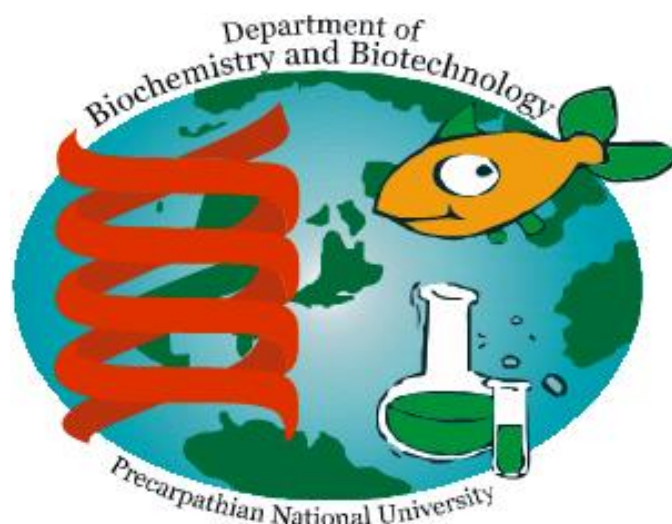


ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя  
Стефаника»  
Факультет природничих наук  
Кафедра біохімії та біотехнології



**МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ ДО ПРОВЕДЕННЯ  
ЛАБОРАТОРНИХ ЗАНЯТЬ З КУРСУ  
«БІОМОЛЕКУЛИ ЖИВОГО ОРГАНІЗМУ: БІЛКИ,  
ВУГЛЕВОДИ ТА ВІТАМІНИ»**



Івано-Франківськ  
-2016-

УДК 577.112+577.114+577.16

Методичні вказівки до проведення лабораторних занять з курсу «Біомолекули живого організму: білки, вуглеводи та вітаміни» / під заг. ред. Н.М. Мосійчук // Методичні вказівки. 2016. – 20 с.

У посібнику викладені основні методичні рекомендації для проведення лабораторних занять з дослідження біомолекул живого організму. Наведено основні методи якісного виявлення амінокислот, вуглеводів та вітамінів у біологічному матеріалі.

**Під заг. редакцією к.б.н. Мосійчук Н.М.**

**Автори-укладачі:** к.б.н. Мосійчук Н.М., к.б.н., доц. Байляк М.М., к.б.н., викл. Аброт О.Б., к.б.н., доц. Господарьов Д.В., к.б.н., доц. Гусак В.В.

**Схвалено до друку Вченою радою  
факультету природничих наук**

**Рецензенти:**

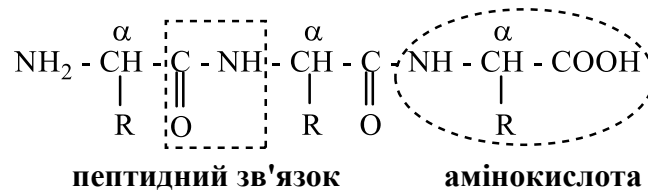
Професор, завідувач кафедри та біохімії факультету природничих наук ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника», доктор біологічних наук Луцзяк В.І.

Доцент кафедри біохімії та біотехнології факультету природничих наук ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника», доктор біологічних наук Семчишин Г.М.

# БІЛКИ

## Лабораторна робота № 1 Якісні реакції на білки

Білки – це особлива група хімічних речовин, з яких побудовані всі живі організми. За хімічною структурою білки, або протеїни – це високомолекулярні азотовмісні органічні речовини, побудовані з амінокислот, що з'єднані між собою пептидними зв'язками. Іншими словами, білки – це полімери, мономерами яких є амінокислоти. Спільною ознакою для всіх амінокислот є наявність амінної (-NH<sub>2</sub>) та карбоксильної (-COOH) груп. Відрізняються амінокислоти тільки радикалом (R), до складу якого можуть входити додаткові аміно- та карбоксильні групи, а також специфічні групи, такі як гідроксильна, бензольне кільце або атоми сульфуру.



До складу природних білків входять 20 амінокислот, які кодуються генами і називаються протеїногенними або стандартними амінокислотами. Присутність білків у біологічних об'єктах можна виявити за допомогою кольорових реакцій. Як правило, в цих реакціях беруть участь специфічні групи амінокислот або групи, з яких складається пептидний зв'язок – карбонільна та амідна. Існують універсальні кольорові реакції, характерні для всіх білків незалежно від амінокислотного складу (біуретова, нінгідрінова), а також специфічні реакції, у яких беруть участь тільки певні амінокислотні залишки молекули білка (ксантопротеїнова, Фоля, Паулі, Сакагучі та нітропруссидна реакція).

### Реактиви

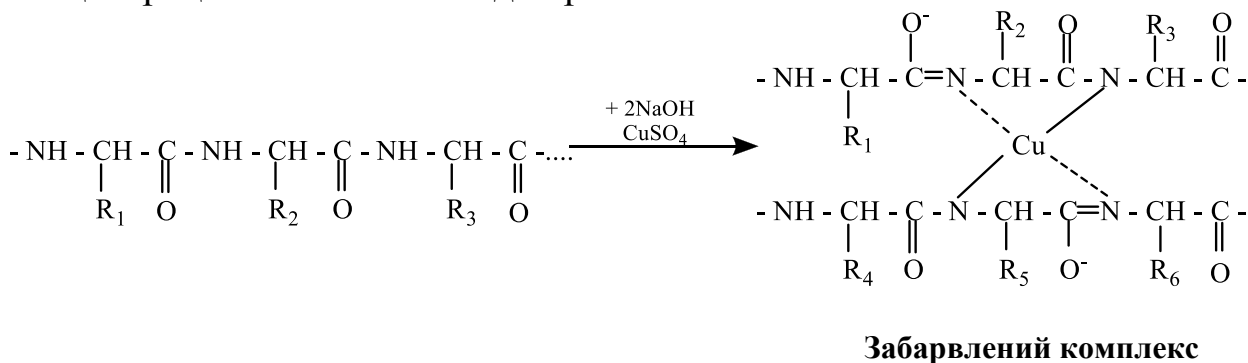
0,2% розчин $\alpha$ -нафтолу	NaClO
10 та 30% розчини NaOH	5% розчин Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>
CH <sub>3</sub> COOH (концентрована)	2 % розчин CuSO <sub>4</sub>
0,5% розчин нінгідрину	1% розчин сульфанілової кислоти в 10% CH <sub>3</sub> COOH
HNO <sub>3</sub> (концентрована)	0,5% розчини NaNO <sub>2</sub>
10% розчин Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	

### Досліджувані зразки:

- 10% розчин яєчного білка;
- 1% розчин желатину (фібрилярний білок сполучної тканини тварин);
- екстракт з печінки тварин.

### 1.1. Біуретова реакція (на виявлення пептидного зв'язку)

Позитивну біуретову реакцію можуть давати білки та пептиди, які містять у молекулі не менше двох пептидних зв'язків. У лужному середовищі іони міді (II) утворюють комплекси з пептидними зв'язками, внаслідок чого розчини білків набувають фіолетового забарвлення з червоним або синім відтінком. Інтенсивність забарвлення залежить від концентрації білка і йонів міді в розчині.

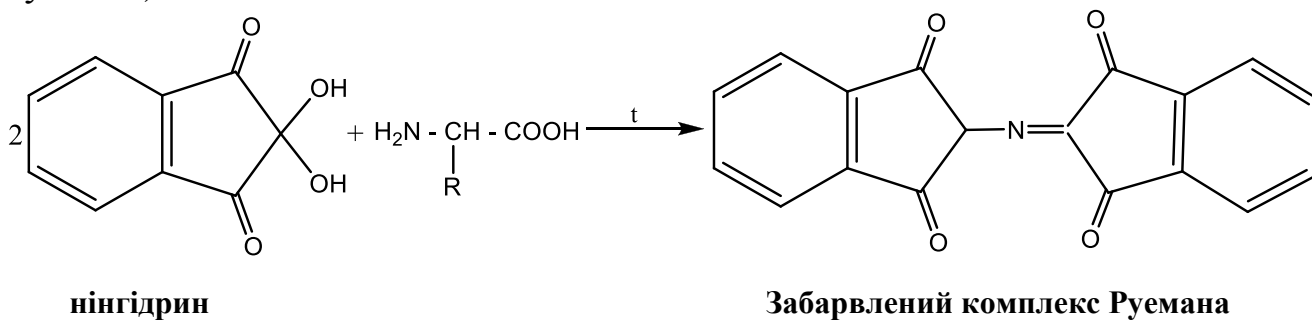


#### Хід роботи

1. У 3 пробірки налити по 1 мл досліджуваних зразків.
2. Додати 2 мл 10% NaOH.
3. Додати 0,1 мл 2% розчину сульфату міді (II).
4. Результати спостережень занести до таблиці.

### 1.2. Нінгідринова реакція (на виявлення амінокислот)

Реакція властива як для вільних амінокислот, так і тих, які входять до складу білків та поліпептидів. При кип'ятінні білка з розчином нінгідрину (трикетогідринденгідрат), амінокислоти окислюються з утворенням вуглекислого газу, аміаку і альдегіду. Нінгідрин при цьому відновлюється. Відновлений нінгідрин конденсується з аміаком і молекулою окисленого нінгідрину, утворюючи сполуку синьо-фіолетового кольору (комплекс Руемана):



#### Хід роботи

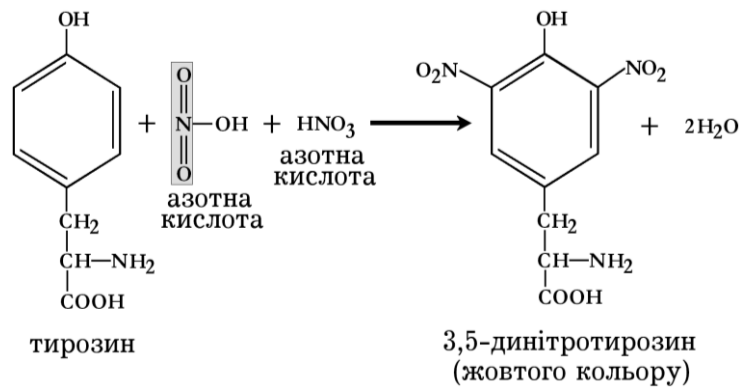
1. У 3 пробірки внести по 1 мл досліджуваних зразків.
2. Додати 1 мл 0,5% розчину нінгідрину.
3. Суміш кип'ятити 1-2 хвилини.

#### 4. Результати спостережень занести до таблиці.

##### 1.3. Ксантопротеїнова реакція (на виявлення ароматичних амінокислот)

Ксантопротеїнова реакція застосовується для визначення наявності ароматичних амінокислот: триптофану, фенілаланіну, тирозину. Ароматичні амінокислоти входять як до складу білків і є попередниками багатьох нейромедіаторів (наприклад, серотоніну) та гормонів (наприклад, адреналіну).

В цій реакції залишки амінокислоти тирозину, наявні в білку, взаємодіють з нітратною кислотою з утворенням динітротирозину. Динітротирозин має жовтий колір, який після додавання лугу переходить в оранжевий.



##### Хід роботи

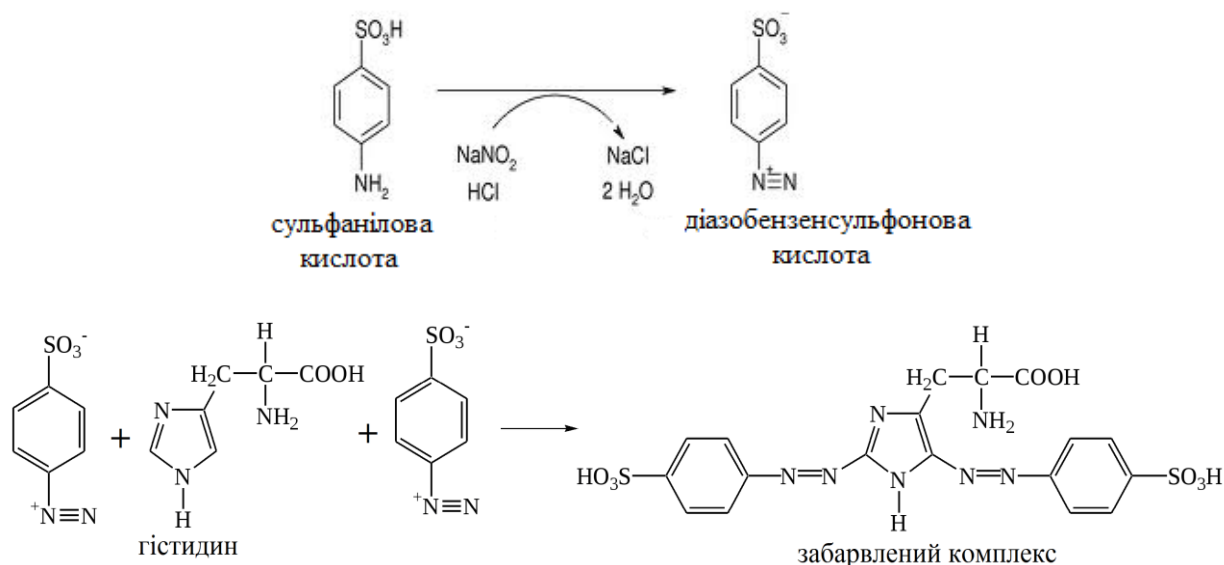
1. У пробірку внести по 1 мл досліджуваних зразків.
2. Додати 0,5 мл концентрованої HNO<sub>3</sub>.
3. Обережно нагріти на водяній бані.
4. Охолодити та додати 2 мл 10 % розчину NaOH.
5. Результати спостережень занести до таблиці.

##### 1.4. Реакція Паулі (на виявлення амінокислот гістидину та тирозину)

Реакція Паулі дозволяє виявити в білках амінокислоти гістидин та тирозин. Гістидин є умовно незамінною кислотою (незамінна для дітей). Окрім будівельної функції у білках, гістидин використовується для синтезу гістаміну, важливого медіатора запалення та алергічних реакцій. Тирозин належить до замінних амінокислот в організмі людини і може синтезуватися з незамінної амінокислоти фенілаланіну. Спадковий дефект у ферментах синтезу тирозину з фенілаланіну зумовлює захворювання фенілкетонурію, яке супроводжується ураженням нервової системи. Тирозин необхідний для синтезу меланіну (пігменту, що визначає колір шкіри і волосся), а також гормонів щитовидної залози, наднирників та гіпофізу.

Принцип реакції Паулі полягає у тому, що гістидин і тирозин утворюють з діазобензолсульфоною кислотою комплексні сполуки жовто-

червоного кольору. Діазобензолсульфонова кислота утворюється в реакції діазотування при взаємодії сульфанілової кислоти з нітритом натрію у кислому середовищі.



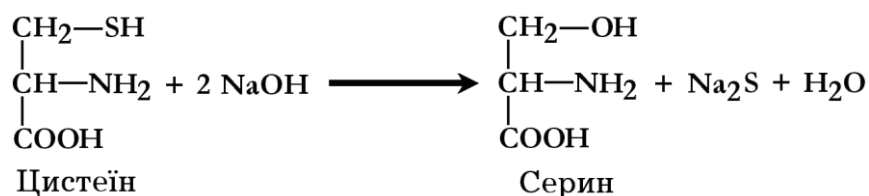
### Хід роботи

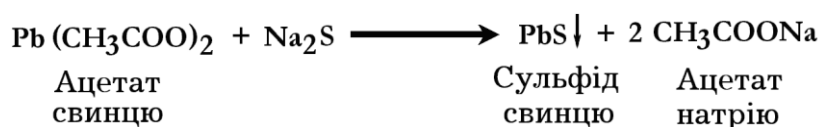
1. У 3 пробірки налити по 0,25 мл 1% розчину сульфанілової кислоти.
2. Додати по 0,5 мл 0,5% розчину  $\text{NaNO}_2$ .
3. Вміст пробірок струсити і швидко додати по 0,5 мл досліджуваних зразків.
4. Перемішати та додати по 0,5 мл 10% розчину  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .
5. Результати спостережень занести до таблиці.

#### 1.5. Реакція Фоля (на виявлення сірковмісних амінокислот)

Реакція Фоля вказує на наявність у білках амінокислот цистину та цистеїну, які містять сірку. Цистеїн є замінною амінокислотою, яка може синтезуватися у нашому організмі з серину за участю вітаміну  $\text{B}_6$ . Цистин складається з двох молекул цистеїну, зв'язаних дисульфідним зв'язком. Цистеїн входить до складу білків кератинів, які є складовими нігтів, шкіри і волосся. Крім того, дана амінокислота бере участь у синтезі травних ферментів та важливого клітинного антиоксиданту глутатіону.

Принцип реакції полягає в тому, що сірковмісні амінокислоти (цистин і цистеїн) білків при нагріванні в присутності  $\text{NaOH}$  руйнуються з утворенням сульфідіду натрію. Останній реагує з іонами свинцю з утворенням чорного осаду сульфідіду свинцю:





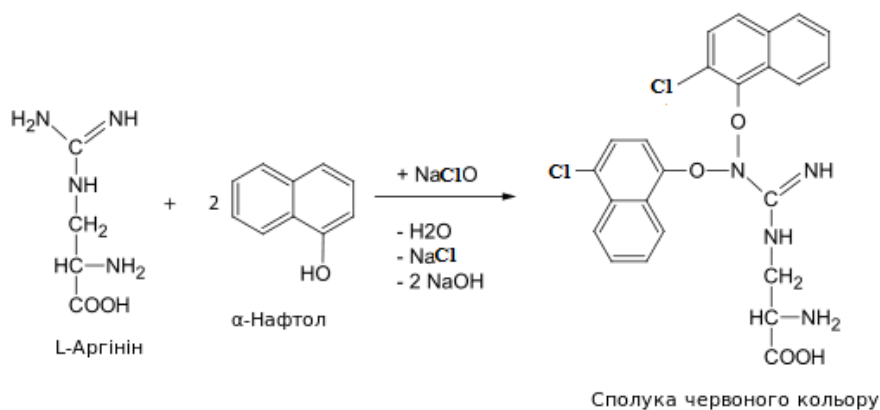
### Хід роботи

1. У три пробірки налити по 1 мл досліджуваних зразків.
2. Додати у всі пробірки по 1 мл 30% розчину NaOH.
3. Додати у всі пробірки по три краплі 5% розчину ацетату свинцю.
4. Нагрівати впродовж трьох хвилин на водяній бані.
5. Результати спостережень занести в таблицю.

### 1.6. Реакція Сакагучі (на виявлення аргініну)

Реакція Сакагучі є специфічною на амінокислоту аргінін. Аргінін є умовно незамінною кислотою (незамінна для дітей і замінна для дорослих). Аргінін входить до складу важливих клітинних білків – гістонів (беруть участь у формуванні хромосом), а також необхідний для синтезу колагену (еластичність судин та пружність шкіри), сечовини (знешкодження аміаку), поліамінів (регулюють мітоз) та оксиду нітрогену (II). Оксид нітрогену (NO) регулює тонус судин та викликає розслаблення гладеньких м'язів, має антимікробну дію та регулює передачу нервових імпульсів у синапсах.

Якісна реакція на аргінін базується на його взаємодії з  $\alpha$ -нафтолом з утворенням забарвленого комплексу.



### Хід роботи

1. У 3 пробірки налити по 1 мл досліджуваних зразків.
2. Додати по 1 мл 10% розчину NaOH.
3. Додати по 0,25 мл 0,2% спиртового розчину  $\alpha$ -нафтолу.
4. Вміст пробірок добре перемішати та додати по 0,5 мл розчину гіпохлориту натрію та знову перемішати.
5. Результати спостережень занести до таблиці.

Назва реакції	Спостереження	Чим зумовлена реакція
<i>Біуретова</i>		
<i>Нінгідрінова</i>		
<i>Ксантопротеїнова</i>		
<i>Паулі</i>		
<i>Фоля</i>		
<i>Сакагучі</i>		



# ВУГЛЕВОДИ

## Лабораторна робота № 2 Якісні реакції на вуглеводи

Вуглеводи – це органічні сполуки з емпіричною формулою  $C_m(H_2O)_n$ . Вуглеводи є важливими компонентами клітин всіх живих організмів. За кількістю мономерів, виділяють три основні класи вуглеводів: моносахариди, олігосахариди і полісахариди. *Моносахариди* або прості вуглеводи – це похідні багатоатомних спиртів, які містять альдегідну або кетонну групу. Найпоширеніші в природі моносахариди – глюкоза та фруктоза. *Олігосахариди* – це коротколанцюгові молекули, що складаються з 2-10 моносахаридних одиниць, з'єднаних глікозидними зв'язками. Найпоширенішими серед них є дисахариди, що містять дві моносахаридні одиниці. Типовими представниками дисахаридів є сахароза (тростинний чи буряковий цукор), мальтоза та лактоза. *Полісахариди* – складаються з десятків та сотень моносахаридів, які зв'язуються один з одним глікозидними зв'язками та утворюють лінійні або розгалужені ланцюги. Полісахариди поділяються на гомополісахариди, які складаються тільки з моносахаридних одиниць одного типу, і гетерополісахариди, які містять два і більше типів моносахаридних одиниць. До найбільш відомих гомополісахаридів належать целюлоза, крохмаль, глікоген та хітин, до гетерополісахаридів – гіалуронова кислота та гепарин.

### Реактиви

1% розчин глюкози	10% розчин NaOH
1% розчин фруктози	2% розчин $CuSO_4$
1% розчин мальтози	0,1% розчин резорцину
1% розчин сахарози	30% HCl
1% розчин крохмалю	25% розчин аміаку
1% розчин лактози	Розчин Люголя
	(0,1 % р-н $I_2$ в 1 % р-ні KI)
6,6% $(CH_3COO)_2Cu$ в 0,8% $CH_3COOH$ (конц.)	10% $H_2SO_4$

### 2.1. Гідролітичне розщеплення крохмалю

Крохмаль – рослинний гомополісахарид, який складається з двох фракцій – амілози та амілопектину. Амілоза – лінійний полісахарид, молекули якого містять від 200 до 1000 мономерів (залишків глюкози), тоді як амілопектин – розгалужений полісахарид із залишків глюкози. При додаванні йоду амілоза зафарбовується в синій колір, а амілопектин – у червоно-фіолетовий. Поява синього забарвлення зумовлена утворенням

комплексу (клатрату), в якому частинки йоду («молекули-гості») вбудовуються в кристалічну структуру амілози («молекул-господарів»).

При нагріванні крохмалю з мінеральними кислотами або при дії ферментів амілаз відбувається гідроліз з утворенням проміжних продуктів розпаду – декстринів та кінцевих – дисахариду мальтози і моносахариду глюкози. Продукти гідролізу не дають інтенсивного синього забарвлення при взаємодії з йодом.

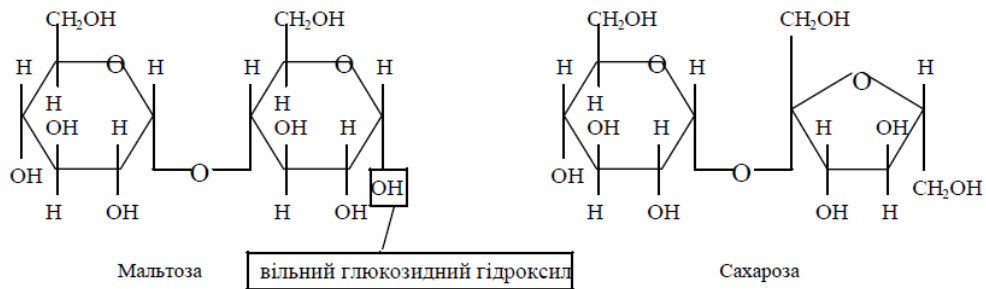
### Хід роботи

1. У п'ять пронумерованих пробірок налити по 3 мл дистильованої води.
2. У всі пробірки додати по 1 краплі розчину йоду.
3. У окрему пробірку (№6) додати 3 мл 1% розчину крохмалю та 1 мл 10%  $H_2SO_4$ .
4. Вміст пробірки №6 перемішати та помістити її на киплячу водяну баню.
5. Через кожні 15 хв інкубації на водяній бані здійснювати відбір частини суміші і у кількості 2 краплі переносити у пронумеровані пробірки, які містять розчин йоду, за наступною схемою:  
0 хв інкубації – внесення 2 крапель суміші у пробірку №1  
15 хв інкубації – внесення 2 крапель суміші у пробірку №2  
30 хв інкубації – внесення 2 крапель суміші у пробірку №3  
45 хв інкубації – внесення 2 крапель суміші у пробірку №4  
60 хв інкубації – внесення 2 крапель суміші у пробірку №5
6. Результати спостережень занести в таблицю.

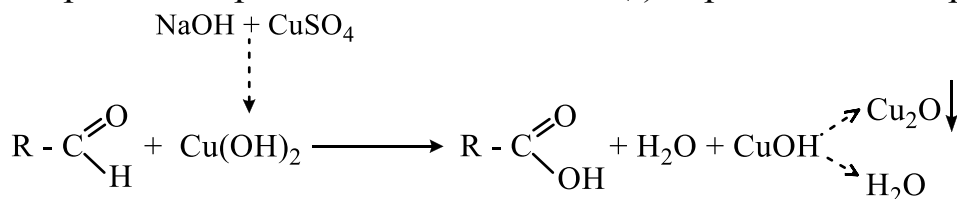
№ проб	Час кипіння	Колір з розчином $I_2$	Продукт гідролізу
1			
2			
3			
4			
5			

### 2.2. Реакція Тромера

Вуглеводи, які містять вільні альдегідні групи, можуть вступати в окисно-відновні реакції. У деяких моно- і дисахаридів у циклічній формі реакційноздатним є глюкозидний (напівацетальний) гідроксил біля першого атома Карбону.



