

SPIS TREŚCI

WSTĘP	9
BEZPIECZEŃSTWO I HIGIENA PRACY LABORATORYJNEJ	11
1. AMINOKWASY	13
1.1. Właściwości fizyczne i chemiczne aminokwasów	15
1.2. Reakcje ogólne aminokwasów	16
1.2.1. Wykrywanie wolnych grup aminowych i karboksylowych	16
1.2.1.1. Reakcja z ninhydriną	16
1.2.1.2. Reakcja z kwasem azotowym (III)	17
1.2.1.3. Reakcja Sangera	17
1.2.2. Reakcje specyficzne dla niektórych aminokwasów	17
1.2.2.1. Reakcja ksantoproteinowa – wykrywanie aminokwasów aromatycznych	17
1.2.2.2. Wykrywanie pierścienia fenolowego tyrozyny – reakcja Millona	18
1.2.2.3. Wykazanie obecności pierścienia indolowego w tryptofanie – reakcja aldehydowa	19
1.2.2.3.1. Reakcja Adamkiewicza-Hopkinsa	19
1.2.2.3.2. Reakcja z aldehydem mrówkowym	19
1.2.2.4. Wykazywanie obecności grup sulfhydrylowych (tiolowych)	19
1.2.2.5. Wykazanie obecności argininy – reakcja Sakaguchi	20
1.3. Chromatografia bibułowa aminokwasów	21
1.3.1. Technika wstępująca	21
1.3.2. Technika krążkowa	22
Piśmiennictwo	22
2. BIAŁKA	23
2.1. Reakcje barwne białek	24
2.1.1. Reakcja biuretowa – wykrywanie wiązań peptydowych	24
2.1.2. Reakcja ksantoproteinowa	25
2.1.3. Reakcja ninhydrynowa	25
2.1.4. Reakcja Liebermana – wykrywanie składnika węglowodanowego w białku	25
2.1.5. Wydzielenie mucyny ze śliny i próba Liebermana	26
2.2. Reakcje strącania białek	26
2.2.1. Wysalanie białek oraz rozpuszczalność białek w rozpuszczalnikach organicznych	26
2.2.1.1. Wysalanie białek siarczanem amonu	27
2.2.1.2. Wpływ rozpuszczalników organicznych na rozpuszczalność białek	27
2.2.2. Wytrącanie przy pomocy kationów metali ciężkich	27
2.2.3. Wytrącanie białek przy pomocy anionów	28
2.2.4. Ilościowe oznaczanie białka metodą biuretową	29
2.3. Piśmiennictwo	29
3. KWASY NUKLEINOWE	30
3.1. Wiadomości wstępne	30
3.2. Część doświadczalna	34
3.2.1. Hydroliza kwasów nukleinowych	34
3.2.2. Wykrywanie komponentu białkowego	34
3.2.3. Wykrywanie składników budowy kwasów nukleinowych	35
3.2.3.1. Wykrywanie zasad azotowych	35
3.2.3.2. Wykrywanie kwasu ortofosforowego	35

3.2.3.3. Reakcja ogólna na pentozy	35
3.2.3.4. Wykrywanie D-rybozy	35
3.2.3.5. Wykrywanie 2-D-deoksyrybozy	36
3.2.4. Ilościowe oznaczanie kwasów nukleinowych metodą kolorymetryczną	36
3.2.4.1. Ilościowe oznaczanie RNA	36
3.2.4.2. Ilościowe oznaczanie DNA	36
Piśmiennictwo	37
4. CUKROWCE	38
4.1. Wiadomości wstępne	38
4.1.1. Monosacharydy	38
4.1.2. Właściwości chemiczne	42
4.1.3. Disacharydy	44
4.1.4. Polisacharydy	45
4.2. Wykonanie ćwiczenia	45
4.2.1. Reakcje barwne ogólne dla cukrowców	45
4.2.1.1. Próba Molischa z α -naftolem	45
4.2.1.2. Reakcja z tymolem	46
4.2.1.3. Próba antronowa	46
4.2.2. Reakcje barwne selektywne dla cukrowców	47
4.2.2.1. Odróżnianie pentoz od heksoz	47
4.2.2.1.1. Próba Tollensa z floroglucyną	47
4.2.2.1.2. Próba Biała	47
4.2.2.2. Odróżnianie ketoz od aldoz	48
4.2.2.2.1. Próba Seliwanowa	48
4.2.2.3. Właściwości redukcyjne jednocukrowców	48
4.2.2.3.1. Próba Fehlinga	49
4.2.2.3.2. Próba Tollensa (wykrywanie lustra srebrowego)	49
4.2.3. Właściwości redukujące sacharozy po hydrolizie kwasowej	50
4.2.4. Oznaczanie ilościowe cukrów metodą Bertranda	51
4.2.4.1. Przygotowanie roztworu podstawowego	52
4.2.4.1.1. Ilościowe oznaczanie cukrów redukujących przed inwersją metodą Bertranda	52
4.2.4.1.2. Ilościowe oznaczanie sacharozy	53
4.2.4.1.3. Ilościowe oznaczanie cukru ogólnego po hydrolizie kwasowej	53
Piśmiennictwo	55
5. TŁUSZCZOWCE (LIPIDY)	56
5.1. Wiadomości wstępne	56
5.1.1. Lipidy izoprenowe	56
5.1.2. Kwasy tłuszczowe	57
5.1.3. Estry proste i ich formy transportowe	58
5.1.4. Lipidy złożone	59
5.2. Część doświadczalna	60
5.2.1. Ekstrakcja tłuszczów złożonych z mózgu	60
5.2.2. Ekstrakcja lipidów metodą Folcha	60
5.2.3. Wykazywanie obecności glicerolu w ekstrakcie lipidów mózgu	61
5.2.4. Wykazywanie obecności kwasów tłuszczowych w ekstrakcie z mózgu	61
5.2.5. Wykrywanie jonów ortofosforanowych w ekstrakcie lipidów mózgu	62
5.2.6. Wykazywanie obecności choliney	62
5.2.6.1. Wykazywanie obecności choliney za pomocą KOH	62

5.2.6.2. Wykazywanie obecności choliney za pomocą płynu Lugola	63
5.2.7. Wykazywanie obecności cukru w ekstrakcie lipidów mózgu	63
5.2.8. Liczby właściwe tłuszczów	63
5.2.8.1. Liczba kwasowa	63
5.2.8.2. Liczba zmydlenia	64
5.2.8.3. Liczba estrowa	65
5.2.8.4. Liczba jodowa	65
5.2.8.5. Liczba Reicherta-Meissla	66
Piśmiennictwo	66
6. ENZYMY	67
6.1. Budowa enzymów	67
6.2. Mechanizm działania enzymów	67
6.2.1. Wpływ stężenia enzymu i substratu	68
6.2.2. Wpływ temperatury	68
6.2.3. Wpływ odczynu (pH)	68
6.2.4. Wpływ aktywatorów i inhibitorów	68
6.3. Klasyfikacja enzymów	69
6.4. Oznaczanie aktywności enzymów klasy oksydoreduktaz	69
6.4.1. Przygotowanie wyciągu zawierającego enzymy: katalazę i peroksydazę	69
6.4.2. Oznaczanie aktywności katalazy	69
6.4.3. Wykazywanie aktywności peroksydazy	70
6.4.4. Wykazywanie aktywności oksydazy dwufenolowej	71
6.4.5. Wykazywanie aktywności oksydazy cytochromowej	72
6.4.6. Wykazanie aktywności dehydrogenazy bursztynianowej	73
6.5. Oznaczanie aktywności enzymów z klasy hydrolaz	73
6.5.1. Oznaczanie aktywności ureazy	73
6.5.2. Wykazywanie aktywności α -amylazy	74
6.5.2.1. Przygotowanie roztworu α -amylazy ślinowej	74
6.5.2.2. Stopniowy rozkład skrobi pod wpływem α -amylazy	74
6.6. Kinetyka reakcji enzymatycznych	75
6.6.1. Oznaczanie szybkości reakcji enzymatycznej katalazy na podstawie ilości rozłożonego substratu w czasie (t)	77
6.6.2. Badanie wpływu stężenia enzymu na szybkość reakcji enzymatycznej peroksydazy metodą kolorymetryczną	78
6.6.3. Wpływ pH środowiska na szybkość reakcji enzymatycznych	79
Piśmiennictwo	79
7. WITAMINY	81
7.1. Podział witamin	81
7.2. Wykrywanie niektórych witamin rozpuszczalnych w wodzie	82
7.2.1. Oznaczanie zawartości witaminy C, glutationu i ogólnej aktywności redukującej tkanki roślinnej	82
7.2.2. Wykrywanie witaminy B ₁	85
7.2.3. Wykrywanie witaminy B ₂ (ryboflawiny)	86
7.2.4. Wykrywanie witaminy PP	87
7.3. Wykrywanie niektórych witamin rozpuszczalnych w tłuszczach	89
7.3.1. Wykrywanie witaminy A w tranie	89
Piśmiennictwo:	90
8. BARWNIKI ROŚLINNE	91
8.1. Flawonoidy	91

8.1.1. Reakcje barwne flawonoidów	95
8.1.1.1. Sporządzanie ekstraktów wodno-alkoholowych z kwiatu bławatka, herbaty i jabłka	95
8.1.1.2. Izolowanie i identyfikacja żółtych barwników z zielonej gryki	95
8.1.1.2.1. Reakcja z chlorkiem żelaza(III) – (FeCl ₃)	96
8.1.1.2.2. Reakcja z magnezem i kwasem solnym (Mg i HCl)	96
8.1.1.2.3. Reakcja z kwasem siarkowym(VI) – (H ₂ SO ₄)	96
8.1.1.2.4. Reakcja z kwasem azotowym(V) – (HNO ₃)	96
8.1.1.2.5. Reakcja z chlorkiem glinu (AlCl ₃)	97
8.1.3. Zmienność barw antocyjanin w zależności od odczynu (pH)	97
8.1.3.1. Sporządzanie wyciągu z czerwonej kapusty	97
8.1.3.2. Reakcje charakterystyczne antocyjanin	97
8.2. Barwniki rozpuszczalne w tłuszczach – chlorofil i karotenoidy	98
8.2.1. Oznaczanie zawartości chlorofilu w ekstraktach z liści	99
8.2.2. Chromatografia kolumnowa karotenoidów	100
8.2.3. Charakterystyka występujących w pomidorach niektórych karotenoidów ..	101
8.2.3.1. Rozdzielanie i oznaczanie ilościowe β-karotenu i likopenu	101
8.2.3.1.1. Przygotowanie kolumny chromatograficznej	101
8.2.3.1.2. Adsorpcja i wymywanie	102
8.2.3.1.3. Oznaczanie ilościowe	102
8.2.3.1.4. Rozdzielanie karotenoidów metodą chromatografii cienkowarstwowej	103
Piśmiennictwo	103
9. ALKALOIDY	104
9.1. Ilościowe oznaczanie alkaloidów tytoniu	105
9.1.1. Przygotowanie destylatu	105
9.1.2. Oznaczenie zawartości nikotyny	105
9.2. Ekstrakcja alkaloidów z materiału roślinnego	106
9.3. Schemat reakcji alkaloidów	106
9.3.1. Reakcje strącaniowe i barwne alkaloidów	106
9.4. Wykrywanie witaminy PP (amid kwasu nikotynowego)	107
Piśmiennictwo	107
10. ELEMENTY BIOCHEMII MLEKA	108
10.1. Gruczoł sutkowy	108
10.2. Siara	108
10.3. Mleko	108
10.4. Wykrywanie i wydzielanie niektórych składników mleka	109
10.4.1. Otrzymywanie kazeiny	109
10.4.2. Rozpuszczalność kazeiny	109
10.4.3. Reakcja biuretowa	109
10.4.4. Reakcja ksantoproteinowa	109
10.4.5. Reakcja Millona	110
10.4.6. Wykrywanie laktozy	110
10.4.7. Wykrywanie jonów Cl ⁻	110
10.4.8. Wykrywanie jonów Ca ²⁺ , PO ₄ ³⁻	110
10.4.8.1. Wykrywanie Ca ²⁺	110
10.4.8.2. Wykrywanie PO ₄ ³⁻	111
10.4.9. Wytrącanie laktoglobulin i laktoalbumin	111
10.4.10. Odróżnianie mleka świeżego od przegotowanego	111
10.4.11. Oznaczanie tłuszczu w mleku	111

Piśmiennictwo	112
11. SOKI TRAWIENNE I ŻÓŁĆ	113
11.1. Znaczenie cholesterolu dla organizmu człowieka	116
11.2. Żółć	117
11.3. Wątroba	118
11.4. Metodyka ćwiczeń	119
11.4.1. Sok żółdkowy	119
11.4.1.1. Wykazanie obecności kwasu solnego	119
11.4.1.2. Ilościowe oznaczanie kwasowości	119
11.4.1.3. Wykrywanie kwasu mlekowego – próba Straussa	120
11.4.1.4. Wykrywanie pepsyny	120
11.4.2. Żółć	121
11.4.2.1. Próba Pattenkofera	121
11.4.2.2. Emulgujące działanie żółci	121
11.4.2.3. Wpływ żółci na lipazę trzustkową	121
Piśmiennictwo	122
12. KREW	123
12.1. Skład krwi człowieka	123
12.2. Biochemiczne aspekty hemostazy (krzepnięcia krwi)	126
12.3. Metodyka ćwiczeń	127
12.3.1. Odbiałczanie surowicy	128
12.3.1.1. Odbiałczanie kwasem trójchlorooctowym	128
12.3.1.2. Metoda Folina-Wu	128
12.3.1.3. Metoda Somogyi'ego	128
12.3.2. Wykrywanie ważniejszych składników niebiałkowych krwi	128
12.3.2.1. Wykrywanie jonów Ca^{2+}	128
12.3.2.2. Wykrywanie jonów Cl^-	128
12.3.2.3. Wykrywanie jonów PO_4^{3-}	129
12.3.2.4. Wykrywanie jonów SO_4^{2-}	129
12.3.3. Wykrywanie kreatyniny i glukozy	129
12.3.3.1. Wykrywanie kreatyniny	129
12.3.3.2. Wykrywanie glukozy	130
12.3.4. Wykrywanie barwnika krwi – próba z benzydynam	130
12.3.5. Ilościowe oznaczanie białka metodą biuretową w surowicy krwi	130
Piśmiennictwo	131
13. MOCZ	132
13.1. Skład chemiczny moczu	133
13.1.1. Składniki azotowe moczu	133
13.1.2. Organiczne związki nieazotowe	133
13.1.3. Składniki nieorganiczne	134
13.1.4. Składniki patologiczne	134
13.2. Właściwości fizyczne moczu	134
13.3. Metodyka ćwiczeń	135
13.3.1. Badanie przejrzystości i barwy	135
13.3.2. Oznaczanie ciężaru właściwego	135
13.3.3. Oznaczanie kwasowości moczu	135
13.3.4. Identyfikacja składników moczu prawidłowego	135
13.3.4.1. Wykrywanie mocznika	135
13.3.4.2. Wykrywanie kreatyniny – reakcja Jaffe	136
13.3.4.3. Wykrywanie indykanu – próba Obermayera	136

13.3.5.	Badanie chemiczne składników moczu patologicznego	136
13.3.5.1.	Wykrywanie obecności białka	136
13.3.5.1.1.	Próba z kwasem TCA	136
13.3.5.1.2.	Próba z kwasem azotowym	137
13.3.5.2.	Wykrywanie cukru – próba Benedicta	137
13.3.5.3.	Wykrywanie ciał ketonowych	137
13.3.5.4.	Wykrywanie krwi – próba z benzydynam	137
Piśmiennictwo		137