

**Учреждение образования  
«БЕЛОРУССКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ»**

**Кафедра химии**

# **ХИМИЯ**

**Лабораторный практикум**

**Лабораторная работа  
Обмен углеводов.**

## Лабораторная работа

Основным источником энергии для организма являются углеводы, они покрывают его потребности на 60-70%. Источником углеводов для организма служат растительные ткани, содержащие до 90% углеводов от сухого вещества и в меньшей степени животные ткани, содержащие до 2% от сухого вещества.

Преобразование углеводов в организме начинается с процессов переваривания. Углеводы кормов (полисахариды и дисахариды) подвергаются в желудочно-кишечном тракте расщеплению до моносахаридов и только в таком виде всасываются в кровь и используются организмом. У животных с многокамерным желудком образующиеся моносахариды (глюкоза) под действием ферментов микроорганизмов подвергаются процессам различного вида брожения, и только часть поступает в кровь. Основными продуктами сбраживания глюкозы являются низкомолекулярные жирные кислоты, которые за свою летучесть при нагревании названы летучие жирные кислоты (ЛЖК). Тканевый обмен поступивших в организм моносахаридов (в основном глюкозы) включает в себя реакции синтеза (гликогена, лактозы и т. д.) и реакции окисления углеводов до углекислого газа и воды с выделением энергии. Окисление углеводов происходит поэтапно, сначала в анаэробных условиях (гликолиз), затем в аэробных условиях (цикл трикарбоновых кислот, пентозофосфатный путь), поставляя организму энергию и промежуточные вещества окисления (метаболиты) для синтеза собственных веществ. Контролируют тканевый обмен углеводов в основном гормоны поджелудочной железы (инсулин и глюкагон) и мозгового слоя надпочечников (адреналин и порадреналин). Судить об изменениях, возникающих в организме при нарушении обмена углеводов можно по содержанию глюкозы в крови. В норме концентрация сахара (глюкозы) в крови показатель относительно постоянный и зависит от вида животного. Для большинства сельскохозяйственных животных содержание глюкозы находится в пределах 60-100 мг% (3,3-5,5 ммоль/л). Для КРС этот показатель 46,0-54,0 мг% в связи с поступлением в кровь не глюкозы, а ЛЖК, кур 130-260 мг%, у рыб 40-60 мг%. Коэффициент пересчета в ммоль/л – 0,0055. Снижение уровня сахара в крови (гипогликемия) наблюдается при углеводном голодании, заболеваниях печени, почек, отравлении бензолом, хлороформом, фосфором и его солями, при гиперфункции поджелудочной железы, заболевании лейкозом, ацетонемии, диспепсии. Повышение сахара в крови



милаза, различающиеся по своим свойствам, распространению и способу действия на крахмал. Кроме амилазы в гидролизе участвует мальтаза ( $\alpha$ -глюкозидаза), содержащаяся в слюне, панкреатическом и кишечном соке. Наиболее активными являются амилаза и мальтаза панкреатического сока. Продукты глубокого гидролиза крахмала (глюкоза и мальтоза) имеют свободные гликозидные гидроксилы, поэтому легко окисляются и дают положительную реакцию Троммера и с фелинговой жидкостью. Промежуточные продукты гидролиза декстрины обнаруживаются по характерному окрашиванию с йодом. Крахмал и более близкие к крахмалу амилодекстрины дают синее окрашивание с йодом, эритродекстрины – красно-бурое и мальтодекстрины окрашивания не дают.

В две пробирки наливают по 3-5 мл крахмала (1% раствор, содержащий 0,3% NaCl). В первую пробирку (контрольную) добавляют 2-3 мл дистиллированной воды, во вторую пробирку (опытную) – 2-3 мл разбавленной слюны и ставят их в термостат при 37-40°C на 30-40 мин. Время от времени периодически берут стеклянной палочкой из каждой пробирки каплю жидкости, наносят на предметное стекло и добавляют каплю йода. Пробы капель, взятые из опытной пробирки, вначале с йодом дают синее окрашивание, затем красно-бурое и к концу времени инкубации перестают давать окрашивание с йодом. Капли, взятые из контрольной пробирки, все время дают с йодом синее окрашивание. По окончании времени инкубации с содержимым обеих пробирок проделывают реакцию Троммера или с фелинговой жидкостью. С раствором крахмала реакция будет отрицательная, с раствором крахмала со слюной вследствие гидролиза – положительная, наблюдается выпадение красного осадка оксида меди (I). (с. 14-15)

