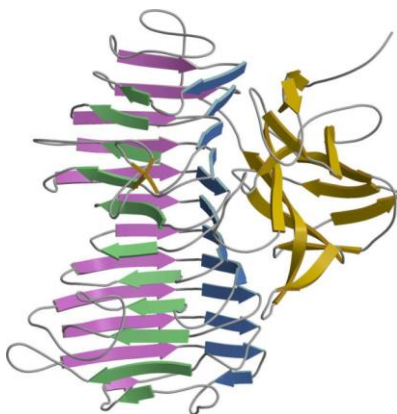


МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
АЛТАЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ХИМИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра органической химии

**ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ
ПРОЦЕССОВ. ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ**

Учебно-методическое пособие



Барнаул

Издательство
Алтайского государственного
университета
2019

Составители:

В.И. Маркин, И.В. Микушина, П.В. Колосов, И.Б. Катраков,
М.Ю. Чепрасова

Учебно-методическое пособие содержит ряд лабораторных работ и теоретическое введение к ним для проведения практических занятий по дисциплине «Химические основы биологических процессов». Предназначено для студентов дневного отделения обучающихся по направлению 04.03.01 (бакалавры), – Химия и специальности 04.05.01 – Фундаментальная и прикладная химия. Может быть полезно также студентам, аспирантам, преподавателям и научным сотрудникам, работающим в области химии природного сырья.

Рекомендовано к изданию химическим факультетом АлтГУ.

Данное учебное пособие доступно в сети Интернет на сайте <https://portal.edu.asu.ru/course/view.php?id=1241>

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	4
ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЛАБОРАТОРИИ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ	5
ВВЕДЕНИЕ	5
ОБЩИЕ ПРАВИЛА РАБОТЫ В ЛАБОРАТОРИИ	5
ПРАВИЛА ПРОТИВОПОЖАРНОЙ БЕЗОПАСНОСТИ	8
ОСНОВЫ ЭЛЕКТРОБЕЗОПАСНОСТИ	11
РАБОТА С ЯДОВИТЫМИ И ТОКСИЧНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ	13
Работа с токсичными веществами	14
Работа с агрессивными веществами	14
Работа с легковоспламеняющимися и горючими веществами	15
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	15
АНАЛИЗ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	17
АНАЛИЗ ВИТАМИНОВ	17
Определение витаминов группы В ₁	17
Определение аскорбиновой кислоты	19
Определение витаминов группы А	22
Изучение действия ферментов	23
МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ И ИХ КОМПОЗИЦИЙ ИЗ ПРИРОДНЫХ ОБЪЕКТОВ	31
АБИЕТИНОВАЯ КИСЛОТА	31
КАЗЕИН И ТИРОЗИН ИЗ МОЛОКА	34
КОФЕИН ИЗ ЧАЯ	37
ВЫДЕЛЕНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ	39
ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	43
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИДРОЛИЗУЕМЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ И РАСЧЕТ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ	43
ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ПРОЦЕСС ГИДРОЛИЗА ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ	46
ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ САХАРА В РАЗЛИЧНЫХ ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ	48
СПИСОК РЕКОМЕНДОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	54

ПРЕДИСЛОВИЕ

Значительный прогресс фундаментальных и прикладных исследований в областях, лежащих на стыке химии и биологии (молекулярная биология, биологическая химия, биоорганическая химия, медицинская химия, фармакология) оказывает и, по оценкам экспертов, будет оказывать все более возрастающее влияние на все стороны жизни современного общества. В настоящее время существенно возросли требования к безопасности и качеству контактирующих с человеческим организмом продуктов органического синтеза, сфера применения и разнообразие которых постоянно растут. Это требует более глубокого понимания строения и функций потенциальных биомишеней физиологически активных веществ. Таким образом, знание химических основ биологических процессов сейчас является одним из необходимых компонентов базового химического университетского образования.

Одним из важнейших видов учебных занятий при освоении химических основ биологических процессов, является лабораторный практикум. Именно при проведении экспериментальной работы с конкретными биологическими объектами, которые окружают человека в повседневной жизни можно представить взаимосвязь химических и биологически дисциплин.

