

Федеральное агентство по образованию
Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Бирская государственная социально-педагогическая академия»

**Рабочая тетрадь к лабораторному практикуму
по дисциплине «Биологическая химия»
Часть I**

*для студентов 4 курса факультета биологии и химии
Специальность: «032400.00 – Биология
с дополнительной специальностью химия»*

Бирск 2009

УДК 577.1(075.8)
ББК 28.072я73-5
К 59

Печатается по решению редакцион-
но-издательского совета
Бирской государственной социаль-
но-педагогической академии

Рецензенты:

Попкова Т.Н., к.х.н., доцент кафедры химии БирГСПА;

Минина Н.Н., к.х.н., доцент кафедры биологии растений и МПБ

К 59 Козлова Г.Г., Онина С.А. Рабочая тетрадь к лабораторному практикуму по дисциплине «Биологическая химия» // Методическое пособие для студентов вузов. – Бирск: Бирск. гос. соц.-пед. акад., 2008 – 67 с.

Пособие представляет собой рабочую тетрадь по дисциплине «Биологическая химия». Пособие включает вопросы статической биохимии и энзимологии. В нем подробно описаны методика выполнения лабораторных работ и физико-химические принципы проведения эксперимента. Изложен краткий теоретический материал для самостоятельной подготовки к практическому занятию, даны контрольные вопросы и упражнения. Приведены основные термины к теме.

Рекомендуется для студентов биолого-химического факультета специальности: «032400.00 – Биология с дополнительной специальностью химия».

© Авторы-составители:

Козлова Г.Г., Онина С.А.,
2009

© Бирская государственная
социально-педагогическая
академия, 2009

Предисловие

Лабораторные работы являются важным этапом учебного процесса, позволяющим совершенствовать теоретическую и практическую подготовку студентов.

Включенный в рабочую тетрадь практикум соответствует Государственному образовательному стандарту высшего профессионального образования 2005 г., учебным планам и программе по дисциплине «Биологическая химия» для специальности: «032400.00 – Биология с дополнительной специальностью химия». В практикум включены лабораторные опыты, способствующие приобретению практических навыков проведения биохимического исследования биологических объектов, что позволяет осуществлять преемственность содержания данной дисциплины с другими предметами химического и биологического блоков.

К каждой теме приведены контрольные вопросы, упражнения и задачи, которые помогут более глубоко разобраться в сущности эксперимента и связанных с ним теоретических положений. Для самостоятельной подготовки предложен теоретический материал, непосредственно связанный с выполняемыми работами, а также список рекомендуемой литературы. В конце каждой темы приведены основные термины.

СВОЙСТВА АМИНОКИСЛОТ

Цель: изучить тему «Аминокислоты», усвоить понятие «биполярный ион», выяснить отношение аминокислот к индикаторам, изучить химические свойства аминокислот.

ОПЫТ № 1. Физические свойства аминокислот

Цель опыта: Исследовать агрегатное состояние и растворимость аминокислот.

Реактивы и оборудование: глицин (крист.), весы, штатив с пробирками.

Ход опыта: Отметить цвет, агрегатное состояние аминокислот на примере глицина. Растворить 0,5г глицина в 1 мл воды. Сделать вывод о растворимости аминокислот в воде.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

ОПЫТ № 2. Отношение аминокислот к индикаторам

Цель опыта: Усвоить понятие «биполярный ион», изоэлектрическая точка аминокислот, зависимость соотношения разных форм аминокислот от pH раствора.

Реактивы и оборудование: 2%-ный раствор глицина, индикаторы (метиловый красный, метиловый оранжевый, лакмус), штатив с пробирками.

Ход опыта: В три пробирки налить по 1 мл 2%-ного раствора глицина, добавить по две капли растворов индикаторов: в первую пробирку – метиловый красный, во вторую – метиловый оранжевый, в третью – лакмус. Отметить окраску растворов индикаторов. Записать значение pH

(пользуясь справочником Ю.Ю.Лурье). В водном растворе α -аминокислоты существуют в виде равновесной смеси биполярного иона, катионной и анионной форм. Положение равновесия зависит от pH среды. Растворы моноаминомонокарбоновых кислот имеют слабокислую реакцию среды в связи с тем, что в них наряду с биполярным ионом присутствуют анионные формы.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

ОПЫТ № 3. Взаимодействие аминокислоты глицина с формальдегидом

Цель опыта: Показать образование замещённых иминов (оснований Шиффа).

При взаимодействии α -аминокислот с альдегидами образуются замещённые имины (основания Шиффа) через стадию образования карбиноламинов. Реакция с формальдегидом лежит в основе количественного определения α -аминокислот методом формольного титрования (метод Сёренсена). Амфотерный характер α -аминокислот не позволяет непосредственно проводить титрование их щелочью в аналитических целях. При взаимодействии α -аминокислот с формальдегидом образуются относительно устойчивые карбиноламины, свободную карбоксильную группу которых затем титруют щелочью.

Реактивы и оборудование: 2%-ный раствор глицина, индикатор метиловый красный, раствор формалина, штатив с пробирками.

Ход опыта: В пробирку к 2 мл 2%-ного раствора глицина добавить 1 каплю индикатора метилового красного. Отметить окраску раствора инди-

катора. Записать значение рН (пользуясь справочником Ю.Ю.Лурье). Добавить к раствору 1 мл нейтрализованного формалина. Отметить изменение окраски раствора индикатора. Записать значение рН. Объяснить полученные данные. Написать уравнение реакций глицина с 1 моль формальдегида.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

ОПЫТ № 4. Реакция аминокислот с азотистой кислотой

Цель опыта: Экспериментально идентифицировать аминокруппу в аминокислотах. Аминокислоты как первичные амины реагируют с азотистой кислотой с выделением азота. Эту реакцию использовали для количественного определения аминокислот.

Реактивы и оборудование: 10%-ный раствор глицина, 10%-ный раствор нитрита натрия, концентрированная уксусная кислота, штатив с пробирками.

Ход опыта: К 2 мл 10%-ного раствора глицина прилить 2 мл 10%-ного раствора нитрита натрия и 2 капли концентрированной уксусной кислоты. При встряхивании содержимого пробирки выделяются пузырьки азота. Написать уравнения реакций:

- а) Образование азотистой кислоты;
- б) Взаимодействие глицина с азотистой кислотой.

Наблюдаемые изменения:

Уравнения реакций:

Вывод:

ОПЫТ № 5. Реакция α -аминокислот с нингидрином

Цель опыта: Экспериментально идентифицировать аминогруппу в α -аминокислотах.

Реакция α -аминокислот с нингидрином очень чувствительна. Продукты реакции окрашены в розово-фиолетовый или сине-фиолетовый цвет, т.к. различные α -аминокислоты образуют соединения, отличающиеся оттенком.

Ее применяют для визуального обнаружения аминокислот в хроматографическом анализе, а также для спектрофотометрического определения аминокислот с помощью аминокислотных анализаторов (продукт поглощает свет в области 550-570 нм).

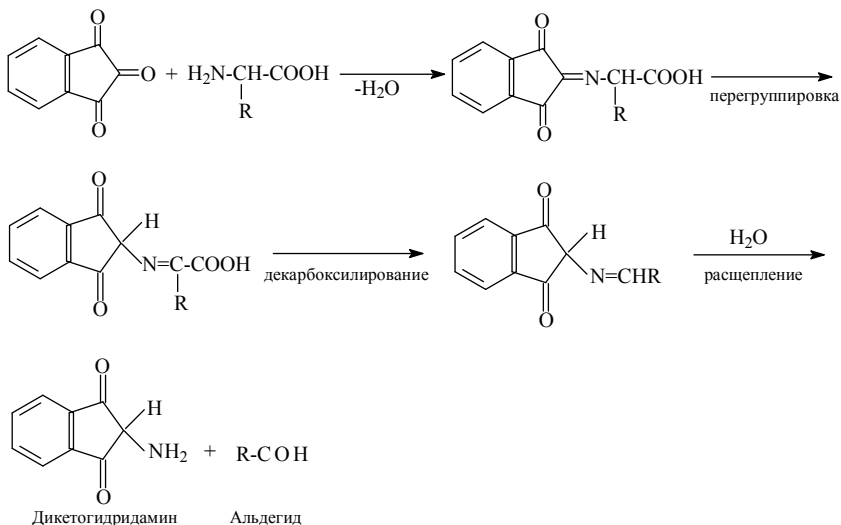
Реактивы и оборудование: 2%-ный раствор глицина, 0,1%-ный раствор нингидрина, штатив с пробирками, спиртовка, спички.

Ход опыта: К 2 мл 2%-ного раствора глицина добавить 0,5 мл 1%-ного раствора нингидрина. Содержимое пробирки встряхнуть и поставить в штатив. Через некоторое время появляется фиолетовая окраска с синеватым оттенком. Для ускорения реакции содержимое пробирки нагреть в пламени спиртовки.

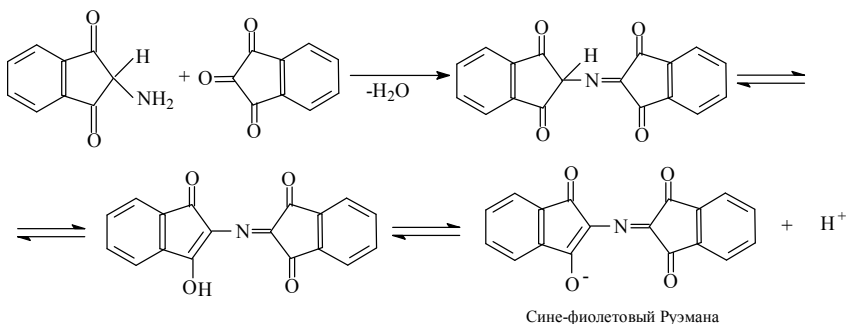
Механизм реакции

Сначала в результате взаимодействия α -аминокислоты с нингидрином выделяется вода и образуется Шиффово основание. Затем продукт

претерпевает перегруппировку, декарбоксилируется и расщепляется на альдегид и амин дикетогидриндена:



Амин дикетогидриндена взаимодействует еще с одной молекулой нингидрина. Образовавшееся соединение анализируется и переходит в окрашенную форму, получившую название сине-фиолетовое Рузмана по имени исследователя, впервые в 1910 году деятельно изучавшего эту реакцию.



Окраска обусловлена наличием в сине-фиолетовом Рузмана цепи сопряжения с ионными зарядами по концам цепи.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

Работа выполнена: ____ . ____ . 20 ____ г. _____
дата подпись студента

подпись преподавателя

Упражнения для самостоятельной работы по теме «Аминокислоты»

1. Установите формулу аминокислоты, 10,0 г которой могут прореагировать с 18,0 г 25%-ного раствора гидроксида натрия.
2. Вычислите массу 15%-ного раствора аминуксусной кислоты, которую можно получить из 15 г уксусной кислоты двухстадийным синтезом с выходом продукта на каждой стадии 75%?
3. Какие вещества и в каких количествах образуются при действии 50 мл соляной кислоты с концентрацией 3 моль/л на 14,6 г лизина?
4. В сильноокислом растворе аминокислота содержит две кислые группы: -NH_3^+ , -COOH . Какая из них будет более кислой? Какая группа будет легче отдавать протон при прибавлении основания к раствору? Какое соединение образуется?
5. В щелочном растворе аминокислота содержит две основные группы: -NH_2 , -COO^- . Какая из них будет более основной? Какая группа будет легче присоединять протон при прибавлении кислоты к раствору? Какое соединение образуется?
6. Установите строение соединения, имеющего молекулярную формулу $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$, если при нагревании образуется вещество состава $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2\text{N}_2$, при взаимодействии с ортофосфорной кислотой – вещество состава $\text{C}_3\text{H}_{10}\text{O}_6\text{NP}$, с гидроксидом натрия – $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2\text{NNa}$, с формальдегидом $\text{C}_4\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$. Ответ подтвердите уравнениями химических реакций.
7. Установите строение соединения, имеющего молекулярную формулу $\text{C}_3\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$, если при нагревании образуется вещество состава $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_2$, при взаимодействии с серной кислотой – вещество состава $\text{C}_3\text{H}_9\text{O}_6\text{NS}$, с азотистой кислотой – $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$, с метиловым спиртом в кислой среде – $\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2\text{N}$. Ответ подтвердите уравнениями химических реакций.

