

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ДОНЕЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ВАСИЛЯ СТУСА  
НАВЧАЛЬНО-НАУКОВИЙ ІНСТИТУТ ХІМІЇ  
КАФЕДРА БІОХІМІЇ ТА ФІЗИЧНОЇ ХІМІЇ

*О. В. Куц, О. І. Гончарук, К. М. Лаховець*

**ЛАБОРАТОРНИЙ ПРАКТИКУМ  
З ХІМІЇ ПРИРОДНИХ СПОЛУК**

*Навчальний посібник для студентів напрямку підготовки  
102 «Хімія» денної та заочної форм навчання*

Вінниця  
ДонНУ імені Василя Стуса  
2019

**УДК 577.1(072)**

**К 96**

**Укладачі:**

*О. В. Куц, д-р хім. наук, ст. наук. співроб., доцент.*

*О. І. Гончарук, завідувач навчально-наукової лабораторії.*

*К. М. Лаховець, завідувач навчально лабораторії.*

**Рецензенти:**

*А. Г. Матвієнко, д-р. хім. наук.*

*Н. Г. Леонова, канд. хім. наук.*

*Рекомендовано до друку Вченою радою  
Донецького національного університету імені Василя Стуса  
(протокол № 6 від 25.01.2019 р.)*

**К 96**

Лабораторний практикум з хімії природних сполук : навч. посібник для студ. напряму підготовки 102 «Хімія» ден. та заочн. форм навчання / О. В. Куц, О. І. Гончарук, К. М. Лаховець. Вінниця : ДонНУ імені Василя Стуса, 2019. 68 с.

**ISBN**

Навчальне видання рекомендоване студентам, що навчаються за напрямом підготовки «Хімія» денної та заочної форм навчання, для виконання лабораторного практикуму з дисципліни «Хімія природних сполук». Навчальний посібник включає назви лабораторних робіт, порядок виконання робіт, контрольні питання для закріплення матеріалу з теми, список рекомендованої літератури.

**УДК 577.1(072)**

© Куц О. В., 2019

© Гончарук О. І., 2019

© Лаховець К. М., 2019

© ДонНУ імені Василя Стуса, 2019

**ISBN**

## ЗМІСТ

Вступ.....	4
Розділення суміші амінокислот методом Тонкошарової хроматографії.....	6
Фізико-хімічні властивості білків.....	10
Осадження білків.....	11
Діаліз білків.....	13
Виділення казеїногену з молока та дослідження його властивостей.....	14
Ферменти та їх властивості.....	16
Активність каталази.....	16
Специфічна дія ферментів.....	17
Вуглеводи.....	20
Вітаміни.....	25
Гормони.....	40
Алкалоїди.....	49
Антибіотики.....	57
Вилучення антоціанів з рослинної сировини та вивчення їхніх індикаторних властивостей.....	64

## ВСТУП

Хімія природних сполук (ХПС) – наука, яка вивчає хімічну структуру речовин рослинного і тваринного походження, шляхи їх біосинтезу, біологічну дію на живі організми.

Предметом вивчення навчальної дисципліни є вторинні метаболіти – низькомолекулярні речовини, які виробляються різними представниками флори та фауни для потреб своєї життєдіяльності.

Природні органічні речовини представлені великою різноманітністю будови молекул і, хоча серед них зустрічаються прості структури з однією-двома функціональними групами, більшість з них несе кілька функціональних груп і має складну будову вуглецевого скелету. Тому ХПС характеризують як хімію поліфункціональних сполук. У реакціях, що відбуваються у живому організмі, беруть участь одночасно кілька реакційних центрів і можуть утворюватися або розриватися кілька хімічних зв'язків за одну стадію.

Теоретичний апарат хімії природних сполук повністю збігається з концепціями теоретичної органічної хімії. Результати, отримані під час вивчення природних сполук, у свою чергу, збагачують теорію органічної хімії, стимулюють її розвиток. Виділення з природних матеріалів біологічно активних речовин, які можуть мати значну практичну цінність, ініціює вдосконалення методології класичного органічного синтезу.

Експериментальні ж методи хімії природних сполук відрізняються від класичних. Це пов'язано з тим, що багато природних речовин чутливі до незначного підвищення температури, зміни  $pH$ , впливу кислот, лугів, органічних розчинників. Багато природних речовин є нестійкими, мають короткий час життя навіть за кімнатної температури. Також речовини можуть міститися в біоматеріалі в незначних кількостях, іноді це тисячні частки відсотка і менше. Тому необхідна переробка великих мас сировини, а виділені чисті речовини доводиться вивчати, використовуючи спеціальні методики для роботи з мікрокількостями. Труднощі становлять і розділення складних сумішей, які зазвичай отримують на першому етапі переробки сировини.

Основними завданнями, які вирішує ХПС, є: а) виділення в індивідуальному стані сполук та їх вивчення за допомогою фізичних, фізико-хімічних і хімічних методів; б) встановлення просторової будови на основі методів органічної, фізичної хімії із застосуванням мас-спектрометрії, різних видів оптичної спектроскопії (ІЧ, УФ, ЯМР, ЕПР), рентгеноструктурного аналізу, електронної мікроскопії; в) синтез і хімічна модифікація досліджуваних сполук, включаючи синтез аналогів і похідних з метою підтвердження структури і встановлення зв'язку будови з

їх біологічними функціями; г) отримання субстанцій з метою виготовлення лікарських засобів; д) біологічне тестування отриманих сполук *in vitro*.

Мета курсу «Хімія природних сполук» полягає у формуванні системних знань в області поліфункціональних органічних речовин рослинного і тваринного походження, щодо їх хімічної структури, шляхів їх біосинтезу, біологічної дії на організми та окремі біохімічні процеси, використання у практичній діяльності людини.

«Хімія природних сполук» відноситься до дисциплін природничо-наукової підготовки. Для вивчення курсу необхідні знання та вміння, набуті студентами з «Загальної та неорганічної хімії», «Органічної хімії», «Біоорганічної хімії» та «Біохімії». Матеріал курсу «Хімія природних сполук» є природничо-науковою основою формування знань, вмінь та навичок для дисциплін професійної та практичної підготовки бакалавра за напрямом «Хімія».

Основними завданнями лабораторного практикуму «Хімія природних сполук» є:

- формування знань про структурне різноманіття, специфічні фізичні, хімічні та біологічні властивості природних сполук, які є теоретичною основою для розроблення та реалізації інновацій, що дозволяють забезпечити населення України високоякісними харчовими продуктами;
- формування знань, які є науковим підґрунтям для розробки нових технологічних підходів до створення безпечних та ефективних лікарських засобів;
- формування вмінь та навичок виявлення, вилучення, очистки та аналізу сполук рослинного та тваринного походження з метою цілеспрямованого пошуку нових технологій синтезу природних сполук;
- створення теоретичної основи для науково-дослідної роботи студентів.

Лабораторні роботи повинні виконуватися після вивчення відповідної теми, адже це сприяє кращому засвоєнню теоретичного матеріалу і надає можливість студентам отримати практичні навички в постановці навчально-дослідних експериментів на основі оволодіння основними прийомами техніки лабораторних робіт. Виконання лабораторних робіт з курсу дає можливість ознайомитися зі способами виділення природних сполук, навчитися експериментально визначати наявність певних функціональних груп та специфічних фрагментів у молекулах за допомогою якісних реакцій.

## **РОЗДІЛЕННЯ СУМІШІ АМІНОКИСЛОТ МЕТОДОМ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ**

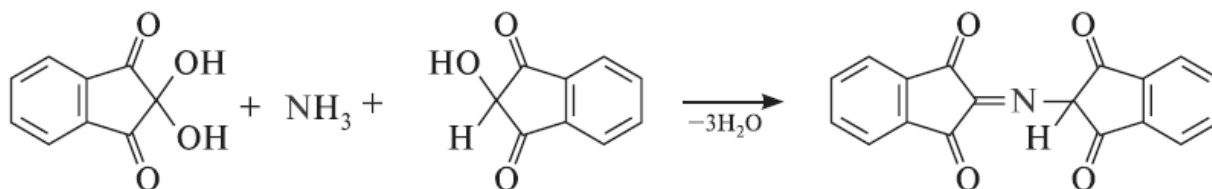
Хроматографія – універсальний і ефективний фізико-хімічний метод розділення, виявлення і визначення сполук в їх суміші. Хроматографічні методи використовують у різних областях аналітичної хімії для вирішення широкого кола завдань: розділення складних систем органічного та неорганічного походження на складові компоненти (наприклад, для виділення рослинних і тваринних пігментів); концентрування речовин з сильно розбавлених розчинів (наприклад, мікроелементів з морської води, ґрунтів); очищення від домішок речовин (наприклад, вітаміни, антибіотики та ін.). Речовини під час хроматографування не змінюються хімічно, що особливо важливо для багатьох біологічних досліджень. Хроматографічні методи засновані на розподілі речовини між двома фазами, одна з яких нерухома (стаціонарна), інша (рухлива) переміщується щодо першої. Нерухомою фазою може бути тверда речовина, рідина, нанесена на твердий носій, або гель, рухомою фазою – рідина або газ. За агрегатним станом рухливої фази хроматографія поділяється на рідинну і газову. Залежно від природи твердої фази розрізняють газо-твердофазну і газо-рідинну хроматографію, а також рідинно-твердофазну і рідинно-рідинну. За механізмом поділу розрізняють адсорбційну, розподільну, іонообмінну, іонну і гель-фільтраційну хроматографію.

Хроматографічні методи з рідкою рухомою фазою розрізняють за технікою виконання, залежно від того, поміщена нерухома фаза в колонку (колонкова хроматографія), нанесена у вигляді шару на пластину (тонкошарова хроматографія) або розподілена у вигляді плівки на папері (паперова хроматографія). Розчинник, що використовується, називають елюентом, процес переміщення речовини разом з елюентом – елюювання.

У результаті утворюються окремі хроматографічні зони компонентів суміші, тобто виходить хроматограма.

Амінокислоти є складовими частинами пептидів, білків, ферментів, служать основними компонентами живих організмів і відіграють найважливішу роль в їх функціонуванні. Частину амінокислот живі організми синтезують самі, інші – отримують з їжею. Амінокислоти, необхідні для тварин і людини, отримують також шляхом біосинтезу, використовуючи їх для виробництва лікарських речовин і різних біологічно-активних добавок. Для аналізу об'єктів, що містять амінокислоти, найчастіше застосовують методи вискоефективної рідинної, йонообмінної або тонкошарової хроматографії, що дозволяють поєднувати в





Після обробки пластинки розчином нінгідрину її знову підсушують: під час нагрівання за 70–80 °С для прояву плям на хроматограмі достатньо 3–5 хв. Розраховують величини  $R_f$  для кожної плями. Положення зони хроматографуючого компонента встановлюють за величиною коефіцієнта  $R_f$ , рівного відношенню швидкості руху його зони до швидкості руху фронту розчинника. На практиці величину  $R_f$  розраховують як відношення відстані  $l$ , пройденої речовиною, до відстані  $L$ , пройденої розчинником:

$$R_f = l / L.$$

Зазвичай для розрахунку обирають точку в центрі плями.

Для більш надійної ідентифікації поділюваних компонентів застосовують «свідки» – розчини стандартних речовин (у тому ж розчиннику, що і проба), наявність яких передбачається в аналізованому зразку. Стандартну речовину наносять на стартову лінію поруч з аналізованою пробєю і хроматографують в одних умовах. На практиці часто використовують відносну величину:

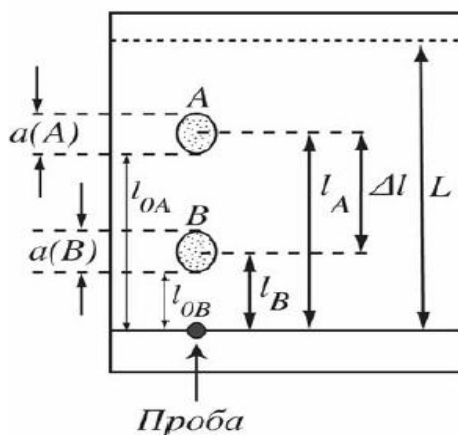


Рис. 1. Визначення на хроматограмі величин  $R_f$  для компонентів A і B

### ***Контрольні питання***

1. Принцип методу тонкошарової хроматографії.
2. Які сорбенти можуть застосовуватися в ТШХ?
3. Яка роль свідків у ТШХ?
4. Способи виконання ТШХ (висхідна, низхідна і т. д.).
5. За допомогою яких методів проводять ідентифікацію розділених речовин у ТШХ?
6. Які основні етапи аналізу суміші речовин методом тонкошарової хроматографії?
7. Що таке  $R_f$ -індекс, від чого він залежить і як розрахувати величину  $R_f$  на хроматограмах?

## **ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ**

Білки – високомолекулярні органічні речовини, що складаються з  $\alpha$ -амінокислот, з'єднаних в ланцюжок пептидним зв'язком.

Функції білків у клітинах живих організмів різноманітні. Так, білки-ферменти каталізують протікання біохімічних реакцій і грають важливу роль в обміні речовин. Деякі білки виконують структурну або механічну функцію, утворюючи цитоскелет, що підтримує форму клітин. Також білки грають ключову роль у сигнальних системах клітин, в імунній відповіді і в клітинному циклі.

Білки – важлива частина харчування тварин і людини (основні джерела: м'ясо, птиця, риба, молоко, горіхи, бобові, зернові; меншою мірою: овочі, фрукти, ягоди та гриби), оскільки в їх організмах не можуть синтезуватися всі необхідні амінокислоти і частина повинна надходити з білковою їжею. У процесі травлення ферменти руйнують спожиті білки до амінокислот, які використовуються для біосинтезу власних білків організму або піддаються подальшому розпаду для отримання енергії.

Білки мають властивість амфотерності, тобто залежно від умов виявляють як кислотні, так і основні властивості. У білках присутні кілька типів хімічних угруповань, здатних до іонізації у водному розчині: карбоксильні залишки бічних ланцюгів кислих амінокислот (аспарагінова і глутамінова кислоти) і азотовмісні групи бічних ланцюгів основних амінокислот (у першу чергу,  $\epsilon$ -аміногрупа лізину і амідіновий залишок CNH ( $-\text{NH}_2$ ) аргініну, дещо меншою мірою – імідазольний залишок гістидину).

Кожен білок характеризується ізоелектричною точкою (pI) – кислотністю середовища (pH), за якої сумарний електричний заряд молекул даного білка дорівнює нулю і, відповідно, вони не переміщуються в електричному полі (наприклад, під час електрофорезу).

Білки розрізняють за ступенем розчинності у воді. Водорозчинні білки називають альбумінами, до них відносять білки крові і молока. До нерозчинних, або склеропротейнів, зараховують, наприклад, кератин (білок, з якого складаються волосся, шерсть ссавців, пір'я птахів) і фіброїн, який входить до складу шовку і павутини. Розчинність білка визначається не тільки його структурою, але і зовнішніми факторами, такими як природа розчинника, іонна сила і pH розчину.

Денатурацією білка називають будь-які зміни в його біологічній активності і фізико-хімічні властивості, пов'язані з втратою четвертинної, третинної або вторинної структури.

Денатурація білка може бути повною або частковою, оборотною або незворотною. Найвідоміший випадок незворотної денатурації білка в побуті – це приготування курячого яйця, коли під впливом високої температури розчинний у воді білок стає щільним, нерозчинним і непрозорим. Денатурація в деяких випадках оборотна, як у випадку осадження водорозчинних білків за допомогою солей амонію, і використовується як спосіб їх очищення.

## ОСАДЖЕННЯ БІЛКІВ

Реакції осадження білків залежно від застосованого осаджувача бувають необоротними і оборотними.

### *Необоротне осадження білків (денатурація)*

Необоротні реакції осадження призводять до денатурації білків, при цьому руйнується просторова структура молекули, і білки втрачають свої природні біологічні і фізико-хімічні властивості. Денатурацію білків можна викликати фізичними впливами (кип'ятіння, заморожування, високий тиск, вібрація, радіоактивне випромінювання та ін.) і хімічними осаджувачами.

### Осадження білків неорганічними осаджувачами

#### *Дослід 1. Осадження білків мінеральними кислотами*

*Реактиви:* Яєчний білок, 1 % розчин

Азотна кислота, конц.

#### *Хід роботи*

У пробірку обережно наливають близько 1 мл концентрованої азотної кислоти. Потім, нахиливши пробірку, повільно по стінці додають 1 мл 1 % розчину білка. Спостерігають зміни.

Таку ж реакцію проводять з концентрованою соляною і сірчаною кислотами.

#### *Дослід 2. Осадження білків солями важких металів*

*Реактиви:* Яєчний білок, 1 % розчин

Сульфат міді, 7 % розчин

Ацетат свинцю, 5 % розчин

### *Хід роботи*

У дві пробірки наливають по 1 мл 1 % розчину білка і додають по 3–4 краплі: в першу пробірку – 7 % розчину сульфату міді, в другу – 5 % розчину ацетату свинцю. У всіх пробірках утворюється осад.