Предлагаемое вашему вниманию учебное пособие содержит перечень лабораторных работ для изучения дисциплины «Химические основы биологических процессов». Практикум включает следующие основные разделы: малый практикум, нацеленный на изучение основных (специфических) свойств природных органических соединений; несколько лабораторных работ, иллюстрирующих основные подходы к выделению из природных объектов индивидуальных соединений или их композиций; некоторые методы исследования продуктов, используемых человеком в повседневной жизни.

Авторский коллектив заранее благодарен педагогам и студентам за советы и замечания по содержанию представленного руководства. Ваши пожелания мы принимаем на кафедре органической химии химического факультета АлтГУ, а также по электронной почте: markin@chemwood.asu.ru.

Авторы

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ЛАБОРАТОРИИ ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Введение

Химия – экспериментальная наука. Работа в химической лаборатории, особенно в лаборатории органической химии, связана с некоторой опасностью, вытекающей из необходимости пользоваться легковоспламеняющимися и взрывоопасными веществами (такими как эфиры, спирты, сероуглерод и т. п.), а также ядовитыми веществами (такими как пиридин, бензол и т. п.). Надо помнить, что большинство несчастных случаев вызывается невниманием или небрежностью работающих. Поэтому опасность при работе в лаборатории можно свести к минимуму, правильно и своевременно применяя все необходимые меры предосторожности.

Основой для нормальной работы в химической лаборатории может служить лишь сознательное соблюдение каждым сотрудником правил техники безопасности. Никакое отступление от требований безопасности не может быть оправдано ни особыми обстоятельствами, ни «разумными доводами». Недопустимо нарушать эти требования даже при полной уверенности, что в данном случае нарушение не приведет к аварии: если неправильный навык закрепится, в дальнейшем он может быть автоматически применен в других, более опасных условиях. Разумеется, не каждое нарушение инструкций влечет за собой несчастный случай.

Общие правила работы в лаборатории

Для работы в лаборатории органического синтеза допускаются только те студенты, которые изучили и успешно сдали зачет по правилам техники безопасности работы в химической лаборатории. Факт сдачи зачета фиксируется в специальном журнале по технике безопасности под личную роспись прошедших инструктаж.

Студенты, не сдавшие зачета по технике безопасности, к работе не допускаются!

Только после получения допуска у преподавателя на выполнение работы студент получает у инженера необходимые реактивы, посуду и приступает к выполнению эксперимента.

В процессе выполнения эксперимента студент постоянно наблюдает за работой установки и поддерживает заданный режим работы. В экстренных случаях студент сначала выключает установку, а затем информирует преподавателя о случившемся.

Студенту запрещается оставлять работающую установку без присмотра или поручать наблюдение за ней другому студенту без разрешения преподавателя; устранять возникшие неисправности на работающей установке или подключенном к сети электроприборе; выливать в раковину остатки ядовитых, агрессивных и органических веществ; выпускать в атмосферу лаборатории пары этих веществ и остаточные газы из установки.

По окончании работы студент должен выключить установку, отсоединить шнуры электроприборов и электронагревателей от энергосети, закрыть водопроводные краны (вентили), убрать в специально отведенный шкаф сосуды с реактивами и синтезированными веществами (пробами), снабдив их этикетками с четкими надписями, на которых указать, что находится в сосуде и свою фамилию. Вымыть и высушить химическую посуду и части установки, находившиеся в контакте с реактивами, привести в порядок рабочее место и сдать его дежурному и инженеру. Студент может отлучиться или уйти из лаборатории только с разрешения преподавателя.

При работе в лаборатории следует соблюдать следующие общие правила:

1. В лаборатории при выполнении синтезов должно находиться не менее двух человек.

2. Выполняющие работы должны знать правила техники безопасности и пожарной безопасности.

3. Категорически запрещается в лаборатории принимать пищу, курить и пить воду из химической посуды.

