Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Локтионова Оксана Геннадьевна
Должность: проректор по учебной работе
Дата подписания: 08.09.2026 07:46:05
Уникальный программный ключ:
0b817ca911e6668abb13a5d426d39e5f1c11eabbf73e943df4a4851fda56d089

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Юго-Западный государственный университет»
(ЮЗГУ)

Кафедра технологии материалов и транспорта

УТВЕРЖДАЮ
Проректор по учебной работе
_____ О.Г. Локтионова
«__» _____ 2022 г.

МЕДИЦИНСКАЯ БИОХИМИЯ

Методические указания к выполнению лабораторных и самостоятельных работ для студентов специальности 30.05.03 «Медицинская кибернетика»

Курск 2022

УДК 577.1

Составители: И.В. Савенкова, Н.М. Хорьякова

Рецензент кандидат химических наук, доцент кафедры
«Фундаментальной химии и химической технологии»
ФГБОУ ВО «Юго-Западный государственный университет»
О.В. Бурыкина

МЕДИЦИНСКАЯ БИОХИМИЯ: методические указания к выполнению лабораторных и самостоятельных работ для студентов специальности 30.05.03 «Медицинская кибернетика» / Юго-Зап. гос. ун-т; сост.: И.В. Савенкова, Н.М. Хорьякова. Курск, 2022, 100 с.

Настоящие методические указания содержат необходимый материал для лабораторных и самостоятельных работ по дисциплине «Медицинская биохимия». Предназначен для студентов очной и заочной форм обучения специальности 30.05.03 «Медицинская кибернетика». На лабораторных занятиях студенты овладевают современными методами экспериментальных исследований, закрепляют теоретические знания, полученные на лекциях, анализируют результаты. В каждой лабораторной работе излагаются принцип метода, ход эксперимента, советы по оформлению результатов.

Текст печатается в авторской редакции

Подписано в печать. Формат 60x84 1/16.
Усл. печ. л. 3,72. Уч.-изд. л. 3,37. Тираж 100 экз. Заказ. Бесплатно.
Юго-Западный государственный университет.
305040, г. Курск, ул. 50 лет Октября, 94

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 5
ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЛАБОРАТОРИИ 6
Лабораторная работа № 1. **КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА АМИНОКИСЛОТЫ И БЕЛКИ** 7
Вопросы для самостоятельной работы 16
Лабораторная работа № 2. **РЕАКЦИИ ОСАЖДЕНИЯ** 18
Вопросы для самостоятельной работы 21
Лабораторная работа № 3. **ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ** 23
Вопросы для самостоятельной работы 28
Лабораторная работа № 4. **КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ВИТАМИНОВ** 31
Вопросы для самостоятельной работы 44
Лабораторная работа № 5. **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С (АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ)** 45
Вопросы для самостоятельной работы 51
Лабораторная работа № 6. **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА Р (РУТИНА)** 52
Вопросы для самостоятельной работы 56
Лабораторная работа № 7. **ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ МОНОСАХАРИДОВ** 58
Вопросы для самостоятельной работы 62
Лабораторная работа № 8. **ДИСАХАРИДЫ И ПОЛИСАХАРИДЫ** 65
Вопросы для самостоятельной работы 66
Лабораторная работа № 9. **СВОЙСТВА ЖИРОВ. МЫЛА И СИНТЕТИЧЕСКИЕ МОЮЩИЕ СРЕДСТВА** 67
Вопросы для самостоятельной работы 71
Лабораторная работа № 10. **КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ГОРМОНЫ** 72

Вопросы для самостоятельной работы 76
Лабораторная работа № 11. **ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ** 78
Вопросы для самостоятельной работы 82
Лабораторная работа № 12. **БИОГЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ (s- и p-элементы)** 83
Вопросы для самостоятельной работы 87
Лабораторная работа 13. **БИОГЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ (d - элементы)** 88
Вопросы для самостоятельной работы 91
Лабораторная работа 14. **КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИХ И ТОКСИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ** 94
Вопросы для самостоятельной работы 99
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ 100

ВВЕДЕНИЕ

Медицинская биохимия − это прикладное направление науки биохимии, которое изучает взаимосвязь обменных процессов в организме и различных заболеваний.

Методические рекомендации «Медицинская биохимия» включают 14 лабораторных работ. Представлены описания лабораторных работ по типовой схеме, а также иллюстративный материал, таблицы, контрольные вопросы для самопроверки, библиографический список.

Цель методических рекомендаций − ознакомление студентов с основными методами биохимического анализа, а также закрепление навыков работы с лабораторным оборудованием.

ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЛАБОРАТОРИИ

1. Работу в лаборатории необходимо выполнять в халатах.
2. При работе с химическими веществами нельзя пробовать их на вкус.
3. При приготовлении растворов кислот надо наливать кислоту в воду, а не наоборот.
4. Все опыты с концентрированными кислотами, щелочами, газообразными веществами, органическими растворителями следует производить в вытяжном шкафу.
5. При попадании на кожу кислоты с высокой концентрацией ее необходимо смыть водой и после этого обработать слабым раствором гидрокарбоната натрия.
6. При попадании на кожу щелочи с высокой концентрацией ее нужно смыть водой, а затем слабым раствором уксусной кислоты.
7. При сильных ожогах кожу необходимо смочить крепким раствором перманганата калия.
8. Пробирки с жидкостью при нагревании надо держать наклонно в сторону от себя и от соседа.
9. Нельзя набирать реактивы в пипетку ртом, следует пользоваться грушей.
10. Концентрированные кислоты и другие вредные и ядовитые вещества нужно выливать в специально отведенную для этого емкость.
11. Запрещается работать с огнеопасными веществами в одиночку и оставлять без присмотра включенные электроприборы.
12. Запрещается нагревать воду и растворы в закрытых сосудах.

Лабораторная работа № 1

КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА АМИНОКИСЛОТЫ И БЕЛКИ

Для идентификации и количественного определения белков и отдельных аминокислот используют цветные реакции, когда происходит взаимодействие специфических реактивов с функциональными группами радикалов аминокислот, входящих в состав белка или пептида.

Существуют два типа цветных реакций:

- универсальные: биуретовая (на все белки) и нингидриновая (на все аминокислоты и белки);

- специфические: только на определенные аминокислоты как в молекуле белка, так и в растворах отдельных аминокислот, например реакция Фоля (на аминокислоты, содержащие слабосвязанную серу), реакция Миллона (на тирозин), реакция Сакагучи (на аргинин) и др.

1. Приготовление растворов белка для проведения качественных реакций

Неразбавленный белок куриного яйца. Отделяют белок трех куриных яиц от желтков. Считая, что масса белка в одном яйце в среднем равна 33 г, получают около 100 мл неразбавленного раствора белков куриного яйца. Этот раствор содержит 88 % воды, 1 % углеводов и 0,5 % минеральных веществ; остальное приходится на белок. Таким образом, полученный неразбавленный белок куриного яйца представляет собой примерно 10 %-ный раствор белка.

Разбавленный раствор яичного альбумина. Белок одного куриного яйца после отделения от желтка хорошо взбивают и затем смешивают в колбе при встряхивании с десятикратным объемом дистиллированной воды. Раствор фильтруют через двойной слой смоченной водой марли, помещенной в воронку. Отфильтровывают раствор яичного альбумина; в осадке (на марле) остается яичный глобулин. Учитывая, что концентрация альбумина в белке куриного яйца составляет около 6 %, полученный разбавленный раствор яичного альбумина является примерно 0,5%-ным.

Белки мяса. Помещают в стакан 40-50 г пропущенного через мясорубку мяса (постного), добавляют 80-100 мл 10%-ного раствора хлорида натрия и оставляют смесь стоять 15-20 мин при частом помешивании. Отфильтровывают через бумажный складчатый фильтр или через двойной слой марли окрашенную в красный цвет жидкость. В растворе содержится главным образом мышечный альбумин и глобулин.

Белки молока. К 50 мл свежего молока добавляют равный объем насыщенного раствора сульфата аммония. При этом выпадают в осадок глобулины и казеин. Отфильтровывают через складчатый бумажный фильтр раствор альбуминов.

Растительный альбумин. 25 г пшеничной муки смешивают со 100 мл дистиллированной воды и затем встряхивают в течение 10 мин. Взвесь муки центрифугируют и надосадочную жидкость фильтруют через складчатый фильтр. Отфильтрованный прозрачный раствор содержит преимущественно альбумин пшеничных зерен.

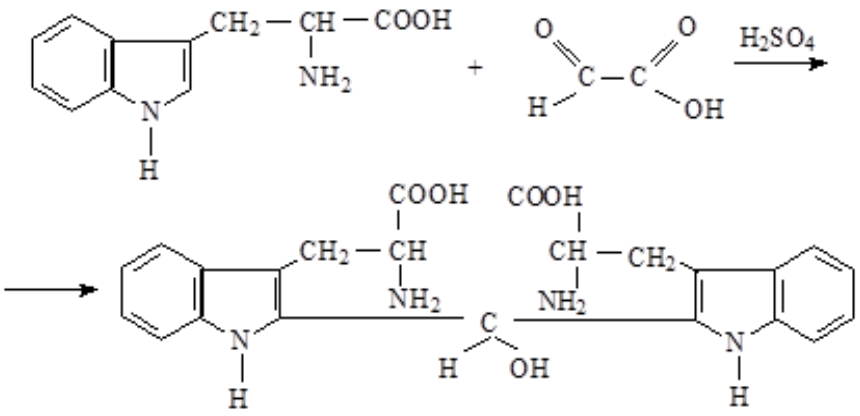
Желатин 1 % раствор. Для получения 100 г раствора 1г пищевого желатина помещают в стаканчик, заливают четырехкратным количеством воды комнатной температуры и оставляют на 30-60мин для набухания. К набухшему желатину добавляют остальное количество воды и нагревают на водяной бане при температуре 40-60^{0}С до растворения. Теплый раствор процеживают через марлю в другую склянку.

2. Качественные реакции на аминокислоты

Опыт 1. Реакция Адамкевича

При добавлении к раствору белка незначительных количеств глиоксиловой кислоты в присутствии крепкой серной кислоты получается красно-фиолетовое окрашивание. Эта реакция связана с присутствием в молекуле белка аминокислоты триптофана и основана на способности триптофана в кислой среде вступать в реакцию с альдегидами, образуя при этом окрашенные продукты конденсации.

Триптофан в этой реакции конденсируется с формальдегидом, выделяющимся из глиоксиловой кислоты под действием концентрированной серной кислоты.



Продукт конденсации триптофана с глиоксиловой кислотой (красно-фиолетовый цвет).

Ход работы. В пронумерованные пробирки наливают по 5 капель приготовленных растворов.

В каждую пробирку добавляют по 5 капель концентрированной уксусной кислоты. Раствор сначала слегка нагревают, затем охлаждают и по стенке пробирки, сильно наклонив её, чтобы жидкости не смешивались (подслаивание), приливают 10 капель концентрированной серной кислоты. При стоянии на границе двух слоев жидкости наблюдается красно-фиолетовое окрашивание в виде кольца. Появление окраски можно ускорить, поместив пробирку в кипящую водяную баню.

Опыт 2. Реакция Шульце-Распайл.

Фруктоза в присутствии концентрированной H_2SO_4 теряет три молекулы воды и превращается в оксиметилфурфурол, который образует с триптофаном окрашенные продукты конденсации. Реакцию можно проводить как с фруктозой, так и с сахарозой, при гид-

ролитическом расщеплении которой образуются равные количества фруктозы и глюкозы.

Ход работы. К 1–2 мл раствора белка добавляют 6 капель раствора сахарозы (или фруктозы); и по стенкам пробирки осторожно наслаивают 1 мл концентрированной H_2SO_4. На границе раздела жидкостей появляется кольцо темно-красного цвета.

Опыт 3. Реакция Вуазене

Реакция Вуазене протекает только с теми белками, которые содержат в своем составе триптофан (например, в молоке, белке яйца, мясе, цельных зернах). Химизм ее аналогичен химизму реакции Адамкевича; и в том, и в другом случае в конденсацию с триптофаном вступает формальдегид.

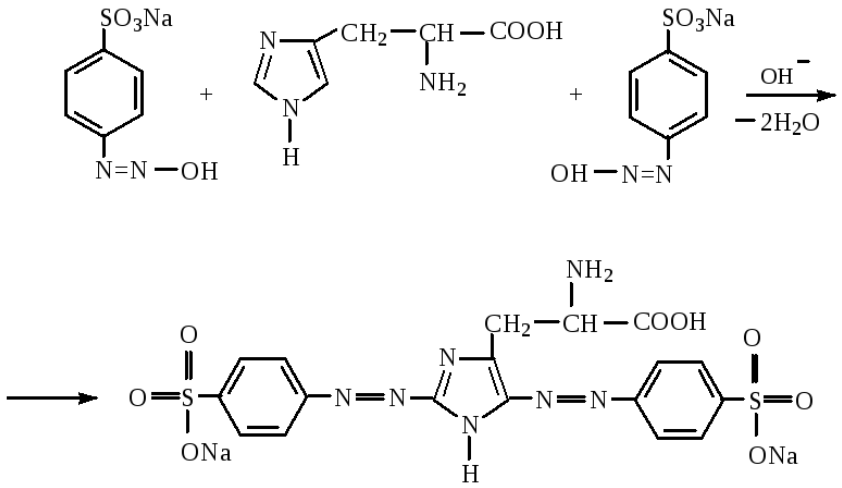
Ход работы. К 2 мл разбавленного раствора белка в пробирке добавляют одну каплю 2,5 %-ного раствора формальдегида. Смешивают и прибавляют 6 мл чистой концентрированной соляной кислоты (плотность не менее 1,175), после чего снова перемешивают. Через 10 мин прибавляют при взбалтывании 10 капель 0,5 %-ного раствора нитрита натрия. Развивается интенсивное сине-фиолетовое окрашивание.

Опыт проводится с каждым приготовленным раствором белка.

Опыт 4. Реакция Паули на гистидин и тирозин

Раствор белка, содержащий в своем составе аминокислоты тирозин и гистидин, при обработке диазореактивом в щелочной среде образует окрашенное в оранжевый цвет соединение.

Реакция обусловлена тем, что названные выше аминокислоты имеют подвижные атомы в ароматической части радикала, за счет которых они и вступают в реакцию азосочетания с диазотированной сульфаниловой кислотой (диазореактивом).



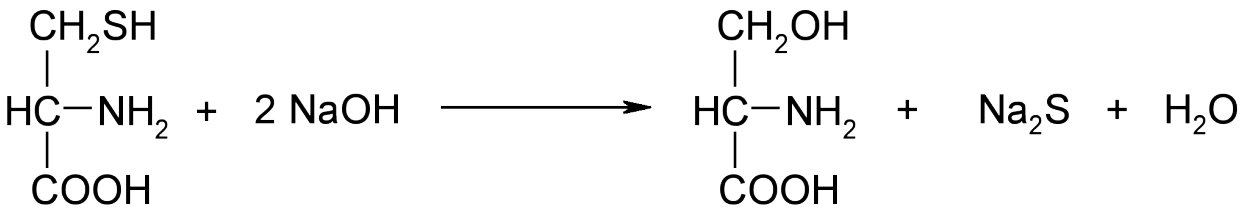
Ход работы. К 1 мл 1%-ного раствора сульфаниловой кислоты в 5%-ном растворе соляной кислоты приливают 2 мл 0,5%-ного раствора нитрита натрия, сильно встряхивают и немедленно добавляют сначала 2 мл разбавленного раствора белка, а затем, после перемешивания содержимого, пробирки, 6 мл 10%-ного раствора карбоната натрия. После смешивания растворов развивается вишнево-красное окрашивание.

Опыт проводится с каждым приготовленным раствором белка.

Опыт 5. Реакция Фоля на серосодержащие аминокислоты

При добавлении к раствору белка крепкой едкой щелочи, уксуснокислого свинца и последующем кипячении раствор начинает темнеть. Реакция обусловлена присутствием в белке серосодержащих аминокислот: цистина, цистеина и метионина. Эти аминокис-

лоты при нагревании в присутствии крепкой щелочи разрушаются, образуя сернистый натрий:



цистеин серин

Уксуснокислый свинец реагирует со щелочью с образованием плюмбита натрия:

$$(CH_3COO)_2Pb + 2NaOH \rightarrow Pb(ONa)_2 + 2CH_3COOH$$

Сернистый натрий при взаимодействии с плюмбитом образует черный осадок сернистого свинца.

$$Na_2S + Pb(ONa)_2 + 2H_2O \rightarrow PbS\downarrow + 4NaOH$$

Ход работы. В пронумерованные пробирки наливают по 5 капель приготовленных растворов. В каждую пробирку добавляют 1-1,5 мл раствора NaOH, осторожно нагревают их до кипения и кипятят 1-2 мин. После чего в каждую пробирку прибавляют по 2–3 капли раствора ацетата свинца. Появляется буровато-черное или черное окрашивание, интенсивность которого зависит от концентрации раствора белка и содержания в нем цистеина.