### Осадження білків органічними осаджувачами

#### *Дослід 3. Осадження білків органічними кислотами*

*Реактиви:* Яєчний білок, 1 % розчин

Сульфосаліцилова кислота, 10 % розчин

Трихлороцтова кислота, 10 % розчин

### *Хід роботи*

У 2 пробірки наливають по 2 мл 1 % розчину білка і додають в одну пробірку 4–5 крапель 10 % розчину сульфосаліцилової кислоти, в іншу – 5–10 крапель 10 % трихлороцтової кислоти. Випадає осад білка.

#### *Дослід 4. Осадження білків органічними розчинниками*

*Реактиви:* Яєчний білок, 1 % розчин

Етанол, 96 %

### *Хід роботи*

До 1 мл 1 % розчину білка додають 2 мл органічного розчинника (96 % етанолу) і перемішують. Утворення осаду можна посилити додаванням кількох крапель насиченого розчину хлориду натрію.

#### Дослід 5. Осадження білків під час нагрівання

*Реактиви:* Яєчний білок, 1 % розчин

Оцтова кислота, 1 %, 10 % розчини

Хлорид натрію

Гідроксид натрію, 10 % розчин

### *Хід роботи*

У п'ять пробірок наливають по 0,5 мл 1 % розчину яєчного білка.

Вміст першої пробірки нагрівають до появи опалесценції (помутніння розчину).

До розчину білка в другій пробірці обережно додають 1 краплю 1 % розчину оцтової кислоти, нагрівають і спостерігають спочатку появу опалесценції, а потім випадіння білого осаду білка.

До розчину білка в третій пробірці додають 1–2 краплі 10 % розчину оцтової кислоти і нагрівають.

До розчину білка в четвертій пробірці додають 1–2 краплі 10 % розчину оцтової кислоти, 1 краплю насиченого розчину хлориду натрію і нагрівають.

До розчину білка в п'ятій пробірці додають 1 краплю 10 % розчину гідроксиду натрію і нагрівають.

Результати дослідів по осадженню білків під час нагрівання оформити у вигляді таблиці:

№	Середовище	Спостереження	Висновки
1	Нейтральне		
2	Слабокисле (1 % $\text{CH}_3\text{COOH}$ )		
3	Кисле (10 % $\text{CH}_3\text{COOH}$ )		
4	Кисле (10 % $\text{CH}_3\text{COOH}$ + електроліт $\text{NaCl}$ )		
5	Лужне (10 % $\text{NaOH}$ )		

Результати реакцій незворотного осадження білка під дією неорганічних і органічних осаджувачів записати у вигляді таблиці:

Назва осаджувача	Використовувані реактиви	Характер і колір осаду	Чим зумовлена реакція

## ДІАЛІЗ БІЛКІВ

Діалізом називається процес розділення високо- і низькомолекулярних речовин за допомогою напівпроникних мембран (целофан, колодій, пергамент та ін.). Молекули білка, що мають великі розміри і молекулярну масу, не здатні проникати через такі мембрани, в той час як низькомолекулярні речовини легко проходять через них. Діаліз є дуже зручним методом очищення білкових розчинів від низькомолекулярних домішок, наприклад, від надлишку солей. Найпростішим діалізатором може служити целофановий або колоїдний мішечок, занурений у стакан з водою.

*Реактиви:* Яєчний білок, 3 % розчин

Сульфат амонію

Хлорид барію, 5 % розчин

### *Хід роботи*

У пробірку наливають 2 мл 3 % розчину яєчного альбуміну і додають 1 краплю насиченого розчину сульфату амонію. З листа целофану, попередньо намоченого дистильованою водою, роблять мішечок і виливають в нього вміст пробірки. Краї мішечка прикріплюють до середини скляної палички (або затискають між двома скляними паличками, з'єднаними між собою гумовими кільцями). Мішечок поміщають в стакан з дистильованою водою так, щоб скляна паличка лягла на краї склянки. Рівень рідини в мішечку повинен бути нижче рівня рідини в склянці.

Через 1 годину після початку діалізу рідину, що знаходиться в склянці, перевіряють на присутність білка і сульфат-аніонів:

а) проба на білок – 3 мл рідини зі склянки проводять біуретову реакцію;

б) проба на сульфат-аніони – до 1 мл рідини зі склянки додають 3–4 краплі 5 % розчину хлориду барію і спостерігають утворення осаду сульфату барію у вигляді білої каламуті.

Целофановий мішечок виймають зі склянки. Рідину з мішечка переливають у пробірку і проводять біуретову реакцію.

## **ВИДІЛЕННЯ КАЗЕЇНОГЕНУ З МОЛОКА ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЙОГО ВЛАСТИВОСТЕЙ**

Казеїноген – найважливіший білок молока. Залишки фосфорної кислоти в молекулі казеїногену пов'язані із залишками серіну. У молоці казеїноген знаходиться у вигляді розчинних у воді аніонів кальціната. Під час підкислення до рН 4,7 (ізоелектрична точка казеїногену) білок випадає в осад. Додавання надлишку кислоти приводить до перезарядки білкових молекул і переходу їх у розчин. Казеїноген висолюється нейтральними солями (хлористим натрієм, сірчанокислим амонієм та ін.). Під дією травних ферментів (пепсину, хімосину) казеїноген перетворюється в казеїн, кальцієва сіль якого, на відміну від казеїногену, нерозчинна у воді.

*Реактиви:* Молоко, незбиране

Оцтова кислота, 10 % розчин

NaOH, 1 % розчин

### *Хід роботи*

У пробірку піпеткою вносять 2 мл молока, додають стільки ж дистильованої води і по краплях – 10 % розчин оцтової кислоти до випадання осаду (уникати надлишку кислоти!). Осад відфільтровують на паперовому фільтрі і кілька разів промивають дистильованою водою (на фільтрі), після чого розчиняють в 1 % розчині їдкого натру. Розчин фільтрують через паперовий фільтр, змочений водою. З фільтратом проводять кольорові реакції на білки і окремі амінокислоти (біуретову, нінгідринову, ксантопротеїнову, Шульце–Распайля, Фоля).

Отримані результати оформити у вигляді таблиці:

№	Назва реакції	Реактив	Спостереження	Функціональні групи
1	Біуретова			
2	Нінгідринова			
3	Ксантопротеїнова			
4	Шульце–Распайля			
5	Фоля			

### *Контрольні питання*

1. Що таке білки? Які функції вони виконують?
2. Поділ білків за ступенем розчинності їх у воді.
3. Дайте визначення процесу денатурації білка? Назвіть та охарактеризуйте її види.
4. Суть процесу діалізу білка. Для чого даний метод використовують?
5. До якої групи білків відносять казеїноген? Коротко охарактеризуйте структуру казеїногену.
6. Напишіть рівняння для таких кольорових реакцій: біуретова, нінгідринова, ксантопротеїнова, Фоля.

## Лабораторна робота № 3

### ФЕРМЕНТИ ТА ЇХ ВЛАСТИВОСТІ

Ферменти – речовини білкової природи, здатні каталітично прискорювати перебіг хімічних реакцій.

Ферменти по ряду ознак різко відрізняються від неорганічних каталізаторів:

1. Ферменти «працюють» в дуже м'яких умовах (низька температура, нормальний атмосферний тиск, фізіологічне значення рН).

2. Ферменти мають високу специфічність дії. Кожен фермент каталітично прискорює перебіг однієї реакції або, у крайньому випадку, групи реакцій.

3. Властивості, пов'язані з білкової природою ферментів: термолабільність, залежність від рН середовища, залежність від наявності активаторів і інгібіторів.

Ферменти відповідають майже за всі хімічні реакції, які відбуваються в живому організмі: забезпечують енергією і будівельними матеріалами; створюють і руйнують сигнальні молекули, необхідні для регуляції життєвих процесів; захищають організм від чужорідних речовин. Ще ферменти перезаписують і розмножують спадкову інформацію, тобто синтезують ДНК і РНК. Нарешті, беруть участь в реалізації цієї інформації – в синтезі самих себе і інших білків.

### АКТИВНІСТЬ КАТАЛАЗИ

Каталаза – це двокомпонентний фермент, що складається з білка та протетичної групи. Кристалічна каталаза містить 0,09 % заліза, що відповідає чотирьом його атомам на молекулу. Каталаза завжди присутня в системах, де відбуваються процеси клітинного дихання з утворенням токсичного для клітини пероксиду водню. Каталаза забезпечує розщеплення пероксиду водню до 2-х молекул води і кисню. Фермент має велику молекулярну масу (250–300 кДа) і проявляє дуже високу каталітичну активність: майже кожне зіткнення макромолекули з субстратом закінчується розкладанням субстрату – за 0 °С – 1 молекула каталізатора розкладає за 1 секунду до 40 000 молекул  $H_2O_2$ . Методи, які використовуються для визначення активності каталази, засновані, головним чином, на кількості кисню, що утворюється в результаті дії ферменту.

*Дослід 1. Визначення активності каталази титриметричним методом*

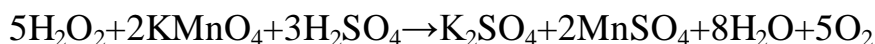
*Реактиви:* 0,3 % розчин пероксиду водню

10 % розчин сірчаної кислоти

0,05 N перманганат калію

### *Хід роботи*

Наважку рослинного матеріалу (100–200 мг) розтирають у ступці з водою, переносять у мірну колбу на 50 мл і доводять дистильованою водою до мітки. Рослинну витяжку фільтрують, беруть 5 мл відфільтрованого гомогенату і інкубують 10 хв з 5 мл 0,3 % розчину пероксиду водню. Інкубацію припиняють, додаючи 5 мл 10 % сірчаної кислоти. Пероксид водню, що не розклався, відтитрують 0,05 Н розчином  $\text{KMnO}_4$  до появи слабо рожевого забарвлення, яке не зникає протягом хвилини:



Контрольну пробу гомогенату для інактивації ферменту попередньо прогрівають у киплячій водянній бані протягом 5 хв, потім додають 5 мл 0,3 % розчину пероксиду водню, інкубацію припиняють додаванням сірчаної кислоти. Відтитрують пероксид водню перманганатом калію.

Активність каталази розраховують за формулою:

$$A = \frac{(K - O) \cdot 0,85 \cdot E}{T},$$

де  $K$  – кількість  $\text{KMnO}_4$ , який пішов на титрування в контролі, мл;

$O$  – кількість  $\text{KMnO}_4$ , який пішов на титрування в досліді, мл;

0,85 – кількість мл  $\text{H}_2\text{O}_2$ , що відповідає 1 мл 0,05 н  $\text{KMnO}_4$ ;

$T$  – час інкубації (10 хв);

$E$  – розведення.

Активність каталази виражають в кількості  $\text{O}_2$ , що утворився в результаті дії ферменту за 1 хв на 1 г сирової маси ( $\text{мл O}_2 / \text{г} \times \text{хв}$ ).

## **СПЕЦИФІЧНА ДІЯ ФЕРМЕНТІВ**

### *Дослід 1. Дія протеази*

Протеази, протеїнази, протеолітичні ферменти – ферменти шлунково-кишкового тракту з класу гідролаз, які розщеплюють пептидний зв'язок між амінокислотами в білках. Протеази містяться в деяких овочах і фруктах: ананасі, імбирі, ківі.

Желатин (фр. *Gélatine*, від лат. *Gelātus* «заморожений») – столярний (кістковий) клей, безбарвний або має жовтуватий відтінок, частково гідролізований білок колаген, прозора в'язка маса, продукт переробки (денатурації) сполучної тканини тварин (колагену).

### *Хід роботи*

1. Приготувати желе з желатину в окремих склянках.
2. Додати в склянки шматочки свіжих фруктів з високим вмістом протеаз і фрукти, які піддалися термічній обробці.
3. Результати досліду занести до таблиці:

<b>Продукт</b>	<b>Свіжий</b>	<b>Термічно оброблений</b>
Ананас		
Імбир		
Ківі		

### *Дослід 2. Специфічність дії уреаз*

Специфічність – одна з важливих властивостей ферментів, що забезпечують можливість координації складних внутрішньоклітинних процесів. Ступінь специфічності різноманітний. Уреаза в організмі людини і тварин утворюється бактеріальною флорою і володіє абсолютною специфічністю, тобто діє тільки на один субстрат – сечовину, розкладаючи її на аміак і діоксид вуглецю:



*Реактиви:* Сечовина, 2 % розчин  
Соеве борошно  
Фенолфталеїн

### *Хід роботи*

У пробірку наливають 5 мл 2 % розчину сечовини, додають 1 г соєвого борошна, перемішують, підвішують змочений водою лакмусовий папір і закривають пробкою. Через кілька хвилин у пробірці можна виявити за запахом або посинінням лакмусового паперу виділення аміаку. Потім додати в пробірку 2–3 краплі фенолфталеїну для визначення середовища.

### *Дослід 3. Ферментативний гідроліз крохмалю в крекерах під дією амілази слини*

*Реактиви:* Крекери  
Слина  
Розчин Люголя, 1 %

### *Хід роботи*

Подрібнити солоні крекери в дрібний порошок і помістити в пробірку. Додати рівну кількість води в пробірку і ретельно перемішати. Додайте одну або дві краплі калію йодиду і знову ретельно перемішайте. Додати в пробірку слину, змішати і дочекатися зміни кольору в пробірці.

Спостереження записати у лабораторний журнал.

### ***Контрольні питання***

1. Основні функції ферментів.
2. Роль каталази у процесах клітинного дихання. Яку реакцію каталізує каталаза?
3. Будова каталази. Що у структурі каталази забезпечує її активність?
4. Напишіть схематично схему реакції розщеплення желатину під впливом протеази.
5. Що розуміють під поняттям «специфічність дії ферментів»? Напишіть схему розщеплення крохмалю під впливом амілази слини.

## Лабораторна робота № 4

### ВУГЛЕВОДИ

Вуглеводи (цукри, карбогідрати) – велика група природних і синтетичних сполук, що є за хімічною будовою полігідроксильними речовинами, що містять альдегідну або кетонну групи, або утворюють їх в результаті гідролізу. Вуглеводи складають основну масу органічних речовин нашої планети. У рослинному і тваринному світі вони широко поширені головним чином у вигляді різних похідних і значно рідше – у вільному вигляді. Вуглеводи виконують різні життєво важливі функції та є вихідним матеріалом для біосинтезу багатьох органічних сполук живих організмів.

Дисахаридами називають вуглеводи, молекули яких складаються з двох залишків моносахаридів однакової або різної природи, які з'єднані між собою глікозидним зв'язком. Дисахариди легко гідролізуються у кислому середовищі з утворенням двох молекул моносахаридів. Залежно від способу утворення глікозидного зв'язку, дисахариди поділяють на дві групи – відновлювані і невідновлювані.

Полісахариди – вуглеводи, утворені з великої кількості залишків молекул моносахаридів (сотні і тисячі). Полісахариди відрізняються один від одного хімічною природою повторюваних одиниць моносахаридів, ступенем розгалуження і довжиною ланцюга. У полісахаридах глікозидний гідроксил однієї молекули моносахариду з'єднаний зі спиртовим гідроксилом другої молекули через глікозидний зв'язок. Полісахариди мають вільний глікозидний гідроксил на велику кількість зв'язаних молекул моносахариду, тому вони практично не виявляють відновлювальних властивостей. Гідроліз полісахаридів приводить до утворення моносахаридів, що володіють відновлювальними властивостями.

#### *Дослід 1. Отримання крохмального клейстеру*

Крохмаль – хімічно неоднорідна речовина. Його утворюють молекули двох типів: амілоза і амілопектин. Амілоза є нерозгалуженим полімером, який складається із залишків  $\alpha$ -D-глюкопіраноз (від 1000 до 4000 залишків), з'єднаних 1,4-глікозидним зв'язком. Амілопектин – розгалужений полімер, який також складається із залишків  $\alpha$ -D-глюкопіраноз. У межах кожного короткого ланцюга глюкозидні залишки з'єднані 1,4-глікозидними зв'язками; один з одним ланцюжки з'єднуються за допомогою 1,6-глікозидних зв'язків.

Крохмаль погано розчиняється у воді, йодом забарвлюється в синій колір внаслідок утворення комплексних сполук.

### *Хід роботи*

У колбу 100 мл поміщають 1 г крохмалу, після чого додають 50 мл води. Суміш нагрівають протягом 5–7 хв, постійно перемішують до утворення прозорого клейстеру білого кольору. Перевіряють рН середовища лакмусовим папірцем. Реакція повинна бути нейтральною або слабокислою.

### *Дослід 2. Якісна реакція на крохмаль*

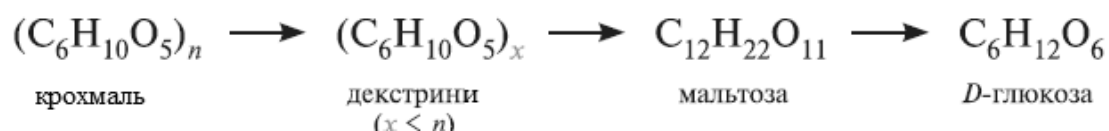
*Реактиви:* Крохмальний клейстер, 0,5 % розчин  
Розчин йоду в КІ

### *Хід роботи*

У пробірку поміщають 5 крапель 0,5 % розчину крохмального клейстеру і 1 краплю розчину йоду в калію йодиді. Спостерігається поява інтенсивно-синього забарвлення розчину. Під час нагрівання забарвленого розчину крохмалю з йодом забарвлення зникає, у процесі охолодження – з'являється знову.