4. Каждый работающий должен знать месторасположение средств пожаротушения и уметь ими пользоваться.

5. Прежде чем приступить к работе, необходимо изучить свойства используемых и образующихся веществ, а также правила техники безопасности при работе с ними.

6. Запрещается проводить опыты в грязной посуде. Посуду следует мыть сразу после выполнения работы.

7. Нельзя оставлять работающие лабораторные установки, а также включенные приборы без присмотра.

8. При выполнении работы обязательно следовать указаниям по использованию всех необходимых индивидуальных средств защиты.

9. Запрещается пробовать на вкус какие бы то ни было вещества.

10. Нельзя наклоняться над сосудом с нагреваемой жидкостью, направлять отверстие таких сосудов на себя и на других работающих.

11. Категорически запрещается использовать вещества из посуды, не имеющей этикетки.

12. Определять запах вещества следует, осторожно направляя пары к себе легким движением руки и не вдыхая их полной грудью.

13. После окончания работы необходимо привести в порядок рабочее место, выключить газ, воду и электроэнергию.

14. Нельзя оставлять включенные электроплитки.

15. Запрещается выливать в раковины остатки кислот, щелочей, легковоспламеняющихся и горючих жидкостей, бросать в раковины бумагу, спички, песок и другие твердые вещества.

16. Категорически запрещается нагревать жидкость в закупоренных сосудах и аппаратах, кроме предназначенных для этого автоклавов.

17. Каждый работающий в лаборатории должен знать, где находится аптечка с медикаментами, и уметь оказать первую помощь при различных травмах.

В каждой лаборатории должна быть организована первая помощь при несчастных случаях, а при серьезных ожогах, порезах или отравлениях независимо от оказанной помощи следует обращаться к врачу.

Несчастные случаи в лабораториях можно подразделить следующим образом: пожары и тепловые ожоги; поражение электрическим током; отравления; химические ожоги; порезы и ранения; взрывы.

Правила противопожарной безопасности

Причиной пожара может быть непосредственное нагревание легковоспламеняющихся жидкостей, особенно находящихся в открытых сосудах. Нужно твердо помнить, что легковоспламеняющиеся жидкости можно нагревать только с помощью бань, пары их должны полностью конденсироваться, работу с горючими веществами нужно проводить вдали от огня, лучше в вытяжном шкафу.

Если все же по какой-либо причине одежда воспламенилась, не следует бежать, так как при этом вследствие движения воздуха огонь разгорается еще сильнее. Очень важно действовать быстро, но не поддаваться панике. При воспламенении небольшого участка иногда удастся сорвать горящую одежду и затем потушить ее на полу. Сбивание пламени руками может привести к дополнительным ожогам. В этом случае лучше всего упасть на пол, чтобы пламя не распространялось к голове, и, катаясь, загасить огонь. Если в лаборатории кроме пострадавшего есть люди, они должны загасить огонь на горящем человеке,

набросив на него брезент, специальное противопожарное одеяло (обработанное составом, придающим ему негорючесть), лабораторный халат или пиджак. Эти средства позволяют быстро потушить пламя, но при этом горящая или тлеющая одежда прижимается к коже и увеличивается тяжесть ожогов, особенно при горении синтетической одежды.

Для тушения одежды на человеке возможно применение огнетушащих средств. *Вода* наиболее эффективна при тушении загоревшейся одежды, при ее использовании уменьшается тяжесть ожогов. Другие средства огнетушения задействуют только в тех случаях, когда вода по каким-либо причинам недоступна в данный момент. Допустимо использование *воздушно-пенного* и даже *химического пенного огнетушителей*. В последнем случае пену нельзя направлять на голову, а пострадавший должен закрыть глаза. При умелом применении весьма эффективны и *порошковые огнетушители*.

Углекислотные огнетушители не предназначены для тушения горячей одежды, поскольку существует опасность обморожения незащищенной кожи. Однако в экстренных ситуациях, если других средств под рукой не оказалось, лица, имеющие опыт работы с углекислотными огнетушителями, могут применять их для тушения одежды, соблюдая известные меры предосторожности.