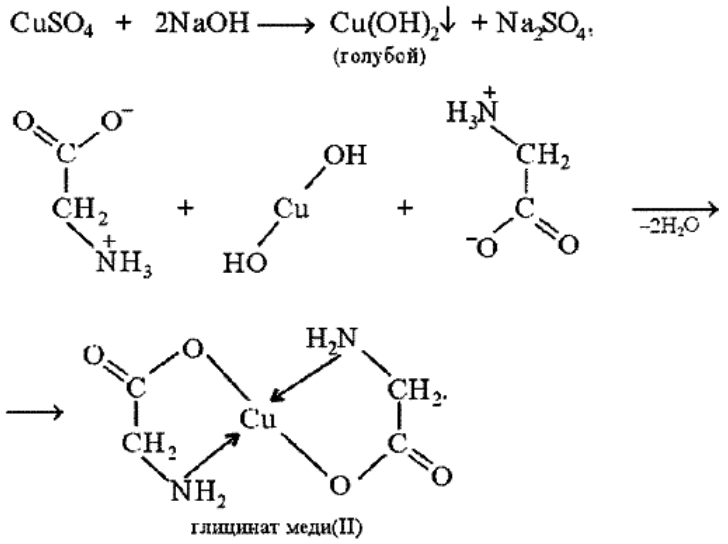
Раствор желатина окрашивания не дает. Это свидетельствует о том, что в состав этого белка не входят серосодержащие аминокислоты.

3. Обнаружение в молекулах белков пептидных связей

Опыт 6. Биуретовая реакция на пептидную группу (реакция Пиотровского).

В щелочной среде в присутствии солей меди растворы белка приобретают фиолетовый цвет с красным или синим оттенком, зависящим от количества пептидных связей в молекуле белка. Такую реакцию дают все белки, а также продукты их неполного гидролиза - пептоны и полипептиды, содержащие не менее двух пептидных связей.

Биуретовая реакция обусловлена наличием в белке пептидных связей, которые в щелочной среде образуют с сернокислой медью окрашенные комплексы. Интенсивность окраски комплекса зависит от концентрации белка и количества медной соли в растворе.



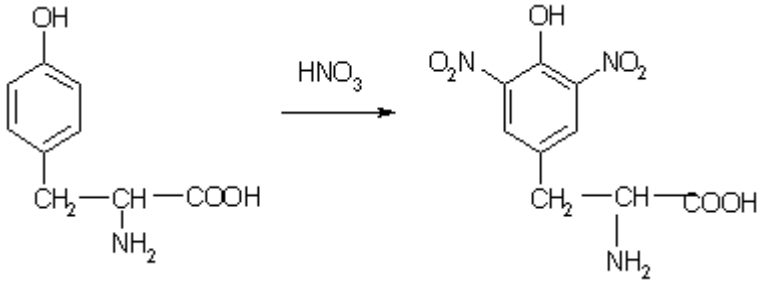
Ход работы. В пронумерованные пробирки наливают по 5 капель приготовленных растворов. В каждую пробирку добавляют по 10 капель 10% раствора едкого натра и по 1 капле 1% раствора сульфата меди.

При малом содержании белка чувствительность реакции можно повысить, наслаивая на раствор белка в щелочи 1 мл 1%-ного раствора сульфата меди. При стоянии на границе двух слоев появляется фиолетовое кольцо.

Опыт 7. Ксантопротеиновая реакция на ароматическое кольцо аминокислот.

Ксантопротеиновая реакция указывает на присутствие в белке ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина, триптофана) и основана на образовании нитропроизводных этих аминокислот.

Реакция характерна для бензольного ядра циклических аминокислот, которые при обработке концентрированной азотной кислотой подвергаются нитрованию.



Желтое окрашивание можно наблюдать при попадании крепкой азотной кислоты на кожу, ногти, шерсть и т. д.

Ход работы. В пронумерованные пробирки наливают по 5 капель приготовленных растворов. В каждую пробирку добавляют по 5 капель концентрированной азотной кислоты до появления белого осадка или мути от свернувшегося белка, и (осторожно!) нагревают. При нагревании раствор и осадок окрашиваются в ярко-желтый цвет, при этом осадок почти полностью растворяется.

Пробирки охлаждают, после этого в них осторожно добавляют по 10 капель концентрированного раствора аммиака или 30 % раствора едкого натра. Нитропроизводные аминокислот в щелочной среде образуют соли хиноидной (хромофорной) структуры, окрашенные в оранжевый цвет.

Результаты лабораторной работы оформляют в виде таблицы 1.

Таблица 1 – Цветные реакции на аминокислоты и белки

Название реакции	Исследуемый материал	Употребляемые реактивы	Наблюдаемая окраска	Чем обусловлена реакция?

Выводы.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Чем обусловлена способность белков вступать в разнообразные качественные реакции?

2. Для решения каких задач на практике используют качественные реакции на белки и аминокислоты?

3. Какие качественные реакции из изученных могут проходить как при участии белков, так и отдельных аминокислот?

4. Какие органические вещества, помимо белков, могут вступать в биуретовую реакцию?

5. Какие органические вещества, помимо белков и аминокислот, могут вступать в ксантопротеиновую реакцию?

6. Все ли аминокислоты способны взаимодействовать с нингидрином с образованием окрашенного соединения?

7. Какие аминокислоты при взаимодействии с нингидрином образуют соединение, окрашенное не в сине-фиолетовый, а в желтый цвет?

8. Почему серосодержащая аминокислота метионин не вступает в реакцию Фоля?

Лабораторная работа № 2

РЕАКЦИИ ОСАЖДЕНИЯ

Свёртывание белков, т.е. **денатурация** − *процесс утраты белком природной (нативной) конформации, сопровождающаяся обычно потерей его биологической функции.*

При денатурации под влиянием внешних факторов (температуры, механического воздействия, действия химических реагентов и ряда других факторов) происходит разрушение вторичной, третичной и четвертичной структур белковой макромолекулы. Первичная структура, а, следовательно, и химический состав белка не меняются. Изменяются физические свойства: снижается растворимость, способность к гидратации, теряется биологическая активность. Меняется форма белковой макромолекулы, происходит укрупнение.

К необратимым реакциям относятся осаждение белка солями тяжелых металлов, минеральными и органическими кислотами, алкалоидными реактивами и осаждение при кипячении.

Для работы служит белок куриного яйца, растворённый в воде (белок одного яйца на 150 мл воды).

Опыт 1. Растворение белков

К 2 каплям неразведенного яичного белка прибавьте 1 мл дистиллированной воды и перемешайте. При этом яичный альбумин растворяется, а яичный глобулин выпадает в виде небольшого осадка. Запишите наблюдения.

Проверьте растворимость в воде белка кератина, содержащегося в шерсти и волосах. Затем тоже проделайте с 5%-ным раствором хлористого калия. Запишите наблюдения.

Опыт 2. Свёртывание белка при нагревании

Ход работы: Небольшое количество раствора белка нагреть на горелке до кипения. Наблюдается помутнение жидкости. Полученный осадок не растворяется ни при охлаждении, ни при разбавлении водой, т.е. реакция является необратимой. Объясните происходящие изменения.

Опыт 3. Осаждение белков спиртом, ацетоном

Многие органические растворители осаждают белки из нейтрального или слабокислого раствора.

Ход работы: а) В пробирку приливают 1-2 мл раствора белка, прибавляют щепотку сухого NaCl и взбалтывают. Затем постепенно добавляют 3мл этилового спирта и сильно взбалтывают. Через несколько минут выпадает мелкий осадок белка.

б) В пробирку наливают 1 мл раствора белка, по стенке осторожно добавляют 0,5 мл ацетона, на границе соприкосновения обеих жидкостей появляется белое кольцо денатурированного белка.

Опыт 4. Осаждение белков солями тяжелых металлов

Белки легко осаждаются солями металлов (свинца, меди, серебра, ртути и др.), образуя с ними прочные солеобразные и комплексные соединения.

Свойством белков связывать тяжелые металлы пользуются в медицинской практике, употребляя белки (молоко, яйца) как противоядие при отравлении солями ртути (сулема), свинца (от недоброкачественной посуды) или меди (от окисления медной посуды), пока эти соли не успели всосаться.

Ход работы: В 3 пробирки наливают по 1-2 мл раствора белка. Прибавляют по каплям в первую пробирку раствор ацетата свинца, во вторую - раствор сульфата меди, в третью - раствор нитрата серебра. Наблюдают образование осадков во всех пробирках. Проверьте, растворяются ли полученные осадки в воде. Напишите уравнения реакций.

В пробирки с осадками от ацетата свинца и сульфата меди добавляют избыток этих солей. Что происходит с осадками?

Опыт 5. Осаждение белков минеральными кислотами

Концентрированные минеральные кислоты вызывают необратимое осаждение белков из растворов. Это осаждение объясняется как явлением дегидратации белковых частиц, так и рядом других причин (например, образование комплексных солей белка с кислотами и др.). Избыток минеральной кислоты, за исключением азотной, растворяет выпавший осадок белка.

Ход работы: В три пробирки осторожно наливают приблизительно по 1 мл кислот: в 1-ю соляной, во 2-ю - серной, в 3-ю - азотной. Осторожно вносят во все пробирки приблизительно по 1 мл раствора белка. На границе двух жидкостей наблюдается появление осадка белка в виде небольшого белого кольца. Осторожно встря-

хивают каждую пробирку. Происходит растворение осадков в избытке соляной и серной кислот. В пробирке с азотной кислотой осадок при встряхивании не исчезает, т.к. в избытке азотной кислоты он не растворяется.

Опыт 6. Осаждение белков алкалоидными реактивами

Растворы белков могут образовывать осадки при добавлении так называемых алкалоидных реактивов. К последним относятся таннин, пикриновая кислота, некоторые другие вещества. Эта способность белков к осаждению алкалоидными реактивами объясняется наличием сходных азотистых группировок как в белках,. так и в алкалоидах.

Ход работы*:* В 3 пробирки наливают по 1-2 мл раствора белка и подкисляют их 2-3 каплями 1 % р-ра CH_3COOH. В одну пробирку приливают 2-3 капли насыщенного раствора таннина, во вторую добавляют 2-3 капли 5 % раствора $K_3[Fe(CN)_6]$, в третью – раствор пикриновой кислоты. Взбалтывают после добавления каждой капли. Белок выпадает в осадок.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Строение аминокислот, номенклатура, изомерия.

2. Физико-химические свойства аминокислот: амфотерность, растворимость, стереохимия.

3. Тип связи аминокислот в белках и пептидах. Характеристика пептидной связи.

4. Уровни организации белковой молекулы (первичная, вторичная, третичная и четвертичная структура белков).

5. Классификация белков. Характеристика простых и сложных белков.

6. Характеристика физико-химических свойств белков и методы их исследования (растворимость, денатурация, амфотерность белков, заряд белковой молекулы, диализ, электрофорез, изоэлектрическое состояние и изоэлектрическая точка белков).

7. Принципы методов обнаружения аминокислот в растворах (нингидриновая, ксантопротеиновая и др. реакции).

8. Если с раствором одного белка реакции Миллона и ксантопротеиновая положительные, а с раствором другого – отрицательные, то что можно сказать о различиях аминокислотного состава этих белков?

9. Как с помощью цветных реакций обнаружить в белке: 1) аргинин; 2) цистеин?

10. При помощи каких цветных реакций можно установить различия аминокислотного состава альбумина и желатина?

11.Что такое денатурация белка? Какие физические и химические факторы вызывают денатурацию белка?

12. Почему белки при нагревании в изоэлектрической точке быстро выпадают в осадок и не выпадают при нагревании в сильно кислой или сильно щелочной среде?

Лабораторная работа № 3

ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ

Функции ферментов сводятся к ускорению химических реакций, причем, ферменты отличаются рядом уникальных свойств.

Во-первых, это самые эффективные из известных катализаторов. Большинство реакций в клетке протекает примерно в миллион и более раз быстрее, чем если бы они протекали в отсутствии ферментов.

Во-вторых, большинство ферментов отличается специфичностью действия.

В-третьих, действие большинства ферментов регулируется. Механизмы регуляции представляют сложную систему, посредством которой организм контролирует все свои функции.

Опыт 1. Качественная реакция на фермент уреазу (Ферментативное разложение мочевины)

Уреаза относится к классу гидролитических ферментов группы амидаз. Реакция, катализируемая уреазой, протекает следующим образом:

$H_2N–CO–NH_2 + H_2O = 2NH_3 + CO_2$.

Ход работы. Разотрите в ступке очищенные от кожуры арбузные семечки с 10 мл воды до получения однородной суспензии. Перелейте полученную суспензию в две пробирки. В первую пробирку налейте 5 мл раствора мочевины, во вторую – 5 мл дистиллированной воды. В каждую из пробирок добавьте по 2–3 капли

спиртового раствора фенолфталеина. Содержимое пробирок перемешайте. Отметьте происходящие изменения.

Опишите свои действия и наблюдения.

Опыт 2. Обнаружение амилазы в слюне

Принцип метода основан на способности фермента гидролизовать крахмал и превращать его через декстрины в мальтозу.

Ход работы: В пробирку помещают 20-30 капель 0,5 % раствора крахмала, добавляют несколько капель неразведенной слюны и оставляют при комнатной температуре на 10 минут. Затем добавляют в пробирку 2-3 капли реактива Люголя.

Для сравнения проделывают такой же опыт с исходным раствором крахмала.

Записать данные, сделать заключение.

Опыт 3. Обнаружение каталазы в пищевых продуктах

Фермент каталаза содержится в некоторых сырых продуктах – молоке, мясе, картофеле и др. Каталазу обнаруживают, используя ее способность разлагать перекись водорода с выделением газообразного кислорода:

$2H_2O \rightarrow 2H_2O + O_2$.

Ход работы. Берут две сухие, чистые пробирки, нумеруют их. В обе пробирки вносят по 5 капель перекиси водорода. В первую пробирку добавляют 5 капель сырого молока, во вторую – 5 капель кипяченого. В первой пробирке происходит выделение газа, застав-

ляющее вспыхивать поднесенную тлеющую лучинку, во второй этого не происходит.

Вместо молока можно взять кусочки сырого и вареного мяса или сырого и вареного картофеля.

При оформлении опыта указать, в какой пробирке наблюдалось выделение газа, и сделать вывод о наличии каталазы в исследуемых продуктах питания

Опыт 4. Влияние активаторов и ингибиторов на амилазу слюны

Активаторами и ингибиторами называются вещества, которые способны ускорить или затормозить действие ферментов. Ими часто пользуются в биохимических исследованиях для изучения механизма действия отдельных ферментов, имеющихся в тканях. Прибавлением различных ядов удается блокировать активные центры одних ферментов, не изменяя при этом действие других.

Водный раствор слюны: ополоснуть рот водой. Снова набрать в рот немного воды, подержать 2 мин, выпустить на приготовленный фильтр. Фильтрат использовать для работы.

Ход работы: Готовят 3 пробирки. В первую наливают 10 капель дистиллированной воды, во вторую - 8 капель воды + 2 капли 1 % р-ра NaCl, а в третью - 8 капель воды + 2 капли 1% р-ра $CuSO_4$.

В каждую пробирку приливают по 10 капель слюны, разведенной в 5 раз, перемешивают, добавляют 5 капель 0,5 % раствора крахмала. Вновь перемешивают, оставляют стоять при комнатной температуре.

Через 5-10 минут во все пробирки прибавляют по 5 капель раствора йода. Жидкость в пробе с NaCl должна окраситься в желтый цвет, в контрольной пробе с водой - в красный, а в пробе с $CuSO_4$ - в синий.

Различная окраска жидкости обусловлена неодинаковой степенью гидролиза крахмала амилазой в присутствии NaCl и $CuSO_4$.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что активатором амилазы является NaCl, а ингибитором амилазы является $CuSO_4$.

