

PROGRAM ĆWICZEŃ Z BIOCHEMII DLA STUDENTÓW STUDIÓW DZIENNYCH kierunek WF

- Ćwicz.1. Repetitorium wybranych zagadnień z chemii nieorganicznej (stężenia roztworów, dysocjacja, iloczyn jonowy wody, pH, kwasy, zasady, sole, roztwory buforowe, indykatory pH, reakcje red-ox.) i z chemii organicznej (węglowodory, alkohole, aldehydy, ketony, kwasy organiczne, estry, aminy -grupy funkcyjne, własności fizyczne i chemiczne tych związków, rodzaje izomerii).
- Ćwicz.2. Własności aminokwasów i białek - własności fizykochemiczne tych związków, hemoglobina i mioglobina, efekt Bohra. *Część praktyczna*: reakcje charakterystyczne aminokwasów i białek. Oznaczanie punktu izoelektrycznego białek.
- Ćwicz.3. Metabolizm białek i aminokwasów - dekarboksylacja, transaminacja, oksydacyjna dezaminacja glutaminianu, cykl mocznikowy.
- Ćwicz.4. Enzymy i witaminy - budowa i funkcja enzymów, rola witamin w aktywności białek enzymatycznych, zasady klasyfikacji enzymów, kinetyka reakcji enzymatycznych, enzymy regulatorowe. *Część praktyczna* - śledzenie reakcji enzymatycznych z udziałem enzymów trawiennych (amylaza ślinowa) lub oksydoreduktaz (katalaza)
- Ćwicz.5. Cukry proste i złożone - budowa, własności cukrów, hydroliza wielocukrów w przewodzie pokarmowym, fosforoliza glikogenu. *Część praktyczna* - reakcje charakterystyczne cukrów prostych i złożonych,
- Ćwicz.6. Metabolizm cukrów - Glikoliza w warunkach beztlenowych i tlenowych, fosforylacje substratowe towarzyszące tej przemianie, bilans energetyczny glikolizy w warunkach beztlenowych, tlenowa przemiana pirogronianu, cykl Krebsa i łańcuch oddechowy, układy transportujące NADH z cytoplazmy do mitochondrium, bilans energetyczny glikolizy w warunkach tlenowych. Glukoneogeneza, cykl Cori. *Część praktyczna* - oznaczanie glukozy we krwi.
- Ćwicz.7. Sprawdzian pisemny
- Ćwicz.8. Tłuszcze i ich metabolizm - własności fizyczne i chemiczne tłuszczów, trawienie tłuszczów, metabolizm tłuszczów, β -oksydacja kwasów tłuszczowych, biosynteza kwasów tłuszczowych, ciała ketonowe. *Część praktyczna*: oznaczanie cholesterolu
- Ćwicz.9. Hormony - ich podział pod względem budowy chemicznej. Mechanizm hormonalnego oddziaływania glukagonu i hormonów katecholowych na metabolizm glikogenu, cykliczny AMP i jego rola w regulacji hormonalnej. Mechanizm działania hormonów steroidowych. Mechanizm działania insuliny. *Część praktyczna* - oznaczanie adrenaliny.
- Ćwicz.10. Integracja metabolizmu - Regulacja glikolizy w mięśniu szkieletowym na poziomie fosfofruktokinazy. Losy pirogronianu w mięśniu i regulacja aktywności dehydrogenazy pirogronianowej. Utylizacja mleczanu. Mitochondrialny transport ATP, ADP, Pi. Regulacja metabolizmu cukrów i kwasów tłuszczowych w mięśniu szkieletowym (cykl Randle'a glukoza-kwasy tłuszczowe, recykling kwasów tłuszczowych). Udział aminokwasów w glukoneogenezie.
- Ćwicz.11. Metabolizm wysiłkowy - Fosforany wysokoenergetyczne i ich pula komórkowa. Bioenergetyka skurczu mięśnia. Układ białek mięśnia szkieletowego w skurczu i rozkurczu. ATP jako bezpośrednie źródło energii do pracy mięśnia. Hydroliza ATP i regulacja tego procesu poprzez zmiany stężeń jonów wapnia. Mechanizmy resyntezy ATP pozwalające na kontynuowanie pracy. Zaangażowanie poszczególnych systemów resyntezy

ATP w zależności od intensywności pracy. Wyrażenie intensywności pracy jako % zaangażowania pułapu tlenowego ($\text{VO}_2 \text{ max}$). Pojęcie pułapu tlenowego. Klasyfikacja intensywności wysiłku fizycznego: max oraz % udziału włókien ST i FT w ogólnej masie mięśniowej. Biochemiczne podstawy adaptacji do treningu o charakterze beztlenowym i wytrzymałościowym. Zmiany metaboliczne wywołane w wyniku treningu wytrzymałościowego. Udział utleniania poszczególnych substratów energetycznych jako pośredniego źródła energii w warunkach spoczynku oraz przy pracy o różnych intensywnościach i czasie trwania.