### *Дослід 3. Кислотний гідроліз крохмалю*

Крохмаль містить приблизно 20 % розчинної у воді фракції – амілози, і близько 80 % нерозчинної фракції – амілопектину. У процесі кислотного і ферментативного гідролізу амілоза і амілопектин розщеплюються до декстринів (суміш полісахаридів з меншою молекулярною масою), подальший гідроліз яких приводить до утворення мальтози, а потім – D-глюкози:



*Реактиви:* Крохмальний клейстер, 0,5 % розчин  
Сірчана кислота, 10 % розчин  
Розчин йоду в калію йодиді  
NaOH, 10 % розчин  
CuSO<sub>4</sub>, розчин 2 %

### *Хід роботи*

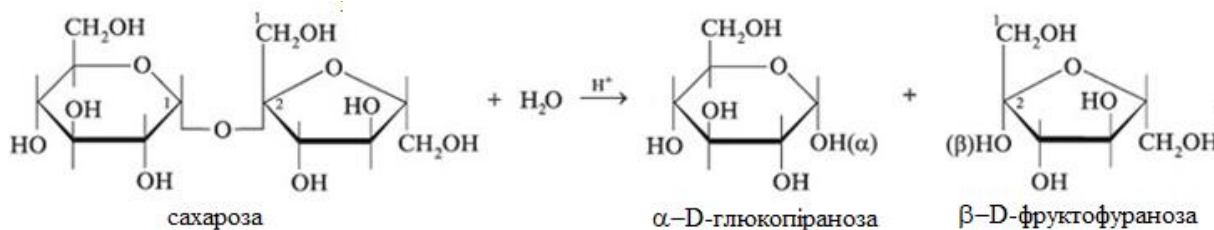
У пробірку поміщають розчин крохмального клейстеру, 10 крапель розчину сірчаної кислоти і нагрівають на водяній бані протягом 20 хв. Розчин стає прозорим. Краплю розчину наносять на предметне скло і змішують з 1 краплею

розчину йоду в калію йодиді. Відсутність інтенсивно-синього забарвлення свідчить про повний гідроліз крохмалю.

Наявність глюкози, що утворилася в результаті гідролізу крохмалю, доводять реакцією відновлення  $\text{Cu}^{2+}$ . Для цього в пробірку додають 8 крапель розчину натрію гідроксиду і 1 краплю розчину міді (II) сульфату. Спостерігають утворення прозорого розчину комплексної солі міді (II) з глюкозою синього кольору. Якщо вміст пробірки обережно нагріти, утворюється червоно-коричневий осад міді (I) оксиду.

#### Дослід 4. Кислотний гідроліз сахарози

Під час нагрівання з кислотами або під дією відповідних ферментів відбувається гідроліз дисахаридів – розпад на дві молекули моносахаридів. Сахароза (I) у процесі гідролізу розпадається на  $\alpha$ -D-глюкопіранозу (II) і  $\beta$ -D-фруктофуранозу (III), які можна виявити в реакції Фелінга:



*Реактиви:* Сахароза, 1 %  
Сірчана кислота, конц.  
Бікарбонат натрію, сухий  
Реактив Фелінга

#### Хід роботи

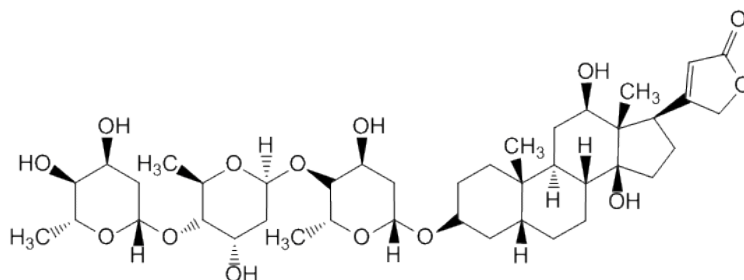
У пробірку наливають 2 мл 1 % розчину сахарози, 1 мл 10 % розчину сірчаної кислоти і кип'яють 1–2 хв. Після охолодження розчин нейтралізують сухим бікарбонатом натрію ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), додаючи його невеликими порціями доти, доки не припиниться виділення вуглекислого газу. Проводять реакцію Фелінга. Позитивна реакція вказує на утворення моносахаридів, так як сама сахароза не відновлює гідрат оксиду міді.

#### Дослід 5. Реакція Бальста (реакція на n'ятичленне лактонне кільце)

Серцеві глікозиди, утворені з моносахаридів або олігосахаридів різної природи (глікон), пов'язані  $\beta$ -глікозидним зв'язком зі стероїдами (аглікон) через їх спиртову групу. Стероїдна група пов'язана з лактонним кільцем. У малих дозах

вони збуджують діяльність серцевого м'яза, у великих дозах є серцевими отрутами.

Серцевий глікозид дигоксин міститься у квітах наперстянки.



*Реактиви:* Дигітоксин / дигоксин

Етиловий спирт, 95 % розчин

Пікринова кислота, 2 % розчин

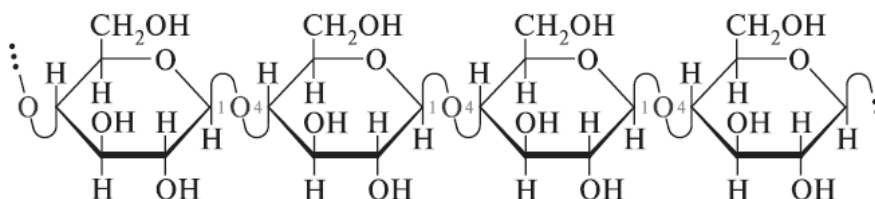
NaOH, 10 % розчин

#### *Хід роботи*

До розчину або суспензії 2 мл препарату (дигітоксин, дигоксин) в 1 мл 95 % спирту додають 1 мл 2 % спиртового розчину пікринової кислоти і 2 краплі розчину натрію гідроксиду. Утворюється помаранчевий осад. Реакція використовується для якісного і кількісного аналізу дигітоксину, дігоксину.

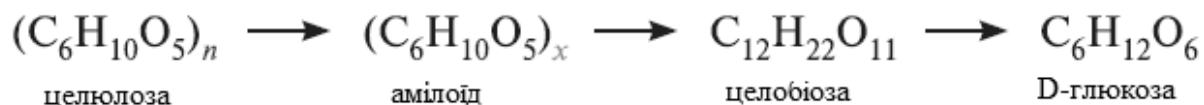
#### *Дослід № 6 Кислотний гідроліз целюлози*

Целюлоза – широко поширений у природі полісахарид, який є складовою частиною оболонок рослинних клітин. До складу деревини входить від 50 до 70 % целюлози, а до складу бавовни – до 98 %. Молекула целюлози має лінійний ланцюг, що складається із залишків D-глюкопіранози, пов'язаних між собою  $\alpha$ -1,4-глікозидним зв'язком:



Молекулярна маса целюлози коливається від 250 000 до 1 000 000, за умови наявності не менше як 1 500 залишків глюкози. Люди не мають ферментів, які б могли гідролізувати  $\beta$ -глікозидний зв'язок целюлози, але вона є необхідним баластовим компонентом їжі, поліпшує травлення. Целюлоза не розчиняється у

воді і звичайних органічних розчинниках, але піддається гідролізу під час нагрівання у присутності сірчаної кислоти:



*Реактиви:* H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрована

NaOH, 30 % розчин

Реактив Фелінга

Дрібно нарізаний фільтрувальний папір (0,5 см<sup>2</sup>)

### *Хід роботи*

У суху пробірку поміщають декілька дрібно нарізаних шматочків фільтрувального паперу, до яких додають 1 мл концентрованої сірчаної кислоти. Вміст пробірки ретельно перемішують скляною паличкою до повного утворення безбарвного в'язкого розчину. Після цього до нього обережно під час перемішування по краплях додають 2 мл дистильованої води. Пробірку ставлять на киплячу водяну баню. Суміш нагрівають 10 хв і регулярно перемішують. Після охолодження рідину нейтралізують 30 % розчином гідроксиду натрію (контроль за універсальним індикаторним папером). Після цього окремо відбирають 2 мл нейтралізованої суміші і проводять з нею реакцію Фелінга.

### *Контрольні питання*

1. Дисахариди. Наведіть структуру, охарактеризуйте основні властивості та біологічну роль мальтози, лактози, сахарози.
2. Полісахариди. Наведіть структуру, охарактеризуйте основні властивості та біологічну роль крохмалю, глікогену, клітковини.
3. До якого класу сполук відноситься крохмаль?
4. З яких двох фракцій складається крохмаль? Яка фракція крохмалю дає якісну реакцію з йодом?
5. Яку будову мають проміжні продукти гідролізу, і як вони називаються?

## Лабораторна робота № 5

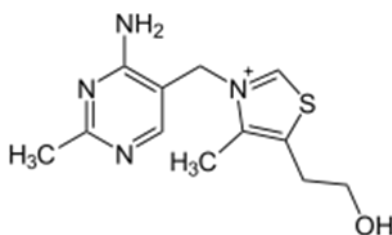
### ВІТАМІНИ

Вітаміни – це група різних за структурою органічних речовин, необхідних для нормальної життєдіяльності організму, синтез яких в організмі відсутній або обмежений.

Джерелом вітамінів для людини служить їжа та продукти життєдіяльності кишкових бактерій. Останні самі синтезують багато вітамінів і є важливим джерелом їх надходження в організм. Деякі вітаміни надходять в організм з їжею у вигляді неактивних попередників – провітамінів, які в тканинах перетворюються в біологічно активні форми вітамінів.

За розчинністю у воді і жирових розчинниках вітаміни ділять на дві групи: водорозчинні (С, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, РР, В<sub>6</sub>) і жиророзчинні (А, D, Е та ін.).

**Вітамін В<sub>1</sub>** (тіамін, антиневритний вітамін) є сполукою, що містить тіазолове і піримідинове кільця.



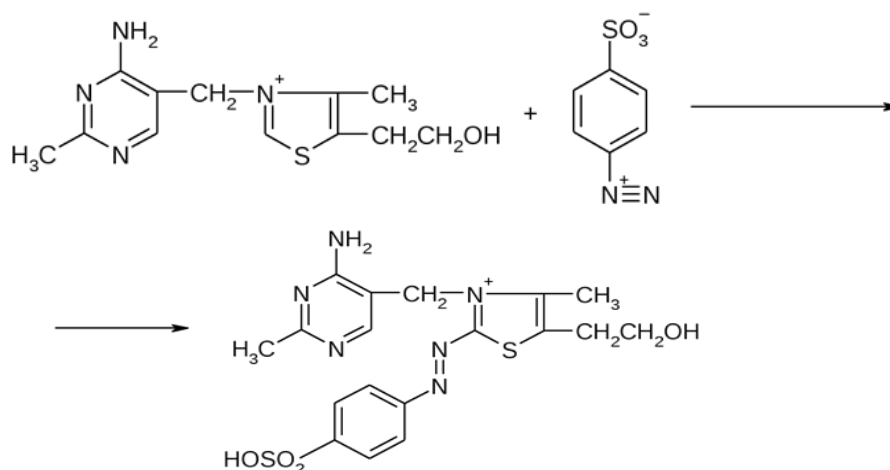
Наявність сірки і азоту в молекулі дало підставу назвати його тіамін.

Вітамін В<sub>1</sub> відіграє важливу роль у процесах перетворення вуглеводів, так як входить до складу ферменту піруватдекарбоксилази (у вигляді фосфорного ефіру – тіамінпірофосфату), яка розщеплює утворену під час дисиміляції вуглеводів піровиноградну кислоту на оцтовий альдегід і СО<sub>2</sub>. Чорний хліб, злаки, горох, квасоля, м'ясо, дріжджі – основні джерела вітаміну В<sub>1</sub>. Добова потреба – 2,5–3,0 мг.

Основною причиною гіповітамінозу є нестача вітаміну в їжі, надлишок алкогольних напоїв, які знижують всмоктування вітаміну. Клінічна картина – хвороба «бері-бері» або «ножні кайдани» – порушення метаболізму травної, серцево-судинної та нервової систем.

#### Дослід 1. Діазореакція на тіамін

Тіамін у лужному середовищі з діазореактивом утворює складну комплексну сполуку з характерним забарвленням.



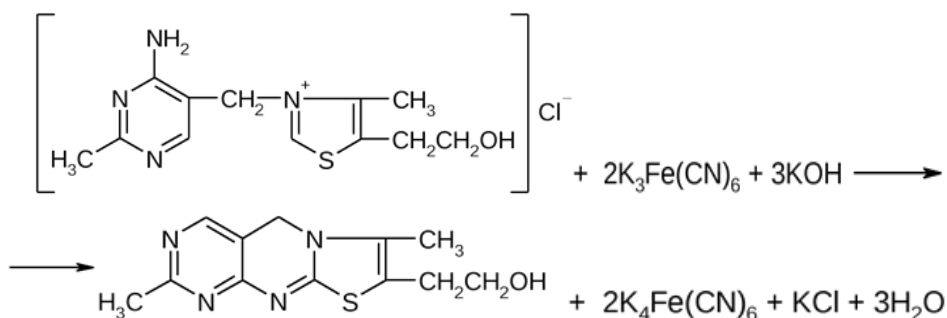
*Реактиви:* Сульфанілова кислота, 1 % розчин  
 Нітрит натрію  
 Тіамін, порошок чи 5 % розчин  
 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 10 % розчин

#### *Хід роботи*

До 5 крапель 1 % розчину сульфанілової кислоти додають 5 крапель нітриту натрію (азотистоокислого натрію), при цьому утворюється діазореактив. До реактиву додають на кінчику скляної палички невелику кількість тіаміну у вигляді порошку і потім 5–7 крапель 10 % розчину соди. Змінюється забарвлення. Результати досліду записати в таблицю.

#### *Дослід 2. Реакція окислення тіаміну в тіохром*

Тіамін (I) під дією заліzosинеродистого калію окислюється в тіохром (II) – пігмент жовтого кольору, відповідно до рівняння:

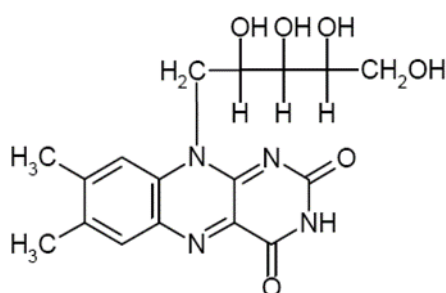


*Реактиви:* Тіамін, 5 % розчин  
 Гідроксид натрію, 10 % розчин  
 Залізо синьородистого калію, 5 % розчин

### Хід роботи

1 краплю 5 % розчину тіаміну (або невелику кількість тіаміну – на кінчику скляної палички – розчиняють у дуже невеликому об'ємі води) змішують у пробірці з 5–10 краплями 10 % розчину гідроксиду натрію і потім додають 1–2 краплі 5 % розчину заліzosинеродистого калію. Нагрівання суміші призводить до зміни забарвлення в результаті окислення тіаміну в тіохром, за якого у лужному розчині під час опромінення ультрафіолетом спостерігається інтенсивна синя флуоресценція. Результати досліду записати в таблицю.

**Рибофлавін** – це групова назва, що об'єднує всі флавіни з B<sub>2</sub>-вітамінною активністю, схожі за структурою з вітаміном B<sub>2</sub>.



Як показує формула, ізоаллоксазиновий цикл являє собою конденсовану систему з трьох кілець: піримідину, піразину і бензолу. Здатність рибофлавіну до окисно-відновних реакцій зумовлена лабільним азометиновим угрупованням, яке лежить в основі біологічної активності рибофлавіну.

Найбільшу кількість рибофлавіну містять м'ясні продукти, печінка, нирки, молочні продукти, дріжджі. Також вітамін синтезується кишковими бактеріями. Добова потреба вітаміну – 2,0–2,5 мг. Причини гіповітамінозу – харчова недостатність, зберігання харчових продуктів на світлі, фототерапія, алкоголізм і порушення роботи шлунково-кишкового тракту.

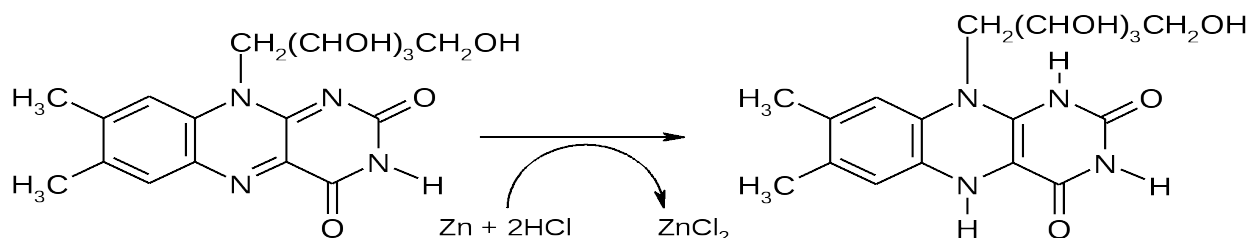
Рибофлавін має слабкий специфічний запах і гіркий смак. Малорозчинний у воді, розчиняється у спирті, ефірі, ацетоні, бензолі, хлороформі. Розчинний у розчинах лугів. У вигляді коферменту він входить до складу ряду ферментних систем, що регулюють окисні процеси в клітинах. Використовується під час лікування катаракти, дерматитів, стоматитів.

