

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ
Національний університет кораблебудування
імені адмірала Макарова

В. В. МАЩЕНКО, Н. В. КУЛАЛАСВА

Методичні вказівки
для підготовки до лабораторних робіт з курсу «Біохімія»
(експериментальна частина)

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

Рекомендовано Методичною радою НУК

Електронне видання комбінованого
використання на DVD-ROM



МИКОЛАЇВ • НУК • 2011

УДК 577.1 (076)

Рецензент С.Ю. Кельїна, канд. хім. наук, доцент

Електронний аналог друкованого видання:

Мащенко В.В., Кулаласва Н.В. Методичні вказівки для підготовки до лабораторних робіт з курсу "Біохімія" (експериментальна частина). – Миколаїв : Видавництво НУК, 2011. – 34 с.

Кафедра хімії

Вказівки містять лабораторні роботи з курсу "Біохімія" та необхідні вимоги до їх виконання. В кожній темі викладені короткі теоретичні відомості, запитання та задачі для самоконтролю знань і захисту відповідної теми.

Призначено для студентів Гуманітарного інституту спеціальності 6.010200 "Олімпійський та професійний спорт", для вчителів та учнів шкіл з поглибленим вивченням природничих наук.

УДК 577.1 (076)

Навчальне видання

МАЩЕНКО Валентина Василівна
КУЛАЛАСВА Наталя Валеріївна

Методичні вказівки
для підготовки до лабораторних робіт з курсу «Біохімія»
(експериментальна частина)

Коректор *М.О. Паненко*
Комп'ютерне верстання *А.В. Платонова*
© Мащенко В.В., Кулаласва Н.В., 2011
© Видавництво НУК, 2011

Формат 60×84/16. Ум. друк. арк. 2,0. Обсяг даних 000 кб.
Тираж 16 прим. Вид. № 29. Зам. № 4.

Видавець і виготівник Національний університет кораблебудування,
54025, м. Миколаїв, просп. Героїв Сталінграда, 9
E-mail : publishing@nuos.edu.ua

Свідцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного
реєстру видавців, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції
ДК № 2506 від 25.05.2006 р.

ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ

Правила безпеки під час виконання роботи

При виконанні роботи треба дотримуватись наступних правил та вимог.

Не запускати жодного приладу без попередньої перевірки. Не залишати діючий прилад без нагляду.

Для попередження нещасних випадків через можливий викид реакційної суміші не заглядати в пробірку чи колбу зверху.

Не виносити з лабораторії прилади, посуд і реактиви.

Роботу з отруйними речовинами проводити у витяжній шафі.

Дотримуватися запобіжних заходів при роботі з вибуховими та легкозаймистими речовинами.

Не виливати до раковини залишки кислот, лугів, вогнєнебезпечних рідин, а зливати їх у спеціальні склянки під витяжною шафою.

Розчини, що містять кислоти та луги, перед тим як виливати до каналізаційної системи, необхідно нейтралізувати. Не користуватися речовинами у склянках без етикеток.

Правила безпеки в аварійних ситуаціях

Необхідно дотримуватись правил протипожежної безпеки.

Якщо в лабораторії з якихось причин пролита значна кількість легкозаймистої рідини, то необхідно вимкнути всі електронагрівачі прилади, відчинити вікна та зібрати пролиту рідину ганчіркою або рушником, місце

проливу засипати піском, потім зібрати його дерев'яною лопаткою й ви-нести в спеціально відведене місце.

При легких термічних опіках шкіру необхідно обмити спиртом, а потім змастити гліцериним або вазеліном. При сильніших опіках обпечене місце промити розбавленим розчином калій перманганату або спиртом, і змастити засобом від опіків (наприклад, сульфідиновою емульсією).

При опіках сильними кислотами потрібно промити уражене місце великою кількістю води, а потім – 3%-им розчином соди.

При опіках сильними лугами шкіру необхідно промити водою, а потім нейтралізувати 1%-им розчином борної кислоти. Аміак майже не діє на шкіру, але при попаданні його в очі слід промити їх великою кількістю води.

При випадковому ковтанні розчинів реактивів рекомендується випити більше води. Поряд із цим необхідно: а) при отруєнні кислотами – випити склянку 2%-ого розчину соди; б) при отруєнні лугами – випити склянку 2%-ої ацетатної або цитратної кислоти.

При отруєнні необхідно вивести постраждалого на свіже повітря, зробити штучне дихання та викликати лікаря.

При порізах необхідно видалити з рани уламки скла, краї рани продезинфікувати 3%-им спиртовим розчином йоду, а потім накласти стерильну пов'язку. При сильних кровотечах слід накласти вище рани джгут та викликати лікаря або направити постраждалого до амбулаторії (поліклініки).

Закінчивши роботу, необхідно привести до ладу робоче місце, вимкнути прилади й апаратуру.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1

ТЕХНІКА ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ. ВЛАСТИВОСТІ ОРГАНІЧНИХ РЕЧОВИН

Мета роботи: ознайомлення з порядком та правилами виконання робіт у хімічній лабораторії, з інструкцією з охорони праці при виконанні робіт у хімічних лабораторіях. Дослідження властивостей деяких класів органічних сполук.

Загальні правила виконання робіт у хімічній лабораторії

1. До виконання лабораторних робіт допускаються студенти, які пройшли інструктаж з охорони праці згідно з "Інструкцією з охорони праці при виконанні лабораторних робіт в лабораторіях кафедри хімії".

2. Студент повинен стежити за графіком виконання і захисту лабораторних робіт. Студенти, які навчаються за індивідуальним графіком (приймають участь у спортивних зборах та змаганнях), повинні представити необхідні документи (копії) викладачу та обов'язково відпрацювати пропущені заняття з викладачем у позаурочний час.

3. Перед виконанням лабораторної роботи проводиться експресний контроль знань лекційного курсу. Студенту пропонується декілька питань, на які він відповідає (усно або письмово). Якщо студент відповідає не менше ніж на 2/3 запропонованих питань, йому дозволяють приступити до виконання лабораторної роботи.

4. Лабораторна робота вважається виконаною, коли отримані дослідні дані, проведені необхідні розрахунки і робота оформлена на стандартних аркушах формату А4.

5. На титульному аркуші повинні бути: шифр спеціальності, номер групи; номер і назва роботи; дата виконання роботи; прізвище та ініціали студента і викладача. На наступних аркушах записується мета роботи, основні теоретичні положення, які стосуються теми лабораторної роботи. Все це заповнюється заздалегідь і показується викладачу перед початком роботи.

6. Лабораторну роботу або дослід слід виконувати згідно з інструкцією, не допускати ніяких змін і відхилень від умов, запропонованих у методичних вказівках. Умови проведення дослідження можна змінити тільки з дозволу викладача.

7. Під час лабораторної роботи виконуються досліди і на аркушах записуються:

а) назви дослідів; реакції всіх процесів, якими супроводжуються досліди;

б) візуальні ефекти, які спостерігаються та їх пояснення;

в) малюнки пристроїв і схем, якщо вони є, та пояснення до них;

г) необхідні розрахунки;

д) висновки з дослідів і роботи у цілому.

8. Закінчивши роботу, треба прибрати робоче місце, вимити посуд. Прилади і посібники здати черговому.

9. Виконана робота підписується, захищається і здається викладачу.

10. Для захисту роботи необхідно підготувати теоретичні питання і вміти розв'язувати задачі з відповідних тем. Необхідна теорія і методи розв'язування задач надаються у лекціях. Захист роботи проводиться під час лабораторної роботи або під час консультацій викладача.

11. У випадку незарахованої роботи (пропуск роботи, відсутність оцінки або незадовільна оцінка) в журналі викладача робиться відмітка про академічну заборгованість.

12. Студент, який не ліквідував академічну заборгованість по лабораторних та контрольних роботах, а також по індивідуальній самостійній роботі на день складання іспиту, до іспиту з курсу біохімії не допускається.

Ознайомлення з інструкцією з охорони праці при виконанні робіт у лабораторіях кафедри хімії

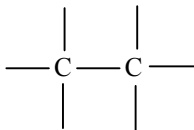
Основні положення записати у лабораторному зошиті та зробити відмітку у кафедральному журналі по техніці безпеки.

Теоретичні відомості

Класи органічних сполук

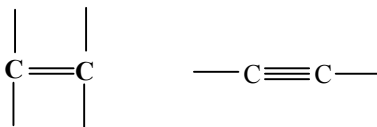
В організмі людини більша частина хімічних речовин представлена різноманітними органічними сполуками. Органічні речовини – це карбон-вмісні сполуки, в яких атоми Карбону (C) поєднуються між собою та з іншими атомами (H, O, N, P, S) або групами атомів. До складу організму входять низькомолекулярні (прості) та високомолекулярні (складні) органічні речовини. Різнноманітні високомолекулярні сполуки організму, його клітинні структури складаються з невеликої кількості простих низькомолекулярних органічних сполук, які поступають в організм з зовнішнього середовища або синтезуються в організмі. Такими сполуками є амінокислоти, азотисті основи, глюкоза, жирні кислоти та ін.

У всіх органічних сполуках атом Карбону (C) проявляє валентність 4. Особливість електронної будови атому дозволяє Карбону утворювати велику кількість зв'язків типу карбон – карбон:



При цьому утворюються лінійні, розгалужені та замкнуті (циклічні) карбонові ланцюги, які є основою органічних сполук. Лінійну структуру карбонового ланцюга має більшість органічних кислот, що входять до складу організму людини, а розгалужену – окремі амінокислоти, вітаміни та деякі інші речовини. Органічні речовини, які мають лінійний або розгалужений карбоновий ланцюг, називають ациклічними, а замкнутий карбоновий ланцюг – циклічними. Циклічні органічні сполуки, що містять в циклах лише атоми Карбону, називаються карбоциклічними. Якщо у карбоновому ланцюгу містяться інші атоми (O, N, S), речовини називаються гетероциклічними.

Якщо, зв'язки між атомами Карбону в ланцюзі одинарні, то такі сполуки називаються насиченими. Коли атоми Карбону утворюють подвійні та потрійні зв'язки, тоді сполуки називаються ненасиченими:



Атоми Карбону в органічних сполуках взаємодіють з певними групами атомів – функціональними групами. Функціональні групи – це групи атомів, присутність яких в молекулах надає речовині нові характерні для даного класу органічних сполук хімічні властивості. Молекули багатьох органічних речовин можна розглядати як сполуку радикалу з функціональною групою. Радикал (R) – це незмінна група атомів у хімічних реакціях (нейтральна частина молекули, що має неспарений електрон). Основні функціональні групи та відповідні їм класи органічних сполук представлені в таблиці 1.

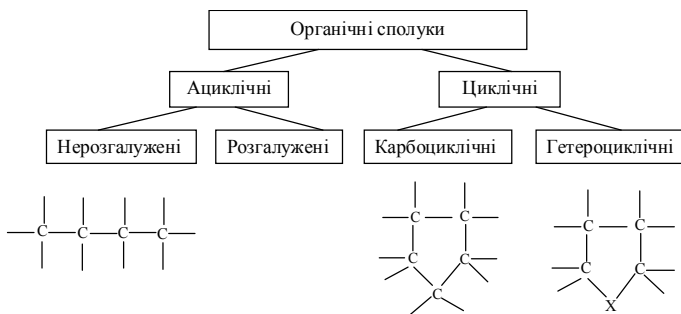
Наявність у речовинах певних функціональних груп впливає на проявлення їх біологічної активності та виконання конкретної функції.

У зв'язку з великою кількістю органічних речовин існує чітка система їх класифікації. Біоорганічні сполуки класифікують за будовою карбонового ланцюга, за наявністю функціональних груп та за біологічними функціями, які вони виконують в організмі.

Таблиця 1. Класи органічних сполук

Назва класу	Структурна формула	Функціональна група
Вуглеводні	$R-CH_3$	немає
Спирти	$R-CH_2-OH$	$-OH$
Альдегіди	$R-C \begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow H \end{matrix}$	$-C \begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow H \end{matrix}$
Кетони	$R'-C(=O)-R''$	$-C(=O)-$
Карбонові кислоти	$R-C \begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow OH \end{matrix}$	$-C \begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow OH \end{matrix}$
Етери	$R'-CH_2-O-CH_2-R''$	$-CH_2-O-CH_2-$
Естери	$R-C \begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow O-R'' \end{matrix}$	$-C \begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow O- \end{matrix}$
Аміди	$R-C \begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow NH_2 \end{matrix}$	$-C \begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow NH_2 \end{matrix}$
Аміни	$R-NH_2$	$-NH_2$
Тіюли	$R-SH$	$-SH$

За будовою карбонового ланцюга органічні речовини поділяють на два класи та декілька підкласів:



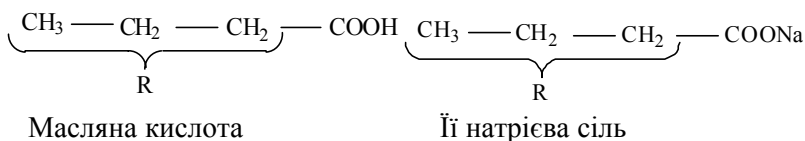
де X – гетероатоми (O, S, N та інші).

Виділяють чотири основних класи органічних сполук: вуглеводи, ліпіди, білки та нуклеїнові кислоти, які виконують різні біологічні функції в організмі (табл. 2).

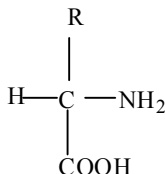
Таблиця 2. Біологічні функції органічних речовин

Клас біоорганічних сполук	Функції
Вуглеводи	Енергетична
Ліпіди	Енергетична; структурна; синтезуюча
Білки	Структурна; каталітична (ферментативна), транспортна; регуляторна, імунна та ін.
Нуклеїнові кислоти	Збереження спадковості (генетичної інформації), біосинтезуюча

Усі хімічні сполуки позначаються молекулярними (емпіричними) формулами, які відбивають якісний та кількісний склад речовини. У біологічній хімії використовують, як правило, структурні формули, які показують порядок розташування атомів та функціональних груп у молекулі. Наприклад, у молекулах жирних кислот різні радикали поєднуються з функціональною (карбоксильною) групою ($-\text{COOH}$), яка визначає основні хімічні властивості цього класу сполук:



У зв'язку з цим, часто загальні формули органічних сполук позначають як радикал з приєднаною функціональною групою. Наприклад, загальна формула амінокислот має наступний вигляд:



Практична частина

Дослід 1. Вивчення властивостей гліцерину ($\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$).

1.1. Розчинення у воді. В пробірку налити 1 мл води, влити туди стільки ж гліцерину і суміш збовтати. Потім додати ще 1 мл гліцерину. Зробити висновок про розчинність гліцерину у воді.

1.2. Якісна реакція на багатоатомні розчинні спирти – взаємодія з купрум (II) гідроксидом. В пробірку налити 2 мл натрій гідроксиду. Додати кілька крапель розчину купрум (II) сульфату. До купрум (II) гідроксиду, що утворився, додати гліцерину й суміш збовтати. Які зміни відбуваються? Зробити відповідний висновок.

Дослід 2. Одержання альдегіду.

На кінці мідної дротини зробити 5-6 витків спіралі. Налити в пробірку не більше 1 мл етилового спирту, розжарити спіраль у полум'ї пальника, щоб мідь вкрилася чорним нальотом оксиду, і швидко опустити спіраль у пробірку зі спиртом. Повторити цю операцію кілька разів. Звернути увагу на запах альдегіду, який утворюється при цьому, і на зміни, що відбуваються зі спіраллю. Скласти рівняння реакцій окиснення спирту в альдегід під дією купрум (II) оксиду.

Дослід 3. Вивчення хімічних властивостей ацетатної кислоти.

Налити розчин ацетатної кислоти у три пробірки. В першу пробірку додати 1–2 краплі індикатора метилоранжу та нейтралізувати розчином лугу NaOH. В другу пробірку додати порошку магнію на кінці шпателя. У третю додати 2–3 краплі розчину натрій карбонату Na_2CO_3 . Скласти рівняння реакцій і пояснити процеси, які відбуваються.

Контрольні запитання та задачі

1. Які типи хімічного зв'язку вам відомі?
2. Як поділяють органічні речовини за будовою карбонового ланцюга?
3. Назвати біологічні функції органічних речовин в організмі.
4. Указати функціональну групу альдегідів.
5. До якого класу органічних сполук відноситься бутанол?
6. До якого класу органічних сполук відносяться білки?
7. До якого класу органічних сполук відноситься пропаналь?
8. Обчислити об'єм CO_2 (н.у.) і масу води, що утворяться при згорянні метану об'ємом 40 м^3 .
9. Обчислити, скільки літрів ацетилену вступить у реакцію з водою при утворенні 10 моль оцтового альдегіду.
10. Відносна густина вуглеводню по водню дорівнює 15. Визначити молекулярну формулу насиченого вуглеводню.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 2

ВЛАСТИВОСТІ РОЗЧИНІВ. БУФЕРНІ РОЗЧИНИ

Мета роботи: ознайомлення зі способами вираження концентрації розчинів, визначенням водневого показника середовища й буферними розчинами.

Теоретичні відомості

1. Способи вираження концентрації розчинів

Розчинами називають гомогенні термодинамічно стійкі системи змінного складу, що містять два або більше компоненти, між якими може відбуватися фізична та хімічна взаємодія.

За здатністю до дисоціації (розпаду на іони) розчини розподіляють на два види: розчини неелектролітів, що не проводять електричний струм (розчин глюкози у воді, нафталіну в бензені, толуолу в бензині, пропанолу в етанолі тощо) та розчини електролітів, які проводять електричний струм.

Здатність електроліту дисоціювати характеризується ступенем дисоціації α – відношенням кількості продисоційованих молекул до загальної кількості молекул розчиненої речовини.

До сильних електролітів належать майже всі солі, деякі неорганічні кислоти (HCl , HBr , HI , HNO_3 , H_2SO_4) та основи – гідроксиди лужних і лужно-земельних металів. Решта електролітів, в тому числі й більшість органічних кислот, належить до слабких.

До неелектролітів відносяться більшість органічних сполук – вуглеводи, спирти, альдегіди, кетони та ін.

Вміст розчиненої речовини прийнято виражати через масову частку або концентрацію. Позначимо індексом 1 розчинену речовину, індексом 2 – розчинник.

Масова частка розчиненої речовини (ω_1) – це відношення маси m_1 розчиненої речовини до сумарної маси розчину $\sum m = m_1 + m_2$. Масову частку звичайно виражають у частках одиниці або у відсотках:

$$\omega_1 = m_1 / \sum m, \text{ або } \omega_2 = m_2 / \sum m \cdot 100\%.$$

Концентрацією розчину називають кількість (або масу) розчиненої речовини у певному об'ємі розчину або розчинника.

Молярна концентрація (C_M) – кількість молей розчиненої речовини v_1 , що містяться в 1 л розчину:

$$C_M = v_1 / V = m_1 / M_1 V \text{ моль/л.}$$

де M_1 – молярна маса розчиненої речовини, г/моль; V – об'єм розчину, л.

Молярна концентрація пов'язана з масовою часткою речовини співвідношенням:

$$C_M = \frac{\omega p}{100 \cdot M_1},$$

де p – густина розчину, кг/м³, г/см³.

2. Визначення кислотності середовища за допомогою індикаторів

Кислотність та ступінь лужності розчину виражають за допомогою концентрації H^+ –іонів. Водневим показником називається від'ємний десятковий логарифм молярної концентрації іонів Гідрогену (рН), тобто $pH = -\lg[H^+]$. Визначення рН застосовують для характеристики реакції розчинів: нейтральна рН = 7, кисла рН < 7, лужна рН > 7. Для цього використовують індикатори, табл. 3.

Таблиця 3. Кислотно-основні властивості індикаторів

Індикатор	Реакція середовища		
	Кисла	Нейтральна	Лужна
Метилловий оранжевий	Червоний	Жовто-гарячий	Жовтий
Лакмус	Червоний	Фіолетовий	Синій
Фенолфталеїн	Безкольоровий	Безкольоровий	Малиновий

3. Буферні розчини

Буферні розчини – це розчини, рН яких практично не залежить від розведення, концентрування та мало змінюється при додаванні до них невеликих кількостей кислот або лугів, які не перевищують відповідної межі.

Як правило, буферні розчини містять або слабку кислоту та її сіль, яка утворена сильною основою, або слабку основу та її сіль, яка утворена сильною кислотою.

Пояснення дії буферних розчинів ґрунтується на теорії електролітичної дисоціації сильних і слабких електролітів.

Розглянемо як приклад буферний розчин, що містить суміш CH_3COOH та CH_3COONa , при концентрації обох речовин дорівнюють $0,1 \text{ M}$.

Ацетатна кислота є слабким електролітом і дисоціює за рівнянням $\text{CH}_3\text{COOH} \leftrightarrow \text{CH}_3\text{COO}^- + \text{H}^+$. Концентрацію іонів Гідрогену такого розчину можна визначити, виходячи з виразу константи дисоціації слабкої кислоти: $K = [\text{H}^+][\text{CH}_3\text{COO}^-] / [\text{CH}_3\text{COOH}]$.

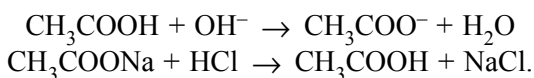
Звідси

$$[\text{H}^+] = \frac{[\text{CH}_3\text{COOH}]}{[\text{CH}_3\text{COO}^-]} \cdot K.$$

У розчині кількість молекул, які не дисоціювали, визначається концентрацією кислоти, а кількість аніонів – концентрацією солі, оскільки вона є сильним електролітом.

Отже концентрація іонів Гідрогену в буферному розчині пропорційна концентрації кислоти та зворотно пропорційна концентрації солі, а pH буферного розчину буде змінюватися лише в залежності від відношення концентрації слабкої кислоти та її солі.

При розведенні або при додаванні у буферний розчин невеликих кількостей сильних кислот або основ, ацетат-іони CH_3COO^- – будуть зв'язувати іони гідрогену в малодисоційовану ацетатну кислоту, pH розчину практично не зміниться або зміниться незначно.



Буферні властивості проявляються у зв'язуванні іонів Гідрогену або гідроксильних іонів у слабкодисоційовані молекули. Буферна дія зберігається при розведенні та концентруванні буферних розчинів. Кількісне вираження здатності розчину до буферної дії називається буферною ємністю.

Практична частина

Дослід 1. Приготування розчину з заданою масовою часткою.

Для приготування 20 г 4%-ого розчину натрій хлориду NaCl потрібно розрахувати необхідну кількість сухої солі та зважити її на технічних терезах з точністю до $0,01 \text{ г}$.

Розрахувати, виходячи з маси солі, необхідну кількість води та відміряти її об'єм мірною пробірною.

Взяти плоскодонну колбу та обережно через лійку перенести до неї наважку солі. Потім додати воду невеликими порціями таким чином, щоб всю сіль з лійки змити в колбу. Збовтати колбу декілька разів до повного розчинення солі.

Розрахувати молярну концентрацію утвореного розчину. Густина розчину солі $1,029 \text{ г/см}^3$.

Дослід 2. Визначення рН за допомогою індикаторів.

Налити в окремі пробірки розчини HCl , NaOH , Na_2CO_3 , NaCl , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$.

Визначити реакції розчинів за допомогою індикаторів фенолфталеїну, метилоранжу та універсального індикаторного паперу (табл. 3).

Отримані дані занести в таблицю 4.

Таблиця 4

Розчини речовин	Фенолфталеїн		Метилоранж		Універсальний індикатор, рН
	Колір	Реакція середовища, рН	Колір	Реакція середовища, рН	
HCl					
NaOH					
Na_2CO_3					
NaCl					
$\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$					

Дослід 3. Властивості аміачного буферного розчину ($\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$).

У дві пробірки налити по 1 мл аміачного буферного розчину, виміряти його рН. У першу пробірку прилити 1 краплю 1 М розчину хлоридної кислоти HCl , в другу – 1 краплю 1 М розчину натрій гідроксиду NaOH . Розчини добре перемішати скляними паличками. Визначити рН розчинів універсальним індикаторним папером. Зробити висновок про зміну величини рН цих розчинів.