После ликвидации пламени необходимо быстро удалить тлеющие остатки одежды, кроме тех, которые прилипли к обожженным участкам кожи, и немедленно приступить к оказанию первой помощи при термических ожогах.

Пожар следует ликвидировать в месте его возникновения, и в первую очередь ликвидировать источник пожара (погасить горелку, выключить плитку). Небольшой пожар можно загасить мокрой тряпкой или засыпать песком. Для тушения более крупных пожаров следует применять порошковые огнетушители. Не

рекомендуется использовать огнетушители, наполненные тетрахлорметаном, так как при их применении может образоваться очень ядовитый фосген; кроме того, при соприкосновении галогенпроизводных с металлическим натрием может произойти взрыв.

В препаративной органической химии для экстракции и кристаллизации часто применяют огнеопасные растворители, что требует соблюдения соответствующих мер безопасности.

Наиболее часто применяемые растворители можно разделить на три группы по их температурам кипения.

Растворители, кипящие при температурах ниже 50 °С (диэтиловый эфир, петролейный эфир и др.). Это легковоспламеняющиеся жидкости, работать с ними нужно вдали (по меньшей мере в 3 м) от пламени, а также следить за тем, чтобы не создавался ток воздуха в направлении от места работы с растворителем к пламени. Перечисленные растворители перегоняют на специальных водяных банях, нагреваемых закрытым электрическим греющим элементом. Перед перегонкой долго хранившегося эфира следует проверить, не содержит ли он перекисей (см. далее). Дистиллят собирают в приемник, которым может служить обыкновенная колба.

Растворители, кипящие при температуре 50–100 °С (бензол, метиловый и этиловый спирты, этилацетат и др.). Эти растворители также следует перегонять осторожно на водяной бане с электрическим или паровым нагревом.

Полная отгонка растворителей, даже легколетучих, из смесей с высококипящими веществами на водяной или паровой бане невозможна. Остатки этих растворителей отгоняются на воздушной или масляной бане.

Растворители, кипящие при температурах выше 100° (толуол, ксилолы и др.), перегоняются на воздушной или масляной

бане. Применять электрические плитки с открытой спиралью не рекомендуется.

Основы электробезопасности

Насыщенность современных лабораторий электрооборудованием чрезвычайно высока. Прежде всего, следует отметить используемые в качестве основных источников тепла всевозможные электронагревательные приборы различной мощности, в том числе электроплитки, сушильные шкафы и термостаты, электропечи, приборы для выпаривания, перегонки и высушивания с электроподогревом и т. д. Разнообразны применяемые в лабораториях электродвигатели, как малой мощности, например для лабораторных мешалок, так и мощные – для механических вакуумных насосов, центрифуг, компрессоров. Во многих лабораториях широко используются источники электрического тока, в том числе гальванические элементы и батареи, аккумуляторы, преобразователи тока, блоки питания. Потребляют электроэнергию также различные источники света, многочисленные приборы для инструментальных методов анализа, приборы и машины для механических испытаний.

Поражение людей электрическим током происходит при совпадении следующих обстоятельств:

- 1) отсутствие или нарушение заземления прибора;
- 2) появление на корпусе прибора электрического напряжения вследствие замыкания на корпус или пробоя на корпус;
- 3) одновременное прикосновение к корпусу поврежденного прибора или к токоведущим частям с нарушенной изоляцией и к заземленному оборудованию (другой электроприбор с исправным заземлением, водопроводные или газовые трубы, отопительные батареи) либо ситуация, когда человек прикасается к поврежденному прибору, стоя на влажном полу.

Основными мерами предотвращения поражений электрическим током в лабораториях являются защита от прикосновения

к находящимся под напряжением частям электрооборудования и обязательным заземлением. Прочие меры защиты – защитное отключение, использование малых напряжений – имеют ограниченное применение.