Водні розчини рибофлавіну мають яскраве жовто-зелене забарвлення, обумовлене наявністю хромофорної азометинової групи. Під час опромінення УФ-світлом виникає яскрава зелена флуоресценція. Якщо додавати луг або кислоти флуоресценція зникає, а якщо гідросульфід натрію, – зникає забарвлення через утворення лейкорибофлавіну.

### Дослід 3. Якісна реакція відновлення рибофлавіну (вітаміну B<sub>2</sub>)

У вигляді фосфорного ефіру рибофлавін входить до складу окисно-відновних ферментів, які беруть участь в перенесенні водню.

Реакція на вітамін B<sub>2</sub> заснована на його здатності легко відновлюватися:



*Реактиви:* Рибофлавін

Соляна кислота, конц.

Цинк, металевий

#### *Хід роботи*

У пробірку наливають 5 крапель розчину рибофлавіну, додають 5 крапель концентрованої соляної кислоти і невеликий шматочок металевого цинку. Водень, що виділився, реагує з рибофлавіном, і розчин змінює забарвлення. Результати дослідів записати в таблицю.

### Дослід 4. Взаємодія з сірчаною кислотою

За рахунок первинно-спиртової групи цукру рибози рибофлавін може утворювати складні ефіри з кислотами. Ефір рибофлавіну з концентрованої сірчаної кислотою забарвлений у вишнево-червоний колір і може служити для цілей ідентифікації препарату.

*Реактиви:* Рибофлавін

Сірчана кислота, конц.

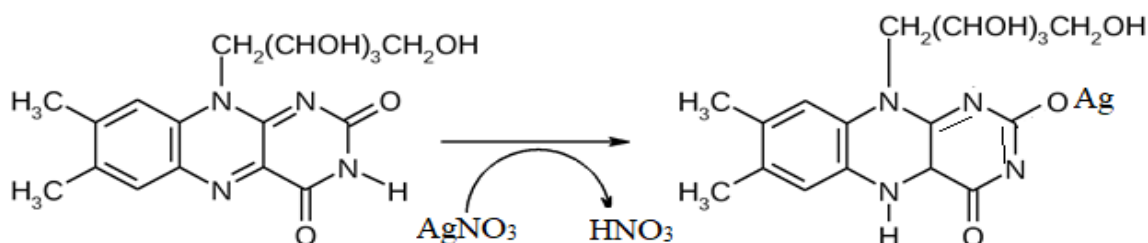
#### *Хід роботи*

У пробірку наливають 10 крапель розчину рибофлавіну, додають 10 крапель концентрованої сірчаної кислоти. Результати дослідів записати в таблицю.

### Дослід 5. Взаємодія з нітратом срібла

Рибофлавін утворює з солями важких металів (Fe, Co, Ni, Zn, Cu, Ag) нерозчинні у воді комплекси, деякі з яких забарвлені і можуть також використовуватися для цілей ідентифікації рибофлавіну. Наприклад, з розчином нітрату

срібла в нейтральному середовищі рибофлавін утворює комплекс помаранчево-червоного кольору. Ця реакція може використовуватися для підтвердження автентичності рибофлавіну за умови відсутності речовин, здатних окислюватися нітратом срібла (наприклад, аскорбінова кислота) або вступати з ним в реакцію (наприклад, нітрати).



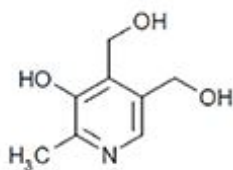
*Реактиви:* Рибофлавін  
Розчин нітрату срібла

#### *Хід роботи*

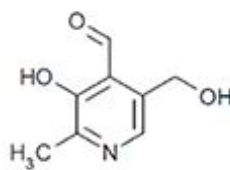
У пробірку наливають 10 крапель розчину рибофлавіну, додають 10 крапель розчину нітрату срібла. Результати досліду записати в таблицю.

**Вітамін В<sub>6</sub>** – це кристалічний порошок гіркокого смаку, добре розчинний у воді, погано розчинний у спирті і нерозчинний в органічних розчинниках.

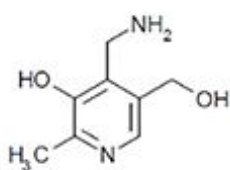
Вітамін В<sub>6</sub> – збірна назва похідних 3-гідрокси-2-метилпіридину, які мають біологічну активність. Це піридоксин, піридоксаль, піридоксамін, а також їх фосфати, серед яких найбільш важливий піридоксальфосфат.



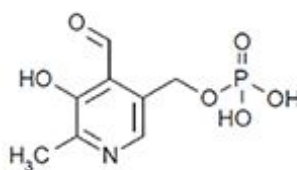
Піридоксин



Піридоксаль



Піридоксамін



Піридоксаль 5-фосфат

Вітаміном В<sub>6</sub> багаті злаки, бобові, дріжджі, печінка, нирки, м'ясо. Добова потреба – 1,5–2,0 мг.

В організмі (піридоксин, піридоксаль, піридоксамін) синтезується кишковою мікрофлорою.

*Дослід 6. Ферріхлоридна проба на вітамін В<sub>6</sub> (піридоксин)*

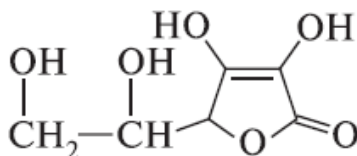
*Реактиви:* Вітамін В<sub>6</sub>, 5 % водний розчин

FeCl<sub>3</sub>, водний розчин

*Хід роботи*

Помістіть в пробірку 5 крапель водного розчину вітаміну В<sub>6</sub>, потім додайте до нього 1 краплю водного розчину хлорного заліза FeCl<sub>3</sub> і обережно струсіть. З'являється забарвлення внаслідок утворення комплексів типу фенолят заліза. Результати дослідів записати в таблицю.

У чистому вигляді **вітамін С** (γ-лактон 2,3-дегідрo-L-гулонової кислоти) – водорозчинний, міститься в багатьох овочах і фруктах.

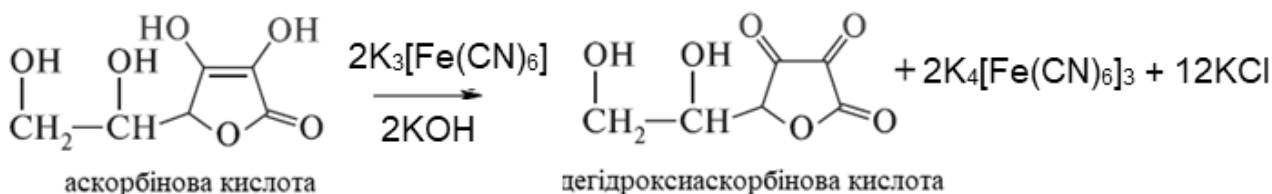


В організмі людини вітамін С синтезуватися не може, на відміну від організмів тварин і рослин, тому повинен надходити тільки з їжею. Добова потреба дорослої людини складає 50–100 мг. Нестача вітаміну С спочатку викликає у людини швидку стомлюваність, запаморочення, зниження опірності до інфекцій та стресу, а в більш серйозних випадках призводить до підшкірних крововиливів, кровоточивості ясен (цинга).

Роль вітаміну С в організмі пов'язана з його участю в окисно-відновлювальних процесах, вуглеводному обміні, в регенерації тканин, у синтезі стероїдів та ін.

*Дослід 7. Відновлення ферроціаніда калію вітаміном С*

Вітамін С відновлює комплексну сіль заліза (III) – K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] в комплексну сіль заліза (II) – K<sub>4</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]. Остання утворює з хлорним залізом (FeCl<sub>3</sub>) погано розчинну у воді сіль заліза (III) – берлінську блакить.



*Реактиви:*  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , 5 % розчин

$\text{FeCl}_3$ , 1 % розчин

Вітамін С, розчин

#### *Хід роботи*

У 2 пробірки налийте по 2–3 краплі розчину  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  і 1 краплю розчину  $\text{FeCl}_3$ , ретельно перемішайте. Потім в одну пробірку додайте 10 крапель розчину вітаміну С, а в другу – стільки ж дистильованої води (це пробірка порівняння). Результати досвіду записати в таблицю.

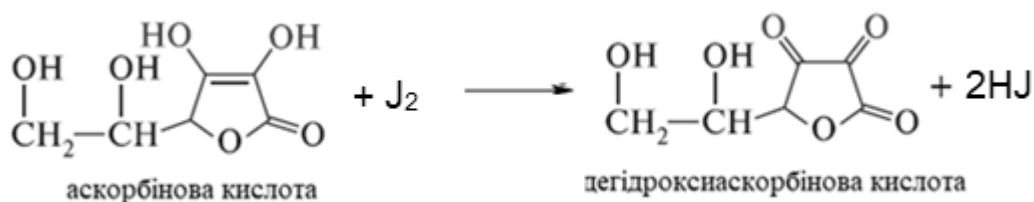
#### *Дослід 8. Йодна проба на вітамін С*

*Реактиви:*  $\text{I}_2$  в  $\text{KI}$ , розчин

Вітамін С, розчин

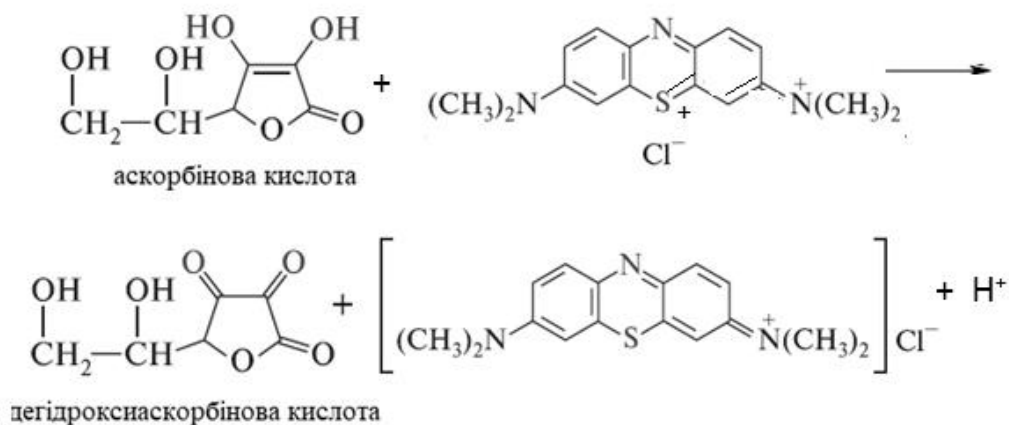
#### *Хід роботи*

У 2 пробірки налийте по 10 крапель дистильованої води і по 1–2 краплі розчину  $\text{I}_2$  в  $\text{KI}$ . Потім в одну пробірку додають 10 крапель розчину вітаміну С, а в другу – стільки ж дистильованої води (це пробірка порівняння). Результати досвіду записати в таблицю.



#### *Дослід 9. Реакція відновлення метиленової сині вітаміном С*

Вітамін С знебарвлює розчин метиленової сині, відновлюючи її в лейко-сполуку:



### Хід роботи

У двох пробірках (дослід і контроль) змішують по 1 краплі 0,01 % розчину метиленової сині і 1 краплі 10 % розчину бікарбонату натрію. У дослідну пробірку додають 5 крапель 1 % розчину вітаміну С, а в контрольну – стільки ж дистильованої води. Нагрівання розчинів у пробірках призводить до знебарвлення рідини в дослідній пробі.

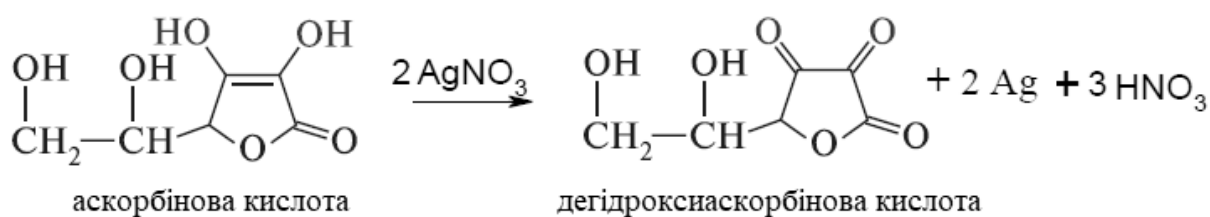
### Дослід 10. Реакція з солями металів (срібла)

Реактиви:  $\text{AgNO}_3$ , 10 % розчин

Вітамін С, розчин

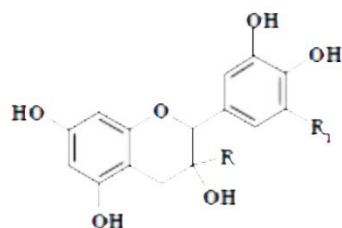
### Хід роботи

Наважку аскорбінової кислоти 0,05 г розчиняють в 2 мл дистильованої води. Додають 0,5 мл 10 % розчину нітрату срібла. Випадає осад.



До групи **вітаміну Р** відносять ряд речовин – флавоноїди.

Вітамін Р міститься в продуктах, багатих вітаміном С (лимони, чай, чорна смородина). За нестачі вітаміну Р спостерігається підвищена проникність кровоносних судин і в серйозних випадках їх крихкість.



R і R<sub>1</sub> – H або OH

Необхідно відзначити, що дія проявляється тільки в присутності вітаміну С. Авітаміноз Р зазвичай супроводжує авітаміноз С.

### *Дослід 11. Ферріхлоридна проба на вітамін Р*

*Реактиви:* Чайна заварка

FeCl<sub>3</sub>, водний розчин

#### *Хід роботи*

Налийте в пробірку 1 мл чайної заварки (в ній міститься вітамін Р) і додайте до неї 5 крапель розчину хлорного заліза FeCl<sub>3</sub>. Обережно струсіть пробірку і розбавте отриманий розчин, додавши 2 мл дистильованої води. Як змінюється забарвлення розчину?

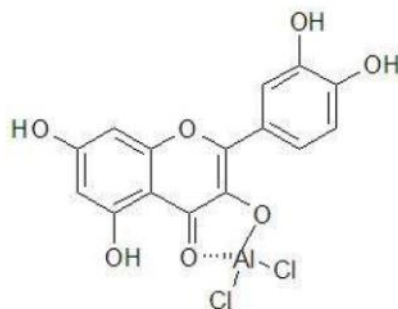
### *Дослід 12. Реакція кверцетину з хлоридом алюмінію (III)*

*Реактиви:* Кверцетин, розчин

AlCl<sub>3</sub>, 2–5 % спиртовий розчин

#### *Хід роботи*

Флавоноїди, які мають дві гідроксигрупи у С3 і С5, утворюють хелатні комплекси за рахунок водневих зв'язків, що виникають між карбонільною і гідроксильною групою і іоном алюмінію, мають жовтий колір з жовто-зеленою флуоресценцією.



### Дослід 13. Реакція з хлоридом заліза

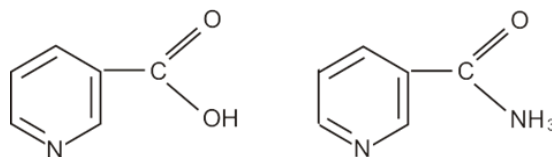
Біофлавоноїди утворюють з хлоридом заліза комплексне з'єднання. Координаційні зв'язки виникають між іоном заліза і атомами кисню фенольних гідроксильних груп молекули вітаміну.

*Реактиви:* Кверцетин, розчин  
 $\text{FeCl}_3$ , 2 %

#### Хід роботи

До 1–2 мл насиченого розчину кверцетину додають 3–5 крапель 1 % розчину хлориду заліза ( $\text{FeCl}_3$ ). Спостерігається зміна забарвлення розчину.

**Нікотинова кислота** і її амід (нікотинамід) відомі в медичній практиці як дві форми вітаміну РР (кислота є провітаміном, а амід – вітаміном РР). Нікотинова кислота – вітамін, що бере участь у багатьох окисно-відновних реакціях, утворенні ферментів та обміні ліпідів і вуглеводів у живих клітинах. Джерелом вітаміну є печінка, м'ясо, риба, бобові, гречка, чорний хліб, у молоці та яйцях – вітаміну мало. Також синтезується в організмі з триптофану – одна з 60 молекул триптофану перетворюється в одну молекулу вітаміну. Добова потреба – 15–25 мг.



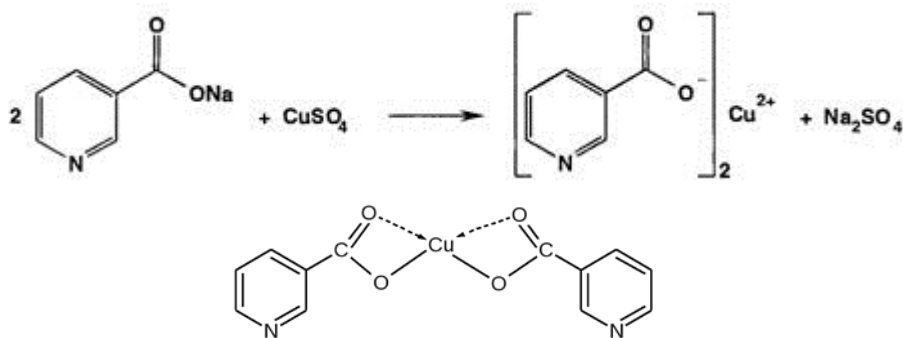
### Дослід 14. Взаємодія нікотинової кислоти із солями міді

*Реактиви:* Нікотинова кислота, розчин  
 $\text{CuSO}_4$ , 5 % розчин  
Гідроксид натрію, 10 % розчин

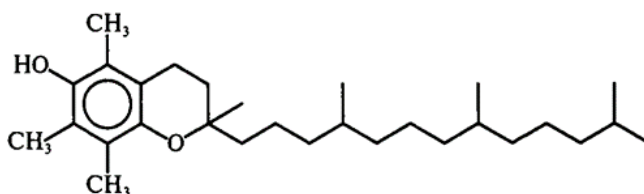
#### Хід роботи

1. До 10 крапель теплого 1 % розчину вітаміну РР додають 10 крапель 10 % розчину гідроксиду натрію і 5 крапель 10 % розчину сульфату міді. Випадає осад мідної солі нікотинової кислоти.

2. 5–10 мг нікотинової кислоти розчиняють під час нагрівання в 10–20 краплях 10 % розчину оцтової кислоти. До нагрітого до кипіння розчину додають рівний об'єм 5 % розчину ацетату міді. Рідина забарвлюється, і з часом випадає осад мідної солі нікотинової кислоти.



**Вітамін Е ( $\alpha$ -токоферол)** – найбільш поширений антиоксидант в природі – є ліпофільною молекулою, здатною інактивувати вільні радикали безпосередньо в гідрофобному шарі мембран і у такий спосіб запобігати розвитку ланцюга перекисного окислення. Розрізняють 8 типів токоферолів, серед яких  $\alpha$ -токоферол є найбільш активним.



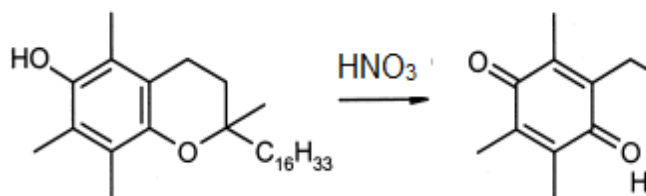
*Дослід 15. Реакція  $\alpha$ -токоферолу з концентрованою азотною кислотою*

*Реактиви:* Токоферол, розчин

*Азотна кислота, конц.*

*Хід роботи*

До 3 крапель розчину токоферолу в сухій пробірці додають 5 крапель концентрованої азотної кислоти і струшують. Утворюється емульсія, яка поступово розшаровується, її верхній шар набуває забарвлення, що зумовлене окисленням токоферолу з утворенням *n*-токоферіл хінону.



*Дослід 16. Реакція  $\alpha$ -токоферолу з хлоридом заліза (III)*

*Реактиви:* Токоферол, 0,1 % розчину

*FeCl<sub>3</sub>, водний розчин*



## Дослід 18. Реакція Друммонда

Реактиви: Ретинол

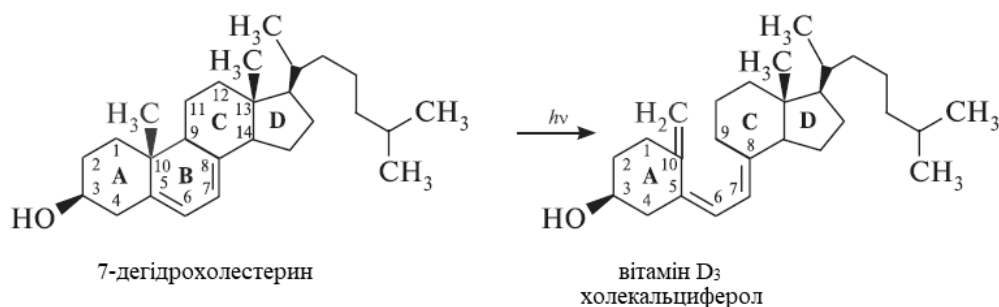
Сірчана кислота, конц.

Хлороформ, розчин

### Хід роботи

На сухому склі чи у пробірці змішати 6 крапель вітаміну А або риб'ячого жиру в хлороформі з 1 краплею конц. розчину сірчаної кислоти. Спостерігається поява забарвлення суміші в результаті утворення комплексу.

**Вітамін D** представлений групою споріднених сполук, що володіють анти-рахітною активністю. Найважливішими серед них є ергокальциферол (D<sub>2</sub>), холекальциферол (D<sub>3</sub>), дігідроергокальциферол (D<sub>4</sub>). В організмах тварин холекальциферол синтезується під дією УФ-світла з 7-дегідрохолестерину, який присутній у шкірних покриттях.



Є два джерела надходження вітаміну D: це харчові продукти – печінка, дріжджі, жирномолочні продукти (вершкове масло, вершки, сметана), жовток яйця, крім того, вітамін утворюється в шкірі при ультрафіолетовому опроміненні з 7-дегідрохолестеролу.

## Дослід 19. Анілінова проба на вітамін D

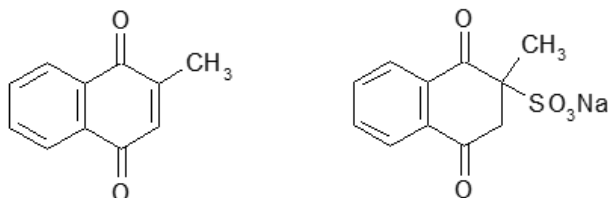
Під час нагрівання риб'ячого жиру, що містить вітамін D, з аніліновим реактивом розчин набуває червоного забарвлення.

### Хід роботи

У суху пробірку вносять 1 краплю риб'ячого жиру, 5 крапель хлороформу і ретельно струшують. Потім додають 1 краплю анілінового реактиву, що містить 15 частин аніліну і 1 частину концентрованої соляної кислоти. Суміш обережно під час помішування нагрівають до кипіння і кип'ятять приблизно 30 секунд. За наявності вітаміну D жовта емульсія спочатку стає зеленою, а потім чер-

воною. Через 1–2 хвилини емульсія розшаровується, при цьому нижній шар забарвлений в інтенсивно червоний колір.

**Вітамін К.** Регулює згортання крові і мінералізацію кісткової тканини, за хімічною будовою є похідним метилнафтохінону. Високою вітамінною активністю володіє штучно синтезований аналог вітаміну К – вікасол.



Основними джерелами вітаміну К є капуста, кропива, горобина, шпинат, гарбуз, арахісове масло, печінка. Також вітамін утворюється мікрофлорою в тонкому кишківнику. Запаси вітаміну в печінці складають близько 30 добових доз (добова потреба 2 мг). Одна з основних функцій вітаміну К – участь в синтезі факторів згортання крові.

#### *Дослід 20. Реакція з цистеїном*

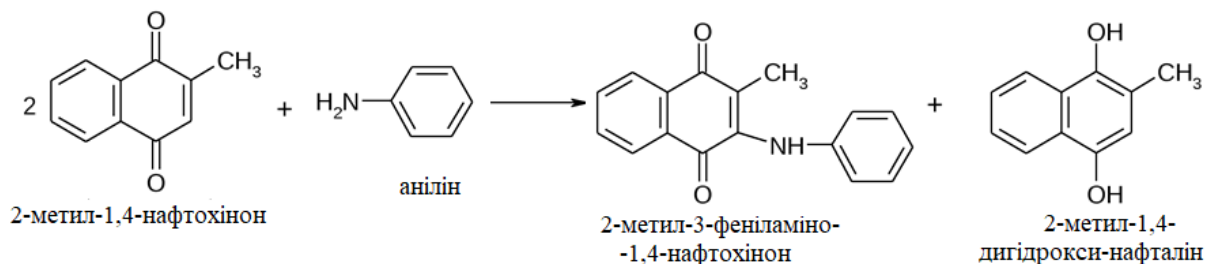
Вікасол в присутності цистеїну в лужному середовищі змінює своє забарвлення.

#### *Хід роботи*

У пробірку наливають 10 крапель 0,1 % спиртового розчину вікасолу, 5 крапель 0,025 % розчину цистеїну і 2 краплі 10 % розчину гідроксиду натрію. Вміст пробірки перемішують і спостерігають появу забарвлення.

#### *Дослід 21. Реакція з аніліном*

Під час взаємодії вітаміну К з аніліном утворюється сполука, забарвлена в червоний колір. Наприклад:



### *Хід роботи*

У пробірку вносять 5 крапель 0,2 % спиртового розчину вікасолу (приготованого на етанолі), 2 краплі аніліну і перемішують. Суміш змінює колір.

<b>№ дослідю</b>	<b>Вітамін</b>	<b>Реакція</b>	<b>Спостереження</b>
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			

### *Контрольні питання*

1. Як класифікують вітаміни?
2. Що таке авітаміноз? Гіповітаміноз? Гіпервітаміноз?
3. Що відбувається з вітамінами у процесі нагрівання?
4. Які вітаміни здатні синтезуватись в організмі?
5. Які вітаміни проявляють антиоксидантну активність? Який механізм дії таких вітамінів?
6. Назвіть загальні властивості вітамінів.

## Лабораторна робота № 6

### ГОРМОНИ

Гормони – біологічно активні речовини, які регулюють процеси обміну речовин і функціонування органів та тканин. Вони виробляються в ендокринних залозах і потрапляють безпосередньо у кров. Гормони мають різну хімічну природу (поліпептиди, похідні амінокислот та ін.).

**Гормони класифікують** за рядом ознак: за місцем синтезу, за характером і механізмом дії, за хімічною природою.

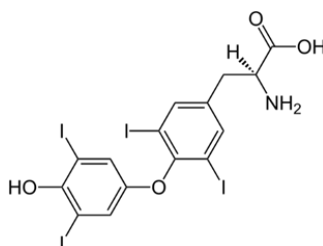
**За місцем синтезу** виділяють гормони гіпоталамуса, гіпофіза, щитовидної, паращитовидної, підшлункової, статевих залоз, наднирників.

**За хімічною структурою** гормони поділяються на гормони пептидно-білкової природи, похідні амінокислот і стероїдні.

**За характером дії гормони** діляться на пускові та гормони-виконавці. До пускових відносяться гормони гіпоталамуса. Вони стимулюють діяльність відповідних залоз внутрішньої секреції. Гормони-виконавці, які впливають на основні реакції обміну речовин організму, що забезпечують його ріст, розвиток, адаптацію, розмноження та ін. У клініці часто зустрічаються гормональні порушення – гіпо- та гіперфункції залоз внутрішньої секреції. Гормони в організмі знаходяться у зв'язаному і вільному станах. Між дією різних гормонів існує взаємозв'язок.

### ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ТИРОКСИН

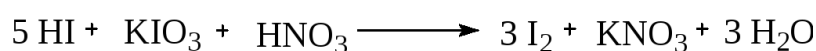
Тироксин є високоактивним йодовмісним тиреоїдним гормоном щитовидної залози:



Тиреоїдні гормони регулюють ріст і розвиток клітин, функції центральної і периферичної нервових систем, м'язової, репродуктивної, кісткової, серцево-судинної, дихальної та інших систем організму. І найголовніше – вони можуть керувати процесами синтезу білків. Інший, дуже важливий ефект дії тиреоїдних гормонів – здатність стимулювати клітинне і тканинне дихання в мітохондріях.

### Дослід 1. Виявлення йоду у тироксині

У якості досліджуваного матеріалу використовуються таблетки тироксину, який здатний піддаватися кислотному гідролізу. У процесі руйнування тироксину утворюється йодид калію, з якого йод легко витісняється йодатом калію. Витіснення йоду з солі йодисто-водневої кислоти є окислювально-відновною реакцією, де йодид калію служить відновником, а йодат калію (залишок йодноватої кислоти) – окиснювачем:



Вільний йод екстрагують хлороформом. Розчин йоду в хлороформі забарвлюється у рожевий колір.

*Реактиви:* Тироксин

Азотна кислота, конц.

KIO<sub>3</sub>, 10 % розчин

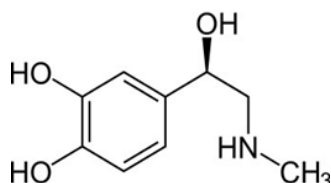
Хлороформ, розчин

### Хід роботи

У пробірку вносять частину таблетки тироксину і 5–10 крапель азотної кислоти. Для проведення гідролізу пробірку нагрівають 1–2 хвилини на водяній бані (якщо рідина починає пінитися, нагрівання зупиняють). Потім додають в пробірку 15 крапель розчину йодноватистоокислого калію, розчин обережно перемішують і охолоджують. Після охолодження в пробірку додають 10 крапель хлороформу, струшують і зазначають, що хлороформ (нижній шар) зафарбувався йодом у рожевий колір.

## ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА АДРЕНАЛІН

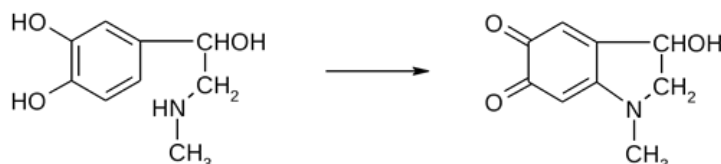
Гормон адреналін виробляється мозковим шаром надниркових залоз, утворюється з амінокислот тирозину або фенілаланіну:



Адреналін підвищує обмін речовин і впливає на вуглеводний обмін, посилює розпад глікогену, викликаючи підвищення вмісту цукру в крові і глюкозурію. Адреналін впливає на серцево-судинну систему, збільшуючи кров'яний тиск і посилюючи роботу серця. Його секреція різко підвищується у стресових

станах, через відчуття небезпеки, тривоги, страху, у випадку травм, опіків та шоків станів. Дія адреналіну пов'язана з впливом на  $\alpha$ - і  $\beta$ -адренорецептори і багато в чому збігається з ефектами збудження симпатичних нервових волокон. Він викликає звуження судин органів черевної порожнини, шкіри і слизових оболонок; меншою мірою звужує судини скелетної мускулатури.

За хімічною природою адреналін є похідним пірокатехіну і легко окислюється, перетворюючись спочатку в дегідрoadреналін, а потім в неактивний хінон червоного кольору – адренохром:

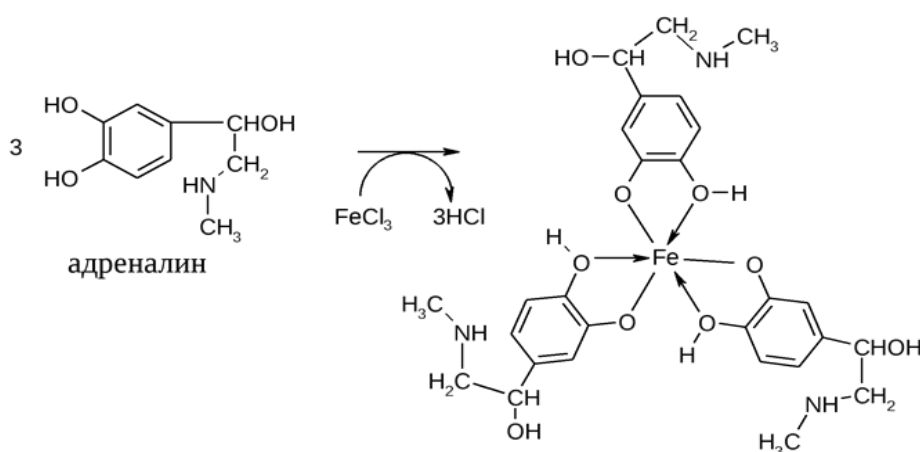


Адренохром може брати участь в подальших окисно-відновних реакціях або полімеризуватися з утворенням високомолекулярного пігменту – меланіну коричневого кольору.

Якісні реакції на адреналін зумовлені його окисленням до адренохрому або реакційною здатністю пірокатехінового кільця.

### Дослід 2. Реакція з хлорним залізом

Під час додавання до розчину адреналіну хлорного заліза рідина забарвлюється в зелений колір внаслідок утворення комплексної сполуки типу фенолята заліза. Реакція характерна для пірокатехінового кільця, що входить в молекулу адреналіну.