Дослід 4. Вплив розведення на значення рН буферного розчину.

Налити в пробірку 4 краплі аміачного буферного розчину та розвести вміст пробірки у 25 разів (додати приблизно 5 мл дистильованої води). Визначити рН цього розчину та порівняти його з вихідним. Одержаний розчин розвести ще у 10 разів та знов визначити рН. Зробити висновок про зміну величини рН цих розчинів.

Контрольні запитання та задачі

1. Які розчини відносять до неелектролітів?
2. Навести приклади розчинів електролітів.
3. Як виміряти рН розчину?
4. Назвати буферні розчини, які існують в організмі людини.
5. Скільки грамів солі та води необхідно взяти для приготування 500 г розчину з $\omega_{\text{солі}} = 5\%$?
6. Чому дорівнює ступінь дисоціації сильного електроліту?
7. Чому дорівнює рН кислого середовища?
8. Обчислити C_M розчину, який містить 240 г цинк сульфату в 1000 мл розчину.
9. Обчислити масову частку розчину, який утворюється при розчиненні 20 г NaCl у 80 г води.
10. Обчислити масову частку розчину, який містить 30 г солі в 300 г розчину.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3

ДИСПЕРСНІ СИСТЕМИ. ВЛАСТИВОСТІ КОЛОЇДНИХ ТА ВИСОКОМОЛЕКУЛЯРНИХ РОЗЧИНІВ

Мета роботи: ознайомлення з хімічною природою та будовою дисперсних систем, експериментальне отримання колоїдних розчинів та розчинів ВМС, вивчення їх властивостей

Теоретичні відомості

Системи, в яких одна речовина у вигляді дуже дрібних частинок рівномірно розподілена в об'ємі іншої називається *дисперсною системою*. Так, розчин цукру в воді є дисперсною системою, де вода – дисперсійне середовище, цукор – дисперсна фаза. Прикладами дисперсних систем є також завесь еритроцитів (розмір частинок $7 \cdot 10^{-6}$ м), кишкової палички ($3 \cdot 10^{-6}$ м), вірусу грипу ($1 \cdot 10^{-7}$ м). Такі системи характеризуються агрегативною стійкістю.

За міжфазною взаємодією системи з рідким дисперсійним середовищем розділяють на два види:

- ліофобні, у яких дисперсна фаза не здатна взаємодіяти з дисперсійним середовищем, а отже, не розчиняється в ньому;
- ліофільні, у яких дисперсна фаза взаємодіє з дисперсійним середовищем і за певних умов здатна в ньому розчинятися.

В ліофобних системах (колоїдних розчинах, золях) утворюються колоїдні частинки нестехіометричного складу – агрегати з великої кількості молекул або іонів. Їх можуть утворювати неорганічні та органічні речовини, нерозчинні у дисперсійному середовищі. Золі є гетерогенними та нестійкими системами й потребують стабілізації – введення речовини – стабілізатора, що утворює на поверхні часток дисперсної фази захисний шар, який запобігає їх злипанню. До них відносяться водні розчини металів в колоїдному стані (наприклад, медичний препарат протаргол – колоїдний розчин срібла у воді), золі нерозчинних сполук (кислот, основ, солей), що утворюються безпосередньо в розчині внаслідок хімічної взаємодії при великому надлишку одного з компонентів реакції. До ліофобних золів відносять також мікрогетерогенні системи, розміри часток яких більше, ніж у золях. До них відносяться, наприклад, коров'яче молоко (емульсія масла у воді з білками у ролі стабілізаторів), емульсії жирів у воді, стабілізовані жовчаними кислотами та ін. Збільшення розміру частинок гідрофобних золів проходить за рахунок коагуляції, а саме злипання частинок дисперсної фази при втраті системою агрегативної стійкості.

До ліофільних систем відносять істинні розчини поверхнево-активних речовин (ПАР) і розчини високомолекулярних сполук (ВМС), розміри яких наближаються до розмірів часток в колоїдних розчинах. На відміну від ліофобних систем, ці розчини є гомогенними та термодинамічно стійкими й не потребують додаткової стабілізації. До них відносяться, наприклад, розчини природних полімерів – крохмалю, білків, желатини, синтетичних полімерів, деяких барвників. При концентруванні розчинів високомолекулярних сполук вони перетворюються в гелі, в яких вирішальну роль мають адсорбційні явища, що характерні для ліофобних колоїдів.

До біологічних об'єктів відносяться водні розчини білків, полісахаридів, ліпідів, ліпоїдів. Для ліофільних розчинів більшості білків головним фактором стійкості є гідратація (взаємодія з водою). Їх молекули адсорбують молекули розчинника (H_2O), утворюючи міцели, які є структурними і кінетичними одиницями колоїдних систем. Міцели ліофільних золів набувають зарядів, які виникають в результаті адсорбції іонів з рідкої фази. На рис. 1 показано міцела білку, яка представляє агрегат з молекул білка (високомолекулярна сполука) та адсорбованих молекул розчинника (H_2O).

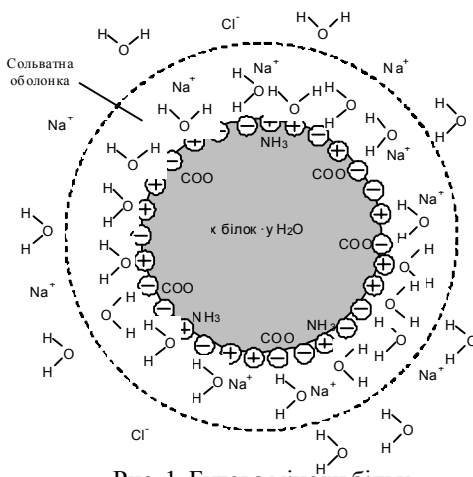


Рис. 1. Будова міцели білку

Живі системи завжди намагаються перетворити нерозчинні ліофобні золі в розчинні ліофільні системи. Багато компонентів живих клітин, наприклад, фосфоліпіди, білки, нуклеїнові кислоти та ін. містять гідрофобні

та гідрофільні групи й намагаються утворювати у водних розчинах структури, у яких гідрофобні ділянки їх молекул ізольовані від водної фази.

Саме міцелярна організація ліпідних молекул складає основу біологічних мембран клітини.

Практична частина

Дослід 1. Приготування розчину альбуміну курячого яйця.

Білок курячого яйця обережно відокремити від жовтка, сильно збовтати у закритій колбі протягом 5 хвилин та розвести дистильованою водою у 10-12 раз. Розчин після збовтування профільтрувати через подвійний шар змоченої водою марлі, вкленої у лійку. У фільтрат переходить яйцевий альбумін, а на фільтрі залишається глобулін яйця. Останній розчинити у невеликій кількості 10%-го розчину NaCl і після фільтрування з'єднати з половиною добутого раніше альбуміну. В результаті маємо два розчини: майже чистого альбуміну (1) і суміші альбуміну з глобуліном (2). Вказати дисперсну фазу та дисперсійне середовище утворених розчинів.

Дослід 2. Приготування розчину альбумінів молока.

До свіжого молока об'ємом 50 мл прилити 50 мл насиченого розчину $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Спостерігати утворення осаду, що містить глобулін та казеїн. Зробити висновок про розчинність компонентів молока в розчині $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Дослід 3. Властивості розчину білка.

У пробірку налити 5 мл дистильованої води й додати 1 краплю білка курячого яйця. Спостерігати утворення розчину білка. Одержаний розчин підігріти. Записати свої спостереження та зробити висновок, про коагуляцію білка.

Дослід 4. Одержання колоїдного розчину крохмалю.

У колбі ретельно перемішати 0,5 г крохмалю з 10 мл дистильованої води, після чого додати ще 90 мл води. Далі при постійному перемішуванні нагріти суміш у водяній бані до повного розчинення. Спостерігати отримання колоїдного розчину крохмалю.

Контрольні запитання і задачі

1. Дати визначення дисперсної системи. Навести приклади.
2. Чим відрізняються колоїдні розчини від істинних?
3. Які властивості золів відносяться до молекулярно-кінетичних?
4. Який розчин називається ліофільним? Ліофобним?
5. Пояснити будову міцели.
6. Що називається коагуляцією білка?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4

ВЛАСТИВОСТІ ВУГЛЕВОДІВ

Мета роботи: ознайомлення з властивостями вуглеводів і проведення якісних реакцій на їх функціональні групи.

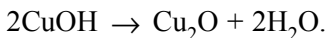
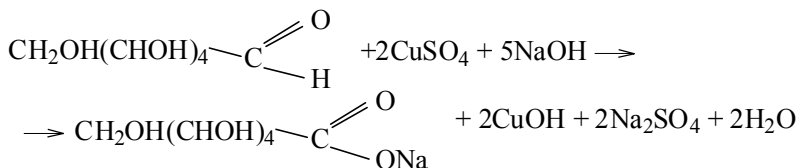
Теоретична частина

Вуглеводи є органічними сполуками, що входять до складу всіх живих організмів. Ці сполуки розподіляють на моносахариди (монози) олігосахариди (в основному дисахариди) та полісахариди.

До моносахаридів ($C_nH_{2n}O_n$, $n = 3 \dots 9$) належать прості кристалічні вуглеводи, які не підлягають гідролізу. Завдяки наявності вільної кетонної або альдегідної функціональної групи моносахариди здатні окиснюватися до відповідних кислот, одночасно відновлюючи солі металів. Ця властивість моносахаридів використовується для низки якісних реакцій.

Отже розчини гексоз, наприклад глюкози, в лужному середовищі відновлюють при нагріванні купрум (II) оксид до купрум (I) оксиду, а солі окиснюються до альдонових кислот.

Спочатку утворюється осад $Cu(OH)_2$, який при перемішуванні або струшуванні розчиняється і розчин набуває блакитного кольору. При нагріванні до кипіння утворюється жовтий осад $CuOH$ або червоний осад Cu_2O . Цю реакцію для глюкози у загальному вигляді можна представити таким чином:



Реакція отримала назву – реакція Троммера.

Дисахариди ($C_{12}H_{22}O_{11}$) є вуглеводи, молекули яких складаються з двох залишків моносахаридів однакової або різної природи, з'єднаних між собою глікозидним зв'язком. Найбільш поширені у природі сахароза (буряковий або тростинний цукор); мальтоза (солодовий цукор); лактоза (молочний цукор).

Якісною реакцією на сахарозу є її взаємодія в лужному середовищі з кобальт (II) нітратом, при цьому утворюється комплексна сполука фіолетового кольору.

До полісахаридів (загальна формула $(C_6H_{10}O_5)_n$) належать високомолекулярні вуглеводи, які підлягають гідролізу при нагріванні в присутності кислот або специфічних ферментів, внаслідок чого кожна молекула полісахариду розпадається на велику кількість молекул моносахаридів (глюкози), які можна виявити характерними реакціями на моносахариди (реакцією Троммера).

Полісахариди (крохмаль, глікоген) відрізняються хімічною природою моносахаридних одиниць, які повторюються, ступенем розгалуження та довжиною ланцюга.

Під час взаємодії крохмалю та глікогену з йодом утворюються комплексні адсорбційні сполуки, що набувають у реакції з крохмалем синього, а з глікогеном – червоно-бурого кольору. Ця реакція є якісною на крохмаль і глікоген. Відмінність у кольорі комплексів обумовлена хімічною структурою крохмалю та глікогену. Під час нагрівання забарвлення зникає, але з'являється знову при охолодженні, що свідчить про утворення нестійких комплексів крохмалю і глікогену з йодом. Знебарвлення відбувається також під час додавання NaOH або KOH. Зникнення забарвлення при нагріванні і додаванні лугу зумовлено тим, що в утворенні комплексів бере участь молекулярний йод I_2 , а не йодид-іони.

Практична частина

Дослід 1. Виконання якісної реакції на глюкозу (реакція Троммера).

У пробірку налити 3 мл 5%-ого розчину глюкози, 1 мл 5%-ого розчину NaOH та 5 крапель 5%-ого розчину $CuSO_4$. Спостерігати утворення осаду $Cu(OH)_2$. Розчин перемішати, обережно нагріти в пробірці у полум'ї спиртового пальника до кипіння та утворення жовтого осаду $CuOH$ або червоного осаду Cu_2O . Записати свої спостереження.

Дослід 2. Виконання якісної реакції на сахарозу.

У пробірку налити 2 мл 3%-ого розчину сахарози, додати 1 мл 5%-ого розчину NaOH та 5 крапель 2%-ого розчину кобальт (II) нітрату $(Co(NO_3)_2)$. Записати свої спостереження.

Дослід 3. Виконання якісної реакції крохмалю і глікогену з йодом.

В одну пробірку вмістити 2 мл 0,1%-ого розчину крохмалю, в другу – 2 мл 0,1%-ого розчину глікогену.

В обидві пробірки внести по 1–2 краплі розчину Люголя (розчином йоду в йодиді калію). Розчини у пробірках перемішати і спостерігати утворення синього забарвлення у пробірці з крохмалем і червоно-бурого – з глікогеном.

З кожної пробірки взяти по 1 мл рідин і перенести у нові дві пробірки, куди додати по 1 мл 10%-го розчину NaOH. Спостерігати знебарвлення у кожній пробірці.

Розчини, що залишились в перших двох пробірках, в яких спочатку виникло забарвлення, нагріти на водяній бані. Спостерігати зникнення забарвлення, яке знову з'являється під час охолодження. Зробити висновок в цьому досліді.

Дослід 4. Виконання реакції гідролізу крохмалю.

У дві пробірки вмістити по 5 мл 1%-ого розчину крохмалю. В першу пробірку внести 2-3 краплі HCl (концентрованої) та кип'ятити її на водяній бані 15 хв. Друга пробірка – контрольна.

Далі в обидві пробірки прилити по 2 мл 15%-ого розчину NaOH, та по 5 крапель 1%-ого розчину CuSO_4 і нагріти (здійснити реакцію Троммера).

У пробірці, де здійснювався гідроліз крохмалю під дією HCl при нагріванні, спостерігати утворення червоного осаду Cu_2O (реакція Троммера позитивна), а у контрольній пробірці такий осад не утворюється (реакція Троммера негативна). Зробити висновок.

Контрольні запитання та задачі

1. Дати визначення поняття "вуглеводи".
2. Навести класифікацію вуглеводів.
3. Біологічне значення вуглеводів.
4. Охарактеризувати основні фізичні властивості моносахаридів.
5. Які з вуглеводів підлягають гідролізу? Навести схему процесу.
6. Який вуглевод відкладається в печінці при надмірній кількості глюкози в організмі?
7. За допомогою якого реактиву можна довести експериментально наявність у молекулі глюкози альдегідної і спиртових груп?
8. Який об'єм карбону (IV) оксиду і яка маса етанолу утвориться внаслідок спиртового бродіння глюкози кількістю речовини 7 моль?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5

ВЛАСТИВОСТІ ЛІПІДІВ

Мета роботи: ознайомлення з властивостями ліпідів та вивчення їх складу.

Теоретичні відомості

Ліпіди – це численна група природних органічних сполук, які містяться у клітинах живих організмів. Вони нерозчинні у воді, але розчинні у неполярних розчинниках (вуглеводнях, етерах, хлороформі та ін.). До ліпідів відносяться жири та жироподібні речовини рослинного та тваринного походження. Ліпіди поділяють на омилювані (прості – жири, віск; складні – фосфоліпіди, гліколіпіди) та неомилювані (ізопреноїди, простагландини) по відношенню до дії гідролізуючих реагентів. Омилювані ліпіди поділяють на прості ліпіди, гідроліз яких призводить до суміші спиртів та кислот, а також складні ліпіди, гідроліз яких призводить до утворення крім спиртів і карбонових кислот, також фосфатної кислоти, моно- або олігосахаридів.

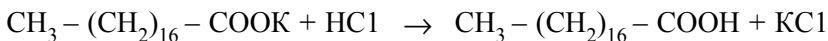
Найбільш поширеними з усіх ліпідів і кількісно превалюючими в тваринних організмах є жири. Жири – це суміш гліцеридів з різною структурою, але з загальними властивостями (нерозчинність у воді, екстракція органічними розчинниками) та біологічними функціями.

Жири, або тригліцериди – це естери трьохатомного спирту гліцерину ($\text{CH}_2\text{OH}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$) і різних вищих жирних кислот (ВЖК). Частіше за все до складу жирів входять насичені кислоти – пальмітинова ($\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{COOH}$) та стеаринова ($\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{COOH}$), а із ненасичених – олеїнова ($\text{C}_{17}\text{H}_{33}\text{COOH}$), лінолева ($\text{C}_{17}\text{H}_{31}\text{COOH}$) та ліноленова ($\text{C}_{17}\text{H}_{29}\text{COOH}$).

Жири, багаті залишками ненасичених кислот, як і самі ненасичені кислоти, можуть приєднувати галогени, водень (гідрогенізуватися) та кисень (утворювати оксикислоти). Жири рослинного походження містять більшу кількість залишків ненасичених жирних кислот, ніж жири тваринного походження. Різний ступінь ненасиченості ліпідів може бути виявлений на прикладі насичення бромом вершкового масла або соняшникової олії.

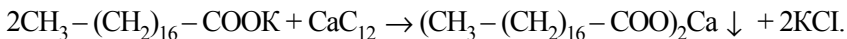
При лужному гідролізі жирів – омиленні, утворюються мила. Для одержання твердого мила виділену суміш ВЖК нейтралізують содою (NaHCO_3), а при нейтралізації K_2CO_3 утворюється рідке мило.

При додаванні до мила концентрованої хлоридної кислоти утворюються вільні жирні кислоти:



Жирні кислоти, що утворюються, нерозчинні у воді й накопичуються у верхній частині вмісту посуду.

При додаванні до розчину калієвого мила солей кальцію утворюються нерозчинні солі жирних кислот (кальцієві мила):



Практична частина

Дослід 1. Виявлення ненасиченості ліпідів.

В одну пробірку внести 1 мл розчину соняшникової олії у хлороформі, в другу – 1 мл вершкового масла у хлороформі. Потім в кожну пробірку додати по краплям бромну воду до припинення знебарвлення. Зафіксувати кількість бромної води, яку додано в кожну з пробірок. Зробити висновок.

Дослід 2. Утворення вільних жирних кислот.

У пробірку внести 2 мл розчину калієвого мила, потім додати 0,5 мл $\text{HCl}_{\text{конц}}$. Зробити висновок та записати свої спостереження.

Дослід 3. Утворення нерозчинних кальцієвих мил.

У пробірку внести 2 мл розчину калієвого мила та додати 1 мл CaCl_2 . Зробити висновок та записати свої спостереження.

Контрольні запитання та задачі

1. Що таке ліпіди, жири, ліпоїди?
2. Які форми жиру розрізняють в організмі?
3. Вказати на відмінності в структурі та властивості насичених і ненасичених кислот. Наведіть приклади.
4. Дати визначення фосфоліпідів.
5. Написати загальну формулу нейтрального жиру.
6. Яка класифікація ліпідів?
7. Чим відрізняються рослинні жири від тваринних?
8. Який енергетичний баланс окиснення ліпідів?
9. Розрахувати масу натрію гідроксиду, яку необхідно взяти при гідролізі тристеарину, щоб одержати стеарат натрію масою 15,3 г.
10. Обчислити масу жиру, витраченого на добування 23 гліцерину, якщо вважати, що жир чистий тристеарин і при гідролізі розкладається лише на 75 %.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6

ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ

Мета роботи: ознайомлення з методами якісного визначення та процесами осадження білків.

Теоретичні відомості

Білки – це високомолекулярні нітрогеновмісні органічні сполуки, які складаються з залишків амінокислот, що зв'язані між собою пептидними зв'язками. Зміна числа амінокислотних залишків та послідовності їх розташування в молекулі білка забезпечує можливість утворення великої кількості білків, які розрізняються своїми фізико-хімічними властивостями, будовою та функціями.

Білки (поліпептиди), а також амінокислоти, які здатні утворювати не менш двох пептидних зв'язків ($-\text{CO}-\text{NH}-$), в лужному середовищі при наявності купрум (II) сульфату, утворюють комплекси з атомами міді, які набувають фіолетового кольору (біуретова реакція). Цю реакцію використовують для їх якісного визначення.

Завдяки карбоксильним (кислотним) та аміно- (основним) групам молекула білка має амфотерні властивості. При певній реакції середовища кислотні та лужні радикали білкових молекул нейтралізуються, молекула стає нейтральною. Ця величина рН реакції є ізоелектричною точкою білка. Завдяки великим розмірам молекул білки утворюють в воді колоїдні розчини, стійкість яких залежить від наявності в молекулі білка гідратних оболонок та певного електричного заряду.

При руйнуванні гідратних оболонок білкових молекул (при дії водовіднімаючих речовин: концентрованих розчинів солей лужних металів, ацетону, спирту та ін.) розчинність білків знижується, вони випадають в осад, йде руйнування колоїдної системи.

При нагріванні та дії солей важких металів білки зсідаються, утворюються осад, які неспроможні до зворотного розчинення. В основі такого незворотного явища – денатурації білка, лежить руйнування його вторинної, третинної та четвертинної структури. Для різних білків температура їх коагуляції неоднакова. Деякі білки коагулюють при 50-55 °С, а інші можуть витримувати нетривале кип'ятіння. Механізм температурної коагуляції та денатурації білків, пов'язаний з перебудовою структури макромолекул білка, зокрема колоїдні частинки білка під впливом підви-

щеної температури з гідрофільних стають гідрофобними. Йде глибока та незворотна зміна вторинної та первинної будови молекул білка. Швидкість коагуляції залежить від присутності в розчині іонів солей та іонів водню.

У дуже кислих та лужних розчинах білки не випадають в осад при нагріванні. При додаванні до кислих розчинів білків нейтральних солей можлива коагуляція.

Під впливом іонів солей важких металів (свинцю, міді, срібла, ртуті та ін.) розчини білків незворотно коагулюють в гель. При цьому частинки дисперсної фази за рахунок значних сил міжмолекулярної взаємодії утворюють у дисперсійному середовищі просторові сітки чи каркаси (структури), тобто розчин білку втрачає стійкість. Іони солей важких металів з білками утворюють міцні комплексні сполуки. При осадженні білків солями важких металів потрібні розведені розчини солей та невелика кількість їх в порівнянні до солей нейтральних і лужних металів.

При надлишку плюмбум (II) ацетату $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, купрум (II) сульфату CuSO_4 спостерігається розчинність утвореного ними осаду. Таке явище можна пояснити адсорбцією надлишку іонів металу та перезарядженням білкового комплексу.

Важливою властивістю білків є їх розчинність у воді, водно-сольових розчинах та в водних розчинах полярних розчинників. Більшість органічних розчинників (спирт, ацетон, етер, хлороформ) осаджують білки з нейтральних і слабкокислих розчинів. Дія органічних розчинників полягає у зв'язуванні молекул води й дегідратації частинок білка, а також у зменшенні діелектричної сталої водних розчинів та іонізації білків, внаслідок чого знижується їх стійкість у розчинах. Якщо в розчині білка є солі, то осад утворюється швидше й повніше. Іони солі зв'язуються колоїдними частинками білка й зменшують їх заряд, що ще більше знижує стійкість білка в розчині. Коли осадження проводити на холоді й одержаний осад швидко відокремити від спирту, то білок може бути знову розчинений у воді. При тривалому перебуванні в спирті відбувається денатурація білка.

Практична частина

Дослід 1. Виконання біуретової реакції на пептидні зв'язки:

а) у пробірку внести 3 мл 0,01%-ого водного розчину аспарагіну, 1 мл 10%-ого розчину NaOH та 1-2 краплі 10%-ого розчину CuSO_4 , все

перемішати. Якого кольору набуває вміст пробірки? Зробити висновок та записати свої спостереження;

б) У колбу внести 3 мл 1%-ого розчину яєчного білку, 1 мл 10%-ого розчину NaOH та 1-2 краплі 1%-ого розчину CuSO_4 , все перемішати. Якого кольору набуває вміст пробірки? Зробити висновок та записати свої спостереження.

Дослід 2. Осадження білків кип'ятінням.

У 5 пробірок налити по 2 мл розчину яєчного білка. Нагріти вміст першої пробірки. Спостерігати поступове випадіння білка в осад.

У другу пробірку додати одну краплю 1%-ої ацетатної кислоти та нагріти. Осад білка випадає швидше й повніше, оскільки білок у цьому випадку знаходиться в ізоелектричній точці.

У третю пробірку додати 0,5 мл 10%-ої ацетатної кислоти та нагріти. Осад білка не утворюється навіть при кип'ятінні.

У четверту пробірку додати 0,5 мл 10%-ої ацетатної кислоти та 3-4 краплі насиченого розчину натрій хлориду та нагріти. Утворюється осад білка.

В п'яту пробірку додати 0,5 мл 10%-ого NaOH та нагріти. Осад білка не утворюється навіть при кип'ятінні.

Результати спостережень занести до таблиці 5. Зробити висновки та заповнити таблицю.

Таблиця 5

Нейтральне середовище	Слабко-кисле середовище (1%-ний розчин CH_3COOH)	Кисле середовище (10%-ний розчин CH_3COOH)	Кисле середовище + сіль (10% CH_3COOH + NaCl)	Лужне середовище (10%-ний розчин NaOH)

Дослід 3. Осадження білків іонами важких металів.

У три пробірки налити по 1-2 мл розчину яєчного білка. Додати по краплям у першу – розчин плюмбум (II) ацетату $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, у другу – купрум (II) сульфату CuSO_4 , у третю – аргентум (I) нітрату AgNO_3 . Записати спостереження.

У пробірку з осадами від плюмбум (II) ацетату і купрум (II) сульфату додати надлишок цих солей. Спостерігати при цьому розчинність осадів. Зробити висновок та записати свої спостереження.

Дослід 4. Осадження білків органічними розчинниками.

У пробірку налити 1 мл 1%-ого розчину яєчного білка 1 мл ацетону або спирту. Додати до пробірки декілька крапель NaCl. Записати спостереження та зробити висновок.

Контрольні запитання та задачі

1. Чому амінокислоти мають амфотерні властивості?
2. Що таке пептидний зв'язок?
3. Що розуміють під первинною структурою білка?
4. Які види взаємодій підтримують третинну структуру білкової молекули?
5. Назвати біологічні функції білків.
6. Які основні фізико-хімічні властивості білків?
7. Що таке денатурація білка? Чим вона може бути зумовлена?
8. Які речовини утворюються при гідролізі білків?
9. Білок вміщує 0,8 % цистеїну $\text{HS}-\text{CH}_2-\underset{\substack{| \\ \text{NH}_2}}{\text{CH}}-\text{COOH}$.

Розрахувати мінімальну молекулярну масу цього білка.

10. Гемоглобін вміщує 0,34 % феруму. Розрахувати мінімальну молекулярну масу гемоглобіну.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 7

ЯКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНІВ ТА ВЛАСТИВОСТІ ГОРМОНІВ

Мета роботи: одержати уявлення про визначення складу вітамінів та природи гормонів на прикладі інсуліну.

Теоретичні відомості

Вітаміни – це група низькомолекулярних органічних речовин, які потрібні для нормальної фізіологічної дії живого організму. Вони входять до складу простетичних груп багатьох ферментів і виконують каталітичні функції, справляючи великий вплив на зріст, розвиток, продуктивність та здоров'я людини.

Більшість вітамінів в організмі не синтезується або утворюється в таких кількостях, які не забезпечують потреби організму.

Якщо в їжі вітамінів немає, виникають глибокі порушення в процесах обміну речовин, що веде до захворювань, які називаються авітамінозами, якщо вітамінів не вистачає у раціоні – гіповітамінозами. Вони можуть привести до загибелі організму.

По фізико-хімічним властивостям вітаміни розподіляють на дві групи: вітаміни, які розчиняються в жирах (жиророзчинні) – А, D, E, K, F та вітаміни, які розчинюються у воді (водорозчинні) – B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₁₂, H, PP, C, P.

Відповідно специфічної будові вітамінів існують реакції їх якісного визначення.

Вітамін А (ретинол) є ненасиченим циклічним одноатомним спиртом, який легко окиснюється з утворенням альдегіду. Його емпірична формула – C₂₀H₃₀O. В молекулі ретинолу присутні подвійні зв'язки >C=C<, які визначають його окисно-відновні та інші властивості.

При взаємодії розчину риб'ячого жиру в хлороформі, що містить вітамін А, з концентрованою сульфатною кислотою розвивається червоно-буре забарвлення суміші. Ймовірно, що в основі цієї реакції лежить здатність сульфатної кислоти руйнувати гідратну оболонку, внаслідок чого з кількох молекул вітаміну утворюється комплекс, який має характерне забарвлення.

Вітамін B₁ (тіамін) є гетероциклічною сполукою, яка містить аміногрупу NH₂⁻, сульфур >S та гідроксидну групу OH⁻.

Розчин тіаміну при додаванні до нього діазореактива та розчину лугу набуває оранжевого або червоного кольору, що пов'язано з утворенням складної сполуки тіаміну з діазобензолсульфокислотою.

Вітамін С є ненасиченою гексозою. При дії ферментів він легко окиснюється, віддає атом Гідрогену та перетворюється на дегідроаскорбінову кислоту. Цей процес запобігає руйнуванню аскорбінової кислоти та виведенню її з організму. Вітамін С також бере участь в окисно-відновних реакціях тканинного дихання.

Аскорбінова кислота є активним відновником. Так, при взаємодії з калій гексоціанофератом (III) ($K_3[Fe(CN)_6]$, цю сполуку іноді називають червоною кров'яною сіллю) утворюється калій гексоціаноферат (II) (жовта кров'яна сіль, $K_4[Fe(CN)_6]$), який з іонами Fe (II) дає комплексну сіль $Fe_2[Fe(CN)_6]_3$ синього кольору.

Так само як і вітаміни, гормони також регулюють метаболізм в організмі людини через ферменти. До гормонів білкової природи належить інсулін. Гормон інсулін – це білок, що складається з 53 амінокислот, які розташовані у двох поліпептидних ланцюгах. Він синтезується в підшлунковій залозі, але дія його короткочасна, після чого інсулін швидко руйнується під впливом ферменту печінки – інсулінази. Гормон впливає на обмін вуглеводів, що проявляється зниженням рівня глюкози в крові (гіпоглікемічний ефект). Інсулін полегшує перехід глюкози з крові до клітин, покращує проникність клітинних мембран та активує подальший розпад глюкози. Він також затримує діяльність ферментів, що розщеплюють глікоген у печінці та стимулює процеси синтезу глікогену, жирів та білків й покращує забезпечення клітин енергією. Оскільки інсулін має білкову природу, він дає ряд реакцій, що є специфічними для білків.

Практична частина

Дослід 1. Якісна реакції на вітамін А (ретинол).

В пробірку налити 1 мл розчину риб'ячого жиру та 1-2 мл концентрованої сульфатної кислоти (H_2SO_4). При належності вітаміну А з'являється синій колір, який змінюється на фіолетовий, а потім на червоно-бурий. Записати результати спостережень.

Дослід 2. Якісна реакція на вітамін В₁ (тіамін).

У пробірку налити 1 мл 1%-ого розчину сульфанілової кислоти та 1 мл 5%-го розчину натрій нітрату. Утворюється діазореактив. До нього в пробірку внести 0,5 мл 5%-ого розчину тіаміну та по стінці пробірки обережно прилити 1 мл 10%-ого розчину Na_2CO_3 . На межі двох рідин

з'являється кільце оранжевого або червоного кольору. Записати результати спостережень та висновок про присутність вітаміну B_1 .

Дослід 3. Якісна реакція на вітамін С (аскорбінову кислоту).

У першу пробірку налити 2 мл розчину вітаміну С (сік капусти, яблука та ін.), у другу – дистильовану воду. В обидві пробірки додати декілька крапель 4,5%-ого розчину червоної кров'яної солі ($K_3[Fe(CN)_6]$) і по декілька крапель 1%-ого розчину ферум (II) хлориду ($FeCl_2$). В присутності вітаміну С поступово з'являється темно-синій осад. У другій пробірці забарвлення буде цегляне. Зробити висновок про властивості вітаміну С як антиоксиданту.