Поскольку в условиях лабораторий опасно воздействие на человека любого ощутимого тока, ***защите от случайного прикосновения подлежат все токоведущие части независимо от напряжения.***

Если все-таки соприкосновение с токоведущими частями произошло, то исход поражения током зависит от длительности его воздействия на человека. Поэтому главная задача при оказании первой помощи – как можно быстрее освободить пострадавшего от действия тока. В помещениях лабораторий это быстрее и надежнее всего достигается путем отключения электроэнергии общим рубильником. Допускается отключение от сети прибора, вызвавшего поражение.

Запрещается прикасаться голыми руками к обнаженным частям тела пострадавшего до размыкания.

После освобождения от действия тока пострадавшему немедленно оказывают медицинскую помощь. Следует помнить, что при поражениях электрическим током, вызвавших хотя бы кратковременную потерю сознания, независимо от самочувствия пострадавшего и успешности мероприятий первой помощи необходимо обязательно и немедленно вызвать врача.

Если пострадавший потерял сознание, следует в первую очередь проверить пульс и дыхание. При наличии дыхания и пульса необходимо уложить его на спину и повернуть голову в сторону, чтобы предупредить западание языка. Далее принимают меры, чтобы привести пострадавшего в сознание: обрызгивают лицо холодной водой, дают нюхать вату, смоченную нашатырным спиртом, и т. п. После того как он придет в созна-

ние, ему дают выпить настойку валерианы (15–20 капель) и горячего чая.

Если пострадавший после обморока пришел в сознание, до прихода врача нужно обеспечить ему полный покой, уложить в теплом помещении, дать теплое питье, расстегнуть стесняющую дыхание одежду. Нельзя оставлять пострадавшего без присмотра, позволять ему двигаться, а тем более продолжать работу.

Если дыхание слабое и неровное, производят искусственное дыхание и массаж сердца.

Если дыхание и пульс отсутствуют, ни в коем случае не следует считать пострадавшего мертвым. Необходимо немедленно приступить к искусственному дыханию по способу «изо рта в рот» с одновременным непрямой массажем сердца. Помощь должна оказываться непрерывно до полного восстановления дыхания и пульса, независимо от времени, в течение которого пострадавший находится в состоянии клинической смерти. Основанием для прекращения реанимационных мероприятий может служить только заключение врача или полное окоченение и охлаждение тела до температуры окружающего воздуха.

Если на теле пострадавшего имеются ожоги, первую помощь следует оказывать так же, как при термических ожогах.

Работа с ядовитыми и токсичными соединениями

Многие из органических и неорганических веществ, которые используют в лабораторном практикуме или которые образуются в результате выполнения работы, являются токсичными (иногда сильнотоксичными) или агрессивными, легковоспламеняющимися или взрывоопасными. Часто одно и то же вещество может обладать несколькими из этих свойств. Поэтому каждый студент должен хорошо знать свойства веществ, с которыми он будет работать.

Работа с токсичными веществами

Работы с токсичными и неприятно пахнущими веществами проводят только в вытяжном шкафу с хорошо действующей тягой при максимально закрытых створках и при наличии исправного противогаса соответствующей марки.

Следует отметить особую опасность для работающего и окружающих его лиц паров ртути, которые бесцветны и не имеют запаха, но являются сильнодействующим ядом и при длительном вдыхании вызывают тяжелое хроническое отравление. Поэтому при работе с ртутными приборами (манометрами, термометрами и др.) надо соблюдать особую осторожность, не допуская их поломки. Разлитую (даже в небольшом количестве) ртуть немедленно и тщательно собирают с помощью стеклянной трубки, которую присоединяют к водоструйному насосу через специальную ловушку. После этого место, где была пролита ртуть, дезактивируют одним из следующих способов: посыпают иодированным углем или порошком серы; обрабатывают раствором 3%-ного перманганата калия или 5 %-ного тетрасульфида натрия (Na_2S_4).