Опыт 5. Специфичность действия ферментов

Каждый фермент действует только на одно веществ или на группу сходных субстратов, что обусловлено соответствием структуры фермента, точнее его активного центра и структуры субстрата. Например, амилаза действует только на крахмал, сахараза - только на сахарозу и т. п.

Приготовление раствора сахаразы: 100 грамм дрожжей (свежих) растирают и заливают водой (400 мл), Через 2 часа отфильтровывают готовый раствор. Хранить в холодильнике.

Ход работы. В две пробирки (№1 и №2) вносят по 10 капель 1% раствора крахмала, в две другие (№3 и №4) - по 10 капель 2% раствора сахарозы. Затем в пробирки №1 и №3 добавляют по 4 капли раствора слюны (1:5), а в пробирки №2 и №4 – такое же количество раствора сахаразы. Перемешивают и оставляют на водяной бане на 15 минут при температуре 37-38°С.

Затем содержимое каждой пробирки делят пополам и проделывают реакции с йодом и Троммера.

Реакция с йодом. К гидролизату добавляют 1 каплю 1 % раствора йода в йодиде калия.

Реакция Троммера. К гидролизату добавляют 1 каплю 5 % раствора сульфата меди и 4 капли 10% раствора гидроксида натрия и осторожно нагревают до кипения

Результаты опыта записывают в виде таблицы.

Таблица 2 – Определение специфичности действия ферментов

№ пробирки	Субстрат	Фермент	Реакции	
			с йодом	Троммера
1	Крахмал	Амилаза		
2	Крахмал	Сахараза		
3	Сахараза	Амилаза		
4	Сахараза	Сахараза		

При оформлении опыта следует отметить, в какой пробирке и при каких условиях обнаружено действие ферментов и почему.

Опыт 6. Влияние температуры на скорость ферментативного катализа

Скорость ферментативной реакции закономерно увеличивается примерно вдвое с повышением температуры на каждые 100 ^{0}С. С 45-50 ^{0}С начинается денатурация фермента от нагревания. Постепенно разрушение фермента приводит к тому, что скорость основ-

ного химического процесса, катализируемого ферментом, замедляется и, наконец, прекращается. Наивысшая температура, при которой сохраняются нативные свойства ферментов в течение длительного периода времени, называется оптимальной температурой. Для большинства ферментов оптимальная температура находится в пределах 45-50 ^{0}С.

Ход работы: В 4 пронумерованных пробирки наливают по 4 мл раствора крахмала и по 1 мл разведенной в 10 раз водой слюны. Первую пробирку быстро помещают в кипящую водяную баню, вторую - в лед, третью - в термостат при 37-40 ^{0}С, а четвертую оставляют при комнатной температуре.

Через 10 минут содержимое каждой пробирки разделить приблизительно на две части. С одной частью проводят пробу на крахмал: добавляют к содержимому 2 капли раствора Люголя, - синее окрашивание свидетельствует о наличии негидролизованного крахмала.

Со второй частью содержимого проводят реакцию Троммера или с Фелинговой жидкостью: добавляют 1 мл 10 % NaOH и по каплям 1 % $CuSO_4$ до образования неисчезающей голубой мути.

Результаты работы сравнивают и анализируют.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Химическая природа и свойства ферментов как белковых катализаторов. Сходство и отличие биологических и небиологических катализаторов

2. Активный и регуляторный центр ферментов.

3. Роль коферментов и простетических групп в действии ферментов. Какова роль витаминов в их строении?

4. Никотинамидные и флавиновые коферменты, нуклеозидтрифосфаты.

5. Факторы, влияющие на скорость ферментативной реакции (концентрация субстрата, pH среды, температура, активаторы, ингибиторы).

6. Классификация и номенклатура ферментов. Шифр ферментов.

7. Дать общую характеристику классов ферментов (оксидоредуктаз, трансфераз, гидролаз, лиаз, изомераз, лигаз).

8. Приведите примеры ферментов: а) с относительной специфичностью; б) с абсолютной специфичностью; в) со стереоспецифичностью

9. Способы выражения каталитической активности ферментов.

10. Активаторы и ингибиторы ферментов.

11. Как можно обнаружить присутствие ферментов в биологическом материале?

12. Почему для сравнения ферментативной активности разных препаратов нужно проводить реакцию в одинаковых условиях?

13. Какой фермент содержится в слюне? Какой субстрат следует добавить в раствор слюны, чтобы проявилось действие этого фермента? Почему?

14. Почему в опытах с амилазой слюны при добавлении крахмала и сахарозы реакция Троммера в первом случае была положительной, а во втором отрицательной?

Лабораторная работа № 4

КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ НЕКОТОРЫХ ВИТАМИНОВ

Существует несколько способов классификации витаминов, все они несовершенны. Наиболее приемлемая классификация основана на различии в растворимости витаминов, она учитывает их химическую природу и дает каждому тривиальное и буквенное название. Таким образом, различают:

1) жирорастворимые: A (ретинол), D (кальциферол), E (токоферол) и др.

2) водорастворимые: B_1 (тиамин), B_2 (рибофлавин), PP (никотиновая кислота), C (аскорбиновая кислота), H (биотин) и др.

ЖИРОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

Отличительные особенности жирорастворимых витаминов:

- растворяются в жирах и поэтому усваиваются организмом только в присутствии жиров и желчи;

- способны накапливаться в организме при поступлении в больших количествах, что, в свою очередь, может привести к развитию гипервитаминозов.

- имеют несколько аналогов с близкой структурой и идентичным биологическим действием, например, у витаминов A и K обнаружено по два аналога, у E - четыре, а у витамина D - десять.

Так как эти витамины нерастворимы в воде и экстрагируются органическими растворителями, их относят к липидам. Жирорастворимые витамины имеют одну общую структурную особенность

- их молекулы построены из изопреновых фрагментов – изопреноидных блоков, подобно терпенам и стероидам.

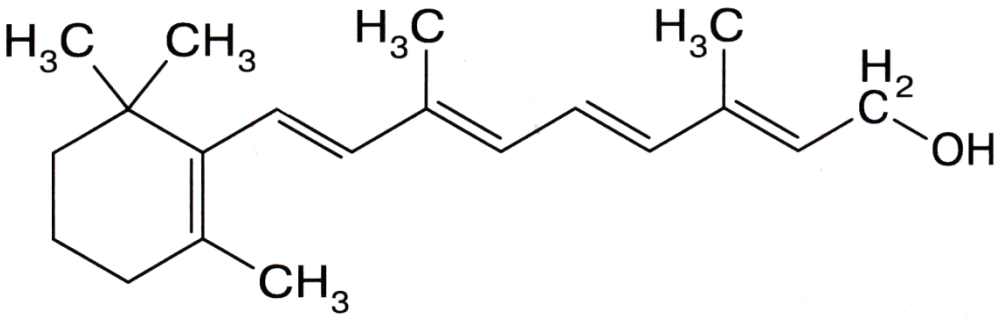
ВОДОРАСТВОРИМЫЕ ВИТАМИНЫ

Известно семь основных свойств водорастворимых витаминов:

1. Легко растворяются в воде.
2. Быстро всасываются в кровь из разных отделов толстого и тонкого кишечника, совершенно не накапливаясь ни в тканях, ни в органах человеческого организма, поэтому существует необходимость их ежедневного приёма с продуктами питания.
3. Поступают в организм человека по большей части из растительных продуктов.
4. Быстро выводятся из человеческого организма, не задерживаясь в нём дольше нескольких дней.
5. Активизируют действие других витаминов. Их нехватка приводит к снижению биологической активности витаминов других групп.
6. Переизбыток водорастворимых витаминов неспособен разладить работу организма, поскольку все их излишки быстро расщепляются или выводятся с мочой.
7. Становятся особенно активными вследствие присоединения к ним остатка фосфорной кислоты.

Опыт 1. Качественные реакции на витамин А (ретинол)

Витамин А имеет несколько витамеров, из которых наиболее распространённым является A_1 (ретинол, антиксерофтальмический витамин):



Витамин А хорошо растворим в жирах и жирорастворителях: бензине, хлороформе, ацетоне и др. Предполагают, что витамин А участвует в окислительно-восстановительных процессах, входит в состав зрительного пурпура – родопсина, находящегося в палочках сетчатки и принимающего участие в процессе зрения.

Витамин А содержится в печени и жировой ткани рыб, в растительном и сливочном масле, молоке, яичном белке.

<u>а) Реакция Друммонда.</u>

В сухой пробирке смешивают 1 мл рыбьего жира с 5 мл хлороформа и добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты. Рыбий жир можно заменить раствором ретинола. Жидкость приобретает фиолетово-красный цвет, переходящий в бурый.

<u>б) Реакция с хлоридом железа (III).</u>

В три пробирки вносят по 2 мл раствора рыбьего жира, масляного раствора витамина А (ретинола) и растительного масла. Добавляют в каждую пробирку по 1 – 2 мл хлорида железа (III).

В присутствии витамина А появляется синяя окраска, которая переходит в фиолетовую, а затем в красно-бурую.

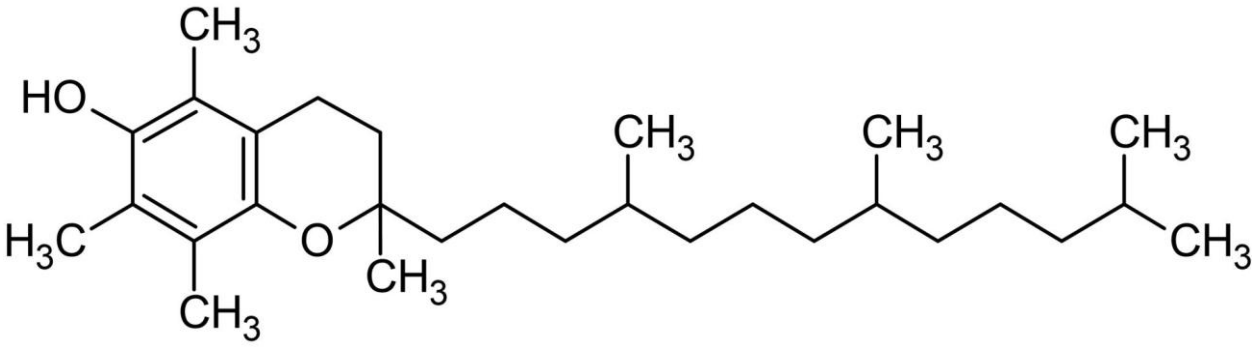
в) Реакция с сульфатом железа (II).

В пробирку к 1 капле раствора рыбьего жира или масляного раствора витамина А (ретинола) приливают 5 капель хлороформа, 5-10 капель концентрированной уксусной кислоты, насыщенной сульфатом железа (II), 1-2 капли концентрированной серной кислоты. Появляется голубое окрашивание, постепенно переходящее в красно-розовое.

Каротины дают при этой реакции зеленое окрашивание.

Опыт 2. Качественные реакции на витамин Е (токоферол)

Под общим названием витамина Е известен ряд веществ, обладающих витаминными свойствами и являющихся производными хромана. Самым активным из них является α-токоферол, выделяемый из масла пшеничных зародышей.



Токоферол в чистом виде представляет собой светло-жёлтое вязкое жидкое масло, не растворим в воде, но растворяется в жирах и жирорастворителях. Один из самых стойких витаминов, он не

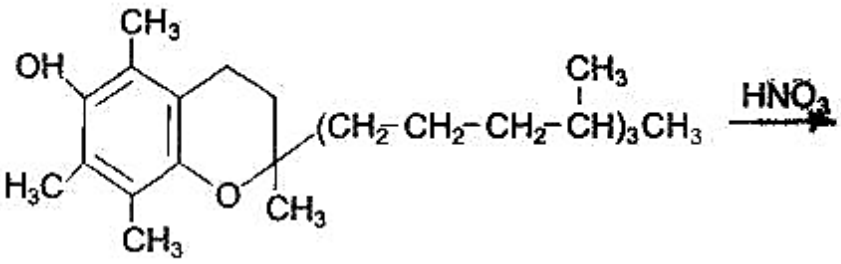
разрушается при кипячении, действии кислот и щелочей, не окисляется кислородом воздуха.

Витамин Е содержится в зародышах пшеницы, хлопковом масле, яичном белке, в семенах яблок.

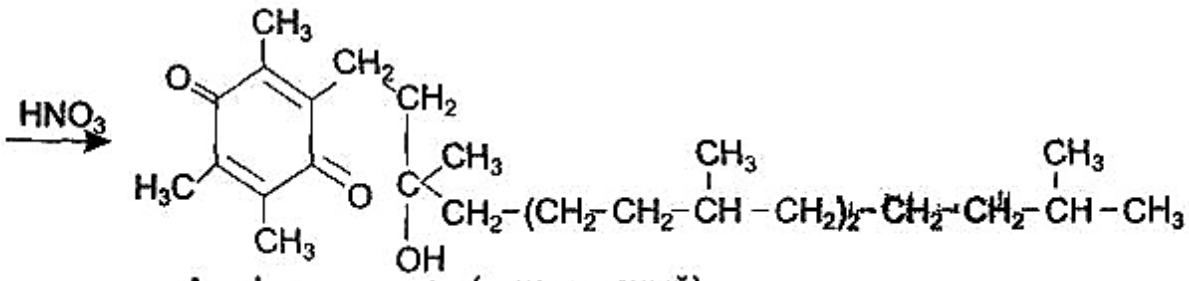
а) Реакция витамина Е с азотной кислотой.

Витамин Е окисляется концентрированной азотной кислотой в хиноидное соединение, окрашенное в красный или красно-коричневый цвет.

В сухую пробирку вносят 4-5 капель 0,1 % спиртового раствора витамина Е (α-токоферола). Осторожно прибавляют 10 капель концентрированной азотной кислоты и нагревают в течение 15 минут на водяной бане при 70-80 °С. Для ускорения реакции можно добавить несколько крупинок сахарозы. Наблюдают появление красно-оранжевой окраски.



Альфа-токоферол



Альфа-токохинон (токо-красный)

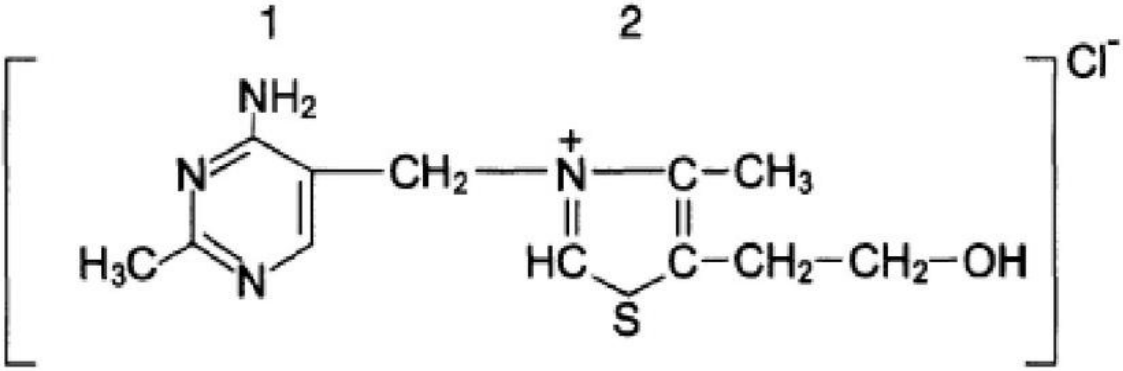
б) Реакция витамина Е с хлоридом железа (III).

Витамин Е окисляется хлоридом железа до хиноидного соединения красного цвета.

В сухую пробирку вносят 4-5 капель 0,1 % спиртового раствора витамина Е, прибавляют 0,5 мл раствора хлорида железа и тщательно перемешивают. При нагревании на водяной бане при 70-80 °С происходит окисление витамина Е хлоридом железа до соответствующего хинона красного цвета.

Опыт 3. Качественные реакции на витамин B_1 (тиамин)

Витамин B_1 (тиамин, антиневритный витамин) является соединением, содержащим тиазоловое и пиримидиновое кольца.



1 – пиримидиновое кольцо; 2 – тиазоловое кольцо

Витамин B_1 называют ***анейрином***, что указывает на его лечебное действие при заболевании нервов. При отсутствии витамина B_1 возникает полиневрит.

Витамин B_1 входит в состав многих ферментов, участвует в регуляции углеводного обмена и связан с функцией органов кроветворения.

Хорошо растворим в воде и совершенно не растворим в маслах.

Витамином B_1 богаты крупы, особенно гречневая, грецкие орехи, бобы, яичный желток, ржаной и пшеничный хлеб.

а) Диазореакция на тиамин.

К 5 каплям 1 % раствора сульфаниловой кислоты прибавляют 5 капель нитрита натрия. Получается диазореактив. К этому реактиву добавляют на кончике стеклянной палочки небольшое количество тиамина в порошке и затем добавляют 5-7 капель 10% раствора карбоната натрия.

В присутствии витамина B_1 появляется розовое окрашивание.

б) Реакция окисления тиамина в тиохром

1 каплю 5 % раствора тиамина (или небольшое количество тиамина - на кончике стеклянной палочки - растворяют в очень небольшом объёме воды) смешивают в пробирке с 5-10 каплями 10 % раствора гидроксида натрия и затем добавляют 1-2 капли 5 % раствора гексацианоферрат (III) калия. Нагревание смеси приводит к её окрашиванию в жёлтый цвет в результате окисления тиамина в тиохром.

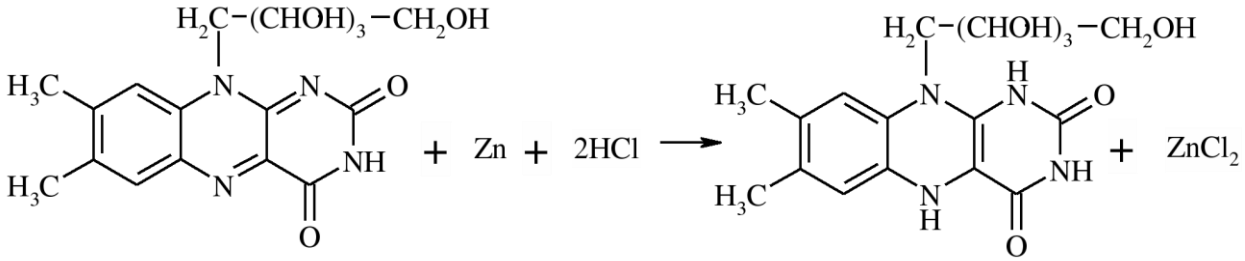
Опыт 4. Качественные реакции на витамин B_2 (рибофлавин).

Витамин B_2 участвует в синтезе белков и жиров, оказывает влияние на состояние нервной системы, необходим для роста и восстановления тканей живого организма.

Мало растворим в воде, но хорошо в щелочных растворах.

В виде фосфорного эфира рибофлавин входит в состав окислительно-восстановительных ферментов, участвующих в переносе

водорода. Реакция на витамин B_2 основана на его способности легко восстанавливаться:



Витамин B_2 содержится в молоке, дрожжах, печени, зерне, мясе, яйцах, томатах, шпинате.

<u>а) Восстановление рибофлавина водородом.</u>

В пробирку наливают 10 капель раствора рибофлавина, добавляют 10 капель концентрированной соляной кислоты и небольшой кусочек металлического цинка. Выделяющийся водород реагирует с рибофлавином, и раствор изменяет окраску из жёлтой в розовую, а затем обесцвечивается.

При встряхивании обесцвеченный раствор вновь окисляется кислородом воздуха в рибофлавин жёлтого цвета.

<u>б) Реакция с нитратом серебра.</u>

В пробирку наливают 10 капель раствора рибофлавина, добавляют 10 капель нитрата серебра. В присутствии витамина B_2 появляется розовое окрашивание.

Опыт 5. Качественные реакции на витамин B_3 (никотиновую кислоту, витамин PP).

Витамин B_3 (витамин PP) участвует в большинстве окислительно-восстановительных реакций (синтез белков, энергообмен и т.д.), в процессе производства новых клеток, поддерживает пра-

вильную работу всех клеток организма. От этого витамина зависит здоровье пищеварительной системы человека.

Наибольшее количество витамина PP присутствует в продуктах животного происхождения. К ним относится: молоко, яйца, рыба, почки, свинина, сыр, печень говяжья, мясо птицы.

Содержится полезное вещество еще и в травах. Больше всего витамина PP в одуванчиках, овсе, петрушке, коровяке, крапиве, семенах фенхеля, сенном пажитнике, очанке, хмеле, хвоще, женьшени, перечной мяте, ромашке, листьях малины и т.д.

а) Взаимодействие с солью меди.

К 3 мл тёплого 1% раствора витамина PP добавляют 0,5 мл 2% раствора гидроксида натрия и 1 мл 10% раствора сульфата меди. Выпадает осадок синего цвета медной соли никотиновой кислоты.

б) Реакция обнаружения аминогруппы в никотинамиде.

При нагревании в присутствии гидроксида натрия амидная связь в никотинамиде гидролизуется с выделением аммиака.

В пробирку помещают 5-10 мг порошка витамина PP, прибавляют 2 мл 0,1 М раствора гидроксида натрия и нагревают до кипения. Ощущают запах образующегося аммиака.

в) Восстановление витамина PP гидросульфитом натрия.

В пробирку вносят немного порошка витамина PP, добавляют 1-2 мл 10 % раствора гидрокарбоната натрия, перемешивают и вносят 1-2 мл 5 % свежеприготовленного гидросульфита натрия. Наблюдают появление жёлтой окраски восстановленной формы витамина PP.

Опыт 6. Качественные реакции на витамин B_6 (пиридоксин)

Витамином B_6 называют близкие по составу и свойствам вещества - пиридоксин, пиридоксаль и пиридоксамин. Для проявления витаминных свойств необходимо, чтобы эти вещества превратились в фосфорилированную форму (5-пиридоксал-фосфат). Такое превращение происходит в организме, после чего пиридоксин, пиридоксаль и пиридоксамин приобретают витаминные свойства.

Витамин B_6 (пиридоксин) используется, прежде всего, как стимулятор в обмене веществ. Он является коферментом белков, которые участвуют в переработке аминокислот и регулируют усвоение белка. Пиридоксин принимает участие в производстве кровяных телец и их красящего пигмента - гемоглобина и участвует в равномерном снабжении клеток глюкозой.

Витамин B_6 содержится во многих продуктах, но его несколько больше в продуктах животного происхождения: яйцах, креветках, устрицах, лососевых, тунце, ветчине, курином мясе, говяжьем фарше и баранине, печени, твороге, сыре и других молочных продуктах.

Растительные продукты тоже бывают достаточно богаты пиридоксином: пророщенные зёрна, картофель, горох, капуста, морковь, помидоры, фасоль, чечевица, соя, листовые зелёные овощи, многие крупы и злаковые, дрожжи, орехи, семечки, ягоды и фрукты.

<u>а) Реакция с хлоридом железа (III)</u>

В пробирку вносят 1мл 1% хлорида железа и 1мл 1% раствора витамина B_6. Смесь встряхивают. В присутствии витамина железо образует с ним комплексную соль по типу фенолята железа красного цвета.

б) Реакция с диазореактивом

В пробирку наливают 1 мл раствора витамина B_6 и добавляют такое же количество диазореактива. В присутствии витамина B_6 появляется красное окрашивание раствора.

Опыт 7. Качественная реакция на B_9 (фолиевая кислота).

Фолиевая кислота - водорастворимый витамин B_9 необходимый для роста и развития кровеносной и иммунной систем. (Фолаты - производные компоненты от фолиевой кислоты, по сути, это та же фолиевая кислота в натуральной форме или витамин B_9).

Кроме того, фолиевая кислота необходима для образования адреналина, катаболизма никотиновой кислоты, имеет эстрогеноподобное действие.

Вещества, обладающие активностью фолиевой кислоты, широко распространены в природе. Богатыми источниками их являются зеленые листья растений и дрожжи. Эти вещества содержатся также в печени, почках, мясе, яичном желтке, сыре и других продуктах.

В 4 пробирки налейте по 1 мл раствора фолиевой кислоты. В первую пробирку добавьте раствор ацетата свинца, во вторую –

нитрата кобальта, в третью – сульфата меди, в четвертую – хлорида железа (III)

Образуются осадки:

– с ацетатом свинца – лимонно-желтый;

– с нитратом кобальта - темно-желтый;

– с сульфатом меди (II) – зеленый;

– с хлоридом железа (III) – красно-желтый.

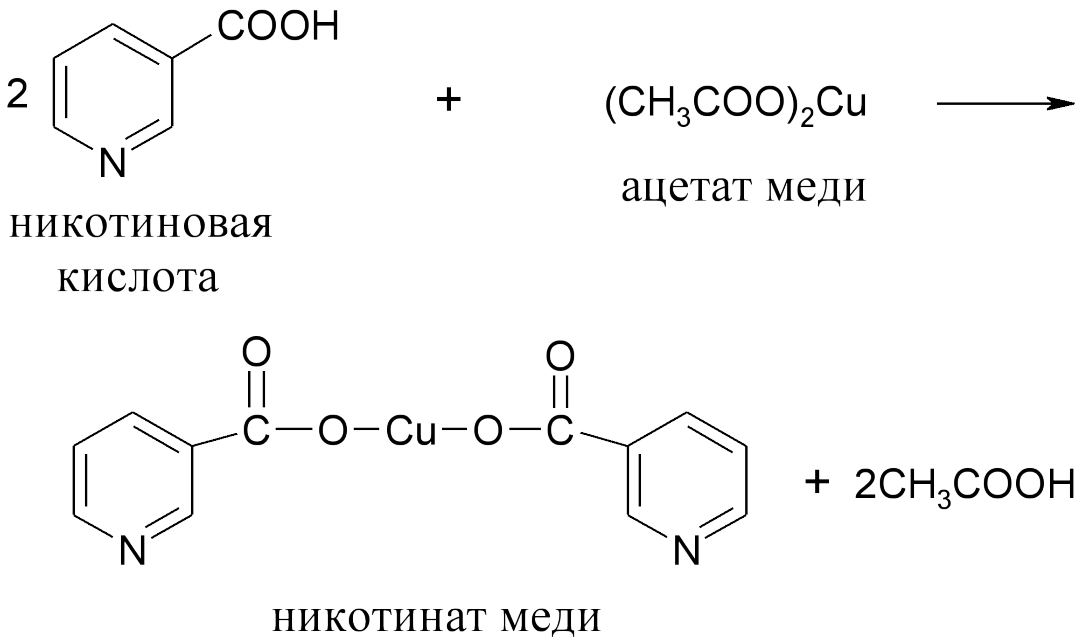
Опыт 8. Качественные на витамин B_3 (PP, никотиновую кислоту, никотинамид)

Никотиновая кислота (ниацин, витамин PP, витамин B3) - витамин, участвующий во многих окислительно-восстановительных реакциях, образовании ферментов, а также в обмене липидов и углеводов в живых клетках, лекарственное средство.

Никотиновую кислоту назначают для профилактики и лечения пеллагры (авитаминоза PP), в комплексной терапии ишемических нарушений мозгового кровообращения, заболеваний сосудов нижних конечностей а также при невритах лицевого нерва, при длительно незаживающих ранах и трофических язвах.

Содержится в ржаном хлебе, ананасе, манго, свёкле, гречке фасоли, мясе, грибах, печени, почках.

а) Реакция с уксуснокислой медью.



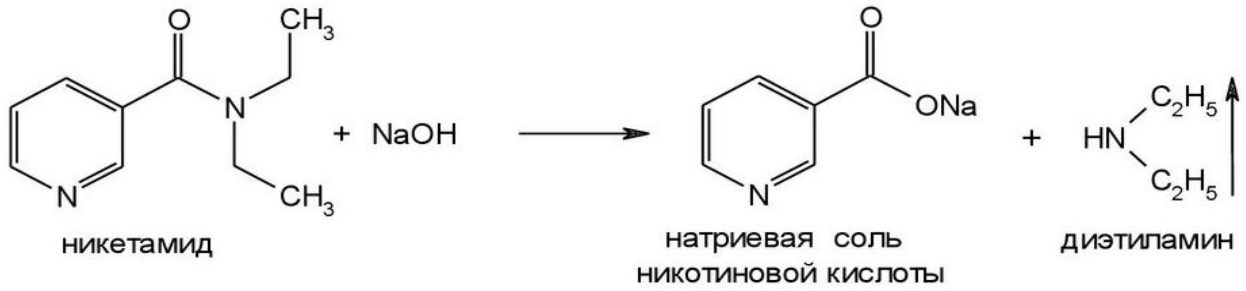
5-10 мг никотиновой кислоты растворяют при нагревании в 10-20 каплях 10 %-го раствора уксусной кислоты. К нагретому до кипения раствору добавляют равный объем 5 %-го раствора ацетата меди. Жидкость становится мутной, окрашивается в голубой цвет, а при стоянии выпадает синий осадок никотината меди.

<u>б) Реакция с углекислым натрием.</u>

В небольшом фарфоровом тигле смешивают 0,05 г никотиновой кислоты с 0,1-0,15 г безводного углекислого натрия и подогревают. Появляется резкий запах пиридина

<u>в) Реакция обнаружения аминогруппы в никотинамиде</u>

При нагревании в присутствии гидроксида натрия амидная связь в никотинамиде гидролизуется с выделением аммиака.



В пробирку помещают 5-10 мг порошка витамина PP, прибавляют 2 мл 0,1 М раствора гидроксида натрия и нагревают до кипения. Ощущают запах образующегося аммиака.

г) Реакция с гидросульфитом натрия

В пробирку вносят 5-10 мг витамина PP, добавляют 1,5 мл 10 %-го раствора бикарбоната натрия, перемешивают и прибавляют 1,5 мл свежеприготовленного 5 %-го раствора гидросульфита натрия. Жидкость окрашивается в желтый цвет.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Что такое витамины? Какова их роль в обмене веществ?

2. Как классифицируются витамины? Перечислить витамины, относящиеся к каждой группе.

3. Дать определение и привести примеры гипо-, гипер- и авитаминозов для витаминов С, А, Е, Д.

4. Как изменяется потребность в витаминах при интенсивной мышечной деятельности?

5. Что является причиной проявления гиповитаминоза в весенний период?

6. Почему избыточное потребление жирорастворимых витаминов приводит к развитию гипервитаминозов, водорастворимых – нет?

Лабораторная работа № 5

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА С (АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ)

Витамин С – это бесцветные кристаллы без запаха кислые на вкус. Они легко растворимы в воде, спирте, нерастворимы в эфире, бензоле и хлороформе. Витамин С разрушается при температуре выше 60 С.

Аскорбиновая кислота – окисленное производное шестиатомного спирта сорбита – содержит диенольную группу –С=С–, которая обусловливает способность витамина С легко подвергаться окислению с одновременным восстановлением других соединений. Реакции на аскорбиновую кислоту основаны на её способности легко окисляться.

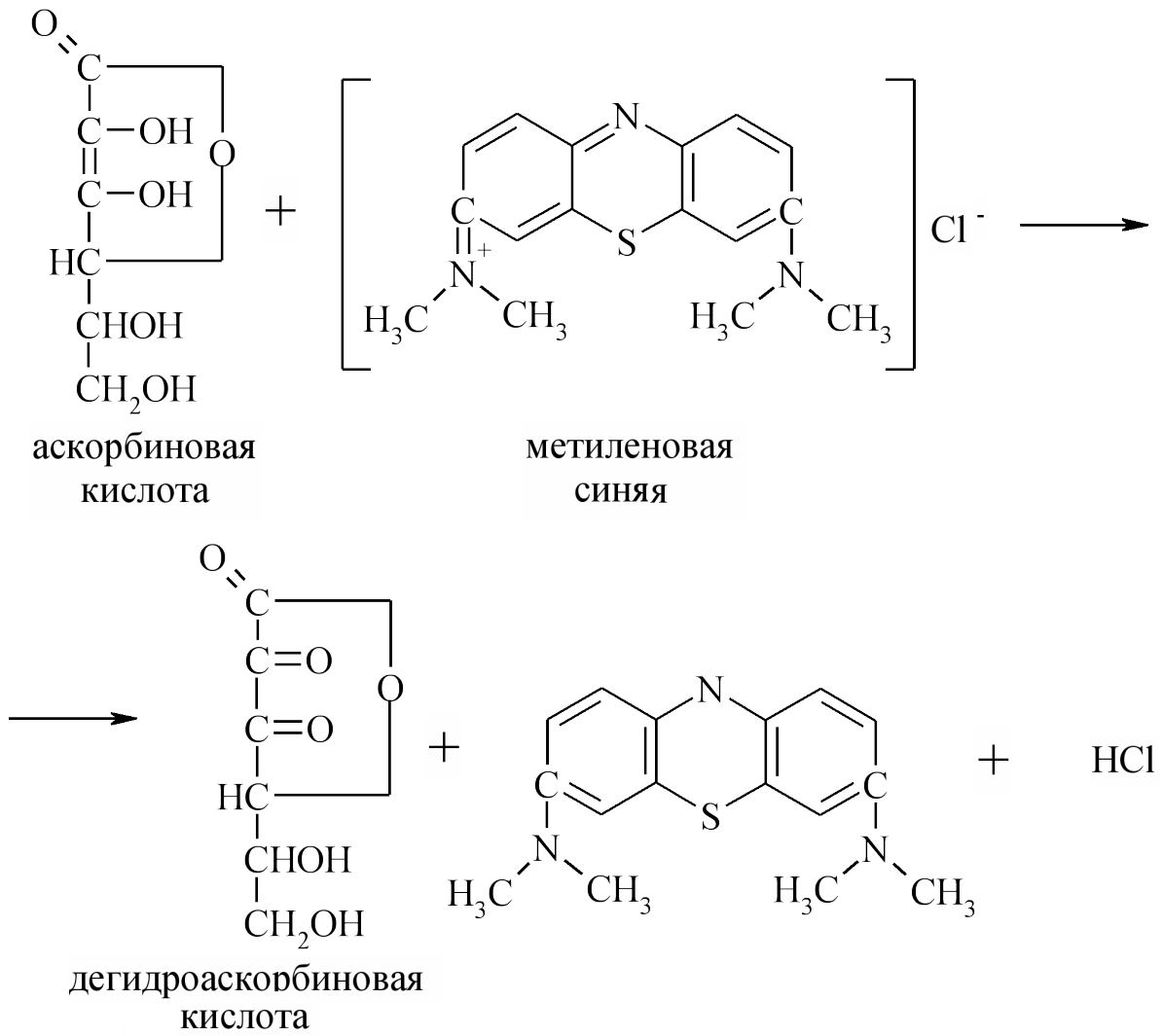
Витамин С – мощный антиоксидант. Он играет важную роль в регуляции окислительно-восстановительных процессов, участвует в синтезе коллагена и проколлагена, обмене фолиевой кислоты и железа, а также синтезе стероидных гормонов и катехоламинов. Аскорбиновая кислота также регулирует свертываемость крови, нормализует проницаемость капилляров, необходима для кроветворения, оказывает противовоспалительное и потивоаллергическое действие.

Особенно богаты витамином С зеленый грецкий орех, плоды шиповника, черной смородины, капуста, лимоны, апельсины, лук, чеснок, картофель.

Опыт 1. Качественные реакции на витамин С

<u>а) Восстановление метиленовой сини аскорбиновой кислотой.</u>

Аскорбиновая кислота обесцвечивает раствор метиленовой сини, восстанавливая краску в лейкосоединение метиленовой сини, окисляясь в дегидроаскорбиновую кислоту (IV):



В двух пробирках смешивают по 1 капле 0,01 % раствора метиленовой сини и 10 % раствора бикарбоната натрия, добавляя затем в одну из них 5 капель аскорбиновой кислоты, а в другую –

столько же дистиллированной воды. Нагревание пробирок приводит к обесцвечиванию жидкости в пробирке с аскорбиновой кислотой.

б) Восстановление гексацианоферрата (III) калия аскорбиновой кислотой.

Аскорбиновая кислота восстанавливает гексацианоферрат (III) калия $K_3[Fe(CN)_6]$ в гексацианоферрат (II) калия $K_4[Fe(CN)_6]$, который образует с хлоридом железа плохо растворимую в воде соль трёхвалентного железа – берлинскую лазурь тёмно-синего цвета:

$$C_6H_8O_6 + 2K_3[Fe(CN)_6] + 2KOH \rightarrow C_6H_6O_6 + 2K_4[Fe(CN)_6] + 2H_2O;$$

$$3K_4[Fe(CN)_6] + 4FeCl_3 \rightarrow Fe_4[Fe(CN)_6]_3 + 12KCl.$$

К 5 каплям 1 % раствора витамина С приливают 1 каплю 10 % раствора гидроксида натрия и 1 каплю 5 % гексацианоферрата (III) калия, перемешивают, после чего добавляют 3 капли 10 % раствора соляной кислоты и 1 каплю 1 % раствора хлорида железа (III). Выпадает синий осадок берлинской лазури. Для контроля проделывают те же реакции, добавляя вместо раствора витамина С дистиллированную воду. В этом случае берлинская лазурь не образуется (отметить цвет раствора в контрольной пробирке - зеленый).

в) Йодная проба на аскорбиновую кислоту. Раствор йода в йодиде калия при добавлении к нему раствора аскорбиновой кислоты обесцвечивается за счёт восстановления аскорбиновой ки-

слотой молекулярного йода и образования йодисто-водородной кислоты:

$C_6H_8O_6 + I_2 \rightarrow C_6H_6O_6 + 2HI$.

В две пробирки наливают по 10 капель дистиллированной воды и по 1-2 капли раствора йода в растворе йодида калия. В одну пробирку добавляют 10 капель раствора аскорбиновой кислоты, в другую – столько же дистиллированной воды. В пробирке с аскорбиновой кислотой раствор йода обесцвечивается.

г) Реакция с нитратом серебра.

В пробирку наливают 1мл раствора аскорбиновой кислоты и добавляют 2 капли раствора нитрата серебра.

Наблюдают образование осадка серого цвета.

Опыт 2. Определение витамина С методом йодометрического титрования.

Принцип определения аскорбиновой кислоты основан на косвенном (обратном) титровании восстановителей.

$C_6H_8O_6 + Y_2 \rightarrow C_6H_6O_6 + 2HY$

Не прореагировавший йод (избыток) титруют раствором тиосульфата натрия в присутствии крахмала.

Оборудование и материалы:

Конические колбы вместимостью 100-250 мл, цилиндры 10-50 мл, пипетки 1-10 мл, титровальная установка, 6 м раствор серной кислоты, 0,005м раствор йода, 0,02 м раствор тиосульфата

натрия, 1% раствор водорастворимого крахмала, образцы фруктовых соков.

Ход опыта:

В коническую колбу для титрования вместимостью 250 мл прилить с помощью пипетки: 10 мл фруктового сока, 2 мл 6 м серной кислоты (H_2SO_4), 1 мл 0,005 м раствора йода. Все тщательно перемешать. Колбу прикрывают часовым стеклом и оставляют на 10 мин., чтобы аскорбиновая кислота окислилась.

Через 10 мин прилить в колбу 5 капель 1 % раствора крахмала, перемешать.

Титровать по каплям 0,02 м раствором тиосульфата натрия ($Na_2S_2O_3$) до полного обесцвечивания раствора, до исчезновения синего окрашивания. Объем раствора, пошедшего на титрование записать. Анализ повторяют 2-3 раза. Содержание аскорбиновой кислоты (г.) вычисляют по формуле:

$$m = \frac{(C_н(J_2) \cdot V(J_2) - C_н(Na_2S_2O_3) \cdot V(Na_2S_2O_3) \cdot M_э(C_6H_8O_6)}{1000},$$

где молярная масса эквивалента аскорбиновой кислоты равна 88 г/моль.

Опыт 3. Исследование влияния различных факторов на сохранность витамина С.

Техника определения: *Исходное сырье, полуфабрикаты или готовую продукцию подвергают действию различных факторов, которые приводят к разрушению витамина С. В иссле-*

дуемых образцах до и после обработки определяют содержание витамина С.

Варианты проведения опытов:

1. Нагрев исследуемого объекта до температуры 55-65 ºС, выдержка при этой температуре 30 минут;

2. Нагрев исследуемого объекта до температуры 100 ºС, кипячение 5 минут;

3. Аэрация исследуемого объекта в течение 30 минут;

4. Добавление в исследуемый объект ионов железа в виде 2 см³ 0,1 % раствора соли мора;

5. Добавление в исследуемый объект ионов меди в виде 2 см³ 0,5 % раствора сульфата меди.

Результаты исследования сводятся в таблице.

Таблица 3 − Влияние способов обработки на сохранность витамина С

Вид обработки	Содержание витамина С до обработки, мг	Содержание витамина С после обработки, %	Сохранность витамина С, %
1.Нагрев до 55-65 ºС			
2.Нагрев до 100 ºС			
3.Аэрация			
4.Раствор соли Мора			
6.Раствор сульфата меди			

По результатам исследования делают вывод о содержании витамина С в исследуемых объектах и сохранности витамина С при использовании различных факторов воздействия на исследуемые объекты.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Приведите структуру аскорбиновой кислоты и ее аналогов.

2. Перечислите основные свойства аскорбиновой кислоты.

3. Какие факторы влияют на стабильность аскорбиновой кислоты?

4. Каков механизм разрушения аскорбиновой кислоты?

5. Какие продукты разложения аскорбиновой кислоты способны влиять на качество напитков?

6. Перечислите функции аскорбиновой кислоты в пищевых продуктах.

7. В чем сущность титриметрического метода определения аскорбиновой кислоты в напитках?

Лабораторная работа № 6

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИТАМИНА Р (РУТИНА)

Витамин Р является не одним веществом, а целым комплексом витаминов. В лимонах, например, содержится один из них – цитрин, из гречихи выделяют рутин, а в листьях чая – кверцитин.

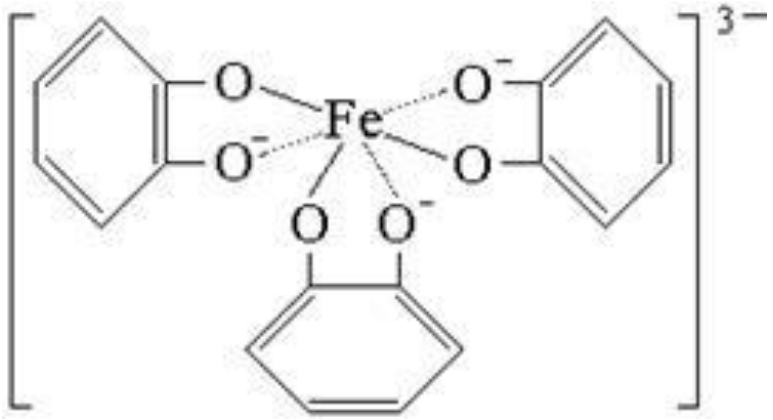
К веществам Р-витаминного действия относится ряд соединений фенольной природы, основное физиологическое действие которых заключается в уменьшении проницаемости и повышении прочности стенок кровеносных капилляров. Они способствуют усвояемости аскорбиновой кислоты в организме человека и животных.

Источниками витамина Р являются: черноплодная рябина, черная смородина, шиповник, укроп, петрушка.

Опыт 1. Качественные реакции на витамин Р.

а) Реакция с хлоридом железа (III)

Хлорид железа (III) образует с рутином комплексное соединение, окрашенное в изумрудно-зеленый цвет. Реакция характерна для многих полифенолов. Обычно зеленую окраску дают соединения, содержащие ортодиоксифенольные группы. Окрашенный комплексный ион, образующийся при реакции рутина или кверцетина с хлоридом железа (III), имеет следующее строение:



К 1-2 мл насыщенного водного раствора рутина прибавляют несколько капель 1% раствора хлорида железа (III). Появляется зеленое окрашивание.

б) Реакция с концентрированной серной кислотой

Концентрированная серная кислота образует с рутином оксониевые (флавилиевые) соли, растворы которых характерны ярко-желтой окраской.

К 1-2 мл насыщенного водного раствора рутина осторожно, по стенке пробирки, добавляют 1 мл концентрированной серной кислоты. Содержимое пробирки окрашивается в желтый цвет.

в) Реакция с реактивом Фелинга

1г препарата кипятят со 100 мл 0,5 % раствора соляной кислоты и фильтруют.

К 5 мл фильтрата прибавляют 0,3 мл раствора едкого натра и 3 мл реактива Фелинга; при кипячении смеси образуется красный осадок.

г) Реакция с раствором гидроксида натрия

5 мг препарата растворяют в 5 мл 1 н. раствора гидроксида натрия; появляется желто-оранжевое окрашивание.

д) Реакция с раствором молибдата аммония

К 5 мл раствора рутина прибавляют 2 мл 10%-ного раствора молибдата аммония и воды до 100 мл. Появляется лимонно-желтое окрашивание.

Опыт 2. Реакции обнаружения окисленных групп.

а) Взаимодействие с ацетатом свинца

В пробирку приливают 1 мл раствора флавоноидов (настой зеленого чая или лука, рутин и др.), добавляют 3-5 капель 2% раствора ацетата свинца. Наблюдают выпадение осадка.

б) Взаимодействие с аммиаком

С раствором аммиака идет реакция конденсации по оксогруппе кольца гетероцикла, с образованием окрашенных продуктов.

В пробирку приливают 1 мл раствора флавоноидов (настой зеленого чая или лука, рутин и др.), добавляют 3-5 капель концентрированного раствора аммиака. Наблюдают изменение окраски раствора.

Флавоны, флавононы и флавонолы *дают желтое окрашивание, при нагревании переходящее в оранжевое или красное,* ***антоцианы*** *- дают синее или фиолетовое окрашивание. Чистые* ***катехины*** *окрашивания не дают.*

Опыт 3. Количественное определение витамина Р (рутина) в различных сортах чая.

1. Приготовление исходных веществ.

1.1. Приготовление 0,05 Н раствора перманганата калия ($KMnO_4$).

Необходимую массу для приготовления данного раствора сначала высчитывают по формуле:

$$m = cVM,$$

где с- необходимая концентрация раствора (0,05 моль/л);

V- общий объем раствора (0,1 литр);

М- молярная масса вещества $KMnO_4$ (158 г/моль).

Подставляем и находим, что масса $KMnO_4$ равняется 0,79 г или 790 мг. Эта масса отмеряется на технических весах и вносится в нужный объем воды.

1.2. Приготовление раствора индикатора – индигокармина.

Индигокармин – органическая краска, является специфическим индикатором, изменяющим свою окраску в зависимости от реакции среды раствора.

Раствор индигокармина готовят следующим образом: берут 1 г краски, растворяют его в 1000 мл раствора этилового спирта (на 1 часть спирта надо 4 части воды).

1.3.Приготовление экстракта чая.

К 100 мг чая (отмеряется на технических весах) приливают 50 мл горячей дистиллированной воды и проводят экстракцию в течение 5-7 минут. Затем 5 мл экстракта чая отмеряют в коническую колбочку и добавляют 5 мл дистиллированной воды.

2. Ход работы.

Бюретку заполняем 0,05 Н раствором перманганата калия и приводим ее в рабочее состояние.

В четыре конические колбочки с экстрактами чая разных сортов добавляем по 5 капель индикатора индигокармина.

Титруем до появления устойчивой желтой окраски.

Титрование проводим по 2 раза с каждым из экстрактов.

3. Расчетная часть.

Процентное содержание рутина в чае определяется по формуле:

$$X = \frac{3{,}2 \cdot A \cdot 50 \cdot 100}{5 \cdot 0{,}1 \cdot 1000},$$

где X – процентное содержание витамина Р (%);

А – количество мл 0,05 Н раствора $KMnO_4$, пошедшее на титрование;

50 –количество мл воды, добавленное к сухому веществу для экстракции, т.е. общее количество вытяжки;

100 – общее количество вещества (г) для расчета процентного содержания (100 – мкг переводят в мг, т.е. /1000);

5 – количество мл вытяжки, взятое для титрования;

0,1 – количество сухого вещества (г), взятое для анализа.

Все данные и полученные результаты заносим в сводную таблицу

4. Вывод.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Какие вещества относятся к витаминам? Какова их общая функция в организме?

2. Перечислите биохимические функции витаминов, определение которых проводилось в лабораторной работе.

3. Дайте определение авитаминозам, гипо- и гипервитаминозам.

4. Какие витамины относятся к водорастворимым, жирорастворимым?

5. Какие витамины содержатся в растительном сырье?

6. Какие изменения происходят с витаминами при переработке сырья?

7. Приведите пути витаминизации продуктов питания?

8. Какую роль играют витамины в организме человека?

9. Какие вещества относятся к витаминоподобным?

Лабораторная работа №7

ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ МОНОСАХАРИДОВ

Углеводы – это альдегиды и кетоны многоатомных спиртов и полимеры этих соединений. В растениях и у животных углеводы выполняют как структурные, так и метаболические функции. Наиболее распространены пентозы и гексозы.

Опыт 1. Обнаружение гидроксильных групп в углеводах.

В три пробирки наливают по 1,5 мл растворов: глюкозы, фруктозы, сахарозы. В каждую пробирку добавляют по 1 мл 10-% р-ра NaOH, а затем по каплям приливают 5-% р-р $CuSO_4$. Образующийся вначале осадок $Cu(OH)_2$ при встряхивании растворяется, получается ярко-синий раствор алкоголятов меди.

Вопросы и задания для самостоятельной работы

1. Приведите уравнения реакции глюкозата меди.

2. Какой процесс обусловливает растворение голубого осадка гидроксида меди?

3. Будет ли получаться аналогичный результат в этой реакции с другими моносахаридами.

Опыт 2. Обнаружение альдегидной группы в моносахаридах.

В две пробирки наливают по 2 мл растворов глюкозы и фруктозы, добавляют 1 мл 10-% р-ра NaOH и по каплям (до появления голубого осадка $Cu(OH)_2$) 5-% р-р $CuSO_4$. Содержимое пробирок

осторожно нагревают и наблюдают изменение голубой окраски осадка на красный. При нагревании смеси сначала появляется желтое окрашивание, обусловленное образованием гидроксида меди(I).

При дальнейшем нагревании желтая окраска раствора в присутствии восстанавливающих сахаров переходит в красную.

Избыток меди может затемнить реакцию, так как при нагревании $Cu(OH)_2$ теряет воду и превращается в черный оксид меди(II).

Аналогичным образом происходит окисление глюкозы с помощью щелочного раствора оксида серебра (реакция «серебряного зеркала»).

Вопросы и задания для самостоятельной работы

1. Напишите схему реакции восстановления гидроксида меди глюкозой при нагревании.

2. Напишите схему реакции восстановления диаминсеребра глюкозой (реакция «серебряного зеркала»).

3. Какая функциональная группа глюкозы обусловливает ее восстановительные свойства?

4. Объясните, почему реакция идет только с раствором глюкозы.

Опыт 3. Реакция Селиванова на кетозы

В две пробирки поместите по крупинке сухого резорцина и по 2 капли концентрированной соляной кислоты.Добавьте в одну пробирку 2 капли глюкозы, а в другую – 2 капли фруктозы и нагрей те обе пробирки до начала кипения.

Постепенно жидкость приобретает красное окрашивание. Реакция обусловлена нестойкостью соединения – оксиметилфурфукрола.

Вопросы и задания для самостоятельной работы

1. Для каких моносахаридов характерна реакция Селиванова?

Опыт 4. Взаимодействие моносахаридов с реактивом Фелинга.

В две пробирки наливают по 5 капель реактива Фелинга, затем в первую пробирку добавляют 0,5 мл раствора глюкозы, во вторую – 0,5мл раствора фруктозы. Растворы перемешивают и подогревают на водяной бане до появления красного осадка.

Вопросы и задания для самостоятельной работы

1. Напишите уравнения реакции для глюкозы и фруктозы, учитывая, что фруктоза в щелочной среде превращается в глюкозу, а затем окисляется.

2. Может ли реактив Фелинга использоваться для качественного определения моносахаридов?

Опыт 5. Получение глицерозы окислением глицерина.

Глицероза – это смесь глицеринового альдегида и диоксиацетона, получающегося при окислении глицерина. Поэтому она может рассматриваться как смесь простейших сахаров.

В две пробирки помещают по 5 капель глицерина и по 0,5 мл воды, перемешивают. В одну пробирку при перемешивании добавляют по каплям бромную воду до появления устойчивой желтой

окраски раствора. Обе пробирки нагревают на водяной бане до обесцвечивания бромной воды в одной из них. К горячим растворам в обе пробирки добавляют по 5 капель реактива Фелинга и ещё подогревают.

Наблюдают в одной из пробирок образование красного осадка.

Вопросы и задания для самостоятельной работы

1. Напишите уравнения реакций.

Опыт 6. Образование сахаратов

В две пробирки налейте по 5 капель раствора хлорида кальция добавьте в каждую по 10 капель раствора гидроксида натрия до образования осадка. Затем прилейте в одну пробирку 5 капель раствора глюкозы, в другую 5 капель фруктозы. Что наблюдаете? Повторите опыт, заменив хлорид кальция сульфатом меди (II).

Вопросы и задания для самостоятельной работы

1. Напишите уравнения реакций образования гидроксидов кальция и меди.

2.Составьте уравнения реакций растворения гидроксидов кальция и меди с образованием сахаратов.

Лабораторная работа № 8
ДИСАХАРИДЫ И ПОЛИСАХАРИДЫ

Дисахариды состоят из двух моносахаридов, связанных гликозидной связью.

Полисахариды (гликаны) подразделяются на гомогликаны, содержащие остатки только одного моносахарида (крахмал, гликоген, хитин, целлюлоза), и гетерогликаны, содержащие остатки двух и более моносахаридов (гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты, гепарин), связанные гликозидной связью.

Опыт 1. Отсутствие восстанавливающей способности в сахарозе.

Поместите в пробирку 5 капель раствор сахарозы. Добавьте 5 капель раствора щелочи и 1 каплю сульфата меди. Осторожно нагрейте. Происходит ли изменение окраски?

Вопросы и задания для самостоятельной работы

1. Написать структурную формулу сахарозы.

2. Почему в аналогичном опыте с глюкозой происходит изменение окраски раствора, а с сахарозой – нет?

Опыт 2. Цветные реакции на сахарозу.

В две пробирки наливают по 2 мл 10-% р-ра сахарозы и по 1 мл 5-% р-ра NaOH. Затем в одну пробирку добавляют несколько капель 5-% р-ра сульфата кобальта, а в другую - столько же суль-

фата никеля. В пробирке с солью кобальта появляется фиолетовое окрашивание, а с солью никеля - зеленое.

Вопросы и задания для самостоятельной работы

1. При оформлении опыта приведите уравнения реакций.

Опыт 3. Реакция Мальфатти.

Является качественной пробой на лактозу.

В пробирке смешивают 1 мл исследуемого раствора лактозы и 0,5 мл 25 % раствора аммиака, добавляют 2 капли 10 % раствора NaOH. Смесь помещают на 15 мин на водяную баню. Появляется оранжево-красное окрашивание.

Вопросы и задания для самостоятельной работы

1. При оформлении опыта приведите уравнения реакций.

Опыт 4. Наличие восстанавливающей способности у лактозы

Поместите в пробирку 1 каплю раствора лактозы и 4 капли 2н раствора гидроксида натрия. Добавьте 1 каплю 2н раствора сульфата меди. Появляющийся осадок гидроксида меди при встряхивании растворяется, образуя синеватый раствор (доказательство наличия гидроксильных групп). Затем нагрейте верхнюю часть раствора до кипения. Через несколько секунд в нагретой части появляется желто-оранжевое окрашивание.

Вопросы и задания для самостоятельной работы

1. Напишите схему реакции восстановления гидроксида меди лактозой.

2. Объясните причину наличия восстановительных свойств у лактозы в отличие от сахарозы.

3. Будет ли обладать восстановительными свойствами – мальтоза и метил – β-лактозид?

Опыт 5. Качественная реакция на крахмал (йодная проба).

К 1-1,5 мл раствора крахмала добавьте 1 каплю иодной воды. Что наблюдается? Полученную жидкость нагрейте на пламени спиртовки. Какие происходят изменения?

Затем охладите содержимое пробирки под струей холодной воды. Что наблюдается?

Опыт 6. Отношение крахмала к гидроксидам металлов.

В пробирку внесите 5 капель крахмального клейстера, одну каплю сульфата меди (II) и 5 капель раствора гидроксида натрия. Смесь нагрейте на пламени спиртовки, не доводя до кипения. Что при этом наблюдается?

Вопросы и задания для самостоятельной работы

1. Отметьте наблюдаемые явления, происходящие в этом опыте.

2. Какой можно сделать при этом вывод?

3. Происходит ли окисление крахмала гидроксидом меди (II)?

Опыт 7. Ферментативный гидролиз крахмала.

Под действием фермента слюны амилазы (птиамина) происходит гидролиз крахмала.

1) В две пробирки налейте по 1мл 0,1% раствора крахмала. В первую пробирку добавить раствор йода, отметить окрашивание. Во вторую пробирку добавить 1 мл разведенной в 10 раз слюны. Содержание пробирки перемешать, встряхнуть и оставить для инкубации на 5 – 7 минут. После инкубации добавить 1 – 2 капли раствора йода. Отметить окрашивание.

2) Разжуйте хорошо маленький кусочек черного хлеба и поместите его в пробирку. Внесите в нее 1 каплю раствора сульфата меди (II) и несколько капель раствора гидроксида натрия до образования раствора слабо-голубого цвета. Пробирку с содержимым нагрейте на пламени спиртовки. Что наблюдается?

Вопросы и задания для самостоятельной работы

1. Напишите схему реакции ферментативного гидролиза крахмала.

2. Почему не наблюдается окрашивание во второй пробирке?

3. Сравните условия ферментативного и кислотного гидролиза крахмала.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Биологическая роль углеводов и их распространение в природе.

2. Особенности строения углеводов, изомерия и конформации моноз.

3. Физические и химические свойства моносахаридов. Гликозиды, сахарные кислоты, аминосахара.

4. Олигосахариды. Характеристика основных дисахаридов животных и растительных организмов. Их строение и свойства (мальтоза, целлобиоза, лактоза, сахароза).

5. Полисахариды II порядка (гликаны). Строение и свойства основных представителей гомогликанов (крахмал, гликоген, целлюлоза, хитин, пектиновые вещества).

6. Гетерогликаны. Строение и биологическая роль (гиалуроновая кислота, хондроитинсульфаты, гепарин).

7. Перечислить групповые и специфические реакции на углеводы. Рассмотреть их химизм.

8. Химизм реакции Троммера и реакции с фелинговой жидкостью. Какие из перечисленных углеводов и почему можно открыть с помощью этих реакций: фруктоза, глюкоза, дезоксирибоза, мальтоза, сахароза.

9. Какие принципы положены в основу методов определения сахара с помощью о-толуидина. Почему эти методы позволяют определить «истинную глюкозу»?

Лабораторная работа № 9

СВОЙСТВА ЖИРОВ.
МЫЛА И СИНТЕТИЧЕСКИЕ МОЮЩИЕ СРЕДСТВА

К липидам относится большая группа довольно разнообразных соединений, нерастворимых в воде и хорошо растворимых в органических растворителях.

Наиболее распространенные жирные кислоты – стеариновая, пальмитиновая (насыщенные), олеиновая, линолевая, линоленовая (ненасыщенные). От соотношения входящих в состав ацилглицеринов насыщенных и ненасыщенных жирных кислот зависит ряд их свойств: температура плавления, йодное число, растворимость, способность образовывать эмульсии и другие свойства.

Опыт 1. Растворимость и эмульгирование жиров

1) В 4 пробирки помещают по 1-2 капли растительного масла. Приливают в первую пробирку 1 мл бензола, во вторую – 1 мл этилового спирта, в третью – 1 мл гексана, в четвертую – 1 мл воды. Взбалтывают содержимое пробирок и дают постоять.

Отмечают растворимость жира в каждом из перечисленных веществ. Делают вывод: какие из них являются хорошими растворителями жиров, а какие – плохими.

2) В 5 пробирок вносят по 2 капли растительного масла и 3 капли дистиллированной воды. Затем добавляют по 4 капли: в 1-ю пробирку - раствора белка, во 2-ю пробирку - гидроксида натрия, в

3-ю - бикарбоната натрия, в 4-ю - мыльного раствора, 5-я пробирка служит для контроля.

Запишите свои наблюдения. Для каких практических целей используется эмульгирование жиров?

Опыт 2. Обнаружение жиров (образование акролеина при разложении жира)

В сухую пробирку помещают 0,5 г сухой щелочи (гидроксид калия) и 1-2 капли растительного масла (или кусочек твердого жира). Осторожно нагревают пробирку, перемешивая содержимое. При этом смесь чернеет, выделяются густые белые пары, содержащие пары воды других летучих продуктов. Резкий раздражающий запах говорит об образовании акролеина.

(Вещество, не имеющее глицеринового остатка, например, воск, акролеин не выделяет).

Напишите уравнение реакции образования акролеина.

Опыт 3. Обнаружение ненасыщенных жирных кислот в растительном масле

Налейте в пробирку 1 мл растительного масла, прибавьте 1 мл бромной воды. Перемешайте содержимое пробирки.

Отметьте и объясните происходящие изменения. Запишите уравнение химической реакции.

Опыт 4. Омыление жиров в водно-спиртовом растворе

В пробирку поместите жир, маргарин или сливочное масло, прилейте 8–10 мл 15 %-го спиртового раствора гидроксида натрия. Смесь перемешайте, нагрейте до кипения. Омыление ведите до тех пор, пока жидкость не станет однородной. К полученной густой жидкости добавьте насыщенный раствор хлорида натрия и кипятите раствор 1–2 минуты

Какое вещество появилось на поверхности в результате проделанного опыта? Для каких практических целей используется процесс омыления жиров?

Опыт 5. Выделение свободных жирных кислот из мыла

В пробирку помещают 1-2 мл концентрированного раствора мыла и добавляют несколько капель разбавленной серной кислоты. Выпадает белый хлопьевидный маслянистый осадок свободных жирных кислот (для ускорения выпадения осадка пробирку можно погреть на водяной бане).

Напишите уравнение происходящей реакции.

Опыт 6. Получение нерастворимых солей жирных кислот

В три пробирки налейте по 5-10 капель раствора мыла. В первую добавьте раствор ацетата свинца, во вторую – раствор хлорида кальция, в третью – раствор сульфата меди.

Объясните изменения, происходящие в каждой пробирке. Напишите уравнения реакций.

Опыт 7. Изомеризация олеиновой кислоты.

В пробирку помещают 1 мл олеиновой кислоты, немного медных стружек и 1,5 мл концентрированной азотной кислоты. Содержимое пробирки энергично встряхивают и оставляют в штативе под тягой.

Наблюдают выделение оксида азота (IV) бурого цвета, образующегося в результате взаимодействия концентрированной азотной кислоты с медью.

Оксиды азота являются катализаторами процесса изомеризации олеиновой кислоты в элаидиновую. Вспенившаяся масса олеиновой кислоты (цис-изомер) в течение 1 ч затвердевает вследствие образования твердой элаидиновой кислоты (транс-изомер).

Напишите уравнение происходящей реакции.

Опыт 8. Окисление олеиновой кислоты раствором перманганата калия

В пробирку поместите 2 капли олеиновой кислоты, добавьте 2 капли 5 % раствора карбоната натрия Na_2CO_3 и 2 капли 2 % раствора перманганата калия $KMnO_4$.

Встряхните пробирку несколько раз. Отметьте, какие изменения происходят с первоначальной фиолетовой окраской раствора. Объясните изменения, происходящие в пробирке. Напишите уравнения реакций.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Биологическое значение и классификация липидов. Напишите формулы и охарактеризуйте простые липиды: ацилглицерины, стериды, воска.

2. Ацилглицерины, их строение, физико-химические свойства и роль в организме.

3. Строение, физико-химические свойства жирных кислот.

4. Строение фосфолипидов и их свойства.

5. Сфинголипиды. Их строение и свойства.

6. Стеролы и стериды. Наиболее важные биологически активные стериды (гормоны, желчные кислоты, витамин D).

7. Дайте общую характеристику сложных липидов. Какова их биологическая роль.

8. Привести формулу триацилглицерина, в состав которого входят олеиновая, стеариновая и пальмитиновая кислоты. Дать рациональное название.

Лабораторная работа №10

КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ГОРМОНЫ

Гормоны - биологически активные органические вещества, вырабатываемые в эндокринных железах (щитовидной, паращитовидных, надпочечниках, поджелудочной железе, половых железах, гипофизе, эпифизе и гипоталамусе). Деятельность эндокринных желез находится под контролем центральной нервной системы.

По химической природе гормоны делят на гормоны полипептидной и белковой природы, гормоны - производные аминокислот и гормоны стероидной природы. К первой группе относятся гормоны паращитовидных желез, передней, задней и средней доль гипофиза, поджелудочной железы. Производными аминокислот являются гормоны мозгового слоя надпочечников, щитовидной железы, эпифиза. К третьей группе относятся гормоны коркового слоя надпочечников и половых желез.