8. Установите строение соединения, имеющего молекулярную формулу $C_3H_7O_2NS$, если при нагревании образуется вещество состава $C_6H_{10}O_2N_2S_2$, при взаимодействии с азотистой кислотой – вещество состава $C_3H_6O_6S$, с соляной кислотой - $C_3H_8O_2NSCl$. Ответ подтвердите уравнениями химических реакций.
9. Объясните, почему аланин растворяется и в кислотах, и в щелочах, а сульфаниловая кислота – только в щелочах (ответ подтвердите уравнениями реакций).
10. Закончите уравнения следующих реакций: а) пролин + метилиодид; б) тирозин + диметилсульфат + гидроксид натрия; в) аспарагин + горячий водный раствор гидроксида натрия; д) тирозин + бромная вода.

Основные термины

Аминокислоты. Соединения, в молекулах которых одновременно присутствуют amino- и карбоксильные группы.

Цвиттер-ион (биполярный ион). Водный раствор аминокислоты, у которой аминогруппа протонирована, а карбоксильная - диссоциирована.

Изоэлектрическая точка. Значение pH раствора, при котором аминокислота сохраняется в виде цвиттер-иона и не перемещается к электродам.

Заменимые аминокислоты. Аминокислоты, синтезируемые в организме в достаточном количестве.

ХИМИЯ БЕЛКОВ

Цель: Обнаружить пептидные связи в белке куриного яйца, определить аминокислотный и элементный состав в белке, познакомиться с некоторыми специфическими свойствами белков (высаливание и денатурация), дать понятие об изоэлектрической точке белка.

Приготовление растворов белков для проведения качественных реакций.

а) Неразбавленный белок куриного яйца.

Отделяют белок трех куриных яиц от желтков. Считая, что среднее количество белка в одном яйце равно 33 г (а желтка – 19г), 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.

б) 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 марли, смоченной водой.

Фильтрат содержит раствор яичного альбумина, яичный глобулин остается в осадке. Полученный раствор яичного альбумина является приблизительно 0,5%-ный.

в) 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.

Цветные реакции на белки

Цветные реакции применяются для установления белковой природы вещества, идентификации белков и определения их аминокислотного состава в различных биологических жидкостях.

ОПЫТ №1. Биуретовая реакция на пептидную связь

Цель опыта: Определить в белке пептидные связи. Эта реакция является универсальной для всех белков, т.к. она открывает наличие не менее двух пептидных связей.

В основе биуретовой реакции лежит способность пептидных связей образовывать с сульфатом меди в щелочной среде окрашенные комплексные соединения, цвет которых зависит от длины полипептидной цепи.

Раствор нативного белка дает сине-фиолетовое окрашивание, а продукты его гидролиза (пептиды) – красно-фиолетовое.

Реактивы и оборудование: 0,5%-ный раствор белка, 10%-ный раствор NaOH, 1%-ный раствор CuSO₄, штатив с пробирками.

Ход опыта: В пробирку внести 5 капель разбавленного раствора белка, 3 капли 10%-ного раствора NaOH и 1 каплю 1% раствора CuSO₄; встряхнуть.

Наблюдаемые изменения:

Уравнения реакций:

Вывод:

ОПЫТ № 2. Нингидриновая реакция

Цель опыта: Доказать присутствие в природных белках аминокислот, содержащих аминогруппу в α – положении.

Белки, полипептиды и свободные аминокислоты дают с нингидрином синее или фиолетовое окрашивание. Эта реакция характерна для аминокислотных групп в α – положении, которые присутствуют в природных аминокислотах и белках. Сущность реакции состоит в образовании окрашенного соединения, состоящего из нингидрина и продуктов гидролиза белка.

Реактивы и оборудование: раствор разбавленного белка, 0,5%-ный раствор нингидрина, штатив с пробирками, держалка, спиртовка, спички.

Ход опыта: К 5 каплям разбавленного раствора яичного белка прилить 5 капель 0,5%-ного водного раствора нингидрина. Наблюдать медленное появление сине-фиолетового окрашивания. Для ускорения реакции пробирку нагреть на водяной бане или спиртовке.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

ОПЫТ № 3. Ксантопротеиновая реакция

Цель опыта: Обнаружить в белке ароматические аминокислоты. С помощью этой реакции в белке открывают ароматические аминокислоты - триптофан, фенилаланин и тирозин. Реакция обусловлена нитрованием бензольного кольца концентрированной азотной кислотой и выпадением осадка желтого цвета.

Реактивы и оборудование: раствор разбавленного яичного белка, концентрированная азотная кислота, 10%-ный раствор гидроксида натрия, штатив с пробирками, держалка, спиртовка, спички.

Ход опыта: К 5 каплям разбавленного раствора яичного белка добавить 3 капли конц. азотной кислоты и **осторожно!** нагреть. Отметить наблюдаемые явления. После охлаждения осторожно (не взбалтывая!) добавить 5-10 капель 10%-ного раствора гидроксида натрия до появления оранжевого окрашивания.

Наблюдаемые изменения:

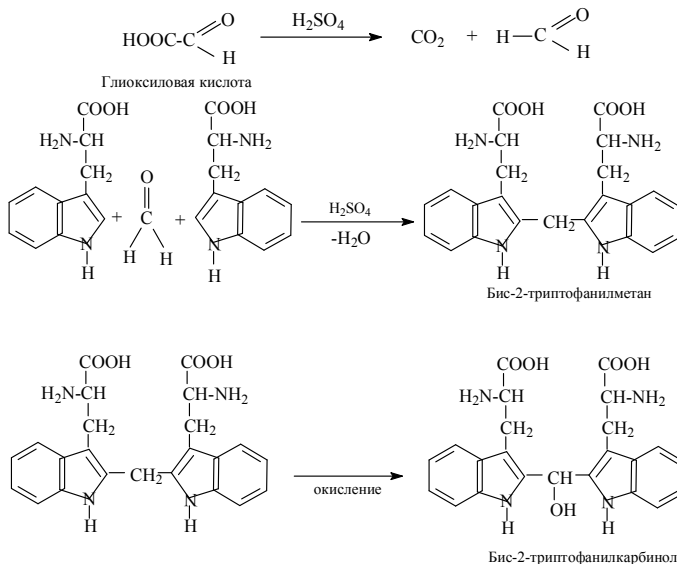
Уравнения реакций:

Вывод:

ОПЫТ № 4. Реакция Адамкевича

Цель опыта: Обнаружить в белке аминокислоту триптофан.

Эта реакция является качественной на аминокислоту триптофан и основана на способности его в кислой среде взаимодействовать с глиоксиловой кислотой, всегда присутствующей в уксусной кислоте в виде примеси:



Реактивы и оборудование: раствор неразбавленного белка, ледяная уксусная кислота, концентрированная серная кислота, штатив с пробирками, держалка, спиртовка, спички.

Ход опыта: Налить в пробирку 5 капель неразбавленного белка, 2 мл ледяной уксусной кислоты и несильно нагреть до растворения образующегося осадка. Охладить пробирку со смесью, осторожно, по стенке, прилить 1 мл H_2SO_4 (конц.) так, чтобы обе жидкости не смешались. При стоянии на границе двух жидкостей появляется красно-фиолетовое кольцо.

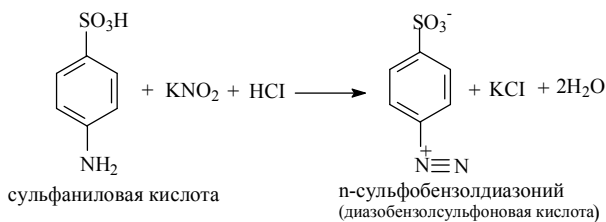
Наблюдаемые изменения:

Вывод:

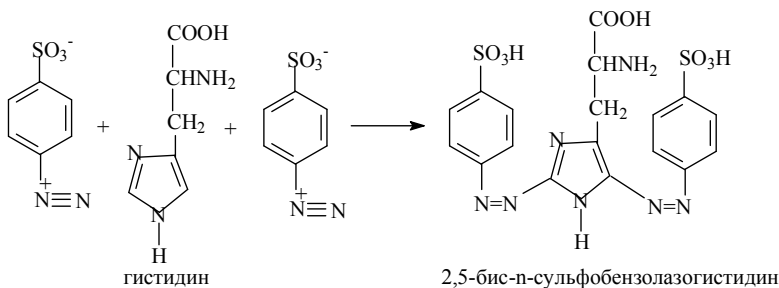
ОПЫТ № 5. Реакция Паули

Цель опыта: Обнаружить в белке аминокислоты гистидин и тирозин.

При взаимодействии кислого раствора сульфаниловой кислоты с нитритом натрия осуществляется реакция диазотирования и образуется диазобензолсульфовая кислота (п-сульфобензолдиазоний):



Последняя взаимодействует с гистидином и даёт продукт вишнёво-красного цвета:



Реактивы и оборудование: разбавленный раствор белка, 1%-ный раствор сульфаниловой кислоты; 5%-ный раствор HCl; 0,5%-ный раствор NaNO_2 , 10%-ный раствор Na_2CO_3 , штатив с пробирками.

Ход опыта: К 0,5 мл раствора сульфаниловой кислоты в растворе соляной кислоты прилить 1 мл раствора нитрита натрия, сильно встряхнуть и немедленно добавить сначала 1 мл разбавленного раствора белка, а затем, после перемешивания, 3 мл раствора карбоната натрия.

Наблюдаемые изменения:

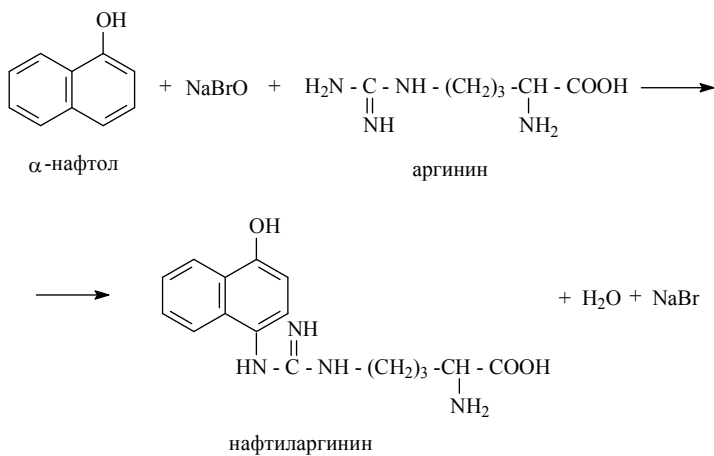
Вывод:

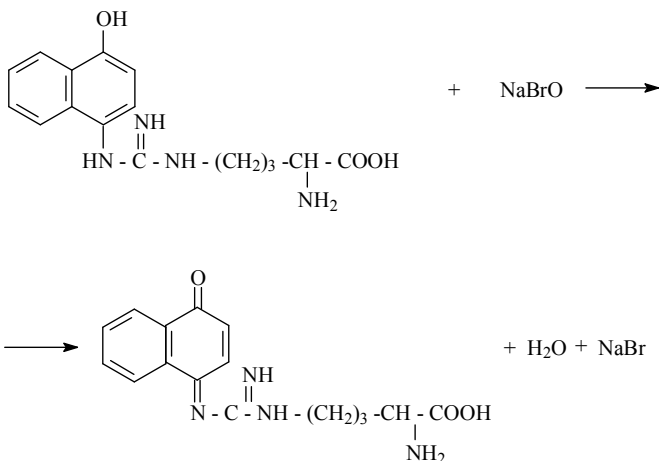
ОПЫТ № 6. Реакция Сакагучи

Цель опыта: Обнаружить в белке аминокислоту аргинин.

Механизм реакции аргинина с α -нафтолом в присутствии окислителя можно пояснить следующей схемой. Сначала α -нафтол в присутствии окислителя соединяется с гуанидиновой группировкой аргинина:

Затем при дальнейшем окислении нафтиларгинина образуется соединение типа хинонимина:





Реактивы и оборудование: разбавленный раствор белка, 10%-ный раствор NaOH, 0,2%-ный спиртовый раствор α -нафтола, раствор NaBrO, штатив с пробирками.

Ход опыта: К 1 мл разбавленного раствора белка добавить 0,5 мл раствора NaOH, затем несколько капель спиртового раствора α -нафтола. Перемешать. По каплям при перемешивании добавлять раствор NaBrO до появления окраски.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

ОПЫТ № 7. Реакция Фоля

Цель опыта: Обнаружить в белке аминокислоты цистеин и цистин. Доказать наличие в белке азота.