Работа с агрессивными веществами

Работы с агрессивными веществами проводят в резиновых перчатках, защитных очках и под тягой. Следует помнить, что для получения разбавленных растворов серной кислоты *концентрированную серную кислоту* (или олеум) *приливают небольшими порциями при перемешивании к воде, а не наоборот*. Растворы готовят в тонкостенных сосудах из фарфора или в сосудах из термостойкого стекла и не допускают сильного разогревания растворов.

При приготовлении растворов щелочей порядок смешения не имеет большого значения, но предпочтительнее добавлять щелочь к воде небольшими порциями, не допуская сильного разогревания раствора.

Категорически запрещается приливать щелочь к кислоте или кислоте к щелочи во избежание взрыва и выброса веществ!

Работа с легковоспламеняющимися и горючими веществами

Работу с легковоспламеняющимися и горючими веществами, как правило, проводят в отдельной секции вытяжного шкафа в отсутствие открытого пламени и электронагревательных приборов с открытым нагревательным элементом. Если эти работы проводят в общем помещении лаборатории, то расстояние до нагревателя должно быть не менее 4 м.

Огнеопасные вещества нагревают под постоянным наблюдением на водяных, масляных, песчаных банях или электронагревателях с закрытым нагревательным элементом, не допуская перегрева. Для спокойного кипения в вещество перед нагреванием опускают несколько небольших кусочков любого инертного пористого материала.

Внимание! Кусочки пористого материала нельзя опускать в жидкость, нагретую до кипения, во избежание бурного вскипания и выброса вещества!

При перегонке жидких огнеопасных веществ с температурой кипения ниже 50 °С приемники для дистиллята охлаждают холодной водой или другими хладагентами с более низкой температурой. На рабочем месте хранят только такой объем легковоспламеняющегося вещества, который необходим для выполнения очередного опыта.

Заключение

Приведенные в данном разделе общие сведения, посвященные технике безопасности при работе в лаборатории органической химии, являются основными, но далеко не исчерпывающими. При подготовке к каждой конкретной работе нужно не только тщательно изучить методику ее проведения, но и позна-

комиться с основными правилами техники безопасности при использовании оборудования, веществ, а также с вероятными опасностями и методами их устранения, и правилами оказания первой помощи при возможных несчастных случаях.

Конечно, никакими, даже самыми подробными, инструкциями невозможно охватить все конкретные ситуации, возникающие на практике. Поэтому важно не только знать требования техники безопасности, но и понимать их суть, уметь применять их в нестандартных ситуациях и оценивать возможные последствия любого действия. Умение работать без травм и аварий – один из основных критериев при определении профессиональной квалификации любого специалиста.

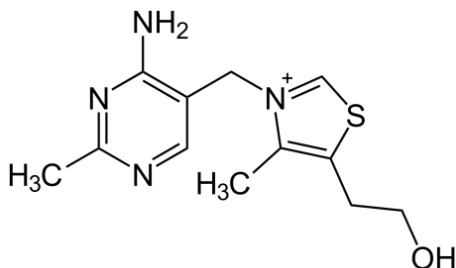
АНАЛИЗ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Анализ витаминов

Цель работы – проведение качественных химических реакций на основные группы витаминов, знакомство с методами идентификации различных групп витаминов, их значимостью в биологических процессах.

Определение витаминов группы В₁

Тиамин (витамин В₁) — органическое гетероциклическое соединение, водорастворимый витамин, отвечающий формуле C₁₂H₁₇N₄OS. Бесцветное кристаллическое вещество, хорошо растворимое в воде, нерастворимое в спирте (есть и жирорастворимый аналог витамина В1 (тиамина) — бенфотиамин).



Вещество необходимо для нормального роста и развития и помогает поддерживать надлежащую работу сердца, нервной и пищеварительной систем. Тиамин, являясь водорастворимым соединением, не запасается в организме и не обладает отравляющими свойствами.

Витамин В₁ играет важную роль в метаболизме углеводов и некоторых аминокислот.

Витамин В₁ нужен:

- для нормального липидного и углеводного обмена,
- для работы нервной системы и мышц, в частности – сердечной,
- для нормального образования желудочного сока.

Дефициту витамина В₁ способствует употребление рафинированных продуктов, поэтому рекомендуется включать в рацион

цельнозерновые, где этого витамина больше всего. Длительный дефицит В₁ приводит к заболеванию под названием бери-бери. У взрослых симптомы этой болезни включают в себя нарушения работы центральной нервной системы и сердца. К ранним признакам, указывающим на авитаминоз данного типа, относят анорексию, потерю веса, психические изменения и снижение мышечного тонуса.

Лучшими источниками витамина В₁ являются семена, орехи, ростки пшеницы, дрожжи, свинина, овсяные хлопья, цельнозерновая паста, ржаной хлеб, топинамбур, ягоды облепихи, пеньк, куриное филе, цельнозерновой рис, лосось, бобовые, яйца.

Опыт 1. Тиохромная реакция на тиамин

Анализ субстанций. 0,01 г препарата витамина В (тиамин хлорид, тиамин бромид, фосфотиамин, кокарбоксилаза) растворяют в 5 мл воды, добавляют 1 мл 5%-ного раствора феррицианида калия (красная кровяная соль), 1 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия, 5 мл бутилового или изоамилового спирта, хорошо встряхивают и дают отстояться. В верхнем спиртовом слое возникает наблюдаемая в ультрафиолетовом свете синяя флюоресценция, исчезающая при подкислении и вновь возникающая при подщелачивании раствора.

Анализ таблеток, драже, поливитаминных препаратов. Навеску растертого препарата, содержащую около 0,01 г витамина В₁ встряхивают с 10 мл воды в течение 1 мин и фильтруют. 5 мл фильтрата обрабатывают, как указано выше.

Открытие тиамина в дрожжах. 10 г сухих дрожжей тщательно растирают в ступке, добавляя постепенно 10 мл 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты. Суспензию центрифугируют, надосадочный раствор обрабатывают, как указано выше.

Опыт 2. Реакция тиамина с диазореактивом

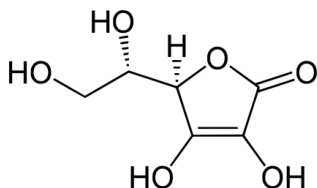
5–10 мг субстанции витамина В1 растворяют в 1 мл воды, добавляют 1 мл раствора диазореактива и 2 мл 5%-ного раствора карбоната натрия. Появляется желтое окрашивание, переходящее через 1–2 мин в красное.

Приготовление раствора диазореактива. В мерную колбу емкостью 100 мл помещают 0,90 г сульфаниловой кислоты, 9 мл концентрированной соляной кислоты, 60–70 мл воды, перемешивают и доводят водой до метки. 5 мл приготовленного раствора помещают в мерную колбу емкостью 100 мл, поставленную на лед, прибавляют 2,5 мл 10%-ного раствора нитрита натрия и смесь оставляют на льду в течение 5 мин. Затем прибавляют ещё 10 мл 10%-ного раствора нитрита натрия, перемешивают, выдерживают на льду 5 мин и доводят водой до метки. Хранят в холодильнике. Реактив годен в день приготовления.

Задание: описать наблюдаемые явления, привести схемы возможных химических реакций, на которых основано качественное определение, описать участие витамина В₁ в биологических процессах.

Определение аскорбиновой кислоты

Аскорбиновая кислота — органическое соединение с формулой $C_6H_8O_6$, является одним из основных веществ в человеческом рационе, которое необходимо для нормального функционирования соединительной и костной ткани. Выполняет биологические функции восстановителя и кофермента некоторых метаболических процессов, является антиоксидантом.



По физическим свойствам аскорбиновая кислота представляет собой белый кристаллический порошок кислого вкуса. Легко растворим в воде, растворим в спирте.

Витамин С – это основной водорастворимый антиоксидант в крови и клетках тканей.

Витамин С нужен:

- для развития и работы кожи, десен, зубов, костей,
- для нормального заживления ран,
- для повышения сопротивляемости организма, предотвращения весенней усталости и стресса,
- для уменьшения образования нитрