованої води і відміряти у них по 1 мл основного розчину крові. Вміст першої колби (контроль) відразу ж прокип'ятити протягом двох хвилин для руйнування каталази, обидві колби залишити на 10 хв. У кожну колбу внести по 2 мл розчину пероксиду водню (1 %) і залишити на 30 хв. Долити у кожну колбу по 5 мл 10 % розчину сірчаної кислоти й відтитровати вміст 0,1 н. розчином марганцевокислого калію до появи рожевого кольору.

Каталаза розкладає пероксид водню, тому на титрування рідини другої колби піде менше розчину марганцевокислого калію, чим на титрування вмісту першої колби, де каталаза була зруйнована. Цю різницю помножити на 1,7 і отримати каталазне число досліджуваної крові.

Принцип обчислення заснований на наступному: грам-еквівалент пероксиду водню дорівнює 17. Отже, у 1 мл 0,1 н. розчину міститься 1,7 мг пероксиду водню. 1 мл 0,1 н розчину марганцевокислого калію відповідає 1 мл пероксиду водню. Таким чином, помноживши 1,7 на різницю між кількістю мілілітрів 0,1 н розчину марганцевокислого калію, одержують кількість мл пероксиду водню, що розкладається в 1 мм³ досліджуваної крові (каталазне число). Показник активності каталази тоді буде дорівнювати каталазному числу, поділеному на кількість еритроцитів в 1 мм³ досліджуваної крові.

Зробити висновок щодо отриманих результатів (якщо виявлені відхилення від теоретичних закономірностей, вказати передбачувану причину розбіжностей):

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Що таке ферменти і яка їхня роль в організмах?
2. Які особливості ферментативного каталізу порівняно з хімічним каталізмом?
3. Що таке активний центр ферменту і яка його функція?
4. Які типи ферментів існують за характером реакції (класи ферментів)?
5. Що таке кофермент і коензим? Наведіть приклади.
6. Яка роль іонів металів у роботі ферментів?
7. Що таке алостерична регуляція ферментів?
8. Які існують типи алостеричних ефекторів (активатори, інгібітори)?
9. У чому полягає дія інгібіторів ферментів? Назвіть основні типи інгібіторів.
10. Яка різниця між конкурентним та неконкурентним інгібіторами?
11. Що таке необоротне (незворотне) інгібування ферментів?
12. Які фактори впливають на активність ферментів (температура, рН, концентрація субстрату)?
13. Як змінюється швидкість ферментативної реакції при зміні температури?
14. Що таке оптимум температури і рН для ферменту?
15. Що таке V_{max} і K_m у кінетиці Міхаеліса-Ментен?
16. Яка фізіологічна роль K_m і що вона показує?
17. Як інгібітор впливає на значення K_m і V_{max} (для конкурентного/неконкурентного інгібування)?
18. Що таке ферментативна специфічність (субстратна, групова, типова, абсолютна)?
19. Яка різниця між простими і складними (глікопротеїди, фосфопротеїди тощо) ферментами?
20. Що таке протеолітичне активування ферментів (зимогени)? Наведіть приклади.
21. Які ферменти беруть участь у травленні білків, жирів і вуглеводів?
22. Що таке кооперативність у ферментах і як вона проявляється на кривій насичення?
23. Які методи використовуються для визначення активності ферментів у лабораторії?
24. Що таке ферментний комплекс і яка його роль у метаболізмі?
25. Як ферменти забезпечують регуляцію метаболічних шляхів (зворотний зв'язок, каскади)?
26. Що таке ізоферменти і чим вони відрізняються?
27. Які причини виникнення ферментопатій і які приклади ви знаєте?
28. Як ферменти можуть бути використані в біотехнології та медицині?

29. Що таке каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза – до яких класів належать і яка їхня функція?
30. Які особливості будови і функції ферментів – ліпаз, амілаз, протеаз?

Рекомендована література

1. Гребеник Л. І., Висоцький І. Ю. Курс лекцій з біохімії. Розділ «Біохімія ферментів». Суми : Сумський державний університет, 2011. 72 с.
2. Лещенко О. О., Бараненко В. В. Біохімія : підручник. Київ : Здоров'я, 2017. 624 с.
3. Миронович Л. М., Манжос О. П. Біоорганічна хімія : навчальний посібник. Суми : Сумський державний університет, 2015. 480 с.
4. Стефанишин В. П. Біохімія : підручник для медичних і фармацевтичних факультетів. Київ : Книга плюс, 2018. 912 с.

РОЗДІЛ V. ВІТАМІНИ

Мета: ознайомити з основними групами вітамінів, механізмами їх дії, джерелами надходження в організм, симптомами дефіциту та надлишку, а також методами їх визначення. Сформулювати уявлення про біохімічну роль вітамінів у метаболізмі, їх участь у ферментативних процесах, а також практичні підходи до оцінки вітамінного статусу організму.

Вітаміни були відкриті в 1890 р. Миколою Івановичем Луніним. Він першим стверджував, що певна кількість захворювань, на які страждають моряки в довгих походах і не отримують в раціоні ані свіжих овочей, ані фруктів, виникає внаслідок відсутності в організмі яких-то невідомих сполук. В 1900 році Казимір Функ спробував виділити і проаналізувати склад цих сполук. В результаті йому вдалося встановити лише те, що до складу цих сполук здебільшого входить аміногрупа. Це дало підстави Функу запропонувати для цих сполук загальний термін «вітаміни» – життєві аміни. Цей термін закріпився і існує і в теперішній час.

Вітаміни – це біоорганічні сполуки, які здебільшого не синтезуються в організмі людини, є незамінними (есенційними) і повинні надходити у складі їжі. Вітаміни – це мікронутрієнти харчування, добова потреба в них становить від декількох мікрограмів до міліграмів на добу. Вітаміни забезпечують нормальний ріст і розвиток організму, адекватну швидкість проходження біохімічних та фізіологічних процесів.

За хімічною природою вітаміни відносять до різних груп хімічних сполук, тому їх сучасна класифікація ґрунтується на розчинності – *жиророзчинні* та *водорозчинні*. Виділяють також групу сполук, які за своєю дією близькі до вітамінів, це *вітаміноподібні речовини*. Як і вітаміни, вони є незамінними компонентами харчування, потреба організму в них мінімальна, але на відміну від вітамінів багато з них можуть утворюватись у самому організмі. Для вітаміноподібних речовин характерні властивості як вітамінів, так і невітамінів, тому їх називають *квазівітамінами*. В останні роки вітаміни також класифікують за їх функціями.

За тривіальною номенклатурою назва вітаміну містить три компоненти: латинську літеру та індекс, хімічну назву, біологічну назву. Біологічна назва має префікс «*анти*», який свідчить про здатність вітаміну попереджувати відповідне захворювання. Наприклад, вітамін В₁ (тіамін), *антиневритний*.

Водорозчинні вітаміни беруть участь у метаболічних процесах у вигляді коферментів або їх складових. Вони не здатні накопичуватися в організмі у великій кількості, їх надлишок виділяється із сечею.

До водорозчинних вітамінів відносять (табл. 1):

Водорозчинні вітаміни

Назва вітаміну	Коферментна форма
В ₁ – тіамін	Тіамінпірофосфат (ТПФ, ТДФ)
Вітамін В ₂ – рибофлавін	Флавінаденіндинуклеотид (ФАД), флавінмононуклеотид (ФМН)
Вітамін РР – вітамін В ₃ , ніацин	Нікотинаміддинуклеотид (НАД), нікотинаміддинуклеотидфосфат (НАДФ)
Вітамін В ₅ – пантотенова кислота	Коензим А – HS-КоА
Вітамін В ₆ – піридоксин	Піридоксальфосфат (ПАЛФ), піридоксамінфосфат (ПМФ)
Вітамін В ₁₂ – кобаламін	Метилкобаламін, дезоксіаденозилкобаламін
Вітамін Вс – вітамін В ₉ , фолієва кислота	Тетрагідрофолєва кислота (ТГФК)
Вітамін Н – біотин	Карбоксибіотин
Вітамін С – аскорбінова кислота	Не утворює
Вітамін Р – рутин, вітамін проникності	Не утворює

Жиророзчинні вітаміни здебільшого не утворюють коферментів, впливають на обмін речовин опосередковано, створюючи умови для оптимальної дії ензимів у мембранах; стабілізують клітинні мембрани, регулюють їх вибіркову проникність; виявляють антимутагенну та антиоксидантну дію; впливають на процеси тканинного дихання; окремі вітаміни є гормонами, на кшталт стероїдних гормонів. Через специфічні ядерні рецептори вони активують експресію генів, що призводить до диференціації клітин, активації синтезу білків.

До жиророзчинних вітамінів відносять: вітаміни групи А (ретиноїди), вітаміни групи D (кальцифероли), вітаміни групи Е (токофероли), вітаміни групи К (філохінони), вітамін F (есенційні поліненасичені жирні кислоти). Жиророзчинні вітаміни накопичуються в організмі у значній кількості, їх неконтрольоване споживання може призвести до розвитку гіпервітамінозів, або навіть до летального кінця.

Розкриття молекулярних механізмів дії вітамінів дозволило скласти їх функціональну класифікацію, згідно з якою вітаміни поділяють на три групи:

1. **Вітаміни-коферменти** – діють через утворення коферментів або простетичних груп ферментів. Сюди відносять усю групу В, вітамін К (кофермент у реакціях γ -карбоксилування глутамінової кислоти в Са-зв'язувальних білках), альдегідна форма вітаміну А – ретиналь простетична група родопсину; ретинілфосфат – кофермент-переносник залишків цукрів у синтезі глікопротеїнів клітинних мембран.

2. **Вітаміни-антиоксиданти.** Аскорбінова кислота, токофероли, каротиноїди (β -каротин, лікопін, лютеїн та ін.) – є компонентами антиоксидантної системи захисту організму від дії вільних радикалів, активних форм кисню. Антиоксидантні властивості характерні також багатьом біофлавоноїдам.

3. **Вітаміни-прогормони** – А, D. Для активних форм цих вітамінів характерна гормональна активність. Вітамін D утворює гормон кальцитріол – регулятор обміну кальцію. Активною формою вітаміну А є ретиноева кислота, яка регулює процеси росту та диференціювання епітеліальних клітин.

Функціональна класифікація також недосконала, оскільки деякі вітаміни поліфункціональні, їх різні форми можуть належати до різних груп за вищеназваною класифікацією.

Вітаміноподібні речовини (квазівітаміни). Окрім основних вітамінів, виділяють групу органічних речовин з вітамінними властивостями, які частково синтезуються в організмі. До них відносять: параамінобензойну кислоту (вітамін В₁₀), пангамову кислоту (вітамін В₁₅), метилметіонін сульфоній хлорид (вітамін U), інозит (вітамін В₈), коензим Q, піролохінолінхінон (вітамін В₁₄), ліпоеву кислоту (вітамін N), холін (вітамін В₄), карнітин (вітамін В₁₁).

Лабораторна робота № 13
КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНУ С
ЗА МЕТОДОМ ТІЛЬМАНСА

Мета роботи: опанувати метод кількісного визначення аскорбінової кислоти, що ґрунтується на її відновних властивостях, шляхом титрування 2,6-дихлорфеноліндофенолом, та навчитися оцінювати вміст вітаміну С у біологічних рідинах або харчових продуктах.

Принцип методу. Метод кількісного визначення аскорбінової кислоти заснований на її здатності відновлювати 2,6-дихлорфеноліндофенол, яким титрують досліджуваний розчин у кислому середовищі, що зберігає аскорбінову кислоту від руйнування. Точному кількісному визначенню аскорбінової кислоти можуть заважати інші речовини, що легко окислюються, такі як глутатіон, цистеїн і ін.

Матеріали та реактиви:

Розчин 2 % HCl

Розчин 0,001 н. 2,6-дихлорфеноліндофенолу

Обладнання: Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, штатив для пробірок.

Завдання роботи:

- ознайомитися з біологічною роллю вітаміну С та його фізико-хімічними властивостями;
- вивчити принцип і теоретичні основи методу Тільманса;
- підготувати зразки для аналізу та необхідні реактиви;
- провести титрування досліджуваного зразка розчином 2,6-дихлорфеноліндофенолу;
- визначити кількість аскорбінової кислоти за результатами титрування;
- розрахувати вміст вітаміну С у досліджуваному матеріалі;
- проаналізувати отримані результати та порівняти їх із нормативними значеннями;
- зробити обґрунтовані висновки щодо забезпеченості організму або якості продукту за вмістом вітаміну С.

Хід роботи. Точну наважку стиглих плодів шипшини чи хвої молодій ялини в кількості 0,5 г ретельно розтерти у порцеляновій ступці з 2 мл 2 % розчину соляної кислоти, потім без втрат перенести вміст ступки в мірну колбу місткістю 50 мл і довести дистильованою водою до мітки. Вміст колби ретельно

перемішати, профільтрувати через паперовий фільтр і фільтрат використати для визначення вітаміну С.

Титрування. У 2 конічні колби відміряти піпеткою по 1 мл фільтрату, додати у кожну колбу по 4 мл 2 % розчину соляної кислоти і титрувати з бюретки 0,001 н. 2,6-дихлорфеноліндофенолом до появи рожевого кольору, що не зникає близько 30 с. Якщо готується витяжка з хвої, для титрування взяти 5 мл фільтрату і соляну кислоту не додавати.

Розрахунок кількості аскорбінової кислоти в пробі роблять, виходячи з того, що 1 мл 0,001 н. 2,6-дихлорфеноліндофенолу відповідає 0,088 мг аскорбінової кислоти (молекулярна маса аскорбінової кислоти дорівнює 176, а грам-еквівалент – 88 г). При розрахунку на 100 г речовини необхідно враховувати також розведення і кількість вихідної речовини.

Якщо, наприклад, на титрування 1 мл витяжки із шипшини пішло 1,25 мл 0,001 н 2,6-дихлорфеноліндофенолу, то в 1 мл витяжки міститься $0,088 \times 1,25 = 0,11$ мг аскорбінової кислоти, а в 100 мл витяжки буде міститися відповідно 11 мг.