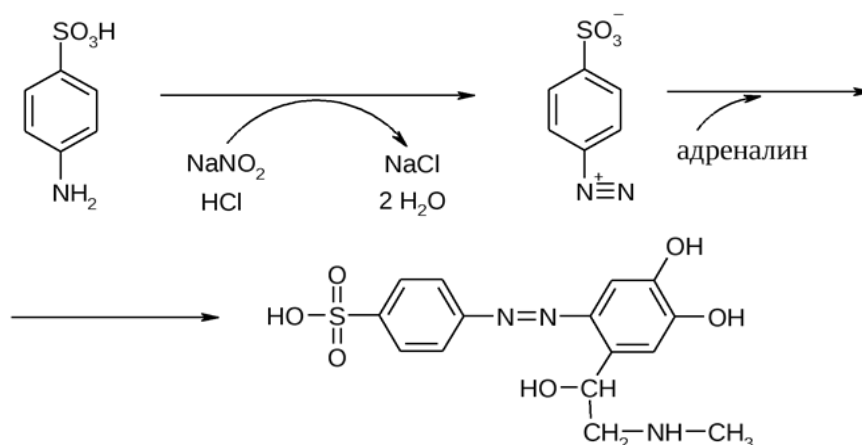
*Реактиви:* Адреналін, розчин  
FeCl<sub>3</sub>, 1 % розчин  
Аміак, розчин

### Хід роботи

До 3 крапель розчину адреналіну (1:1000) додають 1 краплю 1 % розчину хлорного заліза. Рідина змінює забарвлення. Якщо додати 1 краплю концентрованого розчину аміаку, забарвлення ще раз змінить колір.

### Дослід 3. Діазореакція

Під час взаємодії діазореактива з адреналіном утворюється азобарвник червоного кольору. Діазореактив – суміш сульфанілової кислоти і азотистої кислоти (або її солі):



**Реактиви:** Сульфанілова кислота, 1 % розчин  
Адреналін, розчин  
 $\text{NaNO}_2$ , 5 % розчин  
 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 10 % розчин

### Хід роботи

У пробірку вміщують 3 краплі 1 % розчину сульфанілової кислоти, 3 краплі 5 % розчину нітриту натрію (азотистоокислого натрію), 5 крапель розчину адреналіну (1: 1000) і 3 краплі 10 % розчину вуглекислого натрію ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) або  $\text{NaOH}$ .

### Дослід 4. Реакція з реактивом Фоліна

Солі фосфорновольфрамової і фосфорномолібденової кислот, які входять до складу реактиву Фоліна, під час взаємодії з фенолами відновлюються з утворенням оксидів, забарвлених у синій колір.

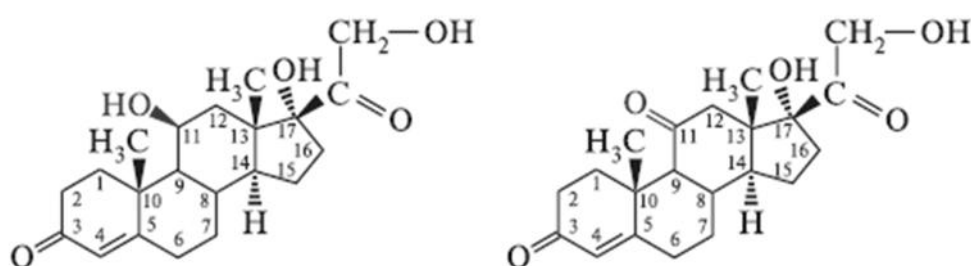
**Реактиви:** Реактив Фоліна  
Адреналін, розчин  
 $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 10 % розчин

### Хід роботи

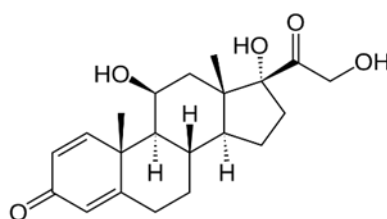
У пробірці змішують 2 краплі 0,1 % розчину адреналіну і 5 крапель 10 % розчину карбонату натрію. Через 3–4 хвилини додають 1 краплю реактиву Фоліна. З'являється характерне забарвлення.

## КОРТИКОСТЕРОЇДИ

Кортикостероїди виробляються в корі надниркових залоз. За хімічною природою вони є похідними вуглеводню прегнану. За характером впливу на процеси обміну кортикостероїди поділяють на дві групи: глюкокортикоїди, які регулюють вуглеводний обмін, і мінералокортикоїди, що впливають на сольовий обмін (обмін  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  і води). Глюкокортикоїди чинять активний вплив на вуглеводи і білковий обмін. Вони підвищують вміст глюкози в крові, сприяють накопиченню глікогену в печінці, викликають збільшення виділення азоту з сечею. Глюкокортикоїди проявляють протизапальну і антиалергічну дію. Важливими представниками глюкокортикоїдів є гідрокортизон і кортизон:



Преднізолон – синтетичний дегідрований аналог гідрокортизону.



### Дослід 5. Реакція з реактивом Фелінга

Реактиви: Преднізолон, спиртовий розчин

Реактив Фелінга

### Хід роботи

До 1 мл 1 % спиртового розчину препарату додають 1 мл реактиву Фелінга (готують шляхом змішування 0,5 мл реактиву Фелінга А + 0,5 мл реактиву

Фелінга В) і нагрівають на киплячій водяній бані. Утворюється червоно-помаранчевий осад.

*Дослід 6. Реакція з аміачним розчином нітрату срібла (реактив Толленса)*

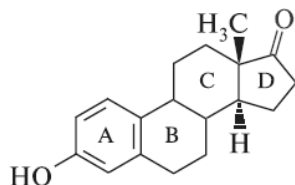
*Реактиви:* Преднізолон, спиртовий розчин  
Реактив Толленса

*Хід роботи*

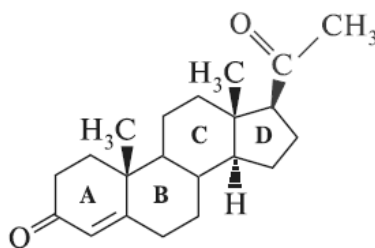
До 1 мл 1 % спиртового розчину препарату додають 2 мл аміачного розчину нітрату срібла. Нагрівають на киплячій водяній бані протягом 4–5 хв. Утворюється «срібне дзеркало».

## ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ФОЛІКУЛІН

Фолікулін (естрон) – жіночий стероїдний статевий гормон, другий за важливістю представник групи естрогенів, разом з естрадіолом. Естрон утворюється з естрадіолу під дією ферментів і характеризується меншою гормональною активністю – приблизно в 1,25–5 разів (зважаючи на його низьку здатність зв'язуватися з рецепторами клітин). Подібно до естрадіолу він виробляється в жовтому тілі яєчників, у фолікулах і надниркових залозах, а під час вагітності – у плаценті.



Прогестерон – проміжний продукт у синтезі всіх гормонів стероїдного типу, який стимулює і регулює важливі функції, а зокрема, менструальні цикли, підготовку організму до зачаття і підтримання вагітності. Основне місце синтезу прогестерону – жовте тіло яєчників, а також плацента (у вагітної жінки) та підшлункова залоза (незначна кількість).



прогестерон

### Дослід 7. Реакція з діазореактивом

Реактиви: Прогестерон

$\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 10 % розчин

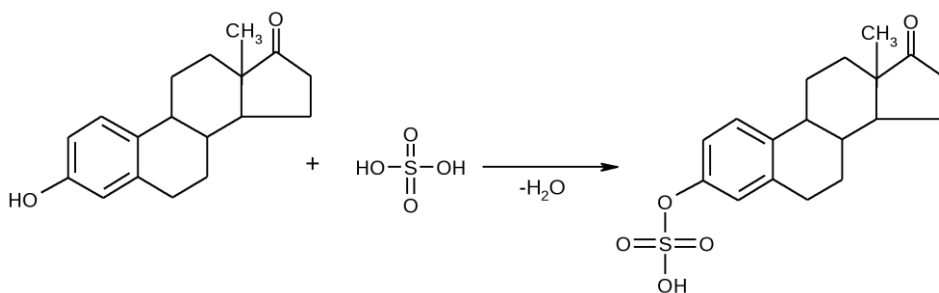
Діазореактив

#### Хід роботи

До 3 крапель розчину прогестерону додають дві краплі 10 % карбонату натрію і дві–три краплі діазореактиву. Поступово виникає блідо-пісочне забарвлення.

### Дослід 8. Реакція із сірчаною кислотою

Під час взаємодії фолікуліну з концентрованою сірчаною кислотою утворюється ефірна сполука солом'яно-жовтого кольору (фолікулінсульфат):



Реактиви: Прогестерон

$\text{H}_2\text{SO}_4$ , конц.

#### Хід роботи

У пробірку вносять 2–3 краплі розчину прогестерону, додають 0,5 мл концентрованої сірчаної кислоти і отриману суміш нагрівають до появи жовтого забарвлення. Із масляним розчином прогестерону реакцію можна проводити за кімнатної температури.

## ІНСУЛІН

Інсулін виробляється  $\beta$ -клітинами острівців Лангерганса підшлункової залози. Він є білком, що складається з двох поліпептидних ланцюгів, з'єднаних двома дисульфідними містками. Інсулін збільшує проникність мембран клітин по відношенню до глюкози, активує синтез гексокінази печінки, посилює синтез глікогену і жирів із глюкози, уповільнює окислення жирних кислот, гальмує глюконеогенез. Це викликає гіпоглікемію. Нестача інсуліну через захворювання

на цукровий діабет призводить до гіперглікемії. Інсулін можна виявити реакціями, характерними для білків.

*Дослід 9. Біуретова реакція*

*Реактиви:* Інсулін, розчин

Сульфат міді, 1 % розчин

Гідроксид натрію, 10 % розчин

*Хід роботи*

До 1 мл розчину інсуліну додають 2 мл 10 % розчину гідроксиду натрію і 2 краплі 1 % розчину сульфату міді, перемішують. З'являється фіолетове забарвлення.

*Дослід 10. Реакція Фолья на сірку*

*Реактиви:* Інсулін, розчин

Ацетат свинцю, 10 % розчин

Гідроксид натрію, 10 % розчин

*Хід роботи*

До 1 мл розчину інсуліну додають 2 мл концентрованого розчину гідроксиду натрію і кип'ячать 1–2 хвилини. Додають 1 мл 10 % розчину ацетату свинцю. З'являється буро-чорне забарвлення.

*Дослід 11. Реакція Геллера*

*Реактиви:* Інсулін, розчин

Азотна кислота, конц.

*Хід роботи*

У пробірку наливають 0,5 мл концентрованої азотної кислоти і, нахиливши пробірку, обережно доливають по стінці рівний об'єм розчину інсуліну. У місці зіткнення двох рідин з'являється білий аморфний осад білка у вигляді кільця. Обережно струшують пробірку і додають надлишок азотної кислоти. Осад не зникає.

### *Контрольні питання*

1. Що таке гормони?
2. Назвіть шляхи дії гормонів.
3. Яку хімічну структуру мають досліджувані гормони?
4. Сформулюйте біологічну роль досліджуваних гормонів.
5. Назвіть гормони білкової природи.
6. Де синтезуються гормони?

## АЛКАЛОЇДИ

**Алкалоїди** (від лат. *Alcali* – луг і грец. *Eidos* – вид) – азотовмісні органічні сполуки рослинного походження, які проявляють виражену фізіологічну дію на організм людини. Багато алкалоїдів міститься в рослинах сімейства бобових, макових, пасльонових. Всього відомо кілька тисяч алкалоїдів рослинного походження. У рослинних тканинах, як правило, синтезується кілька алкалоїдів у вигляді солей, близьких за хімічною структурою та властивостями, які накопичуються в корі, листках, плодах і коренях.

Алкалоїди володіють дуже високою фізіологічною активністю і тому у великих дозах – це отрути, а в малих – сильнодіючі ліки різної дії: атропін, наприклад, розширює зіницю і підвищує внутрішньоочний тиск, а пілокарпін, навпаки, його звужує і знижує внутрішньоочний тиск; кофеїн і стрихнін збуджують центральну нервову систему, а морфін пригнічує її; папаверин розширює кровоносні судини і знижує артеріальний тиск, а ефедрин звужує судини і підвищує артеріальний тиск.

Виділення алкалоїдів з рослин засноване на здатності їх солей добре розчинятися у воді, а алкалоїдів-основ – в органічних розчинниках (хлороформі, діетиловому ефірі, бензолі). Існує два основні методи виділення алкалоїдів: екстракція у вигляді солей і екстракція у вигляді основ. Для екстракції у вигляді солей, рослинну сировину, що містить алкалоїди, обробляють водою або етиловим спиртом, підкисленою, здебільшого винною кислотою. Всі алкалоїди у такому випадку переходять у розчин у вигляді солей винної кислоти. Для очищення від супутніх речовин, витяжку підлужують і у результаті цього утворюються основи алкалоїдів, які екстрагують органічними розчинниками. Операцію очищення (обробка кислотою, а потім лугом) повторюють кілька разів. Після цього розчинник видаляють, а залишок, що містить суму алкалоїдів, ділять на індивідуальні речовини. Під час екстракції у вигляді основ, рослинний матеріал обробляють розчином лугу. Частіше для цієї мети використовують розчин аміаку, натрію гідрокарбонату або карбонату. Основи алкалоїдів, які утворюються, екстрагують органічними розчинниками. Далі проводять очистку за рахунок переведення алкалоїдів в солі, а потім в основи, повторюючи процес багаторазово.

Для виявлення алкалоїдів у тому чи іншому об'єкті застосовують загальні, так звані групові реакції, властиві групі алкалоїдів, і специфічні реакції, характерні для індивідуальних алкалоїдів.

*Групові (загальні) реакції* засновані на здатності алкалоїдів, як основ, утворювати з деякими реагентами важкорозчинні у воді осадки простих або комплексних солей. Найчастіше для осадження алкалоїдів застосовують розчин йоду в калію йодиді (реактив Вагнера), розчин ртуті (II) йодиду в калію йодиді (реактив Майера), розчин вісмуту йодиду в калію йодиді (реактив Драгендорфа), розчини таніну, пікринової кислоти та ін.

*Специфічні реакції.* Крім реакцій осадження, для виявлення алкалоїдів часто користуються кольоровими реакціями. Так, під дією концентрованих сірчаної, азотної кислот, а також суміші сірчаної та азотної кислот (реактив Ерדмана), суміші сірчаної кислоти і формальдегіду (реактив Марки) та інших, багато алкалоїдів утворюють забарвлені розчини. Кольорові реакції базуються на протіканні процесів дегідратації, окислення, конденсації та ін., в основу яких покладені особливості хімічної структури алкалоїдів, тому вони можуть бути використані як специфічні для певних груп алкалоїдів. Ідентифікацію конкретних алкалоїдів здійснюють за допомогою специфічних реакцій на окремі функціональні групи, що входять до складу молекули алкалоїду, а також із застосуванням фізико-хімічних методів (ІЧ, УФ, ПМР-спектроскопія, мас-спектрометрія і хроматографія). Спеціальні кольорові реакції застосовуються під час аналізу окремих алкалоїдів. Ці реакції проводять з чистими алкалоїдами або з очищеними витяжками: кілька крапель очищеного хлороформного або ефірного екстракту випаровують у фарфоровій чашці, додають до залишку той чи інший реактив; при цьому утворюється відповідне забарвлення.

Крім якісних реакцій (осадження і кольорових), для виявлення алкалоїдів використовують люмінесцентний аналіз. Встановлено, що ряд речовин в ультрафіолетових променях дає характерну флюоресценцію: наприклад, хінін – синю флюоресценцію, гідрастин – золотисту.

Алкалоїди для зручності вивчення поділяють на групи. Спочатку, коли хімічна структура багатьох алкалоїдів не була встановленою, їх класифікували за ботанічною ознакою, згідно з якою в одну групу об'єднувалися алкалоїди, виділені з рослин певного роду, наприклад, алкалоїди макових, маренових, пасльонових і т. д. У даний час загальноприйнятою є хімічна класифікація, в основу якої покладена природа гетероциклу, що входить в структуру алкалоїду. Згідно цієї класифікацією, алкалоїди ділять на такі основні групи – похідні піридину і піперидину, хіноліну, ізохіноліну, індолу, тропану, пурину та ін.

Алкалоїд	Реактив				
	конц. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	конц. HNO <sub>3</sub>	Ердмана конц. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> + HNO <sub>3</sub>	Фреде (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> + конц. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Маркі НСОН + конц. H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
Атропіну сульфат					Жовте
Хініну гід- рохлорид	Блакитна флуорес- ценція				
Папаверину гідрохлорид	Фіолетове під час нагрівання	Помаранче- ве під час нагрівання	Червоне	Фіолетове під час нагрівання	Червоне
Морфіну гідрохло- рид		Червоне		Синьо- фіолетове	Червоно-фіо- летове, яке переходить у синьо-фіоле- тове
Кодеїн		Червоне, яке пере- ходить у жовте	Синє під час нагрівання	Зелене, яке переходить у синє	Синьо- фіолетове

*Дослід 1. Загальна реакція на алкалоїди*

*Реактиви:* Пікринова кислота, 10 % розчин

Сухі рослини

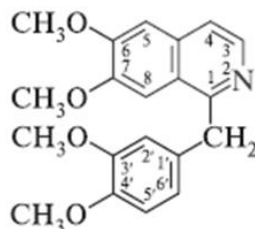
Оцтова кислота, 1 % розчин

*Хід роботи*

Пікринова кислота (приблизно 10 % розчин) утворює майже з усіма алкалоїдами, крім аконітину, кофеїну, теоброміну, конину і морфіну пікрату – осад жовтого кольору.