Ćwicz.12. Sprawdzian pisemny

Ćwicz.13. Poprawa sprawdzianów pisemnych

ĆWICZENIE nr 1

REPETYTORIUM Z ZAKRESU PODSTAWOWYCH WIADOMOŚCI Z CHEMII NIEORGANICZNEJ

Część teoretyczna:

Dysocjacja elektrolityczna, stopień dysocjacji, stała dysocjacji, iloczyn jonowy wody. Elektrolity mocne i słabe. Dysocjacja kwasów, zasad i soli. pH. Bufory, mechanizm działania buforów, równanie Hendersona-Hasselbacha. Jony obojętne. Równowaga chemiczna, stała równowagi. Szybkość reakcji chemicznej. Kataliza i katalizatory. Reakcje utleniania i redukcji. Potencjały utleniająco-redukcyjne. Stężenie roztworów. Roztwory właściwe, koloidalne i zawiesiny.

Obowiązujące wzory związków chemicznych

cząsteczka tlenu, wodoru, azotu, jony sodu, potasu, wapnia, magnezu, żelaza, chloru, jon amonowy, jon hydroniowy, jon wodorotlenowy, kwas solny, kwas azotowy, kwas siarkowy, kwas fosforowy, kwas węglowy, siarkowodor, zasada sodowa, zasada potasowa, wzory soli, zasada amonowa, amoniak, woda

REPETYTORIUM WYBRANYCH ZAGADNIEŃ Z CHEMII ORGANICZNEJ

Część teoretyczna:

Zjawisko izomerii. Izomeria strukturalna (łańcuchowa, położenia, funkcyjna) i przestrzenna (optyczna, konformacyjna, geometryczna).

Węglowodory nasycone, nienasycone i aromatyczne. Alkohole, fenole, aldehydy, ketony, kwasy organiczne. Własności chemiczne wymienionych związków. Reakcje utleniania i redukcji w chemii organicznej. Kwasy: hydroksykwas, ketokwas, kwasy wielokarboksylowe, bezwodniki kwasowe, reakcje dekarboksylacji. Estry kwasów organicznych i nieorganicznych. Tioestry: aminy, amidy i aminokwasy.

Obowiązujące wzory związków chemicznych

kwas octowy, kwas mlekowy, kwas pirogronowy, aldehyd mrówkowy, aldehyd octowy, alkohol metylowy, alkohol etylowy, glicerol, metan, etan, kwas palmitynowy, kwas stearynowy, glicyna, alanina, glukoza, fruktoza, grupy funkcyjne (aldehydowa, ketonowa, karboksylowa, tiolowa, fenolowa, amidowa, aminowa), wiązanie 1,4 - i 1,6- α -glikozydowe, wiązanie estrowe, wiązanie bezwodnikowe.

CZEŚĆ PRAKTYCZNA

1. Badanie kwasowości wskazanych roztworów

- Oznaczyć przy pomocy pH-metru odczyn:

- wody destylowanej
- buforu fosforanowego

- Porównanie własności buforujących wody destylowanej i buforu fosforanowego.

Do zlewki z wodą destylowaną dodawać kroplami 1N HCl, a następnie 1N NaOH – obserwując przy tym zmiany pH. Powtórzyć pomiar z buforem fosforanowym zamiast wody destylowanej.

ĆWICZENIE nr 2 WŁASNOŚCI AMINOKWASÓW I BIAŁEK

Część teoretyczna:

Jony obojnacze aminokwasów. Wiązanie peptydowe. Peptydy, białka. Struktura przestrzenna białek. Wiązania stabilizujące strukturę przestrzenną białek. Punkt izoelektryczny. Zmiana jonizacji aminokwasów i białek w zależności od pH środowiska. Bufory krwi .Mioglobina i hemoglobina, ich funkcja w zaopatrzeniu tkanek w tlen, efekt Bohra.

Część praktyczna: REAKCJE CHARAKTERYSTYCZNE AMINOKWASÓW I BIAŁEK.

1) Wykrywanie aminokwasów - REAKCJA NINHYDRYNOWA

Wszystkie aminokwasy charakteryzują się obecnością dwóch zdolnych do reagowania grup funkcyjnych: - grupy karboksylowej ($-\text{COOH}$) i pierwszorzędowej grupy aminowej ($-\text{NH}_2$). Aminokwasy ulegają pod wpływem ninhydryny dekarboksylacji i utlenieniu, przy czym wydziela się amoniak i dwutlenek węgla, zaś ninhydryna ulega redukcji. Następnie zredukowana cząsteczka ninhydryny tworzy z drugą niezredukowaną cząstką ninhydryny i dwiema cząsteczkami amoniaku barwne, fioletowo-niebieskie połączenie. Prolina i hydroksyprolina dają produkty o barwie żółtej. Roztwory białek barwią się również z ninhydryną, jednak intensywność barwy jest mała.

Wykonanie:

- odmierzyć do jednej probówki około 1 ml roztworu glicyny, do drugiej 1 ml roztworu proliny
- do obu próbek dodać kilka kropel roztworu ninhydryny
- ogrzewać probówki przez trzy minuty w łaźni wodnej
- zaobserwować powstałe zabarwienie

2) Wykrywanie białek - REAKCJA BIURETOWA

Jest to reakcja charakterystyczna dla związków posiadających wiązanie peptydowe: peptydów i białek. Nazwa reakcji wywodzi się od najprostszego dającego ją związku: biuretu posiadającego ugrupowanie $-\text{CO}-\text{NH}-$, powstałego z mocznika.

Z wiązaniami tego typu jony miedziowe (Cu^{2+}) tworzą w środowisku zasadowym kompleksy o barwie fioletowej. Jony miedziowe tworzą również barwne kompleksy z wolnymi aminokwasami, jednakże ich barwa ma inny odcień (niebieski) i jest znacznie mniej intensywna. Reakcję tę wykorzystuje się do ilościowego oznaczania białka.

- odmierzyć do jednej probówki 1 ml roztworu białka, do drugiej 1 ml roztworu biuretu (uzyskanego w wyniku stopienia kilku kryształków mocznika i rozpuszczeniu go w wodzie i do trzeciej 1 ml 0,9% NaCl
- dodać do wszystkich prób po około 2 ml odczynnika biuretowego
- zaobserwować powstałe zabarwienie

BUFORY KRWI

1) *Węglanowy*

NaHCO_3 dysocjuje w środowisku wodnym $\text{NaHCO}_3 \rightleftharpoons \text{Na}^+ + \text{HCO}_3^-$

H_2CO_3 dysocjuje wg schematu $\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$

Jony H^+ powstałe w procesach metabolicznych reagują z jonami HCO_3^- pochodzącymi z dysocjacji soli: $\text{H}^+ + \text{HCO}_3^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$
powstaje słabo zdysocjowany kwas do płuc

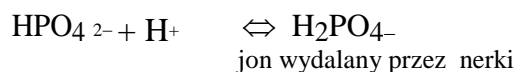
Jeżeli w ustroju pojawiają się jony OH^- to reagują z protonami H^+ pochodzącymi z dysocjacji kwasu węglowego: $\text{H}^+ + \text{OH}^- \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O}$ (woda jest w bardzo małym stopniu zdysocjowana)

2) *Fosforanowy*

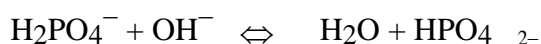
KH_2PO_4 w środowisku wodnym $\text{KH}_2\text{PO}_4 \rightleftharpoons \text{K}^+ + \text{H}_2\text{PO}_4^-$

Na_2HPO_4 dysocjują całkowicie $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \rightleftharpoons 2 \text{Na}^+ + \text{HPO}_4^{2-}$

Jony H^+ powstałe w organizmie reagują z HPO_4^{2-} :

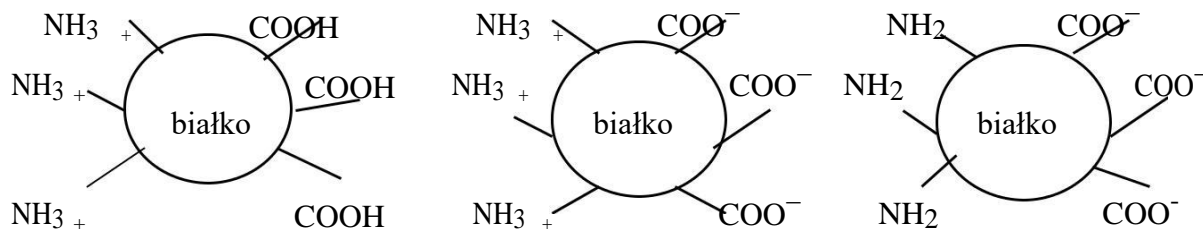


Jony OH^- reagują z H_2PO_4^- :



3) *Białczanowy (białko/białczany⁻)*

Białko w zależności od pH środowiska może występować w różnych postaciach: jako jon dodatni (kation przy $\text{pH} < \text{pH}_i$ punktu izoelek.), ujemny (anion przy $\text{pH} > \text{pH}_i$) i obojnaczy (obojętny przy $\text{pH} = \text{pH}_i$)



Gdy wzrasta stężenie jonów H^+ , to reagują one z grupami COO^- i NH_2 wiążąc wolny H^+

Gdy wzrasta stężenie jonów OH^- , to reagują one z grupami COOH i NH_3^+ , które oddając jon H^+ tworzą cząsteczkę wody.

4) *Hemoglobinowy*

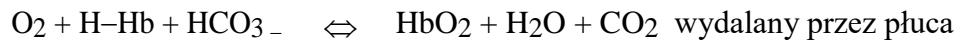
Hemoglobina jest najważniejszym układem buforującym wśród białek - wynika to z faktu, że stanowi ona prawie 3/4 całkowitego białka krwi. Hemoglobina ma charakter kwaśny z powodu przewagi grup kwasowych hemu nad grupami zasadowymi globiny - stąd hemoglobina posiada zdolność wiązania zasad.

Kwaśność hemoglobiny zależy od stopnia utlenowania. Oksyhemoglobina (hemoglobina utlenowana) jest mocniejszym kwasem niż hemoglobina odtlenowana. Wynika to z porównania stałych dysocjacji, które wynoszą dla HbO_2 $2,4 \times 10^{-7}$ ($\text{pK}_a=6,95$) a $6,6 \times 10^{-9}$ dla hemoglobiny wolnej ($\text{pK}_a=8,25$). Wynika stąd, że Hb utlenowana (HbO_2) jest 40-70 razy silniejszym kwasem od Hb. Zatem hemoglobina utlenowana niechętnie będzie przyjmowała jony H^+ , natomiast po oddaniu tlenu tkankom reaguje z H^+ wytwarzanymi w tych tkankach.

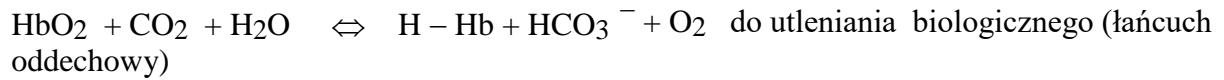
Połączenie się grupy hemowej Hb z O_2 sprzyja dysocjacji protonów z części globinowej, zaś wiązanie H^+ przez globinę sprzyja oddawaniu tlenu przez grupę hemową.

Ta właściwość hemoglobiny ma podstawowe znaczenie dla transportu tlenu z płuc do tkanek i dwutlenku węgla z tkanek do płuc.

płuca:



tkanki:



W układzie otwartym (ciągły dopływ CO_2 z tkanek i stałe wydalanie CO_2 przez płuca) pojemność buforowa krwi wynosi 76,8 mmoli na jedną jednostkę pH, z czego 55,2 mmoli przypada na bufor wodorowęglanowy (~72% ogólnej pojemności buforującej w układzie otwartym). Przez wzmożenie wentylacji płuc pojemność buforująca krwi może zwiększyć się o dalsze 41,6 mmoli na jedną jednostkę pH [F.Kokot "Gospodarka wodno-elektrolitowa i kwasowo-zasadowa w stanach fizjologii i patologii"]. Ogólnoustrojowa pojemność buforująca wynosi średnio 14 mmoli/jednostkę pH/kg m.c. W tym 10% uwarunkowane jest układami buforującymi krwi, 51% - układami buforującymi tkanek, a 39% - wentylacją płuc.

ĆWICZENIE nr 3

METABOLIZM BIAŁEK

Część teoretyczna:

Trawienie białek. Aminokwasy niezbędne. Przemiany aminokwasów: dekarboksylacja, transaminacja, oksydacyjna dezaminacja glutaminianu. Transport amoniaku we krwi. Cykl mocznikowy - bilans energetyczny cyklu i jego lokalizacja tkankowa i komórkowa.

ĆWICZENIE nr 4

ENZYMY I WITAMINY

Część teoretyczna

Enzymy jako biokatalizatory. Wpływ enzymów na energię aktywacji i stałą równowagi reakcji. Mechanizm oddziaływania enzymu z substratem. Równanie reakcji enzymatycznej. Kinetyka reakcji enzymatycznej Michaelisa-Menten. Wpływ stężenia enzymu, temperatury i pH na szybkość reakcji enzymatycznej. Hamowanie reakcji enzymatycznej. Enzymy regulatorowe (allosteryczne). Klasyfikacja enzymów. Witaminy jako koenzymy. Koenzymy oksydoreduktaz.

Część praktyczna:

A. Hydroliza enzymatyczna skrobi przez amylazę ślinową.

Amylaza należy do enzymów hydrolitycznych (hydrolaz) biorących udział w trawieniu skrobi poprzez rozkład wiązań glikozydowych typu α 1–4. Pod wpływem tego enzymu skrobia hydrolizuje stopniowo, poprzez kolejne dekstryny, do maltozy.

Wykonanie:

- umieścić w zagłębieniach dwóch płytek porcelanowych po 2-3 krople płynu Lugola (roztwór jodu w jodku potasu)
- wypłukać dokładnie usta około 10 ml ciepłej wody destylowanej i wypłuć do czystej zlewki.
- Roztwór zawierający enzym podzielić na dwie porcje - jedną z tych porcji zagotować.
- odmierzyć do dwóch probówek po 5 ml 1% świeżo sporządzonego roztworu skrobi
- do pierwszej probówki dodać 2 ml roztworu śliny a do drugiej 2 ml ugotowanego roztworu śliny, obie probówki umieścić w łaźni wodnej o temperaturze 37°C
- natychmiast po rozpoczęciu inkubacji, a następnie w odstępach dwuminutowych pobierać po jednej kropli mieszaniny inkubacyjnej, którą należy umieścić w kolejnych zagłębieniach płytek porcelanowych z płynem Lugola
- obserwować zmianę barwy kompleksu skrobi z jodem w miarę postępu hydrolizy
- wyjaśnić przyczyny obserwowanych różnic w przebiegu reakcji.

B. Oksydoreduktazy - katalaza.

Jest jednym z najbardziej aktywnych enzymów w organizmie. Występuje w wątrobie, krwinkach czerwonych i białych, w nerkach, nie występuje natomiast w surowicy krwi. Pod wpływem tego enzymu następuje rozkład nadtlenu wodoru do tlenu i wody:



Wykonanie:

Do probówki zawierającej około 5 ml wody destylowanej dodać 2-3 krople krwi. Po całkowitym zhemolizowaniu dodać kilka kropel wody utlenionej i obserwować reakcję.

ĆWICZENIE nr 5

CUKRY PROSTE I ZŁOŻONE

Część teoretyczna

Izomeria cukrów, ketozy–aldozy (przykład), struktury cykliczne (piranozy, furanozy), izomeria (α – β). Własności fizyczne i chemiczne cukrów. Wiązanie glikozydowe. Polisacharydy zapasowe (skrobia, glikogen, ich budowa). Enzymy rozkładające wiązanie glikozydowe. Dwa tory rozkładu glikogenu : trawienie (tor egzogeny) i fosforoliza (tor endogeny).

Część praktyczna: *reakcje charakterystyczne cukrów prostych i złożonych*

A. WŁASNOŚCI REDUKUJĄCE CUKRÓW

– PRÓBA BENEDICTA

Obecność w cząsteczce cukru wolnej grupy karbonylowej (aldehydowej lub ketonowej) nadaje mu własności redukujące. Reakcja Benedicta pozwala na odróżnienie cukrów redukujących od nieredukujących na podstawie redukcji jonów miedziowych (Cu^{2+}) do miedziowych (Cu^{+}) w środowisku zasadowym. W reakcji tej w obecności cukru redukującego pojawia się ceglastoczerwony osad tlenku miedziawego (Cu_2O).

- odmierzyć do dwóch probówek po 1 ml roztworu: do pierwszej glukozy, do drugiej skrobi
 - do każdej próby dodać 2,5 ml odczynnika Benedicta i kilka kropel roztworu NaOH
 - ogrzewać probówki przez kilka minut we wrzącej łaźni wodnej
 - zaobserwować zmiany i wyciągnąć wnioski dotyczące charakteru badanych cukrów
- Demonstracja:** Wykonać powtórnie próbę z glukozą, dodając, w miejsce NaOH, 2 ml roztworu 1N HCl – porównać wyniki prób i wyciągnąć wnioski odnośnie trwałości struktur cyklicznych cukrów w środowisku kwaśnym i zasadowym.

– PRÓBA Z BŁĘKITEM METYLENOWYM

Do probówki zawierającej 2 ml 1% roztworu cukru (glukoza) dodać kilka kropel 0,1% błękitu metylenowego i kilka kropel 5% roztworu NaOH, ogrzewać i obserwować zmianę barwy. Następnie roztwór ochłodzić pod bieżącą wodą i obserwować zmianę barwy.

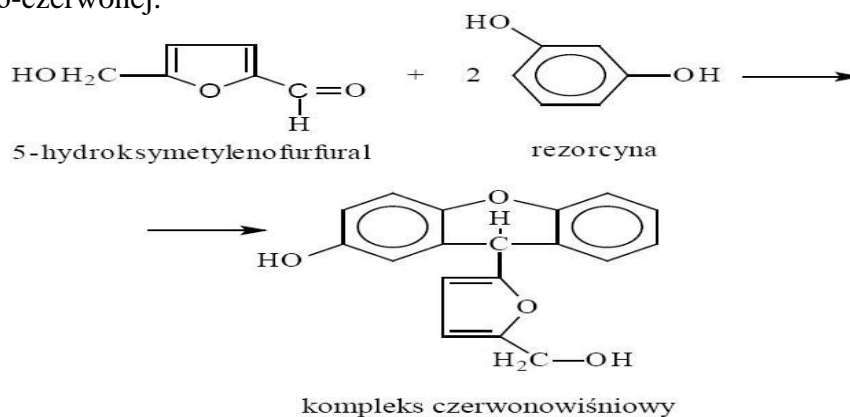
Cukier redukujący przeprowadza barwnik (błękit metylenowy) z postaci utlenionej (niebieskiej) w zredukowaną (bezbarwną – leukozwiązku). W wyniku kontaktu z powietrzem następuje ponowne utlenienie zredukowanego barwnika i pojawienie się niebieskiego zabarwienia.

Demonstracja: Wykonać reakcję kontrolną bez dodawania roztworu NaOH. Wyciągnąć wnioski z przeprowadzonych obserwacji.

B. ODRÓŻNIANIE KETÓZ OD ALDOZ

(reakcja Seliwanowa)

Pod działaniem rozcieńczonego kwasu solnego ketozy przekształcają się znacznie szybciej niż aldozy w pochodne furfuralowe dające z rezorcyną produkty kondensacji o intensywnej barwie łososiowo-czerwonej.

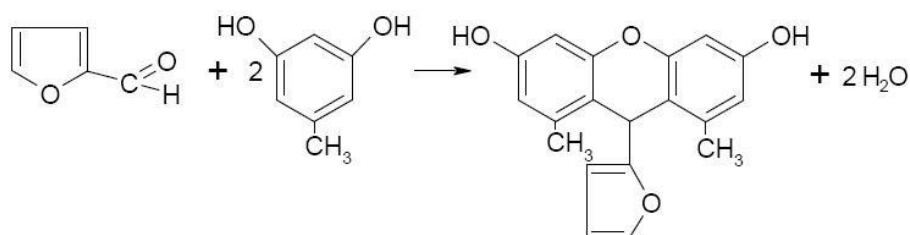


Wykonanie:

- odmierzyć do dwóch probówek po 1 ml
 - : do pierwszej probówki – 1 ml glukozy, a do drugiej - 1 ml fruktozy
- dodać do obu probówek po 1 ml odczynnika Seliwanowa
- ogrzewać przez kilka minut we wrzącej łaźni wodnej
- zaobserwować powstałe zabarwienie i wyciągnąć wnioski dotyczące natury badanych cukrów

C. ODRÓŻNIANIE PENTÓZ OD HEKSOZ - REAKCJA BIALA

W obecności soli żelazowych furfural powstający w wyniku odwodnienia pentozy pod wpływem kwasu solnego dają z orczyką kompleksy o barwie zielonej. Reakcji tej nie daje glukoza



Wykonanie:

Do 2 ml 0,2% roztworu orczyki w 20% kwasie solnym dodać kroplę 1% roztworu FeCl₃ oraz 0,5 ml roztworu cukru (pentozy lub heksozy). (Zachować podane proporcje objętości roztworów cukru i orczyki!). Wstawić do wrzącej łaźni wodnej. Zaobserwować w obecności którego cukru występuje zmiana barwy.

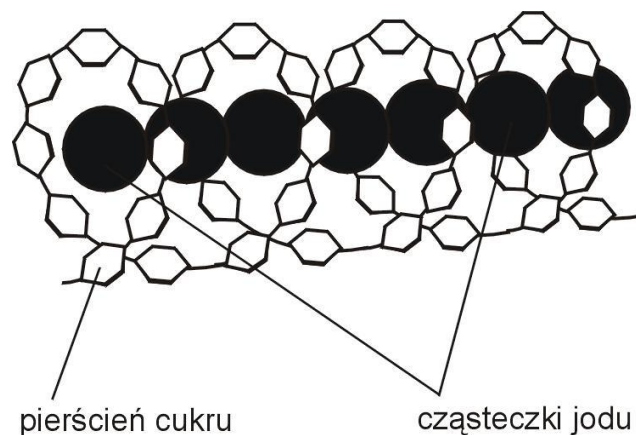
D. TWORZENIE KOMPLEKSÓW WIELOCUKROWCÓW Z JODEM

Ze względu na budowę chemiczną wielocukry (polisacharydy) można podzielić na homoglikany (polisacharydy jednoskładnikowe) i heteroglikany (polisacharydy wieloskładnikowe). Do homoglikanów należą takie wielocukry jak amyloza i amylopektyna (wchodzące w skład skrobi), celuloza, glikogen, mannan i inne. Homoglikany charakteryzują się innymi właściwościami chemicznymi i fizycznymi niż cukry proste, na przykład nie

wykazują własności redukujących ze względu na znikomą ilość grup redukujących przypadających na cząsteczkę polisacharydu.

W skład skrobi wchodzi dwa wielocukry zbudowane odmiennie z α -D-glukopiranozy, to jest amylozy i amylopektyny. Amyloza tworzy łańcuchy proste z cząsteczek glukozy sprzężonych ze sobą wiązaniem α -1-4. Amylopektyna ma budowę bardziej rozgałęzioną: zasadniczym połączeniem cząsteczek glukozy jest również wiązanie α -1-4, lecz co 20-30 reszt glukozyliwych występują wiązania α -1-6, tworzące odgałęzienia. Stąd wynikają nieco inne właściwości fizyczne tych wielocukrów.

Amyloza w reakcji z jodem daje zabarwienie ciemnoniebieskie, zaś amylopektyna i glikogen fioletowe z odcieniem czerwonym. Amyloza o konfiguracji liniowej nie jest zdolna do tworzenia kompleksu z jodem; musi istnieć konfiguracja helisy, aby cząsteczki jodu mogły się w niej regularnie ułożyć. Jedna cząsteczka jodu przypada na 6 reszt glukozyliwych, czyli na jeden skręt helisy. Ogrzewanie powoduje rozkręcanie się helisy, co jest przyczyną znikania niebieskiego zabarwienia.



wykonanie:

- do jednej z dwóch próbówek wprowadzić około 1 ml roztworu skrobi, do drugiej - 1 ml roztworu glikogenu,
- do obu próbówek dodać kilka kropel roztworu jodu (płyn Lugola)
- porównać powstałe zabarwienie.-próbówkę, w której przeprowadzono reakcję skrobi z jodem ogrzać nad palnikiem. Zaobserwować znikanie niebieskiego zabarwienia.
- następnie próbówkę ochłodzić pod bieżącą wodą, niebieskie zabarwienie pojawia się ponownie. Wy tłumaczyć zaobserwowane zjawisko.

ĆWICZENIE nr 6

METABOLIZM CUKRÓW

Część teoretyczna:

Glikoliza w warunkach beztlenowych i tlenowych , lokalizacja komórkowa tych przemian, fosforylacje substratowe towarzyszące tym przemianom , bilans energetyczny glikolizy w warunkach beztlenowych, tlenowa przemiana pirogronianu, cykl Krebsa i łańcuch oddechowy, bilans energetyczny cyklu Krebsa, układy transportujące NADH z cytoplazmy do mitochondrium, bilans energetyczny glikolizy w warunkach tlenowych. Regulacja utlenienia pirogronianu. Glukoneogeneza, cykl Cori. Cykl pentozofosforanów, jego lokalizacja komórkowa i znaczenie w metabolizmie.

ĆWICZENIE nr 8

TŁUSZCZE I ICH METABOLIZM

Część teoretyczna:

Własności fizyczne i chemiczne tłuszczów, trawienie tłuszczów, enzymy lipolityczne, lipoproteiny, regulacja metabolizmu tłuszczów, rola karnityny w transporcie kwasów tłuszczowych z cytoplazmy do mitochondrium.

β -oksydacja kwasów tłuszczowych, bilans energetyczny β oksydacji (jeden obrót cyklu oraz pełny bilans degradacji kwasu palmitynowego C16, stearynowego C18, mirystynowego C14, arachidonowego C20). Utlenienie nienasyconych kwasów tłuszczowych, ciała ketonowe i ich los. Biosynteza kwasów tłuszczowych. Różnice pomiędzy β -oksydacją a biosyntezą (lokalizacja, enzymy, koenzymy).

Część praktyczna

Wykrywanie składników tłuszczowców

Tłuszcze właściwe (albo proste) są mieszaninami różnych estrów glicerolu z wyższymi kwasami tłuszczowymi, typu trójglicerydów. Glicerol wykrywa się wykorzystując jego zdolność do tworzenia, w środowisku zasadowym, kompleksu o głęboko niebieskiej barwie..

a) wykrywanie

glicerolu Wykonanie:

- umieścić w próbówce kroplę glicerolu,
- dodać 3 ml 5% etanolowego roztworu NaOH,
- dodać 0,5 ml nasyconego roztworu siarczanu miedziowego

CuSO₄, -wykonać próbę kontrolną z wodą destylowaną zamiast glicerolu, -porównać wyniki reakcji.

b) Wykazanie obecności podwójnych wiązań w nienasyconych kwasach tłuszczowych

Jako składniki tych trójglicerydów występują wyłącznie kwasy tłuszczowe o parzystej liczbie atomów węgla (najczęściej C₁₆ i C₁₈) zarówno nasycone jak i nienasycone (zawierające podwójne wiązania). Nienasycone kwasy tłuszczowe zdolne są przyłączać w miejscach podwójnego wiązania:

- chlorowców np. chlor, brom lub jod z utworzeniem chlorowcopochodnych:
- wodór, w wyniku czego tworzy się nasycony kwas tłuszczowy,
- tlenu, z czym połączony jest rozpad kwasu tłuszczowego na dwa fragmenty. W tym ostatnim przypadku czynnikiem utleniającym może być KMnO₄.
- wodę, w wyniku czego powstaje hydroksykwas.

Wykonanie:

- do próbówki zawierającej kilka kropel oliwy dodać 5 ml 1 molowego roztworu Na₂CO₃, -zawartość próbówki lekko ogrzać i wstrząsając dodawać kroplami 0,01 molowy roztwór KMnO₄ aż do pojawienia się nieznikającego różowego zabarwienia,
- wyciągnąć wnioski dotyczące zaobserwowanego zachowania się badanego tłuszczu.

c) Wykrywanie cholesterolu – próba Salkowskiego

do 2 suchych próbówek wlać odpowiednio około 2 ml chloroformowego roztworu cholesterolu i tłuszczu zwierzęcego lub roślinnego, następnie oba roztwory podwarstwić stężonym kwasem siarkowym. W obecności cholesterolu na granicy warstw tworzy się pierścień barwy czerwonej. Kwas siarkowy znajdujący się na dnie naczynia wykazuje zieloną fluorescencję.

ĆWICZENIE nr 9

HORMONY

Część teoretyczna:

Podział hormonów ze względu na ich budowę chemiczną. Mechanizm hormonalnego oddziaływania glukagonu i hormonów katecholowych na metabolizm glikogenu. Cykliczny AMP i jego rola w regulacji hormonalnej. Mechanizm działania hormonów steroidowych. Mechanizm działania insuliny.

ĆWICZENIE nr 10

METABOLIZM WYSIŁKOWY

Część teoretyczna

ATP jako nośnik energii. Fosforany wysokoenergetyczne. Fosfageny. Energetyka skurczu mięśnia. Reakcja kinazy adenylowej. Mechanizm resyntezy ATP. Losy pirogronianu w mięśniu. Substraty energetyczne wykorzystywane do produkcji energii w mięśniu szkieletowym w zależności od Intensywności pracy mięśniowej. Zmiany strukturalne i metaboliczne wywołane pod wpływem treningu (szybkościowego lub wytrzymałościowego).

Część praktyczna

1. Oznaczanie kreatyniny

Kreatyna jest syntezowana w wątrobie z trzech aminokwasów: glicyny, argininy i metioniny. Około 98% kreatyny ustrojowej występuje w mięśniach, głównie w postaci połączenia z kwasem fosforowym (fosfokreatyna). Rozszczepienie tego związku przy udziale kinazy fosfokreatynowej dostarcza energii potrzebnej do resyntezy ATP (energii niezbędnej do skurczu mięśnia); resynteza fosfokreatyny odbywa się dzięki energii uwalnianej z ATP. Kreatyna jest wydalana w moczu ludzi dorosłych w postaci bezwodnika zwanego kreatyniną powstającego w wyniku nieodwracalnego i nieenzymatycznego odszczepienia od fosfokreatyny cząsteczki wody i nieorganicznego fosforanu.

Kreatynina tworzy z kwasem pikrynowym w środowisku zasadowym (próba Jaffego) czerwono zabarwiony pikrynian kreatyniny.

– do 1 ml roztworu kreatyniny dodać kilka kropli kwasu pikrynowego i 2N NaOH.

Wymieszać i odstawić na 15 minut

– w obecności kreatyniny roztwór barwi się na pomarańczowo

3. Wykrywanie białek, cukru i ciał ketonowych w moczu

a) wykrywanie białka

W moczu fizjologicznym nie stwierdza się obecności białka. Pojawienie się białka w moczu (proteinuria) jest objawem zwiększonej przepuszczalności kłębków nerkowych lub zmniejszonej reabsorpcji w kanalikach proksymalnych występującej w warunkach patologicznych (zespół nerczycowy, dysfunkcja kanalików proksymalnych) lub fizjologicznych (długotrwały intensywny wysiłek fizyczny).

Wykonanie:

– Zdenaturowane, pod wpływem kwasu, białko ulega wytrąceniu. Dostrzegalne zmętnienie powstaje przy stężeniu białka 1,5 mg%.

– do 1 ml moczu dodać 2 krople 10% kwasu sulfosalicylowego. Pojawienie się osadu lub zmętnienia świadczy o obecności białka

b) wykrywanie glukozy

W moczu fizjologicznej obecności glukozy nie stwierdza się. Glukoza ulega przesączeniu w kłębkach nerkowych w ilości proporcjonalnej do jej stężenia w osoczu krwi. W wyniku reabsorpcji w kanalikach nerkowych stężenie glukozy w moczu jest niskie (rzędu 0,1 do 1 mmol/l) pod warunkiem, że stężenie glukozy w osoczu krwi nie przekracza 11 mmol/l (200 mg/dl).

Glukozuria jest najczęściej objawem podwyższonego stężenia glukozy w osoczu krwi (> 200 mg/dl), gdy ładunek sączonej się glukozy przekracza możliwości transportowe kanalików nerkowych (tzw. próg nerkowy). Ma to miejsce w cukrzycy. Wykonanie:

- Glukoza redukuje kationy miedziowe Cu^{2+} do miedziawych Cu^+ . Wytrąca się czerwony osad tlenku miedziawego.
- do probówki zawierającej 3 ml odczynnika Benedicta dodać 1 ml moczu. Wstawić na 5 minut do wrzącej łaźni wodnej. Wyjąć próbkę, oziębic. Wytrąca się ceglasty osad.

c) wykrywanie ciał ketonowych

Związki („ciała”) ketonowe powstają w przypadku zaburzenia przemiany kwasów tłuszczowych. Pod pojęciem ciał ketonowych rozumie się 3 blisko spokrewnione ze sobą związki: kwas acetoctowy, aceton i kwas β -hydroksymasłowy. Ilość ciał ketonowych występujących normalnie w ustroju w bardzo małych ilościach ulega znacznemu zwiększeniu głównie w cukrzycy, w głodzeniu i przy diecie wysokotłuszczowej. Nasiloną ketogenezą ma miejsce również w wysiłku fizycznym o charakterze wytrzymałościowym, gdy głównym substratem energetycznym są tłuszcze. W moczu kwas acetoctowy i aceton występują zawsze razem. Kwas β -hydroksymasłowy pojawia się w moczu w stanach ciężkiej kwsicy.

Ciała ketonowe wykrywa się w próbie Legala:

–Każdy mocz z nitroprusydkiem po zalkalizowaniu daje czerwone zabarwienie pochodzące od kreatyny. W obecności acetonu lub kwasu acetoctowego zabarwienie to pogłębia się i przechodzi w wiśniowe po dodaniu kwasu octowego. Jeżeli ciał ketonowych brak, czerwone zabarwienie znika po dodaniu kwasu octowego i przechodzi w żółtozielone.

Wykonanie:

- do około 5 ml moczu dodać 0,5 ml 1% roztworu nitroprusydku i 0,5 ml 10% NaOH
 - obserwować zmianę zabarwienia po dodaniu 1 ml kwasu octowego lodowatego
- Przy dużej ilości acetonu, oprócz silnej wiśniowej barwy, zaznacza się wyraźna nieprzejrzystość próby badanej.

ĆWICZENIE nr 11

INTEGRACJA METABOLIZMU

Ćwiczenia seminaryjne

Część teoretyczna

Ogólny schemat przemian metabolicznych w organizmie człowieka.

Mechanizm regulacji metabolizmu przez enzymy regulatorowe.

Regulacja glikolizy w mięśniu szkieletowym na poziomie fosfofruktokinazy.

Losy pirogronianu w mięśniu i regulacja aktywności dehydrogenazy pirogronianowej.

Mitochondrialny transport ATP, ADP, Pi.

Regulacja metabolizmu cukrów i kwasów tłuszczowych w mięśniu szkieletowym (cykl

Randle'a glukoza-kwasy tłuszczowe, recykling kwasów tłuszczowych).

Udział aminokwasów w glukoneogenezie