При розрахунку кількості вітаміну С на 100 г шипшини необхідно врахувати, що наважка його в 0,5 г була поміщена в 50 мл, тобто у співвідношенні 1 г у 100 мл, де кількість вітаміну С нам уже відома, а саме – 11 мг. Відповідно 100 г шипшини будуть містити 1100 мг вітаміну С чи 1,1 г, що складає 1,1 %.

Зробити висновок щодо отриманих результатів (якщо виявлені відхилення від теоретичних закономірностей, вказати передбачувану причину розбіжностей):

Лабораторна робота № 14
КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНУ Р
ЗА МЕТОДОМ ЛЕВЕНТАЛЯ

Мета роботи: практичне освоєння та застосування методу Левенталю для кількісного визначення вітаміну Р (рутин) у досліджуваних об'єктах, а також у формуванні навичок роботи з хімічними реактивами, вимірним обладнанням і обробкою результатів.

Принцип методу. В основу визначення катехінів покладено метод окислювання дубильних речовин перманганатом калію. Катехіни легко екстрагуються з листя чаю дистильованою водою. Водяний розчин титрують 0,1 н KMnO_4 у присутності індикатора індигокарміну. Результати титрування порівнюють зі стандартним перерахунковим коефіцієнтом титрування за Левенталем, рівним 6,4, тому що експериментально встановлено, що 1 мл 0,1 н KMnO_4 окислює 6,4 мкг рутину.

Матеріали та реактиви:

Чай, кофе

Розчин індигокарміну

Розчин 0,1 н KMnO_4

Обладнання: Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, штатив для пробірок.

Завдання роботи:

- ознайомитися з хімічними властивостями вітаміну Р (рутин) та принципом його визначення методом Левенталю;
- підготувати необхідні реактиви та стандартні розчини для проведення аналізу;
- виконати пробопідготовку досліджуваного зразка (наприклад, препаратів або біологічного матеріалу);
- провести титрування зразка за методом Левенталю з використанням відповідних індикаторів та умов реакції;
- розрахувати масову частку або концентрацію вітаміну Р у досліджуваному зразку;
- оформити результати дослідження у вигляді таблиць, розрахунків та висновків.

Хід роботи. Наважку листя чаю у кількості 0,25 г залити 100 мл нагрітої до кипіння води і прокип'ятити протягом 5 хв у колбі зі зворотним охолоджувачем. Отриманий екстракт охолодити, відібрати 2 мл і перенести в іншу колбу, куди

наливають ще 50 мл дистильованої води і 5 мл розчину індигокарміну. Після додавання індигокарміну, вміст колби забарвлюється в інтенсивний синій колір.

Ретельно перемішуючи рідину в колбі, вміст титрують розчином 0,1 н KMnO_4 до появи жовтого кольору через перехідні тони – від синього до зеленого і зеленувато-жовтого. Для контролю титрують 52 мл води з внесенням у неї 5 мл розчину індигокарміну.

Різниця між дослідним і контрольним титруванням являє собою кількість мілілітрів 0,1 н KMnO_4 , що витрачається на окислювання катехінів.

Для обчислення результатів аналізу користуються формулою:

$$x = \frac{(a - b) \cdot 6,4 \cdot V_1 \cdot 100}{P \cdot V_2 \cdot 1000},$$

де x – вміст вітаміну Р в препараті, %;

a – кількість 0,1 н KMnO_4 , що витрачається на титрування дослідного розчину препарату, мл;

b – кількість 0,1 н KMnO_4 , що витрачається на контрольне титрування, мл;

6,4 – стандартний коефіцієнт титрування;

V_1 – об'єм, у якому розчинена взята для аналізу наважка, мл;

V_2 – об'єм розчину, взятого для титрування, мл;

P – наважка, мг.

Зробити висновок щодо отриманих результатів (якщо виявлені відхилення від теоретичних закономірностей, вказати передбачувану причину розбіжностей):

Лабораторна робота № 15
ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНУ Е

Мета роботи полягає у практичному ознайомленні з методами якісного та кількісного визначення вітаміну Е, вивченні його хімічних властивостей, а також формуванні навичок роботи з реактивами, лабораторним обладнанням і оформленням результатів.

Дослід 1. Якісне визначення вітаміну Е

Принцип методу. При дії концентрованої азотної кислоти на спиртовий розчин вітаміну Е, останній забарвлюється в червоний колір у результаті окислювання α -токоферолу до забарвлених продуктів хіноїдного ряду.

Матеріали та реактиви:

0,1 % спиртовий розчин вітаміну Е

HNO_3 конц.

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, штатив для пробірок.

Завдання роботи:

- ознайомитися з фізико-хімічними властивостями та біологічною роллю вітаміну Е;
- підготувати досліджуваний зразок (наприклад, препарат або екстракт харчового продукту) для аналізу;
- провести якісні реакції на виявлення вітаміну Е у зразку;
- використати відповідні реактиви та контрольні зразки (позитивний та негативний) для підтвердження результату;
- встановити наявність або відсутність вітаміну Е у досліджуваному зразку;
- оформити результати у вигляді таблиці, запису реакцій та висновку.

Хід роботи. У сухій пробірці змішати при енергійному струшуванні 5 крапель 0,1 % спиртового розчину вітаміну Е і 10 крапель концентрованої азотної кислоти. Верхній масляний шар емульсії забарвлюється в червоний колір.

Зробити висновок щодо отриманих результатів (якщо виявлені відхилення від теоретичних закономірностей, вказати передбачувану причину розбіжностей):

Дослід 2. Кількісне визначення вітаміну E

Принцип методу. Метод заснований на колориметричному вимірюванні інтенсивності забарвлення, що виникає при окислюванні токоферолів азотною кислотою.

Матеріали та реактиви:

Спиртовий розчин вітаміну E

70 % розчин HNO_3

Спирт

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, штатив для пробірок.

Завдання роботи:

- ознайомитися з хімічними властивостями, фізіологічною роллю та біохімічними функціями вітаміну E;
- підготувати необхідні реактиви, стандартні розчини та прилади для проведення аналізу;
- виконати пробопідготовку досліджуваного зразка (екстракція, очищення, розчинення);
- провести кількісне визначення вітаміну E методом, що передбачає вимірювання (наприклад, колориметрично або титриметрично), з використанням калібрувальної кривої або стандарту;
- розрахувати вміст вітаміну E у зразку (масову частку або концентрацію);
- оформити результати у вигляді таблиць, розрахунків та зробити висновок про вміст вітаміну E у досліджуваному зразку.

Хід роботи. У 2 мірні пробірки внести по 2,5 мл спиртового розчину вітаміну E, додати по 0,5 мл 70 % азотної кислоти і витримати у киплячій водяній бані 3 хв. Потім пробірки охолодити і помістити у темне місце на 15 хв. Об'єм рідини в кожній пробірці довести абсолютним етиловим спиртом до 5 мл і перемішати. Розчини, забарвлені в результаті реакції в рожевий колір, фотометрувати на фотоелектроколориметрі із синім світлофільтром (470 нм).

Концентрацію вітаміну E в досліджуваному розчині знайти за графіком, де кожному значенню знайденої екстинкції відповідає певний вміст вітаміну E в 1 мл розчину.