Опыт 1. Качественные реакции обнаружения адреналина.

Адреналин (метиламиноэтанолпирокатехин) – гормон мозгового вещества надпочечников – дает реакции, характерные для пирокатехинов. Адреналин с ионами железа (III) образует соединение изумрудно-зеленого цвета, легко окисляется диазореактивом с образованием адренохрома красного цвета.

<u>а) Реакция с хлоридом железа (III).</u>

В пробирку внесите 1 мл адреналина (1:1000), прибавьте 1 каплю 3 % раствора хлорида железа (III) и перемешайте. Появляется изумрудно-зеленое окрашивание.

К смеси добавьте 1 каплю 10 % раствора едкого натра – возникает вишнево-красное окрашивание.

б) Реакция с диазореактивом.

К 1 мл 1 % сульфаниловой кислоты прибавьте 1 мл 5 % раствора нитрита натрия (получается диазореактив).

К диазореактиву добавьте 1,5 мл раствора адреналина (1:1000) и 1мл 10% раствора карбоната натрия.

Смесь перемешайте. Раствор окрашивается в красный цвет.

Опыт 2. Качественные реакции на инсулин

Инсулин является гормоном белковой природы, поэтому для него будут характерны все качественные реакции на белки.

а) Обнаружение инсулина биуретовой реакцией.

В пробирку к 5 каплям раствора инсулина прибавьте 5 капель 10% раствора едкого натра и 1 каплю 1 % раствора сернокислой меди. Смесь перемешайте. Наблюдается появление фиолетового окрашивания. Объяснить механизм реакции.

б) Обнаружение инсулина реакцией с сульфосалициловой кислотой.

В пробирку внесите 1 мл раствора инсулина, добавьте 5 капель 20 % раствора сульфосалициловой кислоты. Наблюдается выпадение осадка белого цвета. Объясните механизм реакции.

в) Обнаружение инсулина реакцией Фоля.

В термостойкую пробирку внесите 5 капель раствора инсулина, 5 капель 30 % раствора едкого натра и 1-2 капли 5 % раствора уксуснокислого свинца. Смесь нагрейте. При длительном нагревании жидкость в пробирке буреет и выпадает черный осадок сернистого свинца. Объяснить механизм реакции.

г) Реакция Геллера на инсулин.

К 10 каплям концентрированной азотной кислоты осторожно по стенке пробирки прилейте равный объем (10 капель) раствора инсулина. Пробирку наклоните под углом 45° так, чтобы жидкости не смешивались. На границе двух жидкостей образуется белый аморфный осадок в виде небольшого кольца.

Опыт 3. Качественная реакция на тироксин

При разрушении тиреоидина образуется йодид калия, из которого йод легко вытесняется йодатом калия.

В пробирку наливают 24 капли гидролизата тиреоидина, прибавляют 3 капли 1%-ного раствора крахмала, 1 каплю фенолфталеина, а затем 4 капли йодата калия и приблизительно 10–15 капель 10%-ного раствора серной кислоты до обесцвечивания и появления синего окрашивания.

Опыт 4. Качественая реакция на йод в тиреоидине

Тиреоидин (препарат, полученный из щитовидной железы животных) подвергается кислотному гидролизу: отщепившуюся йоди-

сто-водородную кислоту окисляют в свободный йод йодноватисто-кислым калием:

$$5HI + KIO_3 + HNO_3 \rightarrow 3I_2 + KNO_3 + 3H_2O.$$

В пробирку вносят половину таблетки тиреоидина и 10 капель концентрированной азотной кислоты. Для проведения гидролиза пробирку нагревают 1-2 мин на водяной бане (если жидкость вспенивается, нагревание прекращают). Затем добавляют в пробирку 20 капель раствора йодноватистокислого калия, раствор осторожно перемешивают и охлаждают. Добавляют в пробирку 10-15 капель хлороформа, встряхивают и отмечают, что хлороформ (нижний слой) окрасился йодом в фиолетовый цвет

Опыт 5. Качественная реакция на стероидные гормоны.

Дексаметазон – синтетический гормон коры надпочечников, глюкокортикостероид (ГКС), метилированное производное фторпреднизолона. Оказывает противовоспалительное, противоаллергическое, десенсибилизирующее, противошоковое, антитоксическое и иммунодепрессивное действие.

К 5 каплям дексамитазона добавить 1 каплю 10 % раствора сахарозы. После тщательного перемешивания осторожно по стенке пробирки добавить концентрированную серную кислоту. На границе двух жидкостей появляется пурпурно-красное кольцо.

Полученные результаты оформить в виде следующей таблицы.

Таблица 4 – Качественные реакции на гормоны

Название железы внутренней секреции	Название гормона	Название реакции	Окрашивание	Вывод (химическая природа гормона)
1				
2				

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1.Какие железы называются железами внутренней секреции и как называются вещества, выделяемые этими железами?

2. Перечислите железы внутренней секреции. Где они находятся?

3. Какая железа играет ведущую роль в системе эндокринных органов? Каким путем она влияет на другие железы внутренней секреции?

4. Назовите гормоны передней доли гипофиза? Их значение (кратко).

5. Назовите гормоны щитовидной железы. Их значение.

6. Значение вилочковой железы.

7. Какие и где вырабатываются гормоны в поджелудочной железе? Их значение.

8. Какие гормоны вырабатываются в корковом веществе надпочечников? Их значение.

9. Какие гормоны вырабатываются мозговым веществом надпочечников? Их значение.

10. Назовите женские и мужские половые гормоны. Где они образуются и каково их значение

Лабораторная работа № 11

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА СМЕШАННОЙ СЛЮНЫ

Слюна – смесь секретов слюнных желез, выделяющихся в полость рта и участвующих в пищеварении. В выполнении биологических функций участвует смешанная слюна, представляющая собой смесь секретов слюнных желез, микрофлоры полости рта и продуктов её жизнедеятельности, слущенных эпителиальных клеток слизистой полости рта.

Ежесуточно у взрослого человека выделяется до 2 литров слюны. Смешанная слюна вязкая (за счет гликопротеинов), мутная (за счет микрофлоры и слущенных эпителиальных клеток) биологическая жидкость, pH которой зависит от состояния полости рта и характера пищи. При употреблении растительной пищи pH слюны сдвигается в щелочную, а животной – в кислую сторону.

Опыт 1. Определение pH слюны

На полоску универсальной индикаторной бумаги наносят несколько капель неразбавленной слюны. Сравнить развивающуюся окраску с эталонной шкалой. Сделать заключение о pH данной слюны.

Опыт 2. Определение минеральных компонентов слюны

<u>а) Определение хлоридов.</u> В пробирку вносят 10-15 капель слюны, добавляют 2-3 капли 30 % азотной кислоты и 3-4 капли 1 %

раствора азотнокислого серебра. Образуется осадок хлорида серебра.

б) Обнаружение кальция Ca^{2+}. К 1 мл слюны добавить 1-2 капли 3% уксусной кислоты и 1-2 капли аммония щавелевокислого (4% раствор). Выпадает осадок щавелевокислого кальция.

Записать реакции а и б.

в) Обнаружение фосфатов. В пробирку наливают 1 мл молибденового реактива, нагревают почти до кипения. После этого добавляют 10-15 капель слюны. Выпадает (не сразу) желтый осадок фосфорномолибденовокислого аммония, нерастворимый в азотной кислоте.

г) Обнаружение роданидов. Роданиды обнаруживаются по появлению красного окрашивания при добавлении к слюне хлорида железа. Образуется красное комплексное соединение, содержащее железо и роданид.

В пробирку вносят 5 капель слюны (только что взятой), 2 капли 2 % раствора кислоты хлористоводородной и 2 капли раствора хлорида железа. Возникает красное окрашивание, интенсивность которого зависит от содержания в слюне роданидов. Особенно яркое окрашивание наблюдается у курильщиков. Сравните!

Опыт 3. Открытие органических компонентов слюны

Белки в слюне можно определить биуретовой реакцией

В пробирку вносят 15-20 капель неразбавленной слюны, добавляют 1 каплю 1 % раствора сульфата меди и 4-5 капель 10 % гидроксида натрия.

Записать результат.

Опыт 4. Выделение и свойства муцина слюны

Муцин относится к гликополипопротеидам, т.е. сложным белкам, имеющим в составе углеводы и липидный компонент. Раствор муцина обладает большой вязкостью, благодаря чему пищевой комок делается скользким, легко проглатывается и продвигается по пищеводу.

Ход работы: В одну из двух пробирок помещают 2 мл слюны и прибавляют 4-5 капель концентрированной уксусной кислоты (*избегать избытка!*): Выделяется осадок муцина. Сгусток вынимают стеклянной палочкой, помещают в другую пробирку и проделывают реакцию Подобедова — Молиша: к сгустку добавляют 4-5 капель спиртового раствора альфа-нафтола, перемешивают и по стенке подслаивают около 1 мл концентрированной серной кислоты. На границе двух слоев жидкости постепенно появляется фиолетово-красное кольцо.

Оставшийся в первой пробирке после удаления сгустка муцина раствор, содержащий все белки, кроме муцина, фильтруют, и фильтрат делят на 2 части с одной проделывают биуретовую реакцию, а к другой прибавляют 1/3 объема насыщенного раствора сернокислого аммония и кипятят, выпадает осадок белка

Опыт 5. Открытие каталазы

В процессе окисления некоторых веществ образуется перекись водорода, ядовитая для организма, которая может в нем накапливаться.

Биологическая роль каталазы заключается в разложении вредной для организма перекиси водорода на молекулярный кислород и воду

Ход работы: В две пробирки берут по 1 мл воды, добавляют по 2 капли слюны, и одну пробирку кипятят 2-3 минуты для инактивации фермента. После охлаждения в обе пробирки добавляют 5-10 капель 3% раствора перекиси водорода, встряхивают и наблюдают за выделением пузырьков кислорода. При встряхивании кипяченой пробы выделения пузырьков не происходит.

Опыт 6. Открытие амилазы

Принцип метода основан на способности фермента гидролизовать крахмал и превращать его через декстрины в мальтозу.

Ход работы: В пробирку помещают 20-30 капель 0,5 % раствора крахмала, добавляют несколько капель неразведенной слюны и оставляют при комнатной температуре на 10 минут. Затем добавляют в пробирку 2-3 капли реактива Люголя.

Для сравнения проделывают такой же опыт с исходным раствором крахмала.

Записать данные, сделать заключение.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Рассмотрите понятия: секрет слюнных желез, смешанная слюна, общая ротовая жидкость.

2. Перечислите функции слюны. Какие компоненты слюны необходимы для этого?

3.Строение и функции белков слюны.

4. Особенности структуры муцинов и их функции.

5. Какие ферменты присутствуют в слюне, их источники и биологическая роль.

6. Назовите гормон, который вырабатывается слюнными железами.

7. Поясните, почему в слюне курильщиков много роданидов.

Лабораторная работа № 12

БИОГЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ (s- и p-элементы)

s-элементы

s-элементы IA и IIA групп содержатся в организме в макроколичествах и относятся к макробиогенным элементам. Катионы этих элементов составляют 90 % от общего содержания металлов в организме человека. Они составляют электролитный фон организма. В организме взрослого человека содержание катионов натрия составляет около 100 г, катионов калия - 140 г, при этом в сутки с пищей поступает катионов натрия 8-12 г, а калия 2-6 г.

p-элементы

Благодаря эволюции основу живых систем составляют только шесть элементов: углерод, водород, кислород, азот, фосфор и сера, - получивших название органогены. Общая массовая доля этих элементов в организме человека составляет 97,3 %. Органогены образуют в основном водорастворимые соединения, что способствует их концентрированию в живых организмах, содержащих более 60% воды, а ряд других – фтор, хлор, иод являются незаменимыми микроэлементами

p-Элементы - органогены участвуют в построении всех биологических структур и содержатся в организме в макроколичествах. Они играют, в основном, роль пластического материала в построении тканей, в виде анионов поддерживают осмотическое давление,

влияют на pH среды, ионное равновесие, состояние коллоидов и т. д.

Опыт 1. Обнаружение катиона кальция

К 5-6 каплям раствора соли кальция прилейте 5-6 капель оксалата аммония. Наблюдается выпадение белого мелкокристаллического осадка кальций оксалата.

Разделите осадок на две части. К одной части прилейте раствор HCl, к другой - раствор CH_3COOH.

Что наблюдается? Напишите уравнения проведенных реакций.

Рассмотренная реакция применяется для осаждения ионов Ca^{2+} при определении кальция в моче и в крови перманганатометрическим методом.

Опыт 2. Качественная реакция катиона бария

К 5-6 каплям раствора $BaCl_2$ добавьте равный объем раствора K_2CrO_4. Наблюдается выпадение желтого осадка. Осадок $BaCrO_4$ растворим в соляной и азотной кислотах (но не в серной) и не растворим в уксусной кислоте (испытайте).

Составьте уравнения возможных реакций.

Опыт 3. Реакция с нитратом серебра

Поместите в три пробирки по 3-4 капли раствора нитрата серебра. В первую пробирку добавьте 5-6 капель раствора хлорида натрия во вторую 5-6 капель бромида калия, в третью 5-6 капель

йодида калия. Сравните цвета полученных осадков. Напишите уравнения реакций.

К полученным галогенидам прилейте водный раствор аммиака. Отметьте, какие осадки растворились. Напишите уравнения реакций.

Аналитическая реакция на хлорид ион используется в лабораторно-клиническом анализе для количественного определения хлорид ионов в крови и моче.

Опыт 4. Свойства нитратов и нитритов

а) Сопоставление окислительных свойств нитратов и нитритов.

В две пробирки налейте раствор йодида калия. В одну пробирку добавьте раствор KNO_2, а в другую - KNO_3. Наблюдайте, изменилась ли окраска растворов.

Затем добавьте в пробирки 1-2 капли концентрированной серной кислоты.

Составьте уравнения реакций, расставьте коэффициенты.

б) Аналитическая реакция нитритов с перманганатом калия.

К 4-5 каплям раствора нитрита натрия прилейте 5-6 капель серной кислоты. К полученному раствору добавьте по каплям раствор $KMnO_4$.

Наблюдайте обесцвечивание перманганата калия. Составьте уравнение реакции и расставьте коэффициенты, пользуясь методом электронного баланса.

Опыт 5. Свойства фосфатов

К 3-4 каплям растворимых солей бария, кальция и магния добавьте 1-2 капли раствора NH_4OH и 1-2 капли раствора Na_2HPO_4.

Укажите цвет и состав полученных осадков. Изучите их растворимость в соляной и уксусной кислотах.

Напишите уравнения соответствующих реакций. Какую из известных вам кислот нельзя применять в данном случае и почему?

Опыт 6. Получение малорастворимых ортофосфатов

В пробирки налейте по 1 мл 0,1 М растворов солей алюминия, никеля и кобальта, добавьте в каждую пробирку по 1 мл 0,1 М раствора Na_2HPO_4. Наблюдайте осаждение средних ортофосфатов. Отметьте цвет осадков. Напишите уравнения реакций.

Опыт 7. Окислительно-восстановительные свойства пероксида водорода

<u>а) Пероксид водорода в роли окислителя</u>

В пробирку прилейте 3-4 капли раствора йодида калия, 2-3 капли пероксида водорода.

Какое вещество изменило окраску раствора? Напишите уравнение реакции и расставьте коэффициенты, пользуясь методом электронного баланса.

<u>б) Пероксид водорода в роли восстановителя</u>

В пробирку прилейте 3-4 капли пероксида водорода, подкислите 1-2 каплями серной кислоты, затем прилейте 1-2 капли раствора перманганата калия.

Что наблюдается? Напишите уравнение проведенной реакции и расставьте коэффициенты, пользуясь методом электронного баланса.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Понятие биогенности химических элементов.

2. Классификация биогенных элементов.

3. Характеристика электронных структур атомов и катионов s- и p-элементов.

4. Особенности свойств ионов элементов IA и IIA групп (комплексообразование, образование осадков).

5. Химическое сходство и биологический антагонизм (натрий - калий, магний - кальций).

6. Биологическая роль s и p-элементов, применение их в медицине.

Лабораторная работа 13

БИОГЕННЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ (d -элементы)

d-элементы

Большинство d-элементов (Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Mo) являются биогенными микроэлементами. К безусловно биогенным d-элементам относят d-элементы четвертого периода и молибден.

В основе биологического действия ионов d-металлов в организме находится их способность образовывать комплексы с биосубстратами. Биокомплексы металлов условно подразделяют на транспортные (трансферрин); аккумуляторные (миоглобин, ферритин); биокатализаторы и активаторы инертных процессов.

Опыт 1. Аналитическая реакция Ag^+

В пробирку к раствору соли серебра (1-2 капли) прибавьте 1-2 капли раствора соляной кислоты. Что при этом наблюдается? Напишите уравнение реакции в молекулярном и ионном виде.

Часть осадка перенесите в другую пробирку и прилейте избыток раствора NH_4OH. Опишите наблюдаемые процессы. Напишите уравнение реакции.

Прибавьте к полученному раствору 5-6 капель концентрированной азотной кислоты. Что при этом наблюдается? Составьте уравнение реакции в молекулярном и ионном виде и объясните происходящие явления, исходя из реакций конкурентных взаимодействий.

Опыт 2. Аналитическая реакция Cu^{2+}

В пробирку поместите 1-2 капли раствора сульфата меди (II) и добавьте избыток водного раствора аммиака. Что при этом наблюдается? Напишите уравнения реакций в молекулярном и ионном виде.

Опыт 3. Качественная реакция на Fe^{2+}

К 2-3 каплям раствора $FeSO_4$ добавьте 1-2 капли $K_3[Fe(CN)_6]$. Содержимое пробирки разбавьте дистиллированной водой. Каков цвет осадка? Проверьте его растворимость в кислотах и щелочах.

Напишите уравнения реакций в молекулярной и ионной форме. Сделайте вывод.

Опыт 4. Аналитические реакции Fe^{3+}

1. Реакция с $K_4[Fe(CN)_6]$.

К 2-3 каплям раствора соли железа (III) добавьте 1-2 капли HCl и 2-3 капли реактива. Содержимое пробирки разбавьте водой.

Напишите уравнение реакции в молекулярном и сокращенном ионном виде, указав признаки протекания реакции.

2. Реакция с KSCN.

К 2-3 каплям раствора соли железа (III) добавьте 1-2 капли HCl и 4-5 капель KSCN. Затем к окрасившемуся раствору добавьте раствор фторида натрия.

Напишите уравнения реакция в молекулярном и сокращенном ионном виде, указав признаки протекания реакции. Сравните результат реакции с аналогичной реакцией на Fe^{2+}.

Опыт 5. Качественная реакция на Zn^{2+}

К 4-5 каплям раствора соли цинка добавьте 4-5 капель раствора $K_4[Fe(CN)_6]$. Нагрейте смесь до кипения. Образуется белый осадок $K_2Zn_3[Fe(CN)_6]_2$.

Напишите уравнение реакции.

Испытайте осадок на растворение в кислотах HNO_3, HCl и щелочи NaOH. Сделайте соответствующие выводы.

Опыт 6. Восстановительная способность хрома (III) в щелочной среде (аналитическая реакция Cr^{3+})

К 2-3 каплям раствора соли Cr (III) добавьте 4-5 капель раствора NaOH до полного растворения образующегося в начале осадка $Cr(OH)_3$. Затем прилейте 2-3 капли 3% раствора H_2O_2 и нагрейте на водяной бане до изменения серо-зеленой окраски раствора в желтую.

Полученный раствор подкислите CH_3COOH и прилейте к нему 3-4 капли $BaCl_2$. Образование желтого осадка $BaCrO_4$ указывает на присутствие в растворе ионов CrO_4^{2-}.

Составьте уравнения протекающих реакций, в окислительно-восстановительных реакциях расставьте коэффициенты, укажите функции реагентов.

Опыт 7. Окислительная способность $K_2Cr_2O_7$ в кислой среде

К раствору $K_2Cг_2O_7$, подкисленному H_2SO_4, прилейте раствор Na_2SO_3. Наблюдайте изменение окраски раствора и объясните это явление. Напишите уравнение реакции, укажите ее тип и функции реагентов.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Приведите современную классификацию химических элементов в организме человека

2. Какие ионы s-элементов участвуют в поддержании ионного гомеостаза и какие физико-химические и физиологические процессы в организме человека они регулируют?

3. Охарактеризуйте электронное строение атома фосфора, укажите принадлежность к электронному семейству элементов. Какова биологическая роль фосфора в организме человека?

4. К какому электронному семейству относится атом железа? Приведите особенности его

электронного строения и ионов Fe^{2+}; $Fe.^{3+}$. Опишите биологические функции соединений железа в организме.

5. Назовите соединения серы , встречающиеся в организме, и укажите их биологические функции. Приведите примеры использования соединений серы в медицине

6. Приведите примеры биологически важных азотсодержащих соединений, укажите их роль в организме.

7.Приведите электронно-графическую формулы атома фтора и иона F. Какова роль фтора в формировании зубной эмали?

8. Какие ионы являются центральными в комплексных соединениях: гемоглобине, хлорофилле, витамине B_{12}? Напишите их электронные формулы. В окружении каких атомов они находятся?

9. Какие катионы и анионы могут находиться в костной ткани совместно с ионами Ca^{2+} и PO_4^{3-}? Приведите формулы соединений. Какие из них повышают, а какие понижают прочность костной ткани?

10. К какому электронному семейству принадлежит йод? Приведите электронную конфигурацию его валентного слоя. Опишите биологическую роль йода. К какому заболеванию приводит не достаток йода в пище

11. К какому электронному семейству принадлежит фтор? Напишите электронно-графическую формулу атома фтора. К каким изменениям в организме приводят дефицит фтора и избыток фтора в окружающей среде и питьевой воде? Как называются возникающие в этих случаях заболевания?

12. Соли тяжелых металлов ускоряют процесс разложения пероксида водорода (H_2O_2). Объясните, какое значение этот процесс имеет для организма? Какой фермент способствует утилизации H_2O_2 в организме? Напишите схему реакции

13. Пероксид водорода является термодинамически нестабильным соединением. Напишите реакцию его разложения, укажите роль его в организме и в медицинской практике

14. Напишите электронную формулу атома цинка и иона Zn^{2+}. В состав каких биологически важных веществ входит цинк? Опишите биологическую роль цинка в организме?

15. Опишите влияние соединений кадмия и ртути на живые организмы. Ответ поясните.

Лабораторная работа 14

КАЧЕСТВЕННЫЙ АНАЛИЗ СИЛЬНОДЕЙСТВУЮЩИХ И ТОКСИЧНЫХ ВЕЩЕСТВ

К ядовитым и сильнодействующим веществам относятся органические растворители (спирты, альдегиды, кетоны и др.), лекарственные препараты (барбитураты, алколоиды и т.д.), соли тяжелых металлов. Их обнаружение основано на использовании химических реакций.

Этиловый спирт.

Опыт 1.1. Реакция образования йодоформа CHJ_3

При нагревании этилового спирта с раствором йода и щелочью образуется йодоформ, обладающий специфическим запахом.

$CH_3 – CH_2 – OH + J_2 \rightarrow CH_3 – COH + 2HJ$

$CH_3 – COH + 3J_2 \rightarrow CJ_3 – COH + 3HJ$

$CJ_3 – COH + NaOH \rightarrow CHJ_3 + NaCOOH$

Ход работы: В пробирку вносят 2-3 капли исследуемого раствора и 4-6 капель 5%-ного раствора гидроксида натрия (или карбоната натрия). К этой смеси по каплям добавляют раствор йода до появления слабо-желтого окрашивания. Затем смесь несколько минут нагревают на водяной бане при 50оС. При наличии этилового спирта ощущается запах йодоформа.

При относительно больших количествах этилового спирта в пробе образуются кристаллы йодоформа, имеющие форму звездочек и шестиугольников.

Наберите пипеткой 2-3 капли полученной суспензии, поместите на предметное стекло, слегка выпарите на спиртовке до образования каемки. Рассмотрите под микроскопом кристаллы йодоформа. Кристаллы зарисуйте.

Опыт 1.2. Реакция получения уксусного альдегида (ацетальдегида).

Ход работы: к 1 мл исследуемого раствора добавляют 10% раствор серной кислоты до резко кислой реакции (по лакмусу). К этой смеси по каплям прибавляют 10% раствор бихромата калия до тех пор, пока раствор смеси не станет оранжево-красным. При наличии этилового спирта в исследуемом растворе появляется запах ацетальдегида.

Напишите уравнение окислительно-восстановительной реакции, лежащей в основе данного опыта, составьте электронный баланс, расставьте коэффициенты, укажите окислитель и восстановитель.

2.Уксусная кислота

Опыт 2.1. Реакция с хлоридом железа (III)

От прибавления хлорида железа (III) к ацетат-ионам появляется красная окраска, обусловленная образованием ацетата железа (III).

Ход работы: в пробирку вносят 2-3 капли исследуемого раствора и добавляют 1 каплю 5%-ного раствора хлорида железа (III). Появление красного окрашивания указывает на присутствие в рас-

творе ацетат-ионов. При нагревании окрашенного раствора происходит гидролиз, в результате которого выпадает бурый осадок.

При оформлении отчета следует написать уравнения реакций, лежащие в основе проведения данного опыта.

Опыт 2.2. Реакция этерификации.

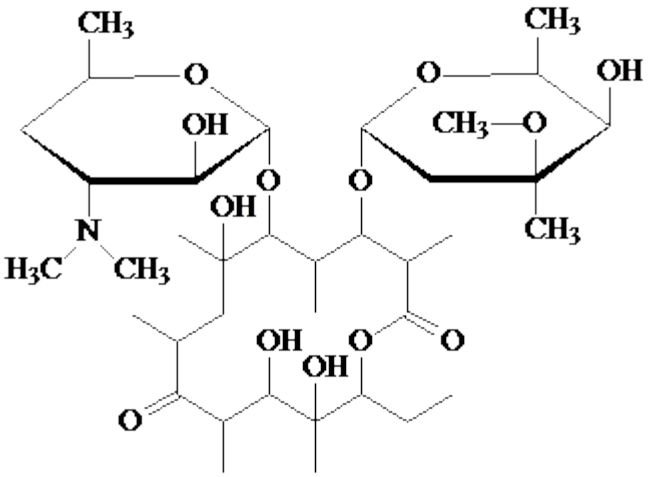
В результате реакции этерификации, т.е. взаимодействия уксусной кислоты с этиловым спиртом в присутствии серной кислоты, образуется уксусно-этиловый эфир, имеющий характерный запах.

Ход работы: в пробирку вносят 2-3 капли исследуемого раствора, добавляют 4-5 капель этилового спирта и 6-8 капель концентрированной серной кислоты. Смесь осторожно нагревают на пламени горелки до появления пузырьков газа. Появление специфического запаха уксусно-этилового эфира указывает на наличие в растворе ацетат-ионов.

При оформлении отчета следует написать уравнение реакции этерификации.

Опыт 3. Качественная реакция на эритромицин.

Эритромицин относится к группе антибиотиков-макролидов, содержащих в молекуле макроциклическое лактонное кольцо.

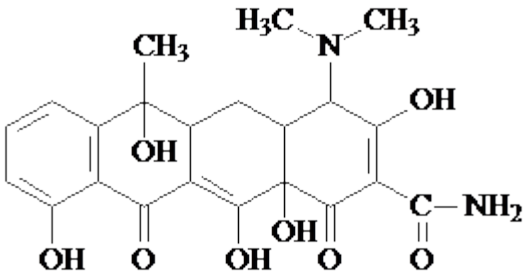


В основе метода лежит образование окрашенных продуктов окисления под действием концентрированных кислот.

Ход работы: К 0,02 г эритромицина добавить 2 мл концентрированной серной кислоты, в результате появляется красно-коричневое окрашивание.

Опыт 4. Качественная реакция на тетрациклин

Тетрациклины – группа антибиотиков, имеющая конденсированную четырехциклическую систему, имеющую общее название *тетрациклин*. В основе действия тетрациклинов лежит подавление ими биосинтеза белка микробной клетки на уровне рибосом.



Метод основан на свойстве концентрированной серной кислоты образовывать ангидропроизводные тетрациклинов. При последующем добавлении хлорида железа проявляется окраска, обуслов-

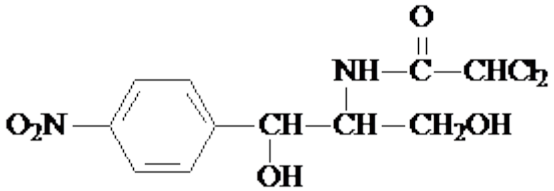
ленная наличием фенольных гидроксилов в молекуле тетрациклина.

Ход работы: 0,1 г тетрациклина поместить в пробирку, прибавить 2 мл концентрированной серной кислоты. При добавлении 1 мл воды окраска становится фиолетовой в случае тетрациклина, красной – в случае окистетрациклина и зеленой – в случае хлортетрациклина. При добавлении 1–2 капель раствора хлорида железа окраска переходит в коричневую или красно-коричневую.

Опыт 5. Качественная реакция на левомицетин

Левомицетин – синтетическое вещество, идентичное природному антибиотику хлорамфениколу, являющемуся продуктом жизнедеятельности Streptomyces venezuelae. Механизм антимикробного действия связан с нарушением синтеза белков микроорганизмов.

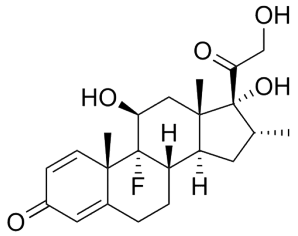
Метод основан на щелочном гидролизе левомицетина и выделении основания левомицетина желтого цвета.



Ход работы: К 0,1 г левомицетина добавить 2 мл 10% раствора гидроксида натрия и нагреть 1-2 минуты, в результате появляется желтое окрашивание, переходящее в красно-оранжевое.

Опыт 6. Качественная реакция на дексаметазон

Дексаметазон - $C_{22}H_{29}FO_5$. Гормональное средство (глюкокортикоид для системного и местного применения). Фторированный гомолог гидрокортизона.



Ход работы: Около 2 мг испытуемой субстанции вносят в 2 мл серной кислоты концентрированной и взбалтывают до растворения. В течении 5 мин должно образоваться бледное красновато-коричневое окрашивание. Полученный раствор прибавляют к 10 мл воды и перемешивают. Окрашивание должно исчезнуть.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1.Какие вещества можно отнести к сильнодействующим и ядовитым веществам?

2.Каким образом можно определить этиловый спирт?

3.Запишите реакцию получения уксусного альдегида.

4.Каким образом можно определить уксусную кислоту?

5.Напишите реакцию этерификации уксусной кислоты с этиловым спиртом в присутствии серной кислоты.

6. Какие роды микроорганизмов являются наиболее популярными продуцентами антибиотиков?

7. Какие группы антибиотиков вы знаете, кроме перечисленных в работе?

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Шамраев, А.В. Биохимия : учебное пособие / А.В. Шамраев ; Оренбургский государственный университет. – Оренбург : Оренбургский государственный университет, 2014. – 186 с. – Текст : непосредственный.

2. Гидранович, В. И. Биохимия: учебное пособие / В.И. Гидранович, А. В. Гидранович. – 3-е изд. – Минск : ТетраСистемс, 2014. – 528 с. – Текст : непосредственный.

3.Березов, Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин – 3-е изд. – М.: Медицина, 2008. – 704 с. – Текст : непосредственный.

4 Данилова, Л.А. Биохимия полости рта: учебное пособие / Л.А. Данилова, Н.А. Чайка. - СПб.: СпецЛит, 2012. – 62 с. – Текст : непосредственный.

5. Биохимия: практикум : учебно-методическое пособие / Г.Г. Борисова, Н.В. Чукина, И.С. Киселева, М.Г. Малева. Уральский федеральный университет им. первого Президента России Б. Н. Ельцина. – Екатеринбург : Издательство Уральского университета, 2017. – 118 с. – Текст : непосредственный

6. Чернов, Н.Н. Биохимия: практикум / Н.Н. Чернов. - Рн/Д: Феникс, 2019. – 120 с. – Текст : непосредственный.

7. Пинчук, Л. Г. Биохимия: учебное пособие / Л.Г. Пинчук, Е.П. Зинкевич, С.Б. Гридина ; ред. А. В. Дюмина. – Кемерово : Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, 2011. – 364 с. – Текст : непосредственный.