Дослід 4. Вивчення реакцій, які підтверджують білкову природу гормону інсуліну:

а) реакція з розведеним розчином $NaOH$.

У пробірку внести 1–2 мл розчину інсуліну, потім додати по краплям 0,1%-ий розчин $NaOH$. Випадає осад у вигляді пластівців, який розчиняється при додаванні декількох крапель розчину CH_3COOH ;

б) осадження інсуліну сульфосаліциловою кислотою.

У пробірку внести 1 мл розчину інсуліну, потім додати 3–5 крапель розчину сульфосаліцилової кислоти. Випадає осад. Записати свої спостереження та зробити висновок про білкову природу інсуліну.

Контрольні запитання та задачі

1. Що таке вітаміни? Чому вітаміни є невід'ємною частиною харчового раціону людини?

2. Яка потреба організму в вітамінах? Від чого вона залежить?

3. За якою ознакою класифікують вітаміни? Перелічити основні вітаміни.

4. Які стани організму спостерігаються в залежності від забезпечення вітамінами?

5. Навести приклади жиророзчинних вітамінів та пояснити їх значення в регуляції обміну речовин.

6. Навести приклади водорозчинних вітамінів та пояснити їх значення в регуляції обміну речовин.

7. Вказати біологічне значення вітамінів А, D, Е, С та групи В для організму.

8. Перелічити та пояснити харчові джерела вітамінів.

9. Чому спортсменам при виконанні фізичних навантажень потрібно збільшувати норму вживання вітамінів?

10. У чому подібні та чим розрізняються гормони та вітаміни?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 8

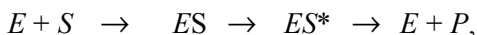
ЗАГАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ

Мета роботи: вивчення основних властивостей ферментів як біологічних каталізаторів та факторів, які впливають на активність ферментів (вплив температури та рН середовища).

Теоретичні відомості

Ферменти, або ензими – це білкові каталізатори, що прискорюють хімічні реакції в клітині. Для кожного ферменту характерна особлива ділянка, яка безпосередньо взаємодіє з субстратом і називається активним центром ферменту. Крім активного центра, деякі ферменти (в основному регуляторні) мають ще алостеричний центр, який зв'язується з регуляторними ефекторами і, впливаючи на конформацію активного центра, змінює його активність.

Ферментативна активність залежить від ряду факторів: концентрації ферменту й субстрату (швидкість ферментативної реакції збільшується зі збільшенням кількості ферменту при високій концентрації субстрату), температури, рН середовища та присутності інгібіторів та активаторів (для ферментів характерна регуляція специфічними низькомолекулярними речовинами та іонами металів). Механізм дії ферментів полягає в утворенні фермент-субстратного комплексу, який проходить наступні стадії:



де E – фермент, S – субстрат, ES – фермент-субстратний комплекс, ES^* – активований фермент-субстратний комплекс, P – продукти реакції.

З підвищенням температури на кожні 10 °C швидкість ферментативної реакції зростає у два рази. Кожний фермент має свій температурний оптимум, при якому його активність максимальна. Для більшості ферментів оптимальна температура наближається до температури тіла 37 – 40°C.

Концентрація водневих іонів діє на активний центр ферментів, на ступінь його іонізації, а також на ступінь іонізації субстрату та фермент-субстратного комплексу. Це впливає на структуру, стан ферменту та швидкість реакції. Для кожного ферменту існує оптимальне значення рН. Незначні відхилення рН від оптимального значення сповільнюють або гальмують дію ферменту. Наприклад, оптимальне значення рН для дії ферменту амілази дорівнює 6,8.

Практична частина

Дослід 1. Вплив температури на активність ферментів.

Швидкість розщеплення крохмалю під дією амілази залежить від температури і визначається за інтенсивністю забарвлення розчину крохмалю або продуктів його перетворення з йодом. При 100 °С фермент інактивується і гідроліз не відбувається, при цьому розчин набуває синього кольору.

В чотири пробірки прилити по 5 мл 1%-го розчину крохмалю. Першу пробірку помістити на водяну баню (при $t = 100\text{ }^{\circ}\text{C}$), другу – в термостат з температурою 40 °С, третю залишити при кімнатній температурі, четверту поставити на лід.

Через 10–15 хв в усі пробірки додати по 1 мл розчину слини, перемішати скляною паличкою та залишити за тих самих умов.

Гідроліз крохмалю контролювати реакцією з йодом (розчин йоду в калій йодиді). Залежно від ступеня гідролізу, на який впливає температура, розчин йоду набуває різного забарвлення. При 38–40 °С розчин йоду набуває жовтого забарвлення, а при кімнатній температурі та при 0 °С – червоного й фіолетово-червоного.

За зміною забарвлення розчину крохмалю з йодом зробити висновки про ступінь гідролізу в кожній з пробірок, та заповнити таблицю 6.

Таблиця 6

№ проб	Температура, °С	Забарвлення розчину	Висновок
1	100 °С		
2	40 °С		
3	25 °С		
4	0 °С		

Дослід 2. Вивчення впливу рН на активність ферменту.

Метод ґрунтується на здатності крохмалю під час взаємодії з йодом давати синє забарвлення. Продукт розщеплення крохмалю – мальтоза – з йодом забарвлення не дає і її можна виявити за допомогою проби Троммера.

Прополоскати рот 5 мл дистильованої води й виплюнути цю воду.

Ополоснути рот дистильованою водою об'ємом 10 мл протягом 1 хв, потім цю воду зібрати в пробірку. Довести об'єм зібраного розчину слинної амілази до 20 мл дистильованою водою.

У три пробірки відповідно помістити по 2 мл розчинів 0,01 М НСІ, 0,01 М NaOH та Н₂О.

У кожену пробірку додати по 5 мл розчину крохмалю та 1 мл розведеної слини і помістити їх на водяну баню з температурою 37 °С на 10 хвилин.

Після інкубації вміст кожної пробірки поділити порівну. До перших фракцій додати по 3-5 крапель розчину йоду в калію йодиді і спостерігати за зміною забарвлення. З фракціями, що залишилися, провести пробу Троммера.

Результати спостережень занести до табл. 7.

Таблиця 7

Середовище	рН середовища	Забарвлення розчину	Висновок
1 мл 0,01 м НСІ			
1 мл Н ₂ О			
1 мл 0,01 м NaOH			

Контрольні запитання та задачі

1. Пояснити роль ферментів у процесі життєдіяльності.
2. Перелічити фактори, від яких залежить швидкість ферментативної реакції.
3. Пояснити особливості дії ферментів як біологічних каталізаторів.
4. Пояснити механізм дії ферментів.
5. На чому заснована класифікація ферментів? Навести приклади ферментів із різних класів.
6. Перелічити та пояснити активатори та інгібітори ферментативних процесів.
7. Як називаються ферменти, що каталізують внутрішньомолекулярний переніс груп?
8. Як називається частина молекул ферменту, яка відповідає за приєднання речовини та за здійснення ферментативного каталізу?
9. Розрахувати молекулярну масу сукцинатдегідрогенази, до складу якої входять 8 атомів феруму, якщо їх масова частка складає 0,56 %.

Зміст

ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ	3
Правила безпеки під час виконання роботи	3
Правила безпеки в аварійних ситуаціях	3
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 1	
ТЕХНІКА ЛАБОРАТОРНИХ РОБІТ. ВЛАСТИВОСТІ ОРГАНІЧ- НИХ РЕЧОВИН	5
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №2	
ВЛАСТИВОСТІ РОЗЧИНІВ. БУФЕРНІ РОЗЧИНИ	11
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 3	
ДИСПЕРСНІ СИСТЕМИ. ВЛАСТИВОСТІ КОЛОЇДНИХ ТА ВИСО- КОМОЛЕКУЛЯРНИХ РОЗЧИНІВ	16
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 4	
ВЛАСТИВОСТІ ВУГЛЕВОДІВ.....	19
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 5	
ВЛАСТИВОСТІ ЛІПІДІВ	22
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 6	
ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ	24
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №7	
ЯКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВІТАМІНІВ ТА ВЛАСТИВОСТІ ГОР- МОНІВ	28
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА № 8	
ЗАГАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ	31