Для побудови калібрувального графіку використати препарат, що містить у 1 мл 100 мг α -токоферолацетату. Для цього 0,5 мл такого препарату розчинити

абсолютним спиртом у мірній колбі на 50 мл. У 4 мірні пробірки відміряти по 0,5; 1; 1,5; 2 мл цього спиртового розчину, що містить на 1 мл – 1 мг α -токоферолацетату, і додати абсолютний спирт: 2; 1,5; 1; 0,5 мл відповідно, щоб загальний об'єм рідини складав 2,5 мл.

У пробірках провести визначення вітаміну Е, як зазначено вище, і отримані дані оптичної щільності розчинів використати для побудови калібрувального графіку. На вісь ординат нанести значення екстинкції, на вісь абсцис – відповідні концентрації вітаміну Е.

Зробити висновок щодо отриманих результатів (якщо виявлені відхилення від теоретичних закономірностей, вказати передбачувану причину розбіжностей):

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Що таке вітаміни і яку роль вони відіграють у організмі?
2. Які ознаки властиві вітамінам (біологічна активність, малий вміст, необхідність в харчуванні)?
3. Яка класифікація вітамінів за розчинністю?
4. Які вітаміни відносять до водорозчинних? Назвіть їх.
5. Які вітаміни відносять до жиророзчинних? Назвіть їх.
6. Яка роль вітамінів групи В у метаболізмі?
7. Які функції має вітамін С (аскорбінова кислота)?
8. Яка біологічна роль вітаміну А (ретинол)?
9. Яка роль вітаміну D (кальциферол) у регуляції кальцієвого обміну?
10. Яка функція вітаміну Е (токоферол) як антиоксиданту?
11. Яка роль вітаміну К у згортанні крові?
12. Які симптоми дефіциту вітаміну А?
13. Які симптоми дефіциту вітаміну D?
14. Які симптоми дефіциту вітаміну С?
15. Які симптоми дефіциту вітаміну В₁ (тіаміну)?
16. Які симптоми дефіциту вітаміну В₂ (рибофлавіну)?
17. Які симптоми дефіциту вітаміну В₃ (ніацину)?
18. Які симптоми дефіциту вітаміну В₁₂ (кобаламіну)?
19. Які симптоми дефіциту вітаміну В₉ (фолієвої кислоти)?
20. Які причини гіповітамінозу та авітамінозу?
21. Що таке гіпервітаміноз і які його причини?
22. Які вітаміни можуть накопичуватися в організмі і чому?

23. Які вітаміни легко виводяться з організму і чому?
24. Які джерела вітаміну А у харчуванні?
25. Які джерела вітаміну D?
26. Які джерела вітаміну С?
27. Які джерела вітамінів групи В?
28. Які властивості впливають на стабільність вітамінів (температура, світло, кисень, рН)?
29. Які методи використовуються для кількісного визначення вітамінів у харчових продуктах?
30. Яка роль вітамінів у процесах антиоксидантного захисту організму?

Рекомендована література

1. Лещенко О. О., Бараненко В. В. Біохімія : підручник. Київ : Здоров'я, 2017. 624 с.
2. Миронович Л. М., Манжос О. П. Біоорганічна хімія : навчальний посібник. Суми : Сумський державний університет, 2015. 480 с.
3. Осип Ю. Л. Біологічна та біоорганічна хімія : методичні вказівки. Луцьк : Луцький національний технічний університет, 2023. 113 с.
4. Стефанишин В. П. Біохімія : підручник для медичних і фармацевтичних факультетів. Київ : Книга плюс, 2018. 912 с.

РОЗДІЛ VI. ГОРМОНИ

Мета: дослідити біологічну роль гормонів як регуляторів обміну речовин та функцій організму, визначити механізми їх дії та вплив на гомеостаз.

Питання для підготовки та обговорення:

1. Що таке гормони і яка їхня роль в організмі?
2. Які існують типи гормонів за хімічною структурою?
3. Які органи та системи утворюють гормони?
4. Що таке ендокринна система та її основні органи?
5. Як гормони взаємодіють із рецепторами?
6. Які існують типи рецепторів (внутрішньоклітинні, мембранні)?
7. Як працює механізм «першого» та «другого» месенджера?
8. Що таке зворотний зв'язок (feedback) у гормональній регуляції?

Гормони (від грецького *hormao* – стимулюю до руху, спонукаю) – це сполуки, які утворюються спеціалізованими клітинами і залозами внутрішньої секреції (ендокринними залозами) та регулюють метаболічні процеси в окремих органах та організмі в цілому. Це “справжні” гормони. До них належать: гормони гіпоталамуса і гіпофіза, щитоподібної залози, підшлункової залози, коркової частини наднирників, чоловічих та жіночих статевих залоз, епіфіза.

Біологічно активні сполуки (біорегулятори) утворюються в тканинах і органах, які не належать до ендокринної системи, називають біогенними стимуляторами (гістогормонами, гормоноподібними сполуками).

Термін “гормони” вперше використали У. Бейліс і Е. Стерлінг у 1902 р. стосовно до секретину (який на теперішній час відносять до гістогормонів).

Ендокринологія – це розділ біомедичної науки, який вивчає структуру і функцію ендокринних залоз, продукт їх секреції та інші сполуки, що виконують функцію хімічних “посередників” дії гормонів, а також наслідки надмірного або недостатнього утворення гормонів.

«Справжні» гормони мають такі загальні ознаки:

1. Дистантність дії – регулюють обмін і функції клітин на відстані від місця утворення.
2. Специфічність біологічної дії – один гормон за біологічним ефектом не може бути повністю замінений іншим.
3. Висока біологічна активність – гормони діють в дуже низьких концентраціях, але викликають потужну клітинну відповідь. Базальний (не стимульований) рівень гормонів в крові 10^{-6} - 10^{-12} М. При стимуляції секреції концентрація гормонів зростає на декілька порядків.
4. Короткий час життя – час життя гормонів у крові декілька хвилин. Інактивацію здійснюють специфічні ферменти.

5. Гормони діють на клітини через взаємодію зі специфічними рецепторами, які можуть знаходитися або на плазматичній мембрані, або в середині клітини.

Рецептор – це одна або група білкових молекул, яка є високоспецифічною стосовно до відповідного гормону. У структурі рецептора є дві функціональні ділянки:

1. ділянка зв'язування з гормоном;
2. ділянка трансдукції (передачі) гормонального сигналу.

Клітини, які мають рецептор до гормону – це клітини-мішені відповідного гормону.

При порушенні функціонування рецепторів виникають ендокринні патології. Існує три типи таких захворювань, які зв'язані з:

1. недостатнім синтезом білків-рецепторів;
2. зміною структури рецептору (генетичний дефект);
3. блокуванням антитілами білків-рецепторів.

У підтримці координації усіх метаболічних і фізіологічних процесів організму людини бере участь біля 100 гормонів і біогенних стимуляторів.

За хімічною будовою ці гормони можна поділити на 4 групи:

1. білково-пептидні гормони;
2. гормони – похідні амінокислот;
3. стероїдні гормони;
4. біорегулятори – похідні арахідонової кислоти (ейкозаноїди: лейкотрієни, простагландини, тромбоксани).

У таблиці 2 наведений перелік ендокринних залоз та зазначені гормони, які утворюються та секретуються цими залозами.

Таблиця 2

Гормони ендокринних залоз та їх основні функції

Ендокринна залоза	Гормон / гормони, які синтезуються	Основна біологічна функція гормонів
1	2	3
Гіпоталамус	<i>Ліберини, статини, гормони задньої частки гіпофіза (нейрогіпофіза)</i>	Регуляція секреції гормонів гіпофіза, синтез гормонів нейрогіпофіза
Епіфіз	<i>Мелатонін</i>	Регулює циркадні ритми, гальмує старіння, має антиоксидантний ефект
Щитоподібна залоза	<i>Тироксин (Т₄), трийодтиронін (Т₃)</i>	Підсилюють швидкість метаболічних процесів, забезпечують метаболічну рівновагу між анаболічними та катаболічними процесами, збільшують поглинання кисню тканинами
	<i>Кальцитонін (тиреокальцитонін)</i>	Регулює обмін кальцію і фосфору; знижує їх концентрацію у крові
Підшлункова залоза	<i>Інсулін</i>	Зниження концентрації глюкози в крові, підсилення ліпогенезу та синтезу білків
	<i>Глюкагон</i>	Збільшення концентрації глюкози в крові, підсилення ліполізу

1		2	3
Гіпофіз	Задня частка гіпофіза (нейро-гіпофіз)	<i>Окситоцин</i>	Регуляція скорочення гладкої мускулатури матки, гормон «любові та довіри»
		<i>Вазопресин</i> (антидіуретичний гормон – АДГ)	Стимулює реабсорбцію води в дистальних канальцях нирок
	Передня частка гіпофіза (адено-гіпофіз)	<i>Фолікулостимулювальний гормон (ФСГ)</i>	Сприяє розвитку фолікулів яєчників, стимулює синтез естрогенів
		<i>Лютеїнізуювальний гормон (ЛГ)</i>	Стимулює синтез статевих гормонів, формування жовтого тіла
		<i>Соматотропний гормон (СТГ, соматотропін, гормон росту)</i>	Стимулює синтез білків, розщеплення ліпідів, має гіперглікемічний ефект
		<i>Тиреотропний гормон (ТТГ, тиретропін)</i>	Стимулює синтез та секрецію гормонів щитоподібної залози
		<i>Адренокортико-тропний гормон (АКТГ, адренокортикотропін)</i>	Стимулює синтез та секрецію гормонів кори надниркових залоз (глюкокортикоїдів, мінералокортикоїдів, андрогенів, естрогенів, прогестерону)
		<i>Пролактин</i> (лактотропний гормон)	Стимулює формування молочних залоз, забезпечує лактогенез

1		2	3
Надпир- кові залози	Кора	<i>Глюкокортикоїди</i> (кортизол)	У печінці: стимулюють синтез глюкози і клікогену. У позапечінкових тканинах: мають катаболічну дію на обмін білків та ліпідів. Забезпечують адаптацію організму за пролонгованого стресу
		<i>Мінерало- кортикоїди</i> (альдостерон)	Підсилюють реабсорбцію натрію та виведення калію нирками
	Моз- ковий шар	<i>Катехоламіни</i> (адреналін, норадреналін)	Адреналін є контрінсулярним гормоном, збільшує концентрацію глюкози в крові, підсилює ліполіз. Норадреналін виконує функції нейромедіатора
Сім'яники (клітини Лейдіга)		<i>Тестостерон</i>	Має потужний анаболічний ефект на весь організм, забезпечує засвоєння азоту, регулює статеву функцію чоловіків

Продовження табл.2

1	2	3
Яєчники	<i>Естрогени</i>	Беруть участь у регуляції менструального циклу, в період статевого дозрівання мають анаболічну дію, знижують резорбцію кальцію з кісток, стимулюють синтез антиатерогенних ліпопротеїнів, знижують вміст холестеролу в крові тощо
	<i>Прогестерон</i>	Забезпечує необхідні умови для вагітності та її підтримку

Для забезпечення координації процесів в організмі людини наявні більше ніж 150 гормонів та інших біорегуляторів.

Лабораторна робота № 16
КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АДРЕНАЛІНУ
ЗА МЕТОДОМ ФОЛІНА

Мета роботи: кількісне визначення адреналіну в біологічних об'єктах (розчинах) за методом Фоліна з використанням фотометричного аналізу.

Принцип методу. Метод заснований на колориметричному визначенні інтенсивності синього забарвлення, що утворюється при взаємодії адреналіну з реактивом Фоліна. Реактив Фоліна складається із солей фосфорновольфрамової і фосформолібденової кислот. Ці солі при взаємодії з адреналіном відновлюються з утворенням оксидів металів, комплекси яких забарвлюються в синій колір.

Матеріали та реактиви:

Адреналін

10 % розчин вуглекислого натрію

Реактив Фоліна

Обладнання. Скляні палички, пробірки, піпетки градуйовані, штатив для пробірок.

Завдання роботи:

- провести якісну реакцію на адреналін за методом Фоліна (утворення забарвленого комплексу);
- побудувати калібрувальний графік (залежність оптичної густини від концентрації адреналіну) за стандартними розчинами;
- виміряти оптичну густину дослідних зразків на фотометрі/спектрофотометрі при визначеній довжині хвилі;
- обчислити концентрацію адреналіну у досліджуваних зразках за калібрувальним графіком.

Хід роботи. У суху пробірку відміряти піпеткою 1 мл дослідного розчину адреналіну, 4 мл 10 % розчину вуглекислого натрію і 0,5 мл реактиву Фоліна. Вміст пробірки струсити. Через 5 хв інтенсивність отриманого синього забарвлення виміряти на фотоелектроколориметрі з червоним фільтром проти контролю, що містить 1 мл дистильованої води, 4 мл 10 % розчину вуглекислого натрію і 0,5 мл реактиву Фоліна. Знаючи оптичну щільність випробуваного розчину, по калібрувальному графіку визначити невідому концентрацію адреналіну в грамах на літр. Калібрувальний графік побудувати за стандартними пробами, що містять 0,01; 0,02; 0,04 г / л адреналіну. На осі абсцис відкласти значення концентрацій стандартних розчинів адреналіну, на осі ординат – оптичні щільності відповідних концентрацій адреналіну.