У колбу поміщають 10 г сухих рослин, перетертих у дрібний порошок, змішують з 1 % розчином оцтової кислоти (можна з 1 % розчином винної, щавлевої і іншими органічними кислотами) у співвідношенні 1:10 до наважки. Колбу поміщають в киплячу водяну баню і нагрівають вміст колби до кипіння, періодично помішуючи. Після водяної бані колбу охолоджують, струшують протягом 15 хвилин, фільтрують через складчастий фільтр. В отриманому фільтраті визначають наявність алкалоїдів груповою пробою загальноалкалоїдними (осаджуючими) реактивами (пікринова кислота).

**Папаверин** [6,7-диметокси-1-(3', 4'-діметоксibenзіл) ізохінолін] вперше був виділений у 1884 р. з опію, а в 1910 – отриманий синтетично. Папаверин – безбарвна кристалічна речовина, нерозчинна у воді, розчинна у гарячому етанолі і хлороформі. У вигляді гідрохлориду папаверин застосовується в медицині як спазмолітичний і судинорозширювальний засіб.



*Дослід 2. Реакція з реактивом Вагнера, Люголя*

*Реактиви:* Папаверин

Розчин йоду, 0,1 М

*Хід роботи*

До розчину папаверину у кількості 0,2–0,5 мл додають декілька крапель розчину Люголя, струшують. Спостерігають утворення бурого осаду.

*Дослід 3. Реакція з азотною кислотою*

До невеликої кількості розчину папаверину додають декілька крапель концентрованої азотної кислоти. Під час нагрівання на водяній бані спостерігається зміна забарвлення розчину.

*Дослід 4. Реакція із сульфатною кислотою*

До невеликої кількості розчину папаверину додають декілька крапель концентрованої сульфатної кислоти. Під час нагрівання на водяній бані спостерігається зміна забарвлення розчину.

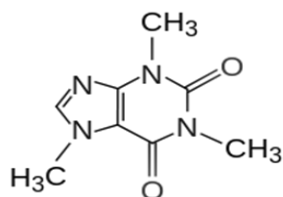
*Дослід 5. Реакція з реактивом Ердмана*

До розчину папаверину додають невелику кількість реактиву Ердмана, який представляє собою суміш сульфатної (5 крапель) і азотної кислоти (1 крапля). Спостерігають зміну кольору.

**Кофеїн** – алкалоїд пуринового ряду, безбарвні або білі, гіркі на смак кристали. Є психостимулятором, що міститься в каві, чаї та багатьох прохолодних напоях.

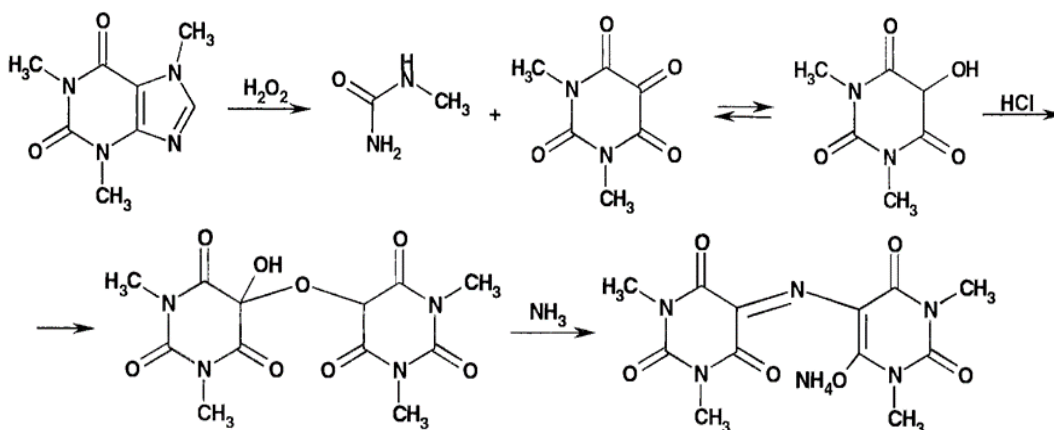
Кофеїн міститься в рослинах, таких як кавове дерево, чай, какао, мате, гуарана, кола, і деяких інших. Він синтезується рослинами для захисту від комах, що поїдають листя, стебла і зерна, а також для заохочення запилювачів.

У тварин і людини він стимулює центральну нервову систему, підсилює серцеву діяльність, прискорює пульс, викликає звуження кровоносних судин, посилює сечовиділення. У медицині кофеїн застосовується у складі засобів від головного болю, мігрені, як стимулятор дихання та серцевої діяльності у випадку простудних захворювань, для підвищення розумової і фізичної працездатності, для усунення сонливості.



#### Дослід 6. Мурексидна проба

Загальногруппова реакція на пурини, заснована на розкладанні речовин до похідних піримідину. Для проведення реакції препарат нагрівають на водяній бані з окислювачем ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{Br}_2$ ,  $\text{HNO}_3$ ) у кислому середовищі. Потім додають розчин аміаку – з'являється пурпурно-червоне забарвлення.



Реактиви: Кофеїн

Перекис водню

Розчин аміаку, 10 %

#### Хід роботи

До кофеїну додають розчин перексиду водню, після чого пробірку ставлять на водяну баню для підігріву. У підігрітий розчин додають 1–2 краплі 10 %

розчину аміаку. З'являється характерне забарвлення за рахунок утворення мурексиду – амонійної солі пурпурової кислоти.

### Дослід 7. Реакція з реактивом Вагнера

Реактиви: Кофеїн

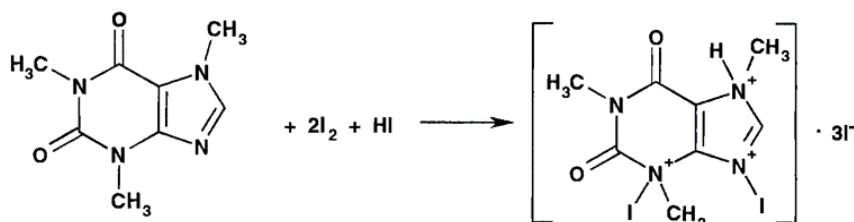
Розчин йоду, 0,1 М

HCl, розб.

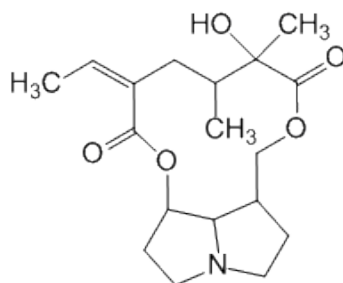
NaOH, 10 % розчин

### Хід роботи

Під час нагрівання невеликої кількості кофеїну додають 10 крапель розведеної HCl для підкислення середовища, потім 5 крапель розчину йоду 0,1 моль/л і добре струшують. Утворюється бурий осад, розчинний у надлишку розчину гідроксиду натрію:



**Платифілін** (алкалоїд крестовника (ромболистого або широколистого)), який відноситься до похідних піролізидину (1-метил-піролізидину). Білий кристалічний порошок гіркокого смаку, легкорозчинний у воді, малорозчинний у спирті, практично нерозчинний у хлороформі. Платифілін впливає на центральну нервову систему, особливо на судинноруховий центр, має заспокійливу дію та володіє спазмолітичними властивостями. Застосовують у випадку спазмів гладкої мускулатури внутрішніх органів (коліки), виразкової хвороби, бронхіальної астми, стенокардії, гіпертонії, а також як засіб, що розширює зіницю.



### Дослід 8. Реакція з реактивом Вагнера

Реактиви: Платифілін

Розчин йоду, 0,1 М

HCl, розб.

#### Хід роботи

До невеликої кількості платифіліну додають 10 крапель розведеної HCl, 5 крапель розчину йоду 0,1 моль/л, струшують і спостерігають утворення бурого осаду.

### Дослід 9. Гідроксамова проба

Під час взаємодії з гідроксиламіном у лужному середовищі утворюються гідроксамові кислоти, які після підкислення соляною кислотою утворюють забарвлені гідроксамати з солями заліза (III) або міді (II).

Реактиви: Платифілін

NaOH, 10 % розчин

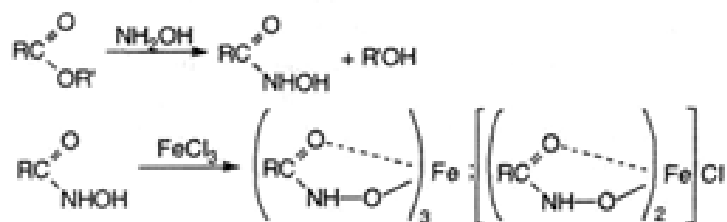
NH<sub>2</sub>OH·HCl, 2 % розчин

FeCl<sub>3</sub>, 10 % розчин

CuSO<sub>4</sub>, 10 % розчин

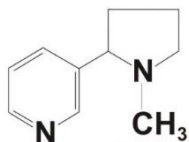
#### Хід роботи

До невеликої кількості платифіліну додають 1 мл кислого розчину гідроксиламіну, струшують 2 хвилини, додають 1 мл натрій гідроксиду і 0,5 мл 10 % розчину заліза (III) хлориду. З'являється осад вишневого кольору. Якщо додають до розчину солі міді, спостерігається утворення осаду зеленого кольору.



**Нікотин** {3-[2'-(N-метилпірролідил)]піридин} міститься в листі тютюну (*Nicotiana tabacum*) у вигляді солей лимонної та яблучної кислот. Його молекула складається з піридинового і N-метилпірролідинового циклів, пов'язаних між собою простим зв'язком. Нікотин – безбарвна масляниста рідина, яка здатна змішуватися з водою, на повітрі швидко буріє внаслідок утворення продуктів окислення. Нікотин дуже токсичний, смертельна доза для людини становить

близько 40 мг. У невеликих кількостях впливає на вегетативну нервову систему і має збуджуючу дію, звужує кровоносні судини. Організм поступово звикає до цієї отрути. Нікотин використовують як інсектицид для боротьби зі шкідниками сільського господарства.



#### *Дослід 10. Якісні реакції на нікотин*

Під час взаємодії сигаретного диму з розчином йоду випадає велика кількість червоно-бурого осаду. Таким чином буде утворюватися осад під час пропускання диму через насичений розчин пікринової кислоти. Для отримання сигаретного диму сигарету закріплюємо у скляній трубці, підпалюємо і з протилежного кінця приєднуємо стислу грушу. Коли груша наповниться, її знімають і повільно випускають дим через капіляр у пробірку з реактивом і знову приєднують до трубки.

Пропускаючи дим з нікотинном через розчин універсального індикатора рН, середовище стане лужним, оскільки нікотин володіє основними властивостями.

#### ***Контрольні питання***

1. Які сполуки відносять до класу алкалоїдів?
2. Назвіть шляхи виділення алкалоїдів із рослинного матеріалу.
3. Яку біологічну роль проявляють досліджувані алкалоїди?
4. Назвіть групові (загальні) та специфічні реакції ідентифікації алкалоїдів.

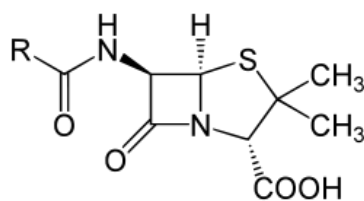
## Лабораторна робота № 8

### АНТИБІОТИКИ

Антибіотиками називають природні речовини мікробного, рослинного або тваринного походження, або ж продукти їх хімічної модифікації, які здатні в низьких концентраціях ( $10^{-3}$  мкг/мл) пригнічувати розвиток бактерій, вірусів, нижчих грибів, найпростіших або клітин злоякісних пухлин.

За механізмом дії всі антибіотики можна розділити на 4 основних типи: інгібітори синтезу бактеріальної клітинної стінки, інгібітори матричного (рибосомального) синтезу білка, інгібітори синтезу нуклеїнових кислот, інгібітори функціонування цитоплазматичної мембрани.

**Антибіотики групи пеніциліну.** В основі молекул цих антибіотиків лежить гетероциклічне  $\beta$ -лактамне кільце, з'єднане різними бічними радикалами.



До групи  $\beta$ -лактамних антибіотиків належить невелика кількість препаратів, які отримують шляхом біологічного синтезу природних і напівсинтетичних (пеніциліни, цефалоспорини, монобактами, карбапенеми) речовин. Ці антибіотики мають високу протимікробну активність, але до більшості з них швидко розвивається стійкість мікроорганізмів, оскільки вони продукують ферменти  $\beta$ -лактамази (*пеніцилінази*), які гідролізують  $\beta$ -лактамне кільце антибіотиків. Внаслідок цього антибіотики втрачають протимікробні властивості й розвиваються резистентні штами мікроорганізмів.

### Якісні реакції на пеніциліни

Пеніцилін відновлює ряд сполук, що використовується для встановлення достовірності препарату.

*Дослід 1. Реакція з реактивом Толленса*

*Реактиви:* Пеніцилін

Реактив Толленса

### *Хід роботи*

У пробірку вносять невелику кількість розчину пеніциліну та додають стільки ж реактиву Толленса. Під час взаємодії пеніциліну з аміачним розчином оксиду срібла виділяється металеве срібло на холоді.

### *Дослід 2. Реакція з хлорним залізом*

*Реактиви:* Пеніцилін, розчин

$K_3[Fe(CN)_6]$ , 1 % розчин

$FeCl_3$ , 1 % розчин

### *Хід роботи*

До невеликої кількості розчину пеніциліну додають декілька крапель червоної кров'яної солі, збовтують і потім по краплям додають розчин хлорного заліза. Розчин пеніциліну після додавання хлориду заліза дає синє забарвлення.

### *Дослід 3. Гідроксамова реакція*

Якщо суміш пеніциліну і гідроксиламіну нагріти до кипіння і до продуктів реакції після охолодження додати розчин солі важкого металу, то утворюються продукти конденсації відповідного забарвлення. Реакція зумовлена розкриттям лактамного кільця пеніциліну з утворенням  $\alpha$ -гідроксамової кислоти, яка з солями тривалентного заліза  $FeCl_3$  утворює гідроксамат заліза червоного кольору, із солями міді – зеленого кольору.

*Реактиви:* Пеніцилін, розчин

$NaOH$ , 10 % розчин

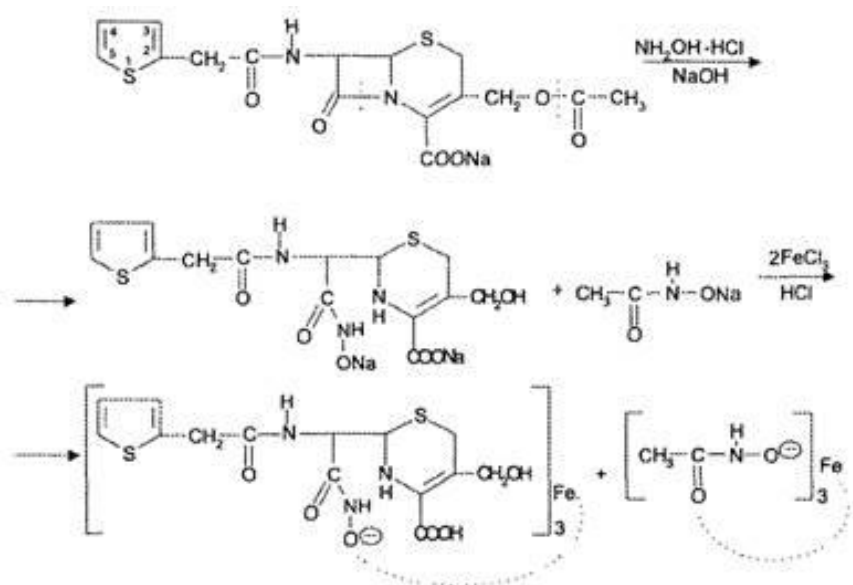
$NH_2OH \cdot HCl$ , 2 % розчин

$CuSO_4$ , 5 % розчин

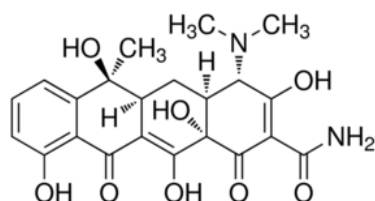
$FeCl_3$ , 1 % розчин

### *Хід роботи*

До 10 крапель розчину пеніциліну додають декілька крапель розчину лугу і стільки ж розчину гідроксиламіну. Отриману суміш нагрівають на водяній бані до кипіння, після чого охолоджують і розділяють на дві пробірки. У першу пробірку додають декілька крапель ферум (III) хлориду, в іншу – купрум (II) сульфату. Спостерігають утворення осаду різного забарвлення.



**Антибіотики тетрациклінового ряду.** Являють собою хімічні сполуки, побудовані по конденсованій чотирьохциклічній системі. Хлортетрациклін – перший зразок такого типу, який був отриманий ще в 40-х рр. ХХ ст. з гриба *Streptomyces aureofaciens*. Потім, на його основі, почали синтезувати більш складні тетрацикліни. Вони були особливо ефективні під час лікування інфекційних захворювань. Однак неконтрольоване застосування препарату стало причиною вироблення у багатьох мікроорганізмів стійкості до його впливу. Існує ряд бактерій, які до сих пір високочутливі до тетрацикліну. Це збудники бруцельозу, холери, чуми, туляремії та деяких інших небезпечних інфекцій.