Под действием щелочей белки подвергается частичному гидролизу по пептидным связям. Наряду с этим наблюдается отщепление части аминок групп (реакция дезаминирования) в виде аммиака. При наличии в молекуле белка аминокислот, содержащих серу (цистеин, цистин), отщепляется также сера в виде аниона S^{2-} . Его наличие обнаруживается качественной реакцией.

Реактивы и оборудование: раствор неразбавленного белка, 30%-ный раствор NaOH, 5%-ный раствор ацетата свинца, штатив с пробирками, держалки, спиртовка, спички, универсальная индикаторная бумага.

Ход опыта: К 10 каплям неразбавленного белка добавить 20 капель 30%-ного раствора NaOH, несколько кипелок и кипятить смесь (Осторожно! Жидкость выбрасывает!). Выделение аммиака можно обнаружить влажной универсальной индикаторной бумагой, осторожно приблизив её к отверстию пробирки. Содержимое пробирки охладить, затем добавить несколько капель ацетата свинца (последний можно заменить раствором медного купороса).

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

Работа

выполнена:

____.____.20____

г. _____

_____ дата

_____ подпись студента

_____ подпись преподавателя

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ

Реакции осаждения. Обратимое осаждение

Высаливание – это обратимая коагуляция, при которой молекула белка обычно лишается гидратной оболочки, но структура ее при этом не нарушается, т.е. белок продолжает сохранять гидрофильные свойства. Осадок, образовавшийся под действием высаливающего реактива, растворяется водой. Это свойство белков можно использовать для выделения и очистки различных белковых фракций, т.к. различные белки высаливаются при разных условиях.

ОПЫТ № 1. Высаливание

Цель опыта: Доказать экспериментально, что высаливание – это обратимое осаждение.

Реактивы и оборудование: раствор неразбавленного яичного белка, насыщенный раствор сульфата аммония, 10%-ный раствор NaOH, 1%-ный раствор CuSO_4 , штатив с пробирками, стакан, воронка, стеклянная палочка, фильтровальная бумага.

Ход опыта: В пробирку налить 30 капель неразведенного яичного белка, добавить равное количество насыщенного раствора сульфата аммония. Содержимое пробирки перемешать. Получается полунасыщенный раствор сульфата аммония, при этом глобулиновая фракция белка осаждается, а альбуминовая остается в растворе. Через 5 минут осадок отфильтровать, на фильтре остается глобулиновая фракция, а в фильтрате – альбуминовая. Осадок с фильтра снять стеклянной палочкой и перенести в пробирку, куда добавить 5 капель воды. Осадок растворяется. Наличие в растворе белка можно доказать с помощью биуретовой реакции, которая будет положительной.

В пробирку с фильтратом добавить порошок сульфата аммония до полного насыщения раствора, т.е. до тех пор, пока не прекратится растворение соли. При этом выпадает осадок – альбумины. Его отфильтровать, растворить и провести биуретовую реакцию.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

Необратимое осаждение (денатурация)

Денатурация – это необратимая коагуляция, при которой молекула белка теряет свою гидрофильность из-за нарушения третичной и вторичной структуры. Соли тяжелых металлов, кислоты, щелочи, алкалоидные реактивы и многие другие вещества способны вызвать денатурацию белка, переводить его в изoeлектрическое состояние или образовывать с ним прочные комплексные соединения. В результате этих процессов белки могут необратимо коагулировать, т.е. выпадать в осадок. Это явление широко используется не только в диагностике, но и при оказании первой медицинской помощи.

ОПЫТ № 2. Осаждение белка при кипячении

Цель опыта: Изучить влияние среды и температуры на процесс денатурации белка.

Реактивы и оборудование: 0,5%-ный раствор яичного белка, 1%-ный раствор уксусной кислоты, 10%-ный раствор уксусной кислоты, 10%-ный раствор NaOH, штатив с пробирками, держалки, спиртовка, спички.

Ход опыта: В 4 пронумерованные пробирки прилить по 10 капель 0,5%-ного раствора яичного белка. Затем:

- 1) 1-ю пробирку нагреть до кипения, при этом раствор белка мутнеет, но осадок не выпадает, так как частицы денатурированного белка несут заряд. Это связано с тем, что яичный белок имеет кислые свойства (изоэлектрическая точка его – 4,8) и в нейтральной среде заряжен отрицательно.
- 2) во 2-ю пробирку добавить 1 каплю 1%-ного раствора уксусной кислоты и нагреть до кипения. Белок выпадет в осадок, так как его раствор приближается к изоэлектрической точке и белок теряет заряд (один из факторов устойчивости белка в растворе).
- 3) в 3-ю пробирку добавить 1 каплю 10%-ного раствора уксусной кислоты и нагреть до кипения. Осадка не образуется, так как в сильноокислой среде частицы белка приобретают положительный заряд (сохраняется один из факторов устойчивости белка в растворе).
- 4) в 4-ю пробирку добавить 1 каплю 10%-ного раствора гидроксида натрия и нагреть до кипения. Осадок не образуется, поскольку в щелочной среде отрицательный заряд частиц белка увеличивается.

Вывод:

ОПЫТ № 3. Осаждение белка концентрированными минеральными кислотами

Цель опыта: Исследовать процесс осаждения белка минеральными концентрированными кислотами.

Реактивы и оборудование: Раствор разбавленного яичного белка, HCl (конц), HNO₃ (конц), H₂SO₄ (конц), штатив с пробирками.

Ход опыта: В три пробирки налить по 5 капель концентрированной серной, соляной и азотной кислот. Затем, наклонив пробирку под углом 45°, осторожно по стенке пробирки (так, чтобы жидкости не смешивались) наложить такой же объем разбавленного раствора яичного белка. На границе двух слоев появляется осадок белка в виде белого кольца. Осторожно встряхивая пробирки, обнаружить растворение белка в пробирках с серной и соляной кислотами, тогда как в пробирке с азотной кислотой растворение белка не происходит.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

ОПЫТ № 4. Осаждение белка органическими кислотами

Цель опыта: Изучить процесс осаждения белка органическими кислотами.

Реактивы и оборудование: раствор разбавленного яичного белка, 10%-ный раствор трихлоруксусной кислоты, 10%-ный раствор сульфосалициловой кислоты, штатив с пробирками.

Ход опыта: В две пробирки налить по 5 капель 0,5%-ного раствора яичного белка. Затем в одну из них добавить 1-2 капли 10%-ного раствора сульфосалициловой кислоты, а в другую – такое же количество 10%-ного раствора трихлоруксусной кислоты.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

ОПЫТ № 5. Осаждение белка солями тяжелых металлов

Цель опыта: Исследовать процесс осаждения белка солями тяжелых металлов.

Реактивы и оборудование: раствор разбавленного яичного белка, 5%-ный раствор сульфата меди, 5%-ный раствор ацетата свинца, 1%-ный раствор нитрата серебра, штатив с пробирками.

Ход опыта: В 3 пробирки внести по 5 капель 0,5%-ного раствора яичного белка и прибавить: в 1-ю пробирку – 1 каплю 5%-ного раствора сульфата меди, во 2-ю – 1 каплю 5%-ного раствора ацетата свинца, в 3-ю – 5 капель 1%-ного раствора нитрата серебра. Во всех пробирках выпадает осадок. Затем в первую пробирку добавить избыток 5%-ного раствора сульфата меди и наблюдать растворение осадка.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

Работа

выполнена:

_____. _____. 20 ____

г. _____

дата

подпись студента

подпись преподавателя

Упражнения для самостоятельной работы по теме «Белки»

1. При полном гидролизе 14,6 г природного дипептида раствором гидроксида натрия (массовая доля щелочи 12%, плотность раствора 1,2 г/мл) из раствора выделено 11,1 г соли, массовая доля натрия в которой равна 20,72 %. Установите возможную структурную формулу исходного дипептида и вычислите объем раствора щелочи, израсходованного на гидролиз.
2. Для полного гидролиза образца дипептида массой 9,60г потребовалось 0,90г воды. Установите структурную формулу дипептида, если известно, что при гидролизе образовалась только одна аминокислота.
3. Оцените молекулярную массу белка инсулина, если известно, что в его состав входят шесть остатков цистеина, а массовая доля серы равна 3,3%.
4. Какая масса воды израсходуется при полном гидролизе 10,0 г инсулина (см. предыдущую задачу), если известно, что в состав этого белка входит 51 аминокислотный остаток.
5. Запишите уравнение химической реакции взаимодействия глутатиона с оксидом меди (I).
6. Определите последовательность аминокислот в полипептиде, если известно, что в него входят аминокислоты: Асп, Глу, Фен, Гис, Вал, если частичный гидролиз дает: Вал-Асп, Глу-Гис, Фен-Вал, Асп-Глу. Составьте структурную формулу пептида.
7. Трипсином обрабатывают следующий пептид: Лиз-Асп-Гли-Ала-Ала-Глу-Сер-Гли. Затем образующийся фрагмент обрабатывают 2,4 динитрофторбензолом, после чего проводят полный гидролиз соляной кислотой. Назовите образующиеся при этом фрагменты. Какие аминокислоты будут содержать 2,4-динитрофторбензольные остатки?
8. В результате реакции тетрапептида с динитрофторбензолом с последующим гидролизом соляной кислотой образовалось динитрофторбензольное производное валина и три другие аминокислоты. При гидролизе трипсином другой аликвоты того же тетрапептида образовалось два фрагмента, один из этих фрагментов был восстановлен боргидридом лития (реагент на С-концевой фрагмент), а затем гидролизован. В гидролизате был обнаружен этаноламин, а также кислота, образующая с нингидрином продукт желтого цвета. Установите, какие аминокислоты были в указанном тетрапептиде. Какова их последовательность?
9. Вычислите длину полипептидной цепи, содержащей 105 аминокислотных остатков, если:
 - а) вся цепь представляет из себя α -спираль;

- б) цепь полностью вытянута;
в) цепь представляет из себя α -спираль на 70%.
10. Вычислите длину всех полипептидных цепей в клетке кишечной палочки, содержащей 10^6 молекул белка, каждая из которых имеет вес 40000. Считать, что все молекулы находятся в конформации α -спирали.

Вопросы к коллоквиуму по теме «Белки»

1. Биологические функции белков.
2. Классификация белков.
3. Характеристика простых белков: протаминов, гистонов, альбуминов, глобулинов и протеиноидов.
4. Первичная структура белка. Специфика строения пептидной связи.
5. Вторичная структура белка (α -спираль, β -структура, кросс β -форма, неупорядоченная структура). Надвторичная структура белка.
6. Третичная структура белка. Четвертичная структура белка на примере гемоглобина. Особенности структурной организации фибриллярных белков (на примере коллагена).
7. Поведение белков в растворах. Механизм возникновения электрического заряда у белковой молекулы, его значение. Изоэлектрическая точка и изоэлектрическое состояние белков. Высаливание. Денатурация белка. Факторы, вызывающие денатурацию.
8. Методы выделения и очистки белков (экстракция, высаливание, электрофорез, денатурация, гельфилтрация, хроматография, диализ). Защитные добавки для предохранения белков от денатурации.
9. Цветные реакции на белки.

Основные термины

Полимеры (высокомолекулярные соединения). Соединения, молекулы которых (макромолекулы) состоят из большого числа повторяющихся группировок (мономерных звеньев), соединенных химическими связями.

Пептиды. Природные или синтетические соединения, построенные из остатков α -аминокислот, соединенных между собой пептидными (амидными) связями.

Олигопептиды. Пептиды, содержащие в своем составе до 10 аминокислотных остатков.

Полипептиды. Пептиды, содержащие в своем составе более 10 аминокислотных остатков.

Белки. Полипептиды (биополимеры) с большими молекулярными массами (более 6000) имеющие сложную структурную организацию.

Глобулярные белки. Белки, для которых характерна более выраженная сферическая форма. Большинство глобулярных белков кристаллизуются из растворов. Примером глобулярных белков являются ферменты.

Фибриллярные белки. Белки, имеющие форму волокон и более высокую молекулярную массу, чем глобулярные белки. Примером глобулярных белков служит кератин – белок, содержащийся в волосах.

Первичная структура белка. Последовательность аминокислот в полипептидной цепи.

Вторичная структура белка. Способ укладки полипептидной цепи в упорядоченную структуру.

Третичная структура белка. Способ укладки полипептидной цепи в пространстве.

Четвертичная структура белка. Структура, состоящая из определенного числа полипептидных цепей, занимающих строго фиксированное положение относительно друг друга, следствие чего белок обладает той или иной активностью.