Зробити висновок щодо отриманих результатів (якщо виявлені відхилення від теоретичних закономірностей, вказати передбачувану причину розбіжностей):

КОНТРОЛЬНІ ПИТАННЯ

1. Що таке гормони і яка їхня основна роль у організмі?
2. Які основні типи гормонів за хімічною природою існують?
3. Які залози внутрішньої секреції входять до ендокринної системи?
4. Яка роль гіпоталамуса в регуляції гормональної системи?
5. Що таке гіпофіз і які його відділи існують?
6. Які гормони виділяє передня доля гіпофіза (аденогіпофіз)?
7. Які гормони виділяє задня доля гіпофіза (нейрогіпофіз)?
8. Які функції щитоподібної залози і які гормони вона виробляє?
9. Яка роль паращитоподібних залоз і паратгормону?
10. Які гормони виробляє підшлункова залоза (інсулін, глюкагон) і яка їхня функція?
11. Які гормони виробляють надниркові залози (корковий та мозковий шари) і які їхні функції?
12. Що таке стресова реакція і які гормони беруть у ній участь?
13. Які функції гормонів статевих залоз (тестостерон, естрогени, прогестерон)?
14. Що таке механізм дії гормонів через рецептори (мембранні та внутрішньоклітинні)?
15. Що таке другий месенджер (сAMP, IP3/DAG) і яка його роль у гормональній регуляції?
16. Що таке гормональна регуляція за принципом зворотного зв'язку (negative feedback)?
17. Які види зворотного зв'язку існують у ендокринній системі?
18. Що таке пульсативне секреціювання гормонів і чому воно важливе?
19. Що таке гормональний каскад і де він спостерігається?
20. Які причини гіпофункції та гіперфункції ендокринних залоз?
21. Які симптоми характерні для гіпотиреозу та гіпертиреозу?
22. Які симптоми характерні для цукрового діабету 1-го та 2-го типу?
23. Що таке синдром Кушинга і які гормони його викликають?
24. Що таке хвороба Аддісона і які гормони пов'язані з нею?
25. Як гормони впливають на обмін вуглеводів, ліпідів і білків?
26. Які гормони беруть участь у регуляції водно-сольового обміну?
27. Яка роль альдостерону у регуляції натрію і калію?

28. Яка роль вазопресину (антидіуретичного гормону) у підтримці гомеостазу води?
29. Які методи використовуються для визначення рівня гормонів у крові (імунологічні методи, мас-спектрометрія)?

Рекомендована література

1. Гребеник Л. І., Прімова Л. О., Іншина Н. М., Чорна І. В., Гончарова С. А. Біологічна хімія : навчальний посібник / за загальною редакцією Л. І. Гребеник. Суми : Сумський державний університет, 2023. 380 с.
2. Лещенко О. О., Бараненко В. В. Біохімія : підручник. Київ : Здоров'я, 2017. 624 с.
3. Миронович Л. М., Манжос О. П. Біоорганічна хімія : навчальний посібник. Суми : Сумський державний університет, 2015. 480 с.
4. Осип Ю. Л. Біологічна та біоорганічна хімія : методичні вказівки. Луцьк : Луцький національний технічний університет, 2023. 113 с.
5. Стефанишин В. П. Біохімія : підручник для медичних і фармацевтичних факультетів. Київ : Книга плюс, 2018. 912 с.

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ

(Одна відповідь вірна)

ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ

ДО РОЗДІЛУ «ФЕРМЕНТИ ЯК БІОЛОГІЧНІ КАТАЛІЗАТОРИ»

1. Ферменти – це переважно:

- a) ліпіди
- b) вуглеводи
- c) білки
- d) нуклеїнові кислоти

2. Основна функція ферментів полягає у:

- a) транспорту речовин
- b) збереженні енергії
- c) каталізі біохімічних реакцій
- d) структурній підтримці клітини

3. На відміну від неорганічних каталізаторів, ферменти:

- a) витрачаються у реакції
- b) діють при високих температурах
- c) мають високу специфічність
- d) змінюють рівновагу реакції

4. Активний центр ферменту – це:

- a) уся молекула ферменту
- b) ділянка зв'язування коферменту
- c) ділянка взаємодії з субстратом
- d) місце синтезу ферменту

5. Субстрат – це:

- a) продукт реакції
- b) молекула, що каталізує реакцію
- c) речовина, на яку діє фермент
- d) інгібітор ферменту

6. Фермент-субстратний комплекс утворюється:

- a) до реакції
- b) під час реакції
- c) після реакції
- d) незалежно від реакції

7. Специфічність дії ферментів зумовлена:

- a) температурою середовища
- b) рН середовища
- c) будовою активного центру
- d) концентрацією субстрату

8. За хімічною природою прості ферменти складаються з:

- a) білка і коферменту
- b) білка і металу
- c) лише білка
- d) лише небілкової частини

9. Складні ферменти містять:

- a) тільки білкову частину
- b) апофермент і кофактор
- c) лише кофермент
- d) тільки іони металів

10. Апофермент – це:

- a) активна форма ферменту
- b) небілкова частина ферменту
- c) білкова частина ферменту
- d) продукт ферментативної реакції

11. Коферменти – це зазвичай:

- a) білки
- b) ліпіди
- c) вітамінні похідні
- d) мінеральні солі

12. Оптимум рН – це:

- a) мінімальне значення рН
- b) максимальне значення рН
- c) рН, за якого активність ферменту максимальна
- d) рН, за якого фермент денатурує

13. Більшість ферментів людини проявляють максимальну активність при:

- a) рН 1–2
- b) рН 5–6
- c) рН 7–7,4
- d) рН 9–10

14. Підвищення температури вище оптимальної призводить до:

- a) активації ферменту
- b) зростання специфічності
- c) денатурації білка
- d) утворення коферменту

15. Денатурація ферментів супроводжується:

- a) зміною первинної структури
- b) порушенням просторової структури
- c) збільшенням маси молекули
- d) синтезом нових ферментів

16. Швидкість ферментативної реакції залежить від:

- a) концентрації ферменту
- b) концентрації субстрату
- c) температури і рН
- d) усіх перелічених факторів

17. Інгібітори – це речовини, що:

- a) активують ферменти
- b) пригнічують активність ферментів
- c) є субстратами
- d) входять до складу активного центру

18. Конкурентне інгібування виникає, коли інгібітор:

- a) руйнує фермент
- b) зв'язується з іншим ферментом
- c) конкурує із субстратом за активний центр
- d) змінює рН середовища

19. Неконкурентний інгібітор:

- a) має подібну до субстрату будову
- b) зв'язується з активним центром
- c) знижує максимальну швидкість реакції
- d) не впливає на фермент

20. Алостеричні ферменти:

- a) мають один активний центр
- b) не регулюються
- c) мають регуляторні центри
- d) не є білками

21. За міжнародною класифікацією ферменти поділяють на:

- a) 4 класи
- b) 5 класів
- c) 6 класів
- d) 8 класів

22. Оксидоредуктази каталізують реакції:

- a) перенесення функціональних груп
- b) гідролізу
- c) окиснення-відновлення
- d) ізомеризації

23. Трансферази переносять:

- a) електрони
- b) атоми водню
- c) функціональні групи
- d) молекули води

24. Гідролази каталізують реакції:

- a) синтезу АТФ
- b) гідролізу зв'язків
- c) окиснення
- d) відновлення

25. Ліази розривають зв'язки:

- a) з участю АТФ
- b) шляхом гідролізу
- c) без участі води та АТФ
- d) тільки пептидні

26. Ізомерази каталізують:

- a) розщеплення молекул
- b) міжмолекулярні реакції
- c) внутрішньомолекулярні перебудови
- d) синтез полімерів

27. Лігази каталізують реакції:

- a) гідролізу
- b) окиснення
- c) з'єднання молекул з витратою АТФ
- d) ізомеризації

28. Ферменти не змінюють:

- a) швидкість реакції
- b) енергію активації
- c) напрям реакції
- d) хімічну рівновагу

29. Одна молекула ферменту може каталізувати:

- a) лише одну реакцію
- b) одну реакцію за годину
- c) тисячі реакцій за секунду
- d) реакції лише за участі АТФ

30. Висока ефективність ферментів зумовлена:

- a) великою молекулярною масою
- b) наявністю активного центру
- c) високою концентрацією в клітині
- d) здатністю змінювати рівновагу реакції

ВІДПОВІДІ

1 - c	11 - c	21 - c
2 - c	12 - c	22 - c
3 - c	13 - c	23 - c
4 - c	14 - c	24 - b
5 - c	15 - b	25 - c
6 - b	16 - d	26 - c
7 - c	17 - b	27 - c
8 - c	18 - c	28 - d
9 - b	19 - c	29 - c
10 - c	20 - c	30 - b

**ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ
ДО РОЗДІЛУ «ВІТАМІНИ»**

1. Вітаміни – це:

- a) джерела енергії
- b) пластичні речовини
- c) біологічно активні сполуки, необхідні в малих кількостях
- d) основні структурні компоненти клітин

2. Основна роль вітамінів у організмі полягає у:

- a) побудові тканин
- b) забезпеченні енергетичного обміну
- c) регуляції біохімічних процесів
- d) збереженні генетичної інформації

3. Більшість вітамінів:

- a) синтезується в організмі людини
- b) надходить з їжею
- c) є джерелом калорій
- d) входить до складу клітинних мембран

4. Гіповітаміноз – це:

- a) повна відсутність вітаміну
- b) надлишок вітаміну
- c) часткова нестача вітаміну
- d) інфекційне захворювання

5. Авітаміноз – це:

- a) недостатність одного вітаміну
- b) надлишок вітамінів
- c) повна відсутність вітаміну
- d) алергічна реакція

6. Гіпервітаміноз виникає внаслідок:

- a) нестачі вітамінів
- b) порушення травлення
- c) надмірного надходження вітамінів
- d) зниження апетиту

7. До жиророзчинних вітамінів належать:

- a) C, B₁ , B₂
- b) B₆ , B₁₂ , PP
- c) A, D, E, K
- d) C, PP, H

8. До водорозчинних вітамінів належать:

- a) A і D
- b) E і K
- c) група B і C
- d) A і E

9. Вітамін A (ретинол) необхідний для:

- a) синтезу колагену
- b) нормального зору
- c) згортання крові
- d) обміну кальцію

10. Нестача вітаміну A призводить до:

- a) рахіту
- b) цинги
- c) курячої сліпоти
- d) пелагри

11. Вітамін D регулює обмін:

- a) заліза
- b) йоду
- c) кальцію і фосфору
- d) натрію

12. Дефіцит вітаміну D у дітей викликає:

- a) скорбут
- b) анемію
- c) рахіт
- d) остеопороз

13. Вітамін E є:

- a) коферментом
- b) гормоном
- c) антиоксидантом
- d) пігментом

14. Основна функція вітаміну К – участь у:

- a) синтезі колагену
- b) згортанні крові
- c) енергетичному обміні
- d) утворенні гормонів

15. Вітамін С (аскорбінова кислота) бере участь у:

- a) синтезі нуклеїнових кислот
- b) згортанні крові
- c) синтезі колагену
- d) метаболізмі ліпідів

16. Нестача вітаміну С призводить до:

- a) рахіту
- b) цинги
- c) бері-бері
- d) пелагри

17. Вітамін В₁ (тіамін) бере участь у:

- a) ліпідному обміні
- b) вуглеводному обміні
- c) обміні нуклеїнових кислот
- d) синтезі білка

18. Дефіцит вітаміну В₁ спричиняє:

- a) анемію
- b) бері-бері
- c) рахіт
- d) дерматит

19. Вітамін В₂ (рибофлавін) входить до складу:

- a) НАД
- b) ФАД і ФМН
- c) АТФ
- d) глутатіону

20. Вітамін РР (ніацин) дефіцит якого викликає:

- a) скорбут
- b) пелагру
- c) рахіт
- d) бері-бері

21. Вітамін В₆ (піридоксин) бере участь у:

- a) обміні амінокислот
- b) обміні кальцію
- c) синтезі стероїдів
- d) фотохімічних реакціях

22. Вітамін В₁₂ необхідний для:

- a) синтезу гемоглобіну
- b) нормального кровотворення
- c) обміну кальцію
- d) синтезу колагену

23. Дефіцит вітаміну В₁₂ призводить до:

- a) гемолітичної анемії
- b) мегалобластної анемії
- c) залізодефіцитної анемії
- d) апластичної анемії

24. Фолієва кислота належить до:

- a) жиророзчинних вітамінів
- b) вітамінів групи В
- c) антиоксидантів
- d) гормонів

25. Основним джерелом вітаміну D є:

- a) овочі
- b) фрукти
- c) синтез у шкірі під дією УФ
- d) зернові культури

26. Вітамін Н (біотин) бере участь у:

- a) карбоксилуванні
- b) окисненні глюкози
- c) фосфорилюванні
- d) дезамінуванні

27. Вітамін К синтезується переважно:

- a) у печінці
- b) у нирках
- c) кишковою мікрофлорою
- d) у підшлунковій залозі

28. Надлишок жиророзчинних вітамінів може призвести до:

- a) авітамінозу
- b) гіповітамінозу
- c) гіпервітамінозу
- d) алергії

29. Вітаміни групи В переважно виконують роль:

- a) гормонів
- b) коферментів
- c) структурних білків
- d) антибіотиків

30. Вітаміноподібною речовиною є:

- a) ретинол
- b) тіамін
- c) холін
- d) аскорбінова кислота

ВІДПОВІДІ

1 - c	11 - c	21 - a
2 - c	12 - c	22 - b
3 - b	13 - c	23 - b
4 - c	14 - b	24 - b
5 - c	15 - c	25 - c
6 - c	16 - b	26 - a
7 - c	17 - b	27 - c
8 - c	18 - b	28 - c
9 - b	19 - b	29 - b
10 - c	20 - b	30 - c

**ТЕСТОВІ ЗАВДАННЯ ДЛЯ САМОПЕРЕВІРКИ
ДО РОЗДІЛУ «ГОРМОНИ»**

1. Гормони – це:

- a) ферменти клітини
- b) біологічно активні речовини, що регулюють функції організму
- c) структурні білки
- d) джерела енергії

2. Основна функція гормонів полягає у:

- a) каталізі реакцій
- b) захисті клітин
- c) гуморальній регуляції процесів
- d) перенесенні кисню

3. Гормони синтезуються переважно:

- a) у печінці
- b) у нервових клітинах
- c) у залозах внутрішньої секреції
- d) у м'язах

4. Гормони діють:

- a) тільки на місці утворення
- b) лише через нервову систему
- c) на клітини-мішені
- d) лише під час стресу

5. Клітини-мішені характеризуються наявністю:

- a) мітохондрій
- b) ядра
- c) специфічних рецепторів
- d) лізосом

6. За хімічною природою гормони поділяють на:

- a) органічні й неорганічні
- b) білкові, стероїдні та похідні амінокислот
- c) ферментні та неферментні
- d) водорозчинні й нерозчинні

7. До пептидних гормонів належить:

- a) тироксин
- b) кортизол
- c) інсулін
- d) тестостерон

8. Стероїдні гормони синтезуються з:

- a) глюкози
- b) холестеролу
- c) амінокислот
- d) жирних кислот

9. Похідними амінокислот є гормони:

- a) інсулін і глюкагон
- b) кортизол і альдостерон
- c) тироксин і адреналін
- d) естроген і прогестерон

10. Інсулін виробляється:

- a) α -клітинами підшлункової залози
- b) β -клітинами підшлункової залози
- c) наднирниками
- d) щитоподібною залозою

11. Основна дія інсуліну полягає у:

- a) підвищенні рівня глюкози в крові
- b) зниженні рівня глюкози в крові
- c) стимуляції ліполізу
- d) гальмуванні синтезу глікогену

12. Глюкагон діє протилежно до:

- a) адреналіну
- b) кортизолу
- c) інсуліну
- d) тироксину

13. Адреналін синтезується:

- a) у кірковій речовині наднирників
- b) у мозковій речовині наднирників
- c) у гіпофізі
- d) у щитоподібній залозі

14. Дія адреналіну спрямована на:

- a) зниження артеріального тиску
- b) уповільнення серцевої діяльності
- c) мобілізацію енергетичних ресурсів
- d) пригнічення глікогенолізу

15. Тироксин (Т₄) регулює:

- a) водно-сольовий обмін
- b) кальцієвий обмін
- c) основний обмін
- d) синтез інсуліну

16. Дефіцит гормонів щитоподібної залози у дітей призводить до:

- a) акромегалії
- b) кретинізму
- c) гігантизму
- d) тиреотоксикозу

17. Гормон росту (соматотропін) синтезується у:

- a) гіпоталамусі
- b) щитоподібній залозі
- c) гіпофізі
- d) наднирниках

18. Надлишок соматотропіну у дорослих спричиняє:

- a) гігантизм
- b) карликовість
- c) акромегалію
- d) кретинізм

19. Кортизол належить до:

- a) мінералокортикоїдів
- b) глюкокортикоїдів
- c) статевих гормонів
- d) катехоламінів

20. Основна функція кортизолу:

- a) зниження рівня глюкози
- b) протизапальна та стресова дія
- c) регуляція кальцієвого обміну
- d) стимуляція росту

21. Альдостерон регулює:

- a) обмін кальцію
- b) водно-сольовий баланс
- c) вуглеводний обмін
- d) білковий обмін

22. Паратгормон підвищує рівень у крові:

- a) натрію
- b) калію
- c) кальцію
- d) глюкози

23. Кальцитонін діє:

- a) протилежно до паратгормону
- b) так само, як паратгормон
- c) незалежно від кальцію
- d) лише в дитячому віці

24. Естрогени і прогестерон – це гормони:

- a) гіпофіза
- b) наднирників
- c) статевих залоз
- d) підшлункової залози

25. Тестостерон є основним:

- a) жіночим статевим гормоном
- b) чоловічим статевим гормоном
- c) гормоном росту
- d) гормоном стресу

26. Механізм дії стероїдних гормонів пов'язаний з:

- a) мембранними рецепторами
- b) іонними каналами
- c) внутрішньоклітинними рецепторами
- d) вторинними месенджерами

27. Пептидні гормони реалізують дію через:

- a) ядро клітини
- b) мембранні рецептори
- c) ДНК
- d) рибосоми

28. Вторинним месенджером є:

- a) АТФ
- b) цАМФ
- c) ДНК
- d) холестерол

29. Гіпоталамо-гіпофізарна система забезпечує:

- a) травлення
- b) нервову регуляцію
- c) координацію ендокринної системи
- d) газообмін

30. Порушення гормональної регуляції призводить до:

- a) зниження температури тіла
- b) гормональних захворювань
- c) авітамінозу
- d) анемії

ВІДПОВІДІ

1 - b	11 - b	21 - b
2 - c	12 - c	22 - c
3 - c	13 - b	23 - a
4 - c	14 - c	24 - c
5 - c	15 - c	25 - b
6 - b	16 - b	26 - c
7 - c	17 - c	27 - b
8 - b	18 - c	28 - b
9 - c	19 - b	29 - c
10 - b	20 - b	30 - b

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Белчгазі В. Й., Сікура А. О., Глюдзик М. Ю. Біологічна хімія : методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт для студентів біологічного факультету денної та заочної форми навчання / упорядники. Ужгород, 2017. 55 с.
2. Божко Н. В., Чорна І. В. Метаболізм вуглеводів : конспект лекцій. Суми : Сумський державний університет, 2022. 89 с.
3. Гонський Я. І., Максимчук Т. П. Біохімія людини : підручник. Тернопіль : Укрмедкнига, 2020. 736 с.
4. Губський Ю. І. Біоорганічна хімія : підручник. 3-тє видання, стереотипне. Вінниця : Нова Книга, 2019. 416 с.
5. Гребеник Л. І. та ін. Біологічна хімія : навчальний посібник. Суми : Сумський державний університет, 2023. 380 с.
6. Зіменковський Б. С. та ін. Біологічна і біоорганічна хімія : підручник : у 2 книгах. Київ : ВСВ «Медицина», 2022. Книга 1. 272 с ; Книга 2. 544 с.
7. Лендел В. Г. та ін. Біоорганічна хімія : навчальний посібник. Ужгород : Патент, 2014. 360 с.
8. Мельничук Д. О. та ін. Біохімія : практикум. Київ : НУБіП України, 2012. 528 с.
9. Мехед О. Б., Яковенко Б. В., Третьак О. П. Біоорганічна хімія : навчальний посібник. Чернігів : ЧНПУ імені Т. Г. Шевченка, 2013. 208 с.
10. Миронович Л. М., Манжос О. П. Біоорганічна хімія (тестові завдання) : навчальний посібник. Суми : Сумський державний університет, 2015. 191 с.
11. Остапченко Л. І. та ін. Біоорганічна хімія : практикум. Київ : ВПЦ «Київський університет», 2019. 400 с.
12. Осип Ю. Л. Біологічна та біоорганічна хімія : методичні вказівки до лабораторного практикуму. Луцьк : Луцький національний технічний університет, 2023. 113 с.
13. Різак Г. В. Біоорганічна хімія : навчально-методичний посібник. Ужгород : ФОП Сабов А. М., 2024. 667 с.
14. Склярів О. Я., Фартушок Н. В., Бондарчук Т. І. Біологічна хімія : підручник. Тернопіль : ТДМУ, 2020. 706 с.

Навчальне видання

БІОХІМІЯ

Частина 2. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ, ВІТАМІНІВ, ГОРМОНІВ

ЕЛЕКТРОННІ МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до лабораторних робіт
для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти
біологічного факультету
зі спеціальності Біотехнології та біоінженерія

Електронне практичне видання

Укладачі:

Чернадчук Сніжана Сергіївна
Будняк Олександр Костянтинович
Сорокін Андрій Вікторович

В авторській редакції

Затв. авт. 26.08.2026. Шрифт Times New Roman.
Системні вимоги: операційна система сумісна з програмним забезпеченням
для читання файлів формату PDF.
Обсяг 1,7 МБ. Зам. № 3224.

Видавець:

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
вул. Змієнка Всеволода, буд. 2, м. Одеса, 65001, Україна
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 8592 від 23.03.2026 р.
Тел.: (048) 723 28 39, e-mail: druk@onu.edu.ua