Реакція Тромера полягає в окисненні альдегідної групи вуглеводу з утворенням альдонових кислот при взаємодії з гідроксидом міді (II). При цьому останній відновлюється до гідроксиду міді (I) зі зміною забарвлення розчину із синього на жовтий. Гідроксид міді (I) жовтого кольору при подальшому нагріванні переходить в оксид міді (I) червоного кольору:



При надлишку  $\text{CuSO}_4$  у середовищі під час нагрівання може утворюватися оксид міді (II) – осад чорного кольору, який заважає визначенню.

### Хід роботи

1. У п'ять пронумерованих пробірок додати:

Пробірка №1 – 1 мл 1% розчин глюкози;

Пробірка №2 – 1 мл 1% розчин фруктози;

Пробірка №3 – 1 мл 1% розчин мальтози;

Пробірка №4 – 1 мл 1% розчин сахарози;

Пробірка №5 – 1 мл 1% розчин крохмалю.

2. У кожену пробірку додати по 1 мл 10% розчину  $\text{NaOH}$ .

3. По краплях додати 2% розчин  $\text{CuSO}_4$  до утворення голубого осаду гідроксиду міді.

4. Поставити пробірки на водяну баню на 3-5 хв.

5. Результати спостережень занести в таблицю.

№ проб	Вуглевод	Колір після нагрівання	Висновки
1	Глюкоза		
2	Фруктоза		
3	Мальтоза		
4	Сахароза		
5	Крохмаль		

### 2.3. Реакція Барфед

Дана реакція дозволяє швидко відрізнити відновлювальні моносахариди від дисахаридів. Вона ґрунтується на тому, що відновні властивості моносахаридів зберігаються в кислому та лужному середовищі, тоді як дисахариди відновлюють  $\text{Cu}^{2+}$  тільки в лужному середовищі. При взаємодії моносахаридів з реактивом Барфед (6,6% розчин ацетату міді (II) в 0,8% оцтовій кислоті) червоний осад оксиду міді (I) з'являється через 2-3 хв, тоді як у випадку з дисахаридами – лише через 15-20 хв, коли відбудеться їх гідролітичне розщеплення.

#### Хід роботи

1. У чотири пробірки налити по 1 мл наступних розчинів:

Пробірка №1 – 1% розчин глюкози;

Пробірка №2 – 1% розчин фруктози;

Пробірка №3 – 1% розчин лактози;

Пробірка №4 – 1% розчин мальтози.

1. У пробірки додати по 1 мл реактиву Барфед.

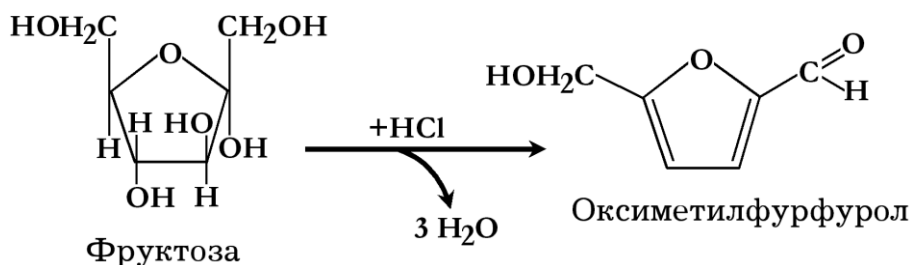
2. Поставити пробірки на киплячу водяну баню на 2-3 хвилини.

3. Результати спостережень занести в таблицю.

№ проб	Вуглевод	Колір після нагрівання	Висновки
1	Глюкоза		
2	Фруктоза		
3	Мальтоза		
4	Лактоза		

### 2.4. Виявлення фруктози (реакція Селіванова)

Принцип якісної реакції Селіванова ґрунтується на здатності кетоз у вільному стані реагувати з концентрованою соляною кислотою. У випадку фруктози ця реакція проходить з утворенням оксиметилфурфуролу:



Оксиметилфурфурол в присутності резорцину при нагріванні дає продукти конденсації, які мають червоне забарвлення.

### Хід роботи

1. У дві пробірки додати:  
Пробірка №1 – 0,5 мл 1% розчин глюкози.  
Пробірка №2 – 0,5 мл 1% розчин фруктози.
2. У кожену пробірку додати по 0,5 мл 0,1% розчину резорцину.
3. У кожену пробірку додати по 1,5 мл 30% соляної кислоти.
4. Вміст пробірок перемішати і помістити у водяну баню на 5 хв.

Висновки:

---

---

---

### 2.5. Виявлення лактози

Лактоза – дисахарид, який складається із залишків глюкози та галактози. Інша назва лактози – молочний цукор, оскільки вона є обов'язковим компонентом молока. В людському організмі лактоза є субстратом для розвитку корисних лактобактерій, які входять до мікрофлори кишківника, а також сприяє засвоєнню кальцію.

При кип'ятінні лактози з гідроксидом натрію та амонію утворюються продукти реакції червоно-оранжевого забарвлення. Дана реакція дозволяє відрізнити лактозу від інших редукуючих вуглеводів.

### Хід роботи

1. У дві пробірки додати:  
Пробірка №1 – 1 мл 1% розчин лактози.  
Пробірка №2 – 1 мл 1% розчин мальтози.
2. У кожену пробірку додати по 0,5 мл 25% розчину аміаку.
3. У кожену пробірку додати по 2 краплі 10% NaOH.
4. Вміст пробірок перемішати і помістити у водяну баню на 5 хв.

Висновки:

---

---

---

### 2.7. Виявлення сахарози

Сахароза (або звичайний цукор) є найпоширенішим дисахаридом у нашому раціоні. Вона складається з моносахаридів глюкози і фруктози. При взаємодії з іонами кобальту  $Co^{2+}$  в лужному середовищі сахароза утворює сполуку фіолетового забарвлення.

### Хід роботи

1. У дві пробірки додати:  
Пробірка №1 – 2 мл 1% розчин сахарози.  
Пробірка №2 – 2 мл 1% розчин мальтози.
2. У кожену пробірку додати по 1 мл 5% розчину NaOH.
3. У кожену пробірку додати по 2 краплі 2%  $\text{CoSO}_4$ .
4. Вміст пробірок струсити.