*Результаты опытов и выводы оформить в виде таблицы и подтвердить написанием реакций поэтапного гидролиза крахмала.*

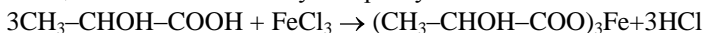
№ пробирки	Исследуемое вещество	Время инкубации в термостате	Пробы с йодом			Реакция Троммера	Выводы
			1	2	3		
1.	Раствор крахмала						
2.	Раствор крахмала и слюны (амилаза, мальтаза)						

Подобный опыт можно провести с гликогеном. Гликоген сходен по строению и имеет ряд общих свойств с крахмалом. Гидролиз идет че-

рез те же промежуточные продукты, что и у крахмала, но гликоген с йодом дает не синее, а красно-бурое окрашивание, исчезающее при охлаждении. Гликоген для проведения опыта можно получить из тканей мышц или печени только что убитого животного. Содержание гликогена в печени достигает 1-4 % веса, но может достичь и 20%, в мышцах до 2% от сухого вещества.

В центрифужную пробирку наливают 2 мл 60% раствора КОН, туда же кладут 1,5-2 г ткани (печени, мышц). Пробирку ставят на час в кипящую водяную баню, часто взбалтывают. Через час пробирку вынимают из бани, охлаждают и добавляют в нее 8-10 мл спирта. Выпадает осадок гликогена. Пробирку ставят в центрифугу и центрифугируют. Надосадочную жидкость сливают. Осадок растворяют в 2 мл 15% раствора КОН и снова добавляют 8-10 мл спирта. Опять центрифугируют и сливают надосадочную жидкость. Осадок растворяют в воде и используют для опытов.

**Опыт 2. Обнаружение молочной кислоты в мышечном экстракте.** Молочная кислота является конечным продуктом гликолиза. Поэтому она всегда присутствует в мышечной ткани. Открытие наличия молочной кислоты основано на образовании лактата железа, обуславливающего зеленовато-желтую окраску.

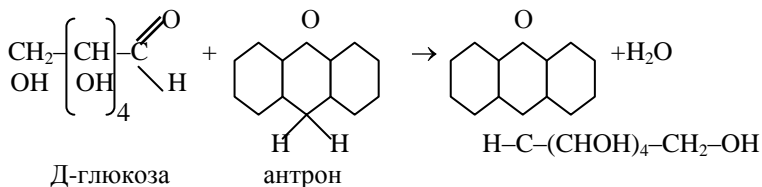


30-50 г мышц тщательно измельчают ножницами, а затем растирают в ступке, добавляя небольшими порциями (60-100 мл) дистиллированной воды. Полученную взвесь переносят в колбочку, встряхивают в течение 10 мин и затем фильтруют через несколько слоев марли.

Затем в две пробирки наливают по 15-20 мл раствора фенола и добавляют по каплям раствор хлорида железа, образуется фенолят железа и появляется фиолетовая окраска. В одну из пробирок добавляют экстракт из мышечной ткани. Фиолетовая окраска в этой пробирке переходит в зеленовато-желтую за счет образования лактата железа.

### **Опыт 3. Определение глюкозы в крови антроновым методом.**

Метод основан на том, что при взаимодействии глюкозы с концентрированной серной кислотой образуется гидроксиметилфурфурол, который при нагревании на кипящей водяной бане в кислой среде конденсируется с антроном, образуя продукт зеленого цвета. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации глюкозы. Реакцию для глюкозы можно представить в виде:



Для опыта готовят безбелковый центрифугат крови. Для этого в пробирку отмеряют 0,5 мл воды, 0,5 мл крови, 1 мл 10% раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ), перемешивают стеклянной палочкой и оставляют на 10 мин. Затем центрифугируют 15 мин при 2500 об/мин и используют для опыта надосадочную жидкость.

Приготовьте три пробирки и подпишите их: опытная (0), стандартная (с), контрольная (к). В опытную прилейте 0,1 мл безбелкового центрифугата крови, в стандартную – 0,1 мл стандартного раствора глюкозы, в контрольную – 0,1 мл дистиллированной воды. Во все три пробирки из бюретки добавьте по 2,5 мл антронового реактива, осторожно перемешайте и поставьте на 10 мин в кипящую водяную баню. После охлаждения растворов произведите измерения на фотоэлектроколориметре при длине волны 590-650 нм (красный светофильтр) против контроля в кювете с толщиной стенок 5 мм.

Содержание глюкозы в исследуемой крови, ммоль/л вычисляют по формуле:

$$x = \frac{E_{он.} \cdot 5 \cdot 4}{E_{ст.}}$$

где x – концентрация глюкозы в крови, ммоль/л;

$E_{он.}$  – экстинкция опытной пробы;

$E_{ст.}$  – экстинкция стандартной пробы;

5 – концентрация глюкозы в стандартном растворе, ммоль/л;

4 – степень разведения крови.

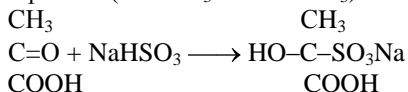
Для пересчета моль/л в мг% результат умножают на 18 (180:10=18).

*Вывод: биохимический анализ крови показал, что в крови исследуемого животного содержится ..... ммоль/л глюкозы.*

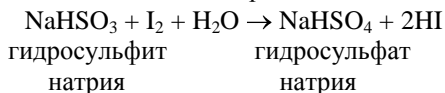
**Опыт 4. Количественное определение пировиноградной кислоты в моче.** Пировиноградная кислота (ПВК) образуется в основном при биологическом окислении углеводов (так как они являются главным источником энергии в организме) в качестве промежуточного продукта. В норме в плазме крови содержится 0,8–1,5 мг% пировино-

градной кислоты. За сутки с мочой выделяется до 200 мг пировиноградной кислоты. При авитаминозе и гиповитаминозе В<sub>1</sub> в крови и в других тканях, особенно в нервной, пировиноградная кислота накапливается в большом количестве. Происходит это потому, что В<sub>1</sub> входит в состав пируватдегидрогеназного комплекса, осуществляющего окисление ПВК. Накопление ПВК наблюдается при тяжелой мышечной работе паренхиматозных поражениях печени, кетозах.

Принцип метода количественного определения пировиноградной кислоты основан на способности ее образовывать в кислой среде соединения с гидросульфитом (NaHSO<sub>3</sub> или KHSO<sub>3</sub>).



Избыток добавленного гидросульфита затем связывают йодом (при этом одновременно окисляются органические соединения мочи).



После этого разрушают гидросульфитное соединение пировиноградной кислоты в щелочной среде (добавкой гидрокарбоната натрия). Количество освободившегося при этом гидросульфита эквивалентно количеству пировиноградной кислоты. Гидросульфит оттитровывают йодом. По количеству пошедшего на титрование йода рассчитывают содержание пировиноградной кислоты.

В колбу вносят 1 мл мочи, 1 мл 0,1 н. раствора щавелевой кислоты, 9 мл воды (для осаждения кальция мочи) и 10 капель свежеприготовленного раствора гидросульфита. Все перемешивают и ставят в темное место на 15 мин для удаления избытка гидросульфита. Затем добавляют 2-3 капли раствора крахмала и 0,1 н. раствора йода до синего окрашивания. Избыток йода удаляют, добавляя по каплям 0,1 н. раствор тиосульфата натрия до обесцвечивания. Избыток тиосульфата удаляют, добавляя по каплям 0,01 н. раствор йода до появления синего окрашивания от одной избыточной капли раствора йода. После этого приливают 10 капель насыщенного раствора гидрокарбоната натрия (синяя окраска при этом исчезает). Содержимое колбочки оттитровывают 0,01 н. раствором йода до появления синего окрашивания, не исчезающего в течение 20-30 с.

Количество 0,01 н. раствора йода, пошедшее на титрование, эквивалентно количеству пировиноградной кислоты. Количество пировиноградной кислоты вычисляют по формуле:

$$x = \frac{a \cdot 0,01 \cdot 100}{H},$$

где  $x$  – содержание пировиноградной кислоты, мг%;

$a$  – количество (мл) 0,01 н. раствора йода, пошедшее на титрование;

0,01 – нормальность раствора йода;

100 – пересчет, мг%;

$H$  – количество мочи (в мл), взятое для анализа (1 мл).

Пересчет в ммоль/л производят, умножая результат в мг% на 0,1135.

*Вывод: в результате биохимического анализа мочи установлено, что содержание пирувата в исследуемой моче составляет .....мг%.*

## ЛИТЕРАТУРА

### *Основная*

1. Барковский, Е. В. Введение в химию биогенных элементов и химический анализ: учеб. пособие / Е. В. Барковский, С. В. Ткачев, Г. Э. Атрахимович и др. – М.: Высшая школа, 1997. – 126 с.
2. Биохимия животных: Учебник для студ. зооинженер. и ветеринарн. ф-тов с/х вузов / А.В. Четкин, И.Д. Головацкий, П.А. Калиман, В.И. Воронянский /Под ред. проф. А.В.Четкина. – М., Высш. школа, 1982. – 511 с.
3. Грандберг, И.И. Органическая химия: Учебник для студентов вузов обучающихся по агрономическим специальностям 6-ое изд, стереотипное. – Дрофа:– 2004. – 672 с.
4. Князев Д. А. Неорганическая химия/ Д. А. Князев, С. Н. Смарыгин. – М.: Высш. шк., 1990. - 425 с.
5. Кононский, А.И. Биохимия животных: учебник пособие для вузов/ А. И. Кононский. – Киев: Вища школа. Головное изд-во, 1980. – 432 с.
6. Химия. Лабораторный практикум: учеб. пособие/А. Р. Цыганов, О. В. Поддубная, И. В. Ковалева, Т. В. Булак.–Минск: ИВЦ Минфина, 2015. – 320 с.
7. Химия. Общая химия с основами аналитической : учебно-методическое пособие / А. Р. Цыганов [и др.]. – Горки : БГСХА, 2012. – 204 с. ISBN 978-985-467-393-6.
8. Цыганов, А.Р. Биохимия практикум: учебное пособие / А.Р. Цыганов, И.В. Сучкова, И.В. Ковалева. – Минск: ИВЦ Минфина, 2007. – 150 с.
9. Цыганов, А. Р. Сборник задач и упражнений по химии : учеб. пособие / А. Р. Цыганов, О. В. Поддубная. – Минск : ИВЦ Минфина, 2013. – 234 с.

### *Дополнительная*

1. Алешин, В.А. и др. Практикум по неорганической химии - М.: Издат. Центр "академия", 2004. – 384 с.
2. Березов, Т.Т. Биологическая химия: учебник / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – М.: Медицина, 1998. - 704 с.
3. Белясова, Н.А. Биохимия и молекулярная биология: учеб. пособие. – Минск: Книжный дом, 2004. – 416 с.
4. Введение в лабораторный практикум по неорганической химии: Учеб. пособие / В.В. Свиридов, Г.А.Попкович и др. – Мн: Выш. шк., 2003. – 96с.
5. Зайцев, С.Ю. Биохимия животных. – Санкт-Петербург: Изд-во «Лань», 2004.- 382с.
6. Кудряшов Л. С. Физико-химические и биохимические основы производства мяса и мясных продуктов. - М.: ДеЛи принт, 2008. - 160 с.
7. Ленский, А. С. Введение в биоорганическую и биофизическую химию / А. С. Ленский. – М.: Высшая школа, 1989.
8. Метревели, Т.В. Биохимия животных. Санкт-Петербург: Изд-во «Лань», 2004.- 295с.
9. Микробиологический анализ мяса, птицы и яйцепродуктов. /Под ред. Дж. К.Мида; пер. с англ. И.С.Горожанкиной.- М.: Профессия, 2009. - 384с.
10. Николаев, А.Я. Биологическая химия: учебник / А.Я. Николаев. – М.: Мед. информ. агенство, 2004. - 566 с.
11. Общая химия. Биофизическая химия. Химия биогенных элементов: учебник для вузов/ Ю.А. Ершов, В.А. Попков и др. 6-е изд.,стер. М.: Высш. шк., 2007. – 560с.
12. Слесарев, В. И. Химия: основы химии живого: учебник для вузов / В. И. Слесарев. – СПб: Химиздат, 2001.
13. Угай, Я. А. Общая и неорганическая химия: учеб. для вузов. 4-е изд. - М.: Высш. шк., 2004. – 440 с.

14. Хазипов, Н.З. Биохимия животных: учебник / Н.З. Хазипов, А.Н. Аскарова. – Казань: КГАВМ, 2003. – 312 с.

***Справочники***

1. Кольман, Я., Рем, К.-Г. Наглядная биохимия: Пер. с нем. — М.: Мир, 2000. - 469 с.

2. Лидин, Р.А. Химические свойства неорганических веществ/ Под ред. Р.А. Лидина. – 5-е изд., стер. – М.: КолосС, 2008, - 480 с.: ил.

Составители

**Поддубная** Ольга Владимировна

**Ковалева** Ирина Владимировна

**Мохова** Елена Владимировна