Эпимолекула (олигомер). Белок, обладающий четвертичной структурой.

Субъединица (протомер). Единая полипептидная цепь в эпимолекуле (олигомере).

Нативный белок. Белок, обладающий определенной биологической активностью.

Денатурация. Утрата белком природной (нативной) конформации, обычно сопровождающаяся потерей его биологической функции. Денатурация может быть либо обратимым, либо необратимым процессом.

Диполярный ион. Биполярный ион, цвиттер-ион.

Изоэлектрическая точка (pI). Значение pH, при котором концентрация диполярных ионов максимальна.

ФЕРМЕНТЫ

Цель: сравнить активность ферментов и неферментных катализаторов, дать понятие о специфичности действия ферментов, зависимости скорости ферментативной реакции от различных факторов, регулируемой активности ферментов; показать способы обнаружения ряда ферментов в природных объектах.

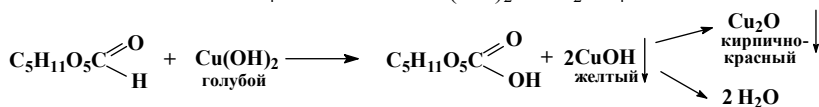
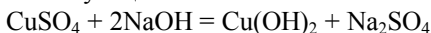
ОПЫТ № 1. Гидролиз крахмала под действием ферментов.

Сравнение активности ферментов и неферментных катализаторов

Цель опыта: Установить факт расщепления крахмала. Гидролитический фермент слюны – α -амилаза осуществляет гидролиз крахмала через промежуточные продукты распада (декстрины) до мальтозы. Нерасщепленный крахмал с йодом дает синее окрашивание, а декстрины в зависимости от величины своих частиц дают с йодом фиолетовую, красно-бурую или оранжевую окраску. Мальтоза раствором йода не окрашивается. С другой стороны, продукты гидролиза крахмала дают положительную реакцию Троммера, а негидролизованный крахмал – отрицательную.

Сущность цветных реакций

Реакция Троммера заключается в том, что вещества, имеющие в своем составе альдегидную группу (глюкоза, мальтоза и т.д.) в щелочной среде восстанавливают гидроксид меди (II) в гидроксид меди (I), а сами окисляются до соответствующей кислоты:



В пробирку внести исследуемое вещество и добавить 1 каплю 5%-ного раствора CuSO_4 и 4 капли 10%-ного раствора NaOH . Нагреть до кипения.

Реакция с йодом: в пробирку с исследуемым веществом добавить 1 каплю 1%-ного раствора йода в йодиде калия.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор крахмала, амилаза слюны (слюна в разведении 1:5), 10%-ный раствор HCl , 5%-ный раствор CuSO_4 , 10%-ный раствор NaOH , 1%-ный раствор J_2 в 2%-ном растворе KJ , штатив с пробирками, пипетки, стеклянные палочки, держалки, стеклогрaф, воздушные холодильники для пробирок.

Ход опыта: Пронумеровать четыре пробирки, в каждую внести по 10 капель 1%-ного раствора крахмала. В 1-ю пробирку добавить 4 капли воды (контроль), во 2-ю – 4 капли раствора слюны в разведении 1:5, в 3-ю и 4-ю по 4 капли 10%-ного раствора HCl. Содержимое пробирок перемешать. Пробирки № 1,2,3 поставить в термостат на 15 минут при 37⁰С, а пробирку № 4 (предварительно снабдив обратным холодильником) – в кипящую водяную баню на то же время. Затем содержимое каждой пробирки разделить пополам, с одной половиной проделать реакцию с йодом, с другой - реакцию Троммера. Результаты занести в таблицу №1.

Таблица №1.

№ пробирки	Субстрат	Катализатор	Температура опыта	Реакция	
				Троммера	С йодом
1.	Крахмал	Вода (контроль)	37 ⁰ С		
2.	Крахмал	Амилаза	37 ⁰ С		
3.	Крахмал	HCl	37 ⁰ С		
4.	Крахмал	HCl	100 ⁰ С		

Вывод:

ОПЫТ № 2. Определение специфичности действия ферментов

Цель опыта: показать, что одним из свойств ферментов является специфичность, т.е. способность действовать на определенный субстрат.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор крахмала, 2%-ный раствор сахарозы, раствор сахаразы (из дрожжей), амилаза слюны (слюна в разведении 1:5), штатив с пробирками, пипетки, стеклянные палочки, стеклоглаф.

Ход опыта: Пронумеровать четыре пробирки. В пробирки № 1 и № 2 внести по 10 капель 1%-ного раствора крахмала, в пробирки № 3 и № 4 – по 10 капель 2%-ного раствора сахарозы. Затем в пробирки № 1 и № 3 добавить по 4 капли раствора слюны, разведенной в 5 раз, а в пробирки № 2 и № 4 – по 4 капли раствора сахаразы. Содержимое пробирок перемешать, выдержать в термостате при 37⁰С 15 минут. После этого с содержимым всех четырех пробирок проделать реакцию с йодом и реакцию Троммера. Вспомните, что сахароза не имеет свободной альдегидной группы, поэтому

не дает реакции Троммера. Реакция Троммера может быть положительной только в том случае, если сахараза расщепится на свои составные части – глюкозу и фруктозу. Результаты опыта занести в таблицу №2.

Таблица №2.

№ пробирки	Субстрат	Фермент	Реакция	
			Троммера	с йодом
1.	Крахмал	Амилаза		
2.	Крахмал	Сахараза		
3.	Сахароза	Амилаза		
4.	Сахароза	Сахараза		

Вывод:

ОПЫТ № 3. Влияние температуры на активность ферментов

Цель опыта: Показать, что ферменты термолabileльны и проявляют наивысшую активность при 35-45⁰С. При повышении температуры их активность снижается, а затем они инактивируются.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор крахмала, слюна в разведении 1:5, 5%-ный раствор CuSO₄, 10%-ный раствор NaOH, 1%-ный раствор J₂ в 2%-ном растворе KJ; штатив с пробирками, пипетки, стеклянные палочки, держалки.

Ход опыта: В две пробирки поместить по 10 капель 1%-ного раствора крахмала. В одну из них добавить 5 капель слюны в разведении 1:5, в другую – такое же количество предварительно прокипяченной в течение 2 минут слюны. Содержимое пробирок перемешать, выдержать в термостате при 37⁰С 15 минут. После чего с содержимым каждой пробирки проделывать качественные реакции. Результаты занести в таблицу №3:

Таблица 3.

№ пробирки	Субстрат	Фермент	Реакция	
			Троммера	с йодом
1.	Крахмал	Амилаза		
2.	Крахмал	Амилаза прокипяченная		

Вывод:

ОПЫТ № 4. Влияние pH среды на активность ферментов

Цель опыта: Проиллюстрировать зависимость активности амилазы слюны от pH раствора. Определить оптимальное значение pH среды для действия амилазы слюны.

Реактивы и оборудование: 1/15 М раствор гидрофосфата натрия, 1/15 м раствор дигидрофосфата калия, 1%-ный раствор крахмала, слюна в разведении 1:5, 1%-ный раствор J_2 в 2%-ном растворе КJ, штатив с пробирками, пипетки, стеклянные палочки, предметные стекла.

Ход опыта: В 4 пробирки поместить по 5 мл фосфатного буфера так, чтобы pH буферной смеси в первой пробирке был равен 5,59, во второй – 6,98, в третьей – 7,38, в четвертой – 8,04 (см.таблицу №4).

Приготовление фосфатной буферной смеси.

1/15 М раствор гидрофосфата натрия: 11,876 г $Na_2HPO_4 \times 2H_2O$ в 1 л раствора. 1/15 М раствор дигидрофосфата калия: 9,078 г KH_2PO_4 в 1 л раствора.

Таблица № 4.

Na_2HPO_4 (в мл)	KH_2PO_4 (в мл)	pH	Na_2HPO_4 (в мл)	KH_2PO_4 (в мл)	pH
0,00	10,00	4,49	6,00	4,00	6,98
0,10	9,90	4,94	7,00	3,00	7,17
0,25	9,75	5,29	8,00	2,00	7,38
0,50	9,50	5,59	9,00	1,00	7,73
1,00	9,00	5,91	9,50	0,50	8,04
2,00	8,00	6,24	9,75	0,25	8,34
3,00	7,00	6,47	9,90	0,10	8,67
4,00	6,00	6,64	10,00	0,00	9,18
5,00	5,00	6,81			

Во все пробирки добавить по 1 мл 1%-ного раствора крахмала и по 0,5 мл слюны в разведении 1:5. Содержимое пробирок перемешать, поставить в термостат при 37⁰С. Отметить время начала инкубации. Через каждые 5 минут проделывать пробу с J_2 на предметном стекле (для этого на предметное стекло нанести по капле из каждой пробирки, добавить к каждой капле 1%-ный раствор J_2 в 2%-ном растворе КJ). Отметить конец

амилолитического расщепления для каждой из 4 проб (исчезновение синего окрашивания с J_2).

Полученные результаты выразить графически: по оси абсцисс нанести значения pH опытов, по оси ординат – время расщепления крахмала при соответствующих значениях pH. Получить кривую, характеризующую зависимость активности фермента от pH среды.

Вывод:

ОПЫТ № 5. Влияние активаторов и ингибиторов

Цель опыта: Показать, что ферменты являются катализаторами с регулируемой активностью.

Активаторы ферментов - это вещества: 1) формирующие активный центр фермента (Co^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Ca^{2+}); 2) облегчающие образование фермент-субстратного комплекса (Mg^{2+}); 3) восстанавливающие SH-группы (глутатион, цистеин, меркаптоэтанол); 4) стабилизирующие нативную структуру белка-фермента. Активируют ферментативные реакции обычно катионы металлов (в таблице Менделеева с 19 по 30-й). Анионы менее активны, хотя анионы хлора и некоторых других галогенов могут активировать пепсин, амилазу, аденилатциклазу.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор крахмала, слюна в разведении 1:5, 15%-ный раствор NaCl, 1%-ный раствор $CuSO_4$, 1%-ный раствор J_2 в 2%-ном растворе KJ, штатив с пробирками, стеклянные палочки, пипетки.

Ход опыта: В три пробирки внести по 10 капель слюны в разведении 1:5. В первую пробирку добавить 1 каплю 1%-ного раствора хлорида натрия, во вторую – 1 каплю 1%-ного раствора сульфата меди, в третью – 1 каплю воды (контроль). Содержимое пробирок перемешать, оставить пробирки на 3 минуты при комнатной температуре. После чего в каждой пробирке проделать реакцию с йодом. Результаты занести в таблицу № 5.

Таблица №5.

Субстрат	Фермент	Реакция с йодом в присутствии		
		H_2O	$CuSO_4$	NaCl
Крахмал	Амилаза			

Вывод:

ОПЫТ № 6. Открытие липазы

Цель опыта: Открыть в панкреатине фермент липазу. Липаза (класс гидролаз) – фермент, расщепляющий жиры на глицерин и жирные кислоты.

Реактивы и оборудование: 5%-ная эмульсия сухих сливок, 5%-ный раствор панкреатина, 1%-ный раствор фенолфталеина, 1%-ный раствор карбоната натрия, штатив с пробирками, пипетки, стеклянные палочки.

Ход опыта: В две пробирки налить по 10 капель 5%-ной эмульсии сухих сливок. В первую пробирку добавить 5 капель 5%-ного раствора панкреатина, во вторую – такое же количество воды (контроль). В обе пробирки внести по 1 капле 1%-ного раствора фенолфталеина и добавить по каплям 1%-ный раствор карбоната натрия до появления слаборозовой окраски (нельзя добавлять избыток карбоната натрия). Пробирки поместить в термостат при 37⁰С на 30 минут.

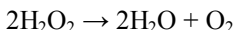
Наблюдаемые изменения:

Уравнения реакций:

Вывод:

ОПЫТ № 7. Открытие каталазы

Цель опыта: Открыть в картофеле и экстракте хрена фермент каталазу. Каталаза (класс оксидоредуктаз) – фермент, расщепляющий перекись водорода по уравнению:



Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор перекиси водорода, кусочки сырого и вареного картофеля, водный экстракт хрена.

Ход опыта: В четыре пробирки поместить по 10 капель 1%-ного раствора перекиси водорода. Затем в первую пробирку опустить кусочек сырого картофеля, во вторую – кусочек вареного картофеля, в третью добавить 1 мл экстракта хрена, четвертая пробирка – контроль. Отметить образование пузырьков кислорода.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

Работа	выполнена:	____.____.20____	г. _____
_____	дата	подпись студента	подпись преподавателя

Упражнения для самостоятельной работы по теме «Ферменты»

1. Фермент сахаразы может катализировать следующие реакции:

а) Глюкозо-фруктоза + $H_2O \rightarrow$ Глюкоза + Фруктоза
(Сахароза)

б) Фруктозо-глюкозо-галактоза + $H_2O \rightarrow$ Фруктоза + глюкоза + Галактоза
(Рафиноза)

Если субстратом является сахароза, то $K_m = 0,05$ ммоль/л, если рафиноза, то $K_m = 2,00_m$ ммоль/л.

Изобразите в виде графиков зависимость скорости реакции, катализируемой сахаразой, в зависимости от концентрации субстратов и объясните:

а) что показывает K_m ;

б) в каком случае при одинаковой концентрации субстратов скорость реакции будет больше;

в) какой вид специфичности фермента к субстрату иллюстрирует этот пример.

2. В таблице представлены данные, показывающие зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата.

Концентрация субстрата, М	Скорость реакции, мкм/мин
1×10^{-6}	20
2×10^{-5}	32
1×10^{-4}	39
1×10^{-3}	40

Используя данные таблицы:

а) нарисуйте график зависимости скорости реакции от концентрации субстрата;

б) найдите значения $V_{\max}$ и K_m .

3. Несколько лет назад в токийском метро террористы распылили одно из самых отравляющих веществ – зарин. Многие пассажиры потеряли сознание, некоторые умерли в результате остановки дыхания. На чем основано нервно-паралитическое действие зарины?

4. Изоферменты гексокиназа и глюкокиназа катализируют одну и ту же реакцию, но различаются по кинетическим свойствам: глюкокиназа имеет $K_m = 10$ ммоль/л, а гексокиназы $K_m = 0,2$ ммоль/л. Напишите реакцию, которую ускоряют эти изоферменты и объясните:

а) для каких органов характерна гексокиназа, а для каких глюкокиназа;

б) у какого изофермента сродство к глюкозе больше, и какое это имеет физиологическое значение.

5. В двух пробах за 10 минут гидролизовалось равное количество крахмала: в первой пробе количество амилазы 2 мг, во второй – 5 мг. Одинакова ли активность амилазы в обеих пробах?

6. Оптимальное значение pH пепсина 1,5-2,0, а трипсина, который секретируется с панкреатическим соком, 7,8. Нарисуйте графики зависимости скорости реакции от pH для этих ферментов и объясните:

а) почему изменение pH приводит к уменьшению активности фермента;

б) какое значение для организма человека имеет различие в pH-оптимуме этих ферментов.

Вопросы к коллоквиуму по теме «Ферменты»:

1. Ферменты: общие представления о катализе. Сходство и различие между ферментами и неферментными катализаторами.

2. Номенклатура и классификация ферментов.
3. Структура простых ферментов. Свойства активных центров. Механизм действия простых ферментов (на примере ацетилхолинэстеразы).
4. Структура сложных ферментов. Механизм действия сложных ферментов (на примере пируватдегидрогеназы).
5. Роль металлов в присоединении субстрата в активном центре фермента.
6. Роль металлов в ферментативном катализе (на примере карбоксипептидазы А).
7. Специфичность действия ферментов. Виды специфичности.
8. Кинетика ферментативных реакций: зависимость скорости реакции от концентрации субстрата, фермента, рН среды и температуры.
9. Ингибиторы ферментов. Обратимое ингибирование.
10. Ингибиторы ферментов. Необратимое ингибирование.
11. Регуляция активности ферментов.

Основные термины

Ферменты (энзимы). Биологические катализаторы, ускоряющие химические реакции в живых организмах. Подавляющее большинство ферментов имеют белковую природу.

Простой фермент. Состоит только из белковой части.

Сложный фермент. Состоит из белковой и небелковой частей. Белковая часть называется **апоферментом**, небелковая, легко диссоциирующая с белковой частью, - **коферментом**, прочно связанная – **простетической группой**.

Специфичность ферментов. Способность превращать только данный тип субстрата в определенных условиях. Различают субстратную и каталитическую специфичность.

Субстратная специфичность. Способность каждого фермента взаимодействовать с одним или несколькими субстратами. Различают абсолютную субстратную специфичность, групповую субстратную специфичность, стереоспецифичность.

Каталитическая специфичность. Способность фермента катализировать превращение присоединенного субстрата по одному из возможных путей его превращения.

Энзимология. Раздел биохимии, изучающий ферменты.

МОНОСАХАРИДЫ

Цель: Изучить основные химические свойства моносахаридов.

ОПЫТ № 1. Реакция моносахаридов со щелочным раствором гидроксида меди (II)

Цель опыта: Углеводы, как многоатомные спирты, способны с гидроксидами металлов давать сахараты, обладающие характерными свойствами. Например, глюконат меди, как и глицерат меди – хорошо растворимые вещества синего цвета.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор глюкозы, 1%-ный раствор фруктозы, 0,5%-ный раствор гидроксида натрия, 5%-ный раствор сульфата меди, штатив с пробирками.

Ход опыта: В две пробирки внести по 1 мл 1%-ных растворов глюкозы и фруктозы, в каждую пробирку прилить по 0,5 мл 10%-ного раствора NaOH. Затем по каплям добавить 5%-ный раствор CuSO_4 . Образующийся вначале голубой осадок гидроксида меди (II) при встряхивании растворяется, получается синий прозрачный раствор комплексного сахарата меди (II).

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

ОПЫТ № 2. Окисление моносахаридов гидроксидом меди (II)

Цель опыта: Восстанавливающие свойства моносахаридов или иначе, их способность окисляться, имеет большое биологическое значение, так как именно процесс окисления дает энергию на синтез таких важных макроэргов, как АТФ.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор глюкозы, 1%-ный раствор фруктозы, 0,5%-ный раствор гидроксида натрия, 5%-ный раствор сульфата меди, штатив с пробирками, спиртовка, спички.

Ход опыта: К растворам, полученным в опыте № 1, по каплям при встряхивании добавить 5% раствор CuSO_4 до появления не исчезающей при встряхивании мути. Нагреть верхние части растворов до начинающегося кипения. В нагретой части растворов появляется желтый осадок гидроксида меди (I), вскоре переходящий в красный осадок оксида меди (I). Почему в условиях опыта окислению подвергается фруктоза?

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

ОПЫТ № 3. Окисление моносахаридов реактивом Фелинга

Цель опыта: Проиллюстрировать способность альдоз окисляться таким мягким окислителем как щелочной раствор тартратного комплекса меди (II) - реактивом Фелинга. Подтвердить способность кетоз к таутомерному переходу в альдозы в щелочной среде.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор глюкозы, 1%-ный раствор фруктозы, щелочной раствор виннокислого калия-натрия (реактив

Фелинга 1), 5%-ный раствор сульфата меди (реактив Фелинга 2), штатив с пробирками, спиртовка, спички.

Ход опыта: В две пробирки внести по 1 мл 1%-ных растворов глюкозы и фруктозы, в каждую пробирку прилить по 1 мл реактива Фелинга (получить сливанием равных объемов реактива Фелинга 1 и реактива Фелинга 2). Содержимое пробирок перемешать, нагреть верхнюю часть растворов до начинающегося кипения. В верхней части жидкости в обеих пробирках появляется желтый осадок гидроксида меди (I), переходящий в красный осадок оксида меди (I), нижняя часть жидкости, которую не нагревали, остается синей. Этой реакцией пользуются для качественного и количественного анализа моносахаридов и для отличия восстанавливающих дисахаридов от невосстанавливающих.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

ОПЫТ № 4. Окисление моносахаридов аммиачным раствором оксида серебра – реактивом Толленса (реакция «серебряного зеркала»)

Цель опыта: Проиллюстрировать способность альдоз окисляться таким мягким окислителем как аммиачный раствор оксида серебра - реактивом Толленса. Подтвердить способность кетоз к таутомерному переходу в альдозы в щелочной среде.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор глюкозы, 1%-ный раствор фруктозы, 1%-ный раствор нитрата серебра, 5%-ный раствор аммиака, 10%-ный раствор гидроксида натрия, плитка, водяная баня, штатив с пробирками, спиртовка, спички.

Ход опыта: Для этого опыта предварительно нужно обезжирить 2 пробирки. С этой целью в пробирках кипятить в течение 1-2 минут (Осторожно! Жидкость выбрасывает!) около 5 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия, затем промыть пробирки дистиллированной водой. В одной из пробирок приготовить аммиачный раствор оксида серебра: к 1 мл 1%-ного раствора нитрата серебра прибавить по каплям при встряхивании 5%-ный раствор аммиака до растворения первоначально образующегося осадка (избыток аммиака снижает чувствительность реакции). Полученный аммиачный раствор разделить пополам. К одной его части прилить 1 мл 1%-ного раствора глюкозы, к другой - 1 мл 1%-ного раствора фруктозы. Обе пробирки выдержать в течение 5-10 минут на водяной бане, нагретой до 70-80°C. Металлическое серебро в обеих пробирках выделяется на стенках в виде зеркала. Пробирку во время нагревания встряхивать нельзя, т.к. металлическое серебро выделится в виде темного осадка.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

ОПЫТ № 5. Окисление моносахаридов бромной водой (тяга!)

Цель опыта: Проиллюстрировать способность альдоз окисляться бромной водой. Подтвердить неспособность кетоз к таутомерному переходу в альдозы в кислой среде.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор глюкозы, 1%-ный раствор фруктозы, бромная вода, 1%-ный раствор хлорида железа (III), окрашенный фенолом в фиолетовый цвет (4 мл 1%-ного раствора фенола +

несколько капель 1%-ного водяная баня, воздушные холодильники для пробирок.

Ход опыта: В две пробирки внести по 1,5 мл бромной воды, в каждую пробирку прилить по 0,5 мл 1%-ных растворов моносахаридов: в одну – глюкозу, в другую – фруктозу. Пробирки закрыть воздушными холодильниками, нагреть на кипящей водяной бане до обесцвечивания растворов (**Тяга!**). После охлаждения к растворам добавить по несколько капель раствора хлорида железа (III), окрашенного фенолом в фиолетовый цвет. Сравнить окраску растворов в обеих пробирках.

Вспомните: зеленовато-желтое окрашивание характерно для солей оксикислот.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

ОПЫТ № 6. Открытие пентоз

Цель опыта: Изучить качественную реакцию на пентозу. Рибоза – это альдопентоза, входящая в состав таких важных веществ, как макроэрги, коферменты, РНК. Фосфорилированная рибоза образуется, в основном, при пентозофосфатном или апотомическом окислении глюкозы (в виде рибозо-5-фосфата). При некоторых наследственных заболеваниях, а также при авитаминозе В₅ эти процессы нарушаются. Качественная реакция основана на способности рибозы под влиянием соляной кислоты превращаться в метилфурфурол, а затем давать с орцином зеленое окрашивание.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор пентозы (рибозы, арабинозы, ксилозы), анилин, ледяная уксусная кислота, аммиак концентрированный, HCl (конц.), плитка, водяная баня, штатив с пробирками, воздушные холодильники для пробирок.

Ход опыта: Пробирку с 10 каплями 1%-ного раствора пентозы и 10 каплями концентрированной соляной кислоты осторожно нагреть до кипения и после охлаждения внести в нее 5 капель анилина и 5 капель уксусной кислоты.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

ОПЫТ № 8. Открытие фруктозы в меде

Цель опыта: Открыть в меде фруктозу.

Реактивы и оборудование: реактив Селиванова (50 мл HCl (конц.) + 50 мл воды; в полученной смеси растворить 0,5 г резорцина), 1%-ный раствор фруктозы, плитка, водяная баня, штатив с пробирками.

Ход опыта: В 2 пробирки налить по 1 мл реактива Селиванова. Затем в одну пробирку прибавить 1 каплю 5%-ного раствора меда, в другую - 1 каплю 1%-ного раствора фруктозы. Обе пробирки одновременно поместить в водяную баню с температурой воды 80⁰С и выдержать при этой температуре 8 мин. Сравнить окраску растворов в пробирках с фруктозой и медом.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

Работа выполнена: _____. _____. 20____ г. _____
дата подпись студента подпись преподавателя

Упражнения для самостоятельной работы по теме «Моносахариды»

1. Какая качественная реакция характерная для альдегидов, но не характерна для глюкозы?
2. Укажите различия (если они есть) в приведенных ниже парах.
 - а) гликозид и глюкозид;
 - б) глюконовая и глюकारовая кислоты.
3. При добавлении раствора глюкозы к осадку гидроксида меди последний растворяется. Объясните это явление, назовите продукты.
4. Почему при установлении равновесия между α и β глюкопиранозными формами эти формы не будут находиться в эквимольном соотношении? Почему эти аномеры не будут обладать одинаковым удельным вращением по величине и противоположным по знаку?
5. Изобразите циклическую структуру для фуранозных форм следующих углеводов: а) D-ксилозы; б) D-арабинозы; для пиранозных форм: а) D-глюкозы; б) L-альтрозы.
6. Напишите проекционные формулы по Фишеру и Хеурсу для:
 - а) α -D-фруктофуранозы;
 - б) метил- β -D-рибопиранозид.
7. Предложите способ превращения: а) D-глюкофуранозы в D-ксилозу; б) L-эритрозы в D-треозу.
8. Какие продукты образуются при реакции D-арабинозы со следующими реагентами: а) метанолом в присутствии HCl; б) азотной кислотой при нагревании; в) избытком фенилгидразина в уксусной кислоте; г) избытком HIO_4 ; д) бромом в воде; е) избытком уксусного ангидрида + пиридин; ж) NaCN , Na_2CO_3 , H_2O ?
9. D-пентоза при окислении дала оптически активную гликаровую кислоту. После её деградации до тетразы и окисления этой тетразы образовалась мезо-винная кислота. Напишите название и конфигурацию исходной тетразы.
10. Сколько граммов глюкозы потребуется для получения из нее этилового спирта брожением, если известно, что при нагревании полученного спирта

с концентрированной серной кислотой образовалось 10 мл диэтилового эфира ($\rho = 0,925$ г/мл) с выходом 50%.

Основные термины

Агликон. Остаток несхарной природы, связанный с аномерным атомом углерода ацетальной или кетальной формы сахара через атом кислорода, азота, углерода.

Альдаровая (гликаровая, сахарная) кислота. Дикарбоновая кислота, получаемая при окислении в моносахариде альдегидной и первичной спиртовой группы.

Альдоза. Моносахарид, содержащий альдегидную группу.

Альдоновая (гликоновая) кислота. Монокарбоновая кислота, возникающая при окислении альдегидной группы альдозы.

Аминосахар. Сахар, в котором аминогруппа замещает гидроксильную группу.

Аномерный атом углерода. Атом углерода в углеводном кольце, который был карбонильным углеродным атомом в сахаре с незамкнутой цепью.

Аномеры. Стереизомеры, различающиеся по конфигурации только при аномерном атоме углерода. Их называют α -аномерами, если гидроксо-группы при аномерном атоме углерода и атоме углерода, определяющем в Фишеровской проекции принадлежность сахара к D или L ряду лежат с одной стороны углеродной цепи. В β -аномере эти группы лежат с противоположных сторон от углеродной цепи. Взаимопревращение α - и β -аномеров называется **аномеризация**.

Гликозид. Ацеталь или кеталь сахара.

Глюкозид. Ацеталь глюкозы.

Мутаротация. Изменение оптической активности раствора сахара.

Пиранозная форма. Циклическая форма сахара, в которой кольцом служит тетрагидропиран – шестичленный гетероцикл.

Фуранозная форма. Циклическая форма сахара, в которой кольцом служит тетрагидрофуран – пятичленный гетероцикл.

ДИСАХАРИДЫ

Цель: Изучить свойства дисахаридов.

ОПЫТ № 1. Реакции дисахаридов с основаниями **(цветные реакции на дисахариды)**

Цель опыта: Показать способность дисахаридов как многоатомных спиртов взаимодействовать с гидроксидами металлов, давая окрашенные комплексы.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор сахарозы, 10%-ный раствор сахарозы, 1%-ный раствор мальтозы (или 1%-ный раствор лактозы), 10%-ный раствор NaOH, 5%-ный раствор CuSO₄, 2%-ный раствор CoSO₄, 2%-ный раствор NiSO₄, штатив с пробирками.

Ход опыта:

а) В две пробирки поместить по 0,5 мл растворов сахарозы и мальтозы (мальтозу можно заменить лактозой). Затем в каждую пробирку добавить по 0,5 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия и, по каплям, 5%-ный раствор сульфата меди.

б) В две пробирки поместить по 2,5 мл 10%-ного раствора сахарозы и по 0,5 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия. Затем в первую пробирку добавить несколько капель 2%-ного раствора сульфата кобальта, в другую – несколько капель 2%-ного раствора сульфата никеля.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

ОПЫТ № 2. Реакция дисахаридов с реактивом Фелинга

Цель опыта: Проиллюстрировать способность восстанавливающих дисахаридов окисляться реактивом Фелинга. Подтвердить отсутствие у сахарозы восстанавливающих свойств.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор сахарозы, 1%-ный раствор мальтозы (или 1%-ный раствор лактозы), щелочной раствор виннокислого калия-натрия (реактив Фелинга 1), 5%-ный раствор сульфата меди (реактив Фелинга 2), штатив с пробирками, спиртовка, спички.

Ход опыта: В 2 пробирки налить по 1 мл 1%-ных растворов сахарозы и мальтозы (мальтозу можно заменить лактозой). В каждую пробирку добавить по 1 мл реактива Фелинга (получить сливанием равных объемов реактива Фелинга 1 и реактива Фелинга 2). Содержимое пробирок перемешать, нагреть верхнюю часть раствора до начинающего кипения.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

ОПЫТ № 3. Реакция на восстанавливающие дисахариды с аммиаком

Цель опыта: Показать возможность восстанавливающих дисахаридов давать реакции с аммиаком.

Реактивы и оборудование: 10%-ный раствор мальтозы, 10%-ный раствор NH_4OH , водяная баня, штатив с пробирками.

Ход опыта: В пробирку налить 0,5 мл 10%-ного раствора мальтозы, добавить 1 мл 10%-ного раствора аммиака. Смесь встряхнуть, нагреть на водяной бане ($t = 80-90^\circ\text{C}$) до появления красного окрашивания.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

ОПЫТ № 4. Обнаружение лактозы в молоке

Цель опыта: Показать наличие в молоке восстанавливающего дисахарида лактозы.

Реактивы и оборудование: молоко в разбавлении 1:1, 10%-ный раствор NaOH, уксусная кислота (конц), щелочной раствор виннокислого калия-натрия (реактив Фелинга 1), 5%-ный раствор сульфата меди (реактив Фелинга 2), универсальная индикаторная бумага, штатив с пробирками, воронка, фильтровальная бумага, спиртовка, спички.

Ход опыта: Поместить в пробирку 2 мл молока, разбавленного водой (1:1). По каплям при встряхивании добавить к нему концентрированную уксусную кислоту до полного свертывания белка и выпадения его в виде хлопьев. Осадок отфильтровать, фильтрат нейтрализовать 10%-ным раствором гидроксида натрия до слабощелочной реакции. К полученному раствору добавить равный объем реактива Фелинга (получить сливанием равных объемов реактива Фелинга 1 и реактива Фелинга 2), перемешать, нагреть верхнюю часть раствора до начинающегося кипения.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

ОПЫТ № 5. Гидролиз сахарозы

Цель опыта: Показать условия гидролиза сахарозы. Доказать наличие в составе сахарозы D-фруктозы.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор сахарозы, 10%-ный раствор H_2SO_4 , NaHCO_3 (тв.), щелочной раствор виннокислого калия-натрия (реактив Фелинга 1), 5%-ный раствор сульфата меди (реактив Фелинга 2), штатив с пробирками, спиртовка, спички, плитка, водяная баня.

Ход опыта: В пробирку налить 3 мл 1%-ного раствора сахарозы, прибавить 1 мл 10%-ного раствора серной кислоты. Смесь кипятить 1-2 минуты, охладить, разделить на 2 пробирки. Половину раствора нейтрализовать сухим гидрокарбонатом натрия, добавляя его небольшими порциями, постоянно перемешивая. После нейтрализации прилить равный объем реактива Фелинга, нагреть верхнюю часть раствора до кипения. Вторую половину гидролизата сахарозы использовать для обнаружения фруктозы реакцией Селиванова, аналогично провести реакцию Селиванова с негидролизованной сахарозой.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

Работа _____ выполнена: _____ . ____ . 20 ____ г. _____

_____ дата

_____ подпись студента

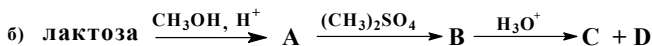
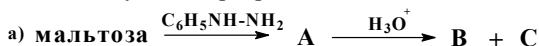
_____ подпись преподавателя

Упражнения для самостоятельной работы по теме «Дисахариды»

1. Какими реакциями можно различить соединения в приведенных ниже парах:
а) глюкоза и мальтоза;
б) целлобиоза и сахароза.

Приведите уравнения химических реакций.

2. Осуществите следующие превращения:



3. Укажите различия, (если они есть) в приведенных ниже парах:
а) α -лактоза и β -лактоза;
б) сахароза и тростниковый сахар.
4. Почему для гидролиза октаацетата целлобиозы в целлобиозу щелочные условия предпочтительнее, чем кислые? Ответ подтвердите уравнениями реакций.
5. Какие продукты получатся при окислении сахарозы иодной кислотой? Сколько моль иодной кислоты расходуется при окислении 1 моль сахарозы?
6. Мутаротацию мальтозы катализируют кислоты и основания. Однако 2-оксипиридин является ещё более эффективным катализатором. Дайте объяснения, проиллюстрировав его соответствующими уравнениями.
7. При гидролизе дисахарида мелибиозы образуется смесь Д-глюкозы и Д-галактозы. Мелибиоза дает качественную реакцию с реактивом Толленса, бромная вода окисляет мелибиозу до мелибионовой кислоты, в результате метилирования мелибионовая кислота превращается в окта-О-метилмелибионовую кислоту, ее гидролиз дает тетра-О-метил глюконовую кислоту (А) и тетра-О-метил галактозу (В). Под действием азотной кислоты соединение А окисляется до тетра-О-метил глюкаровой кислоты. Соединение В получают при помощи кислотного гидролиза этил-2,3,4,6-тетра-О-метилгалактопиранозид. Гидролиз мелибиозы катализирует фермент α -галактозидаза. Напишите структуру мелибиозы.

Основные термины

Дисахариды (биозы). Углеводы, состоящие из двух моносахаридных звеньев одинаковой или разной природы. Легко гидролизуются в кислой среде

с образованием двух молекул моносахаридов. По химической природе это О-гликозиды (полные ацетали), в которых вторая молекула моносахарида выполняет роль агликона.

Восстанавливающие дисахариды. Дисахариды, у которых гликозидная связь образуется за счет полуацетальной ОН-группы одного и любой спиртовой ОН-группы другого моносахарида.

Невосстанавливающие дисахариды. Дисахариды, у которых гликозидная связь образуется за счет полуацетальных ОН-групп обоих моносахаридов.

ВЫСШИЕ ПОЛИСАХАРИДЫ

Цель: Изучить химические свойства полисахаридов.

ОПЫТ № 1. Реакция углеводов с α -нафтолом (реакция Молиша)

Цель опыта: Реакция с α -нафтолом является качественной на углеводы. Под действием серной кислоты углеводы разлагаются, наряду с другими продуктами разложения образуется фурфурол и его производные (оксиметилфурфурол), они конденсируются с α -нафтолом с образованием окрашенных продуктов.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор глюкозы, 1%-ный раствор сахарозы, 1%-ный крахмальный клейстер, 15%-ный спиртовой раствор α -нафтола, H_2SO_4 (конц.), штатив с пробирками.

Ход опыта: В 3 пробирки налить по 1 мл 1%-ных растворов глюкозы, сахарозы и крахмального клейстера. В каждую пробирку добавить 1-2 капли 15%-ного спиртового раствора α -нафтола и, наклонив пробирку, осторожно по стенке прилить по 1 мл концентрированной серной кислоты. Образуется два слоя: снизу серная кислота, сверху-водяной слой. Через небольшое количество времени на границе слоев появляется сначала зеленое кольцо, потом фиолетовое.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

ОПЫТ № 2. Реакция высших полисахаридов с реактивом Фелинга

Цель опыта: Показать, что высшие полисахариды обладают слабыми восстанавливающими свойствами.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор гликогена, 1%-ный крахмальный клейстер, реактив Фелинга 1, реактив Фелинга 2, штатив с пробирками, стеклянные палочки, спиртовка, спички.

Ход опыта: В 2 пробирки внести по 1 мл 1%-ного крахмального клейстера и 1%-ного раствора гликогена. В каждую пробирку прилить по 1 мл реактива Фелинга (получить сливанием равных объёмов реактива Фелинга 1 и реактива Фелинга 2). Содержимое пробирок перемешать, нагреть верхнюю часть растворов до начинающегося кипения.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

ОПЫТ № 3. Реакция с йодом

Цель опыта: Выполнить качественную реакцию на гликоген и крахмал.

Реактивы и оборудование: 1%-ный раствор гликогена, 1%-ный крахмальный клейстер, 1%-ный раствор йода в 2%-ном растворе КJ. Штатив с пробирками, держалки, спиртовка, спички.

Ход опыта: В 2 пробирки налить по 1 мл 1%-ных растворов крахмального клейстера и гликогена. Добавить по несколько капель раствора йода в йодиде калия. В пробирке с раствором крахмала появляется интенсивное синее окрашивание. При нагревании этого раствора до кипения

синяя окраска исчезает, при охлаждении раствора снова появляется. Гликоген с раствором йода дает красно-бурое окрашивание.

Вывод:

ОПЫТ № 4. Растворение целлюлозы в медно-аммиачном растворе (реактиве Швейцера)

Цель опыта: Показать возможность растворения целлюлозы в реактиве Швейцера.

Реактивы и оборудование: вата, реактив Швейцера, серная кислота (конц.), штатив с пробирками, химический стакан, стеклянные палочки, плитка.

Ход опыта: В пробирку налить 5 мл реактива Швейцера, опустить в него кусочек гигроскопичной ваты (целлюлозы) и перемешать содержимое пробирки стеклянной палочкой до полного растворения ваты. Получается вязкая прозрачная жидкость ярко-синего цвета. Ее вылить в стакан, содержащий 100 мл теплой воды, подкисленной 2-3 мл концентрированной серной кислоты. Целлюлоза выделяется из раствора в виде хлопьев. Способность целлюлозы растворяться в реактиве Швейцера используют при производстве медно-аммиачного волокна.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

ОПЫТ № 5. Реакция целлюлозы со щелочью

Цель опыта: При обработке целлюлозы концентрированными растворами щелочей образуется «щелочная целлюлоза». В текстильной промышленности обработку щелочью хлопчатобумажных тканей и ниток проводят с целью их облагораживания (мерсеризация тканей).

Реактивы и оборудование: 10%-ный раствор HCl , 40%-ный раствор NaOH , штатив с пробирками, стеклянные палочки, нарезанная полосками фильтровальная бумага.

Ход опыта: В 2 пробирки опустить по одинаковой полоске фильтровальной бумаги ($0,5 \times 3$ см). В первую пробирку налить 40%-ный раствор NaOH так, чтобы бумажная полоска была погружена полностью, во вторую – дистиллированную воду (контроль). Через 5-7 минут полоски вынуть. Первую полоску промыть водой, 10%-ным раствором HCl и снова водой. Затем обе полоски промокнуть фильтровальной бумагой, высушить и сравнить размеры.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

Работа	выполнена:	____.____.20____	г. _____
_____	дата	подпись студента	подпись преподавателя

Упражнения для самостоятельной работы по теме «Полисахариды»

1. Каким образом древесные опилки можно использовать для получения искусственного волокна?
2. Представьте объяснение тому факту, что крахмал и целлюлоза не дают реакцию серебряного зеркала.

3. Рассчитайте, сколько килограммов древесных опилок нужно взять, чтобы в результате ряда последовательных химических реакций получить 896 л этилена (н.у.), если известно, что в опилках содержится 50% чистой целлюлозы.
4. Какая масса (т) клетчатки и азотной кислоты с массовой долей HNO_3 98% используется для получения тринитроцеллюлозы массой 8 т, если потери составляют 10%.
5. Что лежит в основе реакции крахмала и гликогена с йодом?

Основные термины

Структурные полисахариды. Придают клеткам, органам и организмам механическую прочность (целлюлоза, хитин, гиалуроновая кислота).

Водорастворимые полисахариды. Высоко гидратированы и предохраняют клетки и ткани от высыхания (декстраны).

Резервные полисахариды. Служат энергетическим ресурсом, из которого по мере необходимости в организм поступают моносахариды, являющиеся клеточным «топливом». Благодаря полимерной природе осмотически неактивны и поэтому могут накапливаться в клетках в больших количествах (гликоген, крахмал, инулин).

Гликоген. Запасной полисахарид человека и животных.

Крахмал. Резервный полисахарид растений. Состоит из амилозы и амилопектина.

Амилоза. Неразветвлённый полисахарид. Построен из остатков D-глюкопиранозы. Тип гликозидной связи α -1 $\rightarrow$ 4.

Амилопектин. Разветвлённый полисахарид. Построен из остатков D-глюкопиранозы. Основной тип гликозидной связи α -1 $\rightarrow$ 4. Тип гликозидной связи в точках ветвления α -1 $\rightarrow$ 6.

Целлюлоза. Неразветвлённый полисахарид, являющийся основой оболочки клеток растений (клеточной стенки). Построен из остатков D-глюкопиранозы. Тип гликозидной связи β -1 $\rightarrow$ 4.

Хитин. Неразветвлённый полисахарид, являющийся основой наружного скелета ракообразных и насекомых. Построен из остатков 2-ацетамидо-2-дезоксид-D-глюкозы (N-ацетил-D-глюкозамина). Тип гликозидной связи β -1 $\rightarrow$ 4.

Гиалуроновая кислота. Неразветвлённый полисахарид соединительной ткани. За счёт высокой вязкости выполняет барьерную функцию, обеспечивающую непроницаемость для болезнетворных бактерий. Построен из дисахаридных фрагментов, соединённых β -1 $\rightarrow$ 4 гликозидными

связями. Дисахаридный фрагмент состоит из D-глюкуроновой кислоты и N-ацетил-D-глюкозамина, соединённых β -1 $\rightarrow$ 3 гликозидной связью.

Декстраны. Сильно разветвлённые полисахариды бактериального происхождения. Например, декстраны, синтезируемые бактериями ротовой полости, являются компонентами зубного налёта. Построены из D-глюкопиранозильных остатков. Основной тип гликозидной связи α -1 $\rightarrow$ 6; в местах ветвлений α -1 $\rightarrow$ 4 и α -1 $\rightarrow$ 3.

Инулин. Полисахарид, состоящий из остатков D-фруктофуранозы, связанных β -2 $\rightarrow$ 1 связями. Накапливается в клубнях топинамбура и георгина, корнях цикория и одуванчика, а также содержится в водорослях.

Мерсеризация. Обработка хлопковой нити основанием с последующей нейтрализацией. Мерсеризованная хлопковая нить становится прочнее и лучше поглощает красители.

НУКЛЕИНОВЫЕ КИСЛОТЫ

Цель: Изучить свойства нуклеиновых кислот.

ОПЫТ № 1. Сублимация кофеина из сухого чая и кофе

Цель опыта: Выделить путём сублимации пуриновое производное - кофеин, содержащийся в чае и кофе.

Реактивы и оборудование: Лопаточки, фарфоровые чашки диаметром 8 см, стеклянные воронки диаметром 5 см, асбестовые сетки, спиртовки, спички, кофе, сухой чай.

Ход опыта: В фарфоровую чашку поместить половину чайной ложки сухого чая (кофе) и накрыть стеклянной воронкой с предварительно закрытым ватным тампоном отверстием. Нагреть на спиртовке через асбестовую сетку. На стекле вскоре появляются капли воды, которые затем испаряются, и на их месте образуются кристаллы кофеина.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

ОПЫТ №2. Характерная реакция на кофеин, пириимидиновые и пуриновые основания

Цель опыта: Познакомится с качественной реакцией на кофеин.

Реактивы и оборудование: HCl (конц), раствор аммиака (конц), 27-30%-ный раствор H_2O_2 , таблетки кофецила, штатив с пробирками, лопаточки, ступки с пестиками.

Ход опыта: Таблетку кофецила, содержащую кофеин, измельчить в ступке и перенести в пробирку. Добавить 10 капель H_2O_2 и 2 капли HCl. К образовавшейся смеси прилить 6 капель раствора аммиака. Наблюдать появление кирпичной окраски, постепенно переходящей в темно-корич-

невую. Прodelать такую же реакцию с кофеином, полученным в первом опыте.

Вывод:

ОПЫТ № 3. Извлечение нуклеопротеидов из дрожжей

Цель опыта: Дрожжи богаты нуклеопротеидами рибозного типа. Нуклеопротеид можно извлечь из разрушенных клеток дрожжей при щелочной реакции раствора и осадить подкислением.

Реактивы и оборудование: 0,4%-ный раствор NaOH, 5%-ный раствор уксусной кислоты, диэтиловый эфир, дрожжи прессованные, песок стеклянный, штатив с пробирками, лопаточки, асбестовые сетки, спиртовка, пипетки, ступки с пестиками, центрифужные пробирки, центрифуга.

Ход опыта: В фарфоровую ступку поместить 1 г дрожжей, добавить 1 каплю диэтилового эфира, 2 капли дистиллированной воды, около 0,1 г песка. Дрожжевую массу растереть пестиком в течение 1-2 минут для разрушения клеток. В ступку добавить 4 мл 0,4%-ного раствора NaOH и растирание продолжить в течение 3 минут. Содержимое ступки пипеткой перенести в центрифужную пробирку, в другую налить воду, уравновесить пробирки и центрифугировать в течение 10 минут. Если нет центрифуги, то раствор отстаивать в течение 20-30 мин. Затем надосадочную жидкость перенести пипеткой в стакан с 80-90 мл воды, подкисленной до pH=4,5 уксусной кислотой. Выпавший осадок РНК-протеида отделить центрифугированием или декантацией и использовать для реакции гидролиза.

Наблюдаемые изменения:

Вывод:

ОПЫТ № 4. Гидролиз нуклеопротеида

Цель опыта: Провести гидролиз нуклеопротеида. Эту реакцию можно осуществить путём кипячения нуклеопротеида с серной кислотой. Нуклеопроteid при этом расщепляется на белок и нуклеиновую кислоту. Белок затем частично гидролизуется до низкомолекулярных пептидов и аминокислот. Нуклеиновая кислота расщепляется до азотистых оснований, пентозы и фосфорной кислоты.

Реактивы и оборудование: 5%-ный раствор H_2SO_4 , колба с обратным холодильником, воронка, фильтр, стакан химический на 100 мл.

Ход опыта: Нуклеопроteid, полученный из дрожжей, перенести в колбочку, добавить 15 мл раствора серной кислоты, кипятить в течение часа. Гидролизат охладить, отфильтровать, фильтрат использовать для анализа продуктов гидролиза.

Наблюдаемые изменения:

Уравнения реакций:

Вывод:

ОПЫТ № 5. Изучение химического состава рибонуклеопротеидов дрожжей

Цель опыта: Идентифицировать компоненты нуклеопротеидов.

Реактивы и оборудование: 10%-ный раствор AgNO_3 , 10%-ный раствор NaOH , 10%-ный раствор H_2SO_4 , концентрированный раствор аммиака, универсальная индикаторная бумага, щелочной раствор виннокислого калия-натрия (реактив Фелинга 1), 5%-ный раствор сульфата меди (реактив Фелинга 2), штатив с пробирками, спиртовка, спички.

Ход опыта:

а) Биуретовая реакция на белок. К 5-6 каплям гидролизата добавить 10 капель 10%-ного раствора NaOH и 1 каплю 1%-ного раствора CuSO_4 . При наличии белка жидкость окрашивается в розово-фиолетовый цвет.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

б) Серебряная проба на пуриновые основания. К 0,5 мл гидролизата добавить аммиак до щелочной реакции и 0,5 мл аммиачного раствора Ag_2O . Через 5 минут при стоянии выпадает небольшой хлопьевидный осадок серебряных соединений пуриновых оснований.

Наблюдаемые изменения:

Уравнение реакции:

Вывод:

в) Реакция на пентозы. К 0,5 мл гидролизата прилить 1 мл реактива Фелинга (получить сливанием равных объемов реактива Фелинга 1 и реактива Фелинга 2). Содержимое пробирки перемешать, нагреть верхнюю часть раствора до начинающегося кипения.

Уравнение реакции:

Вывод:

Работа	выполнена:	____.____.20____	г. _____
_____	дата	подпись студента	подпись преподавателя

Вопросы к семинару по теме «Нуклеиновые кислоты»

1. Азотистые основания (пиримидиновые и пуриновые), особенности строения.
2. Нуклеозиды (рибонуклеозиды, дезоксирибонуклеозиды).
3. Нуклеотиды, циклофосфаты.
4. Структура нуклеиновых кислот: структура полинуклеотидной цепи, первичная структура нуклеиновых кислот, нуклеотидная последовательность.
5. Вторичная и третичная структура ДНК, комплементарные пары, роль комплементарных взаимодействий в осуществлении биологической функции ДНК.
6. Вторичная и третичная структуры м-РНК, т-РНК и р-РНК. Роль разных типов РНК.

Упражнения для самостоятельной работы по теме «Нуклеиновые кислоты»

1. При действии на смесь бензола и пиридина массой 10 г соляной кислоты образовалась соль массой 11,55 г. Какова массовая доля бензола в смеси?
2. Вычислите массу нитропиридина, образовавшегося при нитровании пиридина массой 23,7 г азотной кислотой массой 20 г при массовой доле выхода 75 %.
3. При обработке продуктов гидролиза 3,63 г рибонуклеотида, содержащего 19,28 % азота по массе, избытком известковой воды выпало 1,55 г осадка. Установите структурную формулу рибонуклеотида и напишите уравнение реакций.
4. Некоторый дезоксирибонуклеотид содержит 8,7 % азота по массе. Образец этого нуклеотида массой 9,66 г гидролизовали, продукты гидролиза обработали избытком раствора гидроксида бария; при этом выпало 9,015 г осадка. Напишите структурную формулу дезоксирибонуклеотида и уравнения химических реакций.
5. Напишите формулу фрагмента молекулы РНК, содержащего следующую последовательность нуклеотидов: А - У - Г - А - Г - Г - У - У

Основные термины

Нуклеозиды. Соединения азотистых оснований с рибозой.

Нуклеотиды. Мономерные звенья нуклеиновых кислот – представляют собой монофосфорные эфиры нуклеозидов.

Нуклеиновые кислоты. Биополимеры, мономерами которых служат нуклеотиды, связанные между собой фосфоэфирными связями.

Нуклеопротеиды. Сложные белки, состоящие из простых белков, соединенных с нуклеиновой кислотой.

ДНК. Дезоксирибонуклеиновая кислота.

РНК. Рибонуклеиновая кислота.

Приложения

Приложение 1

Основные физические постоянные

Постоянная	Обозначение	Значение
Число Авогадро	N_A	$6,02 \times 10^{23} \text{ моль}^{-1}$
Заряд электрона	E	$1,60 \times 10^{-19} \text{ Кл}$
Молярный объем газа	V_M	22,4 л/моль
Постоянная Больцмана	K	$1,38 \times 10^{-23} \text{ Дж/К}$
Постоянная Планка	h	$6,63 \times 10^{-34} \text{ Дж} \times \text{с}$
Постоянная Фарадея	F	$9,65 \times 10^4 \text{ Кл/моль}$
Универсальная газовая постоянная	R	$8,31 \text{ Дж/(моль} \times \text{К)}$

* – При нормальных условиях

Приложение 2

Множители и приставки для обозначения десятичных кратных и дольных единиц

Множитель	Приставка	Обозначение	Множитель	Приставка	Обозначение
10^{12}	тета	Т	10^{-1}	Деци	д
10^9	гига	Г	10^{-2}	Санتي	с
10^6	мега	М	10^{-3}	Милли	м
10^3	кило	К	10^{-6}	Микро	мк
10^2	гекто	Г	10^{-9}	Нано	н
10^1	дека	Да	10^{-12}	Пико	п

Приложение 3

Свойства важнейших двухцветных кислотно-основных индикаторов

Индикатор	Переход окраски	Интервал pH
Метиловый оранжевый	Красная → оранжевая	3,1 – 4,0
Лакмоид	Красная → синяя	4,0 – 6,4
Метиловый красный	Красная → желтая	4,2 – 6,2

Приложение 4

Изоэлектрические точки (pI) некоторых белков

Белок	pI
Пепсин желудочного сока	2,00
Казеин молока	4,60
Альбумин сыворотки крови	4,64
Яичный белок	4,71
α -Глобулин крови	4,80
Миозин мышц	5,00
β -Глобулин крови	5,20
β -Лактоглобулин	5,20
Фибриноген крови	5,40
Белки цитоплазмы	5,50
Карбоксипептидаза	6,00
γ -Лактоглобулин	6,40
Гемоглобин	6,68
Оксигемоглабин	6,87
Гистон клеточных ядер	8,50

Хемотрипсин сока поджелудочной железы	8,60
Рибонуклеаза	9,50
Цитохром с	10,70
Лизоцим	10,70

Приложение 5

Значения водородного показателя некоторых биологических жидкостей

Жидкость	pH
Дистиллированная вода в контакте с воздухом	5,6
Морская вода	8,0
Сыворотка крови	7,35 – 7,45
Артериальная кровь	7,36 – 7,42
Венозная кровь	7,26 – 7,36
Спинномозговая жидкость	7,35 – 7,45
Водянистая вода глаза	7,4
Слезная жидкость	7,4
Слюна	6,35 – 6,85
Чистый желудочный сок	0,9
Сок поджелудочной железы	7,5 – 8,0
Молоко	6,6 – 6,9
Кожа (внутриклеточная жидкость)	6,6 – 6,9
Желчь в протоках	7,4 – 8,5
Желчь в пузыре	5,4 – 6,9
Моча	4,8 – 7,5
Содержимое тонкого кишечника	7,0 – 8,0

Приложение 6

Физические свойства некоторых моносахаридов

Моносахарид	Т _{пл} ,	Удельное вращение $[\alpha]_D^{20}$, град.	
		В растворе	В равновесном растворе после мутаротации
А-D-Глюкопираноза	146	+112,2	
В-D-Глюкопираноза	148-155	+18,7	
Д-Глюкопираноза			+52,7
А-D-Галактопираноза	167	+150,7	
Д-Галактоза			+80,2
В-D-Маннопираноза	132	-17	
Д-Манноза			+14,2
В-D-Фруктопираноза	102-104	-132	
Д-Фруктоза			-92,4
А-D-Ксилопираноза	145	+93,6	
Д-Ксилоза			+18,8
α -D-Арабинопираноза	160	+190,6	
Д-Арабиноза			+104,5

Литература

Основная литература

1. Филиппович Ю.Б., Егорова Т.Д., Севастьянова Г.А. Практикум по общей биохимии. - М.: Просвещение, 1982.
2. Филиппович Ю.Б., Севастьянова Г.А., Щеголева Л.И. Упражнения и задачи по биологической химии. - М.: Просвещение, 1986.
3. Филиппович Ю.Б. Основы биохимии. - М.: Высшая школа, 1985.
4. Филиппович Ю.Б. Биохимические основы жизнедеятельности человека. — М.: Владос, 2005.

Дополнительная литература

1. Аверцева И.Н., Нестерова О.В., Попков В.А. и др. Практикум по общей и биоорганической химии. М.: Академия, 2005.
2. Аксенов С.И. Вода и ее роль в регуляции биологических процессов - М.: Наука, 1990.
3. Бакл Дж., Гормоны животных. - М.: Мир, 1986.
4. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. - М.: Медицина, 1982.
5. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия: Учебник - М.: Медицина, 1998.
6. Биохимия гормонов и гормональная регуляция. /Под ред. Н.А. Юдаева - М.: Наука, 1976.
7. Биохимия. Тесты и задачи: Учебное пособие. / Под ред. Е.С. Северина. - М.: Веди, 2005.
8. Биохимия: Краткий курс с упражнениями и задачами. / Под ред. Е.С. Северина, А.Я. Николаева - М.: ГЕОТАР-МЕД, 2001.
9. Биохимия: Учебник / Под ред. Е.С. Северина. - М.: ГЕОТАР-МЕД, 2004.
10. Болдырев А.А. Биологические мембраны и транспорт ионов. - М.: Высш. школа, 1985.
11. Варфоломеев С.Д. Химическая энзимология: Учебник. - М.: Издательский центр «Академия», 2005.
12. Витамины. /Под ред. М.И. Смирнова. - М.: Медицина, 1974.
13. Врожденные и приобретенные энзимопатии. /Под ред. Т. Ташева - М.: Мир, 1980.

14. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции. - М.: Мир, 1997.
15. Гилберт С. Биология развития. - М.: Мир, 1995.
16. Донченко Г.В. Биохимия убихинона. - Киев, 1988.
17. Душейко А.А. Витамин А обмен и функции. - Киев, 1989.
18. Жеребцов Н.А., Попова Т.А., Артюхов В.Г. Биохимия: Учебник - Воронеж: Издательство Воронежского государственного университета, 2002.
19. Камилов Ф.Х., Давлетов Э.Г. Биохимия гормонов и механизмы гормональной регуляции обмена веществ. - Уфа, 1998.
20. Кольман Я., Рем К.-Г. Наглядная биохимия: Пер. с нем. - М: Мир, 2000.
21. Комов В.П. Биохимия: Учеб. пособие для вузов. - М.: Дрофа, 2004.
22. Крю Ж. Биохимия (медицинские и биологические аспекты). - М.: Медицина, 1979.
23. Курилова Т.В., Соболевская Т.М., Шибкова Д.З. Механизмы гормональной регуляции метаболизма и физиологических функций. - Челябинск, 1993.
24. Курилова Т.В., Туманова Р.К., Соболевская Т.М. Методические рекомендации для проведения школьных вариантов опытов по теме «Нуклеиновые кислоты». - Челябинск, 1991.
25. Ленинджер А. Биохимия. - М.: Мир, 1976.
26. Лифшиц Р.И. и др. Методические указания к практическим занятиям по биологической химии. - Челябинск, 1983.
27. Морозкина Т.С., Мойсеёнок А.Г. Витамины. Минск.: Асар, 2002.
28. Мецлер Д. Биохимия. - М.: Мир, 1980.
29. Мусил Я. и др. Современная биохимия в схемах. - М.: Мир, 1981.
30. Николаев А.Я. Биологическая химия. - М.: Высш. Школа, 1989.
31. Ньюсхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма. - М.: Мир, 1977.
32. Обмен липидов и липопротеинов и его нарушения. - СПб: Питер Ком, 1999.
33. Пустовалова Л.М. Практикум по биологической химии. - Ростов-на-Дону: Феникс, 1999.
34. Проскурина И.К. Биохимия. - М.: Владос, 2003.

35. Розен В.Б. и др. Рецепторы и стероидные гормоны. - М.: Изд-во МГУ, 1981.
36. Северин Е.С., Алейников Т.Л., Осипов Е.В. Биохимия: Учебник - М.: Медицина, 2000.
37. Северин Е.С., Николаева А.Я. Биохимия. – М.: ГЭОТАР-медиа, 2005.
38. Спиричев В.Б., Барашчев Ю.Г. Врожденные нарушения обмена витаминов. - М.: Медицина, 1977.
39. Страйер Л. Биохимия. - М.: Мир, 1984.
40. Строев Е.А. Биологическая химия. -М.: Высш. школа, 1986.
41. Тюкавкина Н.А. Биоорганическая химия: Учебник для вузов. - М.: Дрофа, 2004.
42. Уайт А. и др. Основы биохимии. - М.: Мир, 1981.

Содержание

Предисловие	3
Свойства аминокислот.....	4
Химия белков.....	11
Физико-химические свойства белков	19
Ферменты.....	26
Моносахариды	35
Дисахариды	43
Высшие полисахариды	49
Нуклеиновые кислоты.....	55
Приложения	62

Учебное издание

Галина Геннадиевна Козлова
Светлана Александровна Онина

Рабочая тетрадь к лабораторному практикуму
по дисциплине «Биологическая химия»

Редактор *Р.Б. Садыкова*
Компьютерная верстка *А.Р. Набиуллин*

Подписано в печать 23.04.2009. Формат 60×84 1/16. Гарнитура «Таймс».
Печать офисная. Бумага тип. № 2. Усл.-печ. 3,1 л. Уч.-изд. 4,2 л.
Тираж 300 экз. Заказ № 001. Цена договорная

452453, Республика Башкортостан, г. Бирск, ул. Интернациональная, 10.
Бирская государственная социально-педагогическая академия.
Отдел множительной техники БирГСПА