Висновки:

---

---

---

## ВІТАМІНИ

### Лабораторна робота № 3

### Якісні реакції на вітаміни

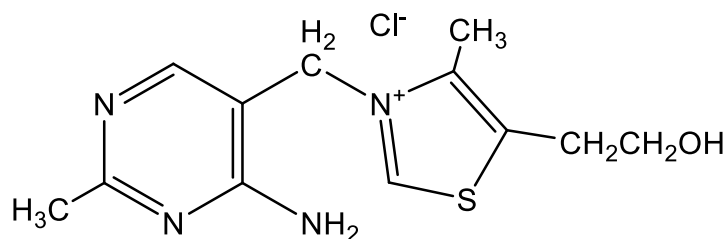
Вітаміни – низькомолекулярні органічні речовини, що мають різноманітну хімічну природу та є вторинними метаболітами здебільшого рослин і грибів. Проте деякі вітаміни можуть утворюватися в організмі тварин. Розрізняють водорозчинні (вітаміни С, Р, групи В, РР) та жиророзчинні вітаміни (А, D, Е, К, F). Вітаміни відносяться до незамінних факторів харчування людини, оскільки вони не синтезуються нашим організмом (окрім вітаміну D), але необхідні для нормальної життєдіяльності. Більшість вітамінів міститься в достатній кількості у звичайних продуктах харчування тваринного і рослинного походження – овочах, фруктах, соняшниковій олії, м'ясі, печінці, яйцях, різних крупах та ін. Для виявлення вітамінів у харчових продуктах і біологічних об'єктах використовуються якісні реакції.

### Реактиви

5% розчин тіаміну	Дріжджовий екстракт
5% розчин піридоксину	Екстракт з печінки
1% розчин аскорбінової кислоти	Витяжка з шипшини
0,025% розчин рибофлавіну	Риб'ячий жир
Спиртовий розчин вітаміну Е	Зелений чай
Нікотинова кислота	Соняшникова олія
5% розчин $\text{NaNO}_2$	Льодяна оцтова кислота насичена $\text{FeSO}_4$
1% та 5% розчини $\text{FeCl}_3$	1% розчин сульфанілової кислоти
5% розчин $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	10% розчин $\text{HCl}$
10% розчин $\text{NaHCO}_3$	10% розчин $\text{CH}_3\text{COOH}$
5% розчин $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu}$	10% розчин $\text{NaOH}$
Zn порошок	Розчин бром у хлороформі (1:60)

### 3.1. Виявлення вітаміну B<sub>1</sub>

Вітамін B<sub>1</sub> (тіамін) відіграє важливу роль в організмі, регулюючи обмін білків, жирів і вуглеводів, зокрема він потрібен для нормальної роботи нервової системи та м'язів. Продукти рослинного походження (дріжджі, злаки) багатші на цей вітамін, ніж продукти тваринного походження.



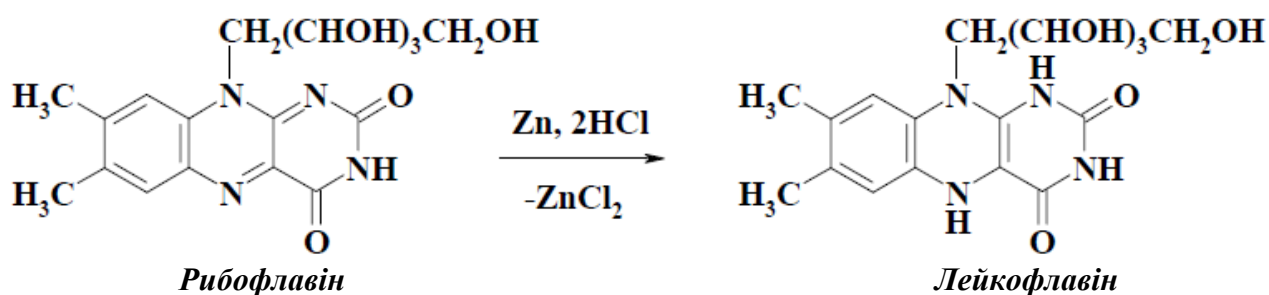
Принцип реакції, яка лежить в основі наведеного методу визначення, полягає у здатності тіаміну утворювати в лужному середовищі з діазореактивом (сульфанілова кислота + нітрит натрію) комплекс оранжево-червоного кольору.

#### Хід роботи

1. У дві пробірки налити по 0,5 мл 1% розчину сульфанілової кислоти та 0,5 мл 5% розчину NaNO<sub>2</sub>.
2. У першу пробірку додати 0,2 мл 5% розчину тіаміну, а у другу – 0,2 мл дріжджового екстракту.
3. До двох пробірок обережно по стінці додати по 0,7 мл 10% розчину NaHCO<sub>3</sub>.
4. Результати спостережень занести до таблиці.

### 3.2. Виявлення вітаміну B<sub>2</sub>

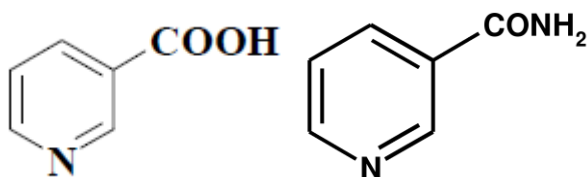
Вітамін B<sub>2</sub> (рибофлавін) входить до складу флавінових коферментів, які беруть участь у численних метаболічних процесах у нашому організмі. Він досить поширений у природі та входить до складу практично всіх рослинних та тваринних продуктів. Реакція на вітамін B<sub>2</sub> ґрунтується на його здатності легко відновлюватися. При цьому розчин вітаміну B<sub>2</sub> жовтого забарвлення, набуває спочатку рожевого кольору за рахунок утворення родофлавіну, а потім знебарвлюється, оскільки відновлена форма вітаміну B<sub>2</sub> (лейкофлавін) безбарвна.



### Хід роботи

1. У дві пробірки налити:
  - у першу – 0,5 мл 0,025% розчину рибофлавіну;
  - у другу – 0,5 мл дріжджового екстракту.
2. У дві пробірки додати по 0,5 мл 10% розчину HCl.
3. У дві пробірки додати по 1 зернятку Zn.
4. Результати спостережень занести до таблиці.

### 3.3. Виявлення вітаміну PP



Вітамін PP (нікотинава кислота, нікотинамід, вітамін B<sub>3</sub>) синтезується в організмі людини з амінокислоти триптофану. Нікотинамід необхідний для забезпечення окисно-відновних

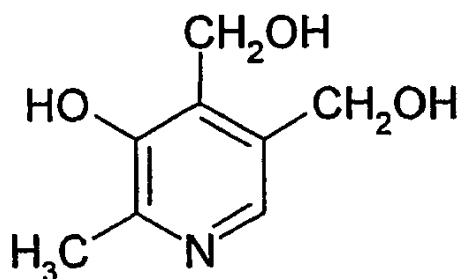
процесів в організмі, синтезу стероїдів, жирних кислот та знешкодження ксенобіотиків. Нікотинава кислота активує синтез простагландинів, покращуючи мікроциркуляцію судин.