### Якісні реакції на тетрациклін

#### Дослід 4. Взаємодія із солями важких металів

Наявність фенольних гідроксилів у молекулі обумовлює реакції з хлорним залізом і деякими іншими металами. Для ідентифікації тетрацикліну застосовуються реакції утворення забарвлених солей із ферум (III) хлоридом.

**Реактиви:** Тетрациклін, розчин

$\text{CuSO}_4$ , 5 % розчин

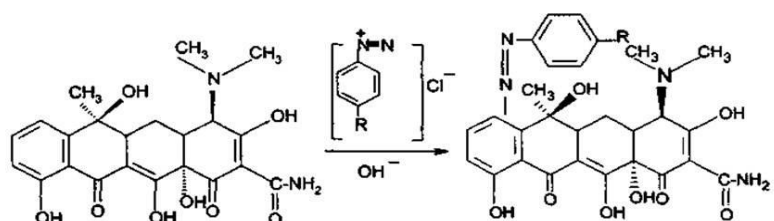
$\text{FeCl}_3$ , 1 % розчин

### Хід роботи

У пробірку наливають 1 мл розчину тетрацикліну, додають декілька крапель ферум (III) хлориду. З'являється коричневе забарвлення, пов'язане із взаємодією фенольної ОН-групи. У процесі взаємодії тетрацикліну із солями міді спостерігається забарвлення розчину у лимонний колір.

### Дослід 5. Реакція утворення азобарвника

Дана реакція застосовується для якісного і кількісного аналізу (метод УФ-видимої спектроскопії). Утворення азобарвника можливе за рахунок наявності фенольного гідроксилу. Сіль діазонію через нестійкість готують безпосередньо перед проведенням випробування, при цьому використовують сполуку з первинною ароматичною аміногрупою:



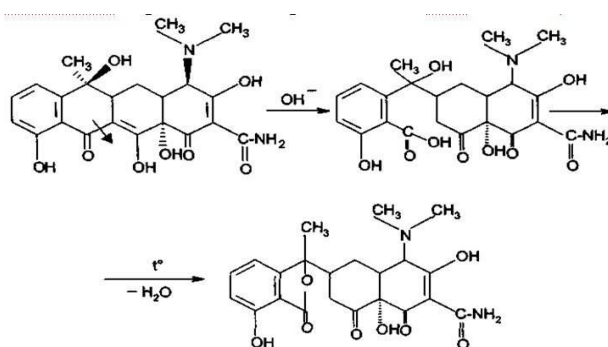
*Реактиви:* Тетрациклін, розчин  
NaOH, 10 % розчин  
Сіль діазонію, розчин

### Хід роботи

Тетрациклін розчиняють в розчині гідроксиду натрію і додають 1–2 краплі солі діазонію.

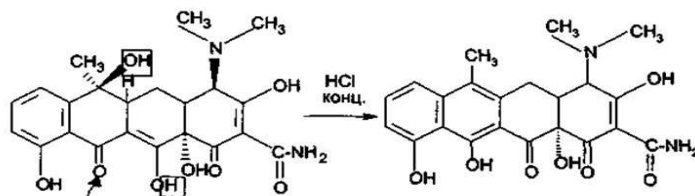
### Дослід 6. Реакція ізомеризації під дією лугу

У лужному середовищі протікає ізомеризація тетрацикліну з утворенням забарвлених у жовтий колір продуктів, які здатні до флюоресценції. Ця реакція використовується для ідентифікації та спектрофотометричного кількісного визначення тетрацикліну ( $\lambda_{\text{max}} = 380 \text{ нм}$ ):



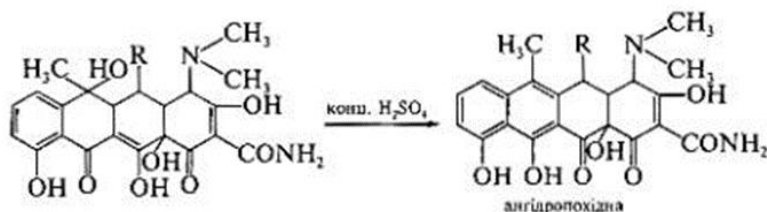
### Дослід 7. Взаємодія з соляною кислотою

У сильноокислому середовищі (наприклад, під дією концентрованої соляної кислоти) тетрациклін перетворюється в ангідротетрациклін, які мають темно-жовте забарвлення ( $\lambda_{\text{max}} = 437 \text{ нм}$ ) і жовту флюоресценцію в УФ-світлі:

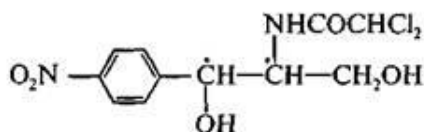


### Дослід 8. Взаємодія з сірчаною кислотою

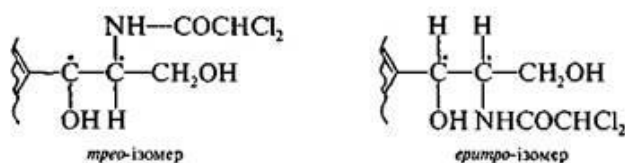
Під час додавання концентрованої сірчаної кислоти до розчину тетрацикліну на 1-й стадії утворюється ангідротетрациклін, а потім проходить реакція окислення з утворенням продуктів, забарвлених у фіолетовий колір.



**Антибіотики групи хлорамфеніколу (левоміцетину).** Левоміцетин і його стеарат – це білі з жовтуватим або жовтувато-зеленим відтінком кристалічні речовини без запаху, гіркі на смак, малорозчинні у воді, легкорозчинні у спирті. Левоміцетин (хлорамфенікол) пригнічує синтез бактеріальних білків, а у великих дозах має бактерицидний ефект. Є антибіотиком широкого спектру дії, проте його використання обмежене через ризик розвитку серйозних ускладнень.



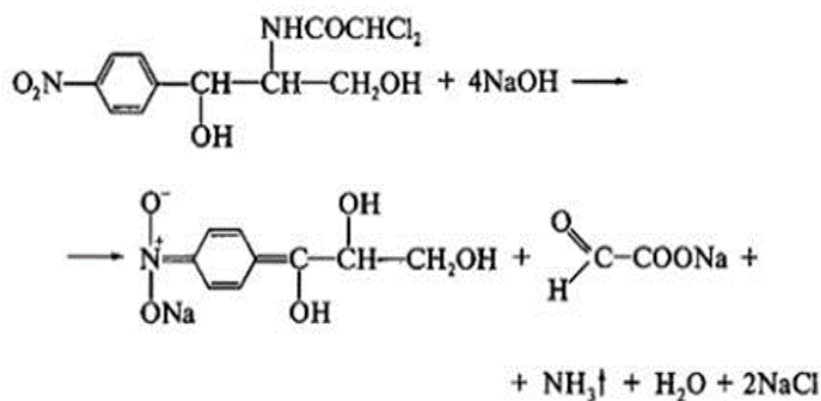
Молекула левоміцетину має 2 асиметричних атоми карбону і тому можливе існування чотирьох ізомерів: D- і L-трео-, D- і L-еритро-, які відрізняються просторовим розташуванням функціональних груп:



Левоміцетин є лівообертаючим трео-ізомером D ряду. Еритро-форми в медицині не використовуються, оскільки є токсичними речовинами.

*Дослід 9. Взаємодія із розчином лугу*

Під час нагрівання левоміцетину з розчином натрію гідроксиду спочатку виникає жовте забарвлення, що переходить у червоно-помаранчевий (внаслідок утворення ацинітроформи), а за умови подальшого нагрівання утворюється цегляно-червоне забарвлення і з'являється запах амоніаку:



*Дослід 10. Взаємодія зі свіжоосадженим гідроксидом міді*

*Реактиви:* Левоміцетин, розчин  
 NaOH, 10 % розчин  
 CuSO<sub>4</sub>, 5 % розчин

*Хід роботи*

У пробірку наливають 1 мл розчину левоміцетину, стільки ж розчину гідроксиду натрію і додають 2–3 краплі 5 % розчину купрум (II) сульфату. Спостерігають за утворенням синьо-фіолетового забарвлення.

*Дослід 11. Реакція з реактивом Толленса*

*Реактиви:* Левоміцетин  
 HCl, 10 % розчин  
 AgNO<sub>3</sub>, 2 % розчин

*Хід роботи*

Розчин левоміцетину підкислюють 1 мл розведеної соляної кислоти. До отриманого розчину додають 10 крапель 2 % розчину срібла нітрату спостерігається утворення білого осаду.

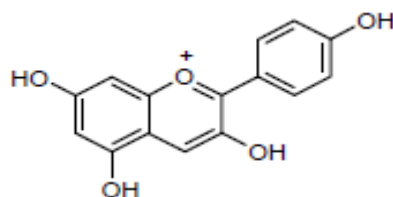
### ***Контрольні питання***

1. Яку біологічну активність проявляють антибіотики?
2. Назвіть механізми дії антибіотиків?
3. Наведіть класифікацію антибіотиків за хімічною структурою.
4. Наведіть основні якісні реакції досліджуваних антибіотиків.

## Лабораторна робота № 9

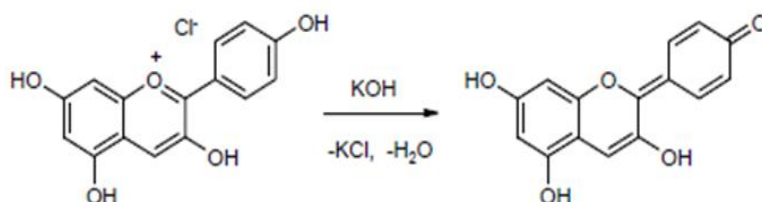
### ВИЛУЧЕННЯ АНТОЦΙΑНІВ ІЗ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ ТА ВИВЧЕННЯ ЇХНІХ ІНДИКАТОРНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ

Антоціани (глікозиди антоціанідинів) зумовлюють колір пелюсток троянди, голубих волошок, яблук, вишень, винограду, молоді червоної кори евкаліпту, червоного осіннього листя та ін.



Надходячи в організм людини з фруктами та овочами, антоціаніни виявляють Р-вітамінну дію: вони зміцнюють судини, попереджуючи внутрішні крововиливи, нормалізують кров'яний тиск, підвищують імунітет.

Під дією мінеральних і органічних кислот вони утворюють солі червоного кольору. У присутності лугів у молекулах антоціанів відбувається перегрупування подвійних та одинарних зв'язків, що приводить до утворення нового хромофора – у лужному середовищі антоціани набувають синього чи синьо-зеленого кольору. У зв'язку з цим природні антоціаніни можуть використовуватися як рослинні індикатори.

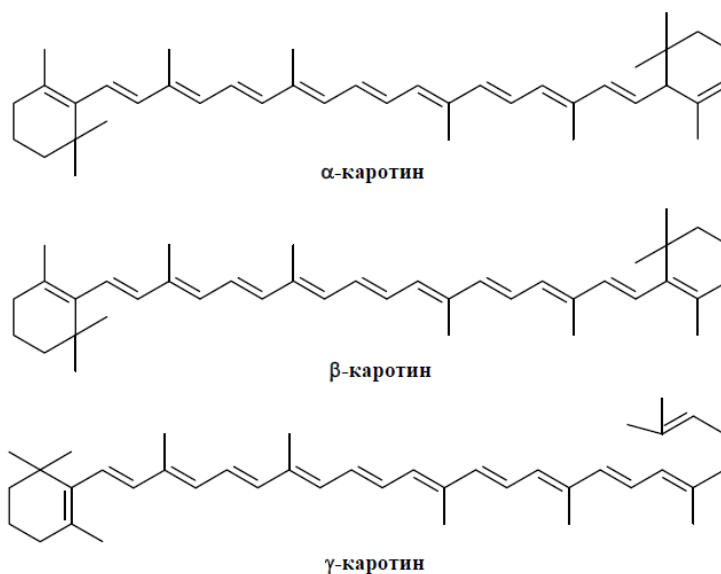


На колір антоціанів впливає не лише кислотність клітинного соку, але й здатність цих пігментів утворювати комплексні сполуки з металами. Наприклад, поява синього кольору може бути зумовлена комплексами антоціанів із магнієм, алюмінієм, оловом.

У деяких видів рослин помаранчеве, червоно-коричневе забарвлення квітів (настурція, календула), плодів (томати, шипшина, морква, гарбуз, обліпиха) зумовлене наявністю в жовтих та помаранчевих пластидах (хромопластах) пігментів групи каротиноїдів.

Каротиноїди нерозчинні у воді, але добре вилучаються з пластид за допомогою органічних розчинників. Їх колір, на відмінну від антоціанів, не залежить

від кислотності середовища. Колір каротиноїдів змінюється з подовженням ланцюга від жовтого до червоного і червоно-фіолетового. Так, молекули помаранчевих і помаранчево-червоних пігментів  $\beta$ -каротину (морква, болгарський перець) і лікопіну (пігмент помідорів) містять 11 подвійних зв'язків, а в молекулі червоного віолаксантину (пігмент деяких червоних фруктів) – 13.



Екстракти натуральних каротинів, які можна застосовувати як харчові барвники, частіше за все містять близько 85 %  $\beta$ -каротину, 15 %  $\alpha$ -каротину і 0,1 %  $\gamma$ -каротину.

Поруч з кольоровими пігментами рослинні екстракти можуть містити жири, олії та віск, що зустрічаються у природі.

### *Дослід 1. Якісні реакції з антоціанами*

*Реактиви:* Рослинна сировина (пелюстки квітів, ягоди, овочі)

NaOH, 1 % розчин

HCl, 1 % розчин

### *Хід роботи*

1 г подрібненої рослинної сировини (пелюсток квітів, ягід, овочів) поміщують у плоскодонну колбу ємністю 50 мл, додають 20 мл води і нагрівають на водяній бані за температури 80–90 °С протягом 10–15 хв. Розчин після охолодження відфільтровують. Залежно від виду сировини екстракт може бути блакитного, синього, фіолетового, рожевого кольору.

У пробірку вносять по 2–3 мл вилучень, по краплях додають 1 % розчин NaOH, спостерігаючи за зміною забарвлення розчинів залежно від рН середо-

вища. У іншу пробірку також вносять по 2–3 мл вилучень, по краплях додають 1 % розчин HCl, спостерігаючи за зміною забарвлення розчинів.

#### *Аналіз одержаних результатів*

Результати спостережень вносять у таблицю та роблять висновок про індикаторні властивості антоціанів

<i>Сировина</i>	<i>Колір сировини</i>	<i>Колір екстракту</i>	<i>Колір екстракту в лужному середовищі</i>	<i>Колір екстракту в кислому середовищі</i>
Вишня				
Календула				
Лушпиння цибулі				
Пелюстки троянд				
Буряк				
Каркаде				
Червоно-качанна капуста				

#### *Контрольні питання*

1. Що таке каротини? Яка їх біологічна роль?
2. Що таке антоціани? Які якісні реакції для них характерні?

## РЕКОМЕНДОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Ластухін Ю. О. Хімія природних органічних сполук. Львів : «Львівська політехніка, 2004. 560 с.
2. D. Van Vranken, G. A. Weiss. Introduction to Bioorganic Chemistry and Chemical Biology. United States : Garland Science, 2012. 504 p.
3. Племенков В. В. Введение в химию природных соединений. Казань, 2001. 378 с.
4. Семенов А. А., Карцев В. Г. Основы химии природных соединений. Москва : МБФНП, 2009, Т. 1. 624 с. Т. 2. 424 с.
5. Семенов А. А., Карцев В. Г. Биологическая активность природных соединений. Москва : МБФНП, 2012. 520 с.
6. Тюкавкина Н. А., Бауков Ю. И. Биоорганическая химия. 4-е издание. М. : Дрофа, 2005. 542 с.
7. Ісак О. Д., Бальон Я. Г., Ісак В. О. Хімія природних сполук : підручник. Луганськ : Ноулідж, 2012. 756 с.

### *Інформаційний ресурс:*

Портал Донецького національного університету (Розділ «Навчальні дисципліни», «Бакалавр», 3 курс, II семестр, «Хімія природних сполук»). Режим доступу: <https://dnu.sharepoint.com/portals/chem/>

Навчальне видання

*Куц* Ольга Василівна  
*Гончарук* Олена Ігорівна  
*Лаховець* Катерина Максимівна

## **ЛАБОРАТОРНИЙ ПРАКТИКУМ З ХІМІЇ ПРИРОДНИХ СПОЛУК**

*Навчальний посібник для студентів напрямку підготовки  
102 «Хімія» денної та заочної форм навчання*

Редактор  
Технічний редактор

Л. О. Серікова  
Т. О. Важеніна

Підписано до друку 05.02.2019  
Формат 60 x 84/16. Папір офсетний.  
Друк – цифровий. Умовн. друк. арк. 3,9  
Тираж 20 прим. Зам. 31

Донецький національний університет імені Василя Стуса  
21021, м. Вінниця, 600-річчя, 21  
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи  
до Державного реєстру  
серія ДК № 5945 від 15.01.2018