Нікотинава кислота при нагріванні з розчином ацетату міді (II) утворює синій осад нікотинату міді.

### Хід роботи

1. У пробірку з 5 мг нікотинавої кислоти додати 1 мл 10% розчину CH<sub>3</sub>COOH.
2. Суміш перемішати та нагріти до кипіння на водяній бані.
3. Додати 1 мл 5% розчину (CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>Cu.
4. Результати спостережень занести до таблиці.

### 3.4. Виявлення вітаміну B<sub>6</sub>



Вітамін B<sub>6</sub> (піридоксин) відіграє важливе значення в обміні речовин, оскільки необхідний для засвоєння білків і жирів та сприяє утворенню еритроцитів. Найбільше піридоксину міститься у м'ясі тварин, оселедці, палтусі, гречаній крупі, пшоні, хлібі з борошна грубого помелу,

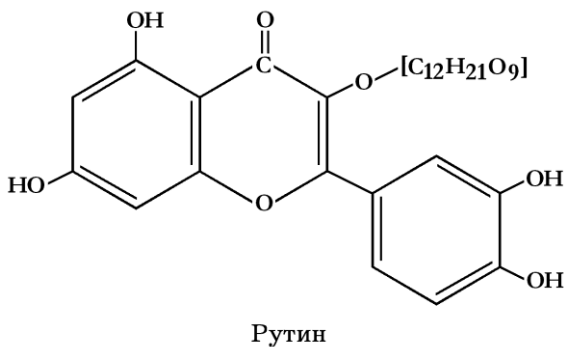
перловій і ячмінній крупах та ін. Наявність піридоксину визначають за його здатністю набувати червоно-оранжевого забарвлення в присутності хлориду заліза FeCl<sub>3</sub>. Реакція зумовлена утворенням комплексної солі типу феноляту заліза.



### Хід роботи

1. У дві пробірки налити:
  - у першу – 0,5 мл 5% розчину вітаміну піридоксину;
  - у другу – 0,5 мл екстракту з печінки.
2. У дві пробірки додати по 0,1 мл 5 % розчину  $FeCl_3$ .
3. Суміш струсити.
4. Результати спостережень занести до таблиці.

### 3.5. Виявлення вітаміну Р(біофлавоноїдів)



Р-вітамінну активність мають більше десятка рослинних сполук, близьких за структурою, в основі якої знаходиться вуглецевий скелет флавону. Препаратами вітаміну Р є: цитрин (гесперидин) з цитрусових, катехіни листя чайного дерева, рутин та кверцетин з листя гречки. Біофлавоноїди утворюють з хлоридом

заліза комплексну сполуку, забарвлену в смарагдово-зелений колір. Координаційні зв'язки виникають між йоном заліза та атомами кисню гідроксильних груп молекули вітаміну.

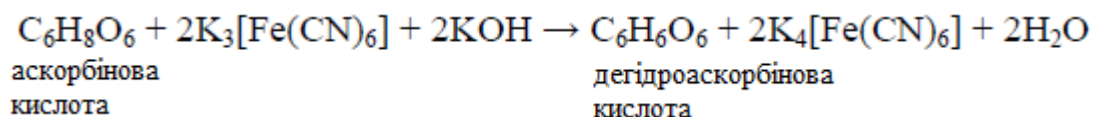
### Хід роботи

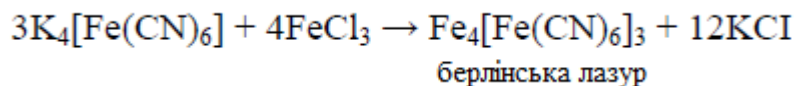
1. У дві пробірки додати:
  - у першу – 1 мл розчину кверцетину;
  - у другу – 1 мл зеленого чаю.
2. До двох пробірок додати 0,2 мл 1% розчину  $FeCl_3$ .
3. Результати спостережень занести до таблиці.

### 3.6. Відновлювальна здатність вітаміну С

Вітамін С (аскорбінова кислота) є потужним водорозчинним антиоксидантом, має важливе значення в імунному захисті та утворенні колагену – білка, який надає капілярам міцності. Багато вітаміну С міститься в плодах шипшини, червоного перцю, смородини, зеленої цибулі та лимонах.

Виявлення вітаміну С ґрунтується на здатності аскорбінової кислоти відновлювати гексаціаноферат (III) калію до гексаціаноферату (II) калію. Останній утворює з ферум (III) хлоридом малорозчинну у воді сіль феруму (III) – берлінську лазур, яка випадає у вигляді темно-синього осаду.





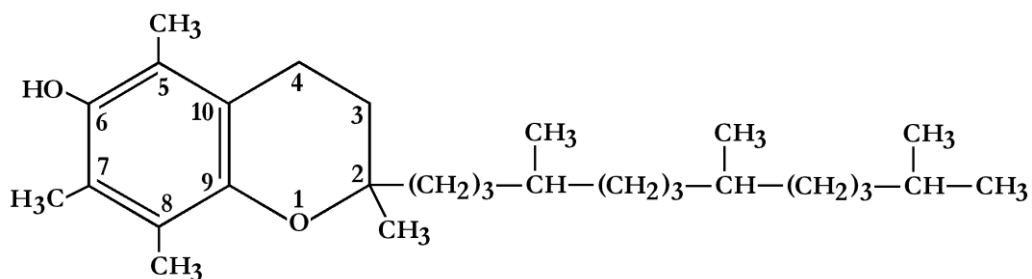
### Хід роботи

1. У дві пробірки додати:
  - у першу – 5 крапель 1%-го розчину вітаміну С;
  - у другу – 5 крапель витяжки з шипшини.
2. До двох пробірок додати по 1 краплі 10% NaOH.
3. До двох пробірок додати по 1 краплі 5% розчину  $K_3[Fe(CN)_6]$ . Суміш струсити.
4. Додати по 3 краплі 10% розчину HCl.
5. Додати 1 краплю 1% розчину  $FeCl_3$ .
6. Результати спостережень занести до таблиці.

### 3.7. Якісна реакція на вітамін E

Вітамін E (токоферол, вітамін розмноження) є похідним циклічного спирту токолу. Відомі  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -токофероли. Всі вони виділені в чистому вигляді з рослинних олій або отримані синтетичним шляхом. Відомо, що токофероли виконують в організмі дві головні метаболічні функції. По-перше, вони є найбільш активними жирозчинними антиоксидантами, які захищають клітинні мембрани від окислення. По-друге, токофероли відіграють специфічну, ще не повністю розкриту роль в обміні селену.

Найважливіші джерела вітаміну E – рослинні олії (соняшникова, бавовняна, соєва, кукурудзяна тощо), а також салат, капуста та насіння злаків. З продуктів тваринного походження вітамін E міститься в м'ясі, вершковому маслі, яєчному жовтку.



$\alpha$ -токоферол

При взаємодії з  $FeCl_3$   $\alpha$ -токоферол окислюється до  $\alpha$ -токоферилхінону – сполуки, забарвленої в червоний колір.

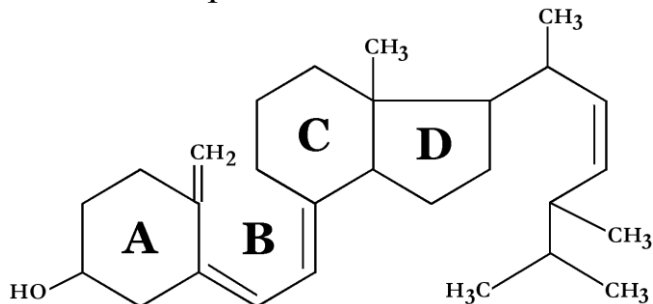
### Хід роботи

1. У дві пробірки додати:
  - у першу – 0,5 мл спиртового розчину вітаміну E;
  - у другу – 0,5 мл спиртового розчину соняшникової олії.
2. До двох пробірок додати по 0,5 мл 1% розчину  $FeCl_3$ .
3. Вміст пробірок перемішати.

#### 4. Результати спостережень занести до таблиці.

##### 3.8. Якісна реакція на вітамін D

Вітамін D (кальциферол, антирахітний вітамін) об'єднує декілька сполук, серед яких для людини та тварин активними є ергокальциферол (вітамін D<sub>2</sub>) та холекальциферол (вітамін D<sub>3</sub>). У природних продуктах містяться провітаміни цих вітамінів – ергостерин та холестерин. Нестача вітаміну D в раціоні дітей призводить до виникнення рахіту, в основі розвитку якого лежать порушення фосфорно-кальцієвого обміну та відкладання в кістковій тканині фосфату кальцію. Найбільше вітаміну D міститься в продуктах тваринного походження:



вершковому маслі, жовтку яєць, печінці та в жирах, зокрема, в риб'ячому жирі. З рослинних продуктів найбільше найбільш багаті на вітамін D<sub>2</sub> рослинні олії (соняшникова, оливкова) та дріжджі.

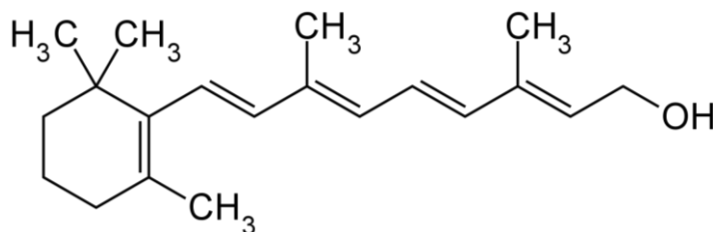
При змішуванні риб'ячого жиру, що містить вітамін D<sub>3</sub>, з розчином бром у хлороформі суміш забарвлюється в зеленувато-блакитний колір.

##### Хід роботи

1. У пробірку додати 0,2 мл риб'ячого жиру.
2. Додати 0,4 мл розчину бром у хлороформі.
3. Результати спостережень занести до таблиці.

##### 3.9. Якісна реакція на вітамін A

Жиророзчинний вітамін A (ретинол, антиксерофтальмічний вітамін) важливий для нормального зору та росту організму, регулює структуру мембран та підтримує антиоксидантний потенціал різних тканин. У значній кількості вітамін A міститься у печінці тварин, яєчному жовтку, молоці, вершковому маслі та сметані. Особливо багато його в риб'ячому жирі. У рослинах вітамін A знаходиться у вигляді провітаміну –  $\beta$ -каротину (морква, помідори, редиска, перушка).



ретинол

### Хід роботи

1. У пробірку додати 0,2 мл риб'ячого жиру.
2. Додати 5 крапель льодяної оцтової кислоти, насиченої сульфатом заліза (**кислоту додавати під витяжною шафою!**).
3. Результати спостережень занести до таблиці.

<b>Досліджуваний вітамін</b>	<b>Спостереження</b>	<b>Чим зумовлена реакція</b>
Вітамін В <sub>1</sub>		
Вітамін В <sub>2</sub>		
Вітамін РР		
Вітамін В <sub>6</sub>		
Вітамін Р		
Вітамін С		
Вітамін Е		
Вітамін D		

Вітамін А		
-----------	--	--

## ЗМІСТ

<b>Лабораторна робота № 1. Якісні реакції на білки</b> .....	1
<i>Біуретова реакція</i> .....	2
<i>Нінгідрінова реакція</i> .....	2
<i>Ксантопротеїнова реакція</i> .....	3
<i>Реакція Паулі</i> .....	3
<i>Реакція Фоля</i> .....	4
<i>Реакція Сакагучі</i> .....	5
<b>Лабораторна робота № 2. Якісні реакції на вуглеводи</b> .....	7
<i>Гідролітичне розщеплення крохмалю</i> .....	7
<i>Реакція Тромера</i> .....	8
<i>Реакція Барфедда</i> .....	10
<i>Виявлення фруктози (реакція Селіванова)</i> .....	10
<i>Виявлення лактози</i> .....	11
<i>Виявлення сахарози</i> .....	11
<b>Лабораторна робота № 3. Якісні реакції на вітаміни</b> .....	12
<i>Виявлення вітаміну B<sub>1</sub></i> .....	13
<i>Виявлення вітаміну B<sub>2</sub></i> .....	13
<i>Виявлення вітаміну PP</i> .....	14
<i>Виявлення вітаміну B<sub>6</sub></i> .....	14
<i>Виявлення вітаміну P</i> .....	15
<i>Відновлювальна здатність вітаміну C</i> .....	15
<i>Якісна реакція на вітамін E</i> .....	16
<i>Якісна реакція на вітамін D</i> .....	17
<i>Якісна реакція на вітамін A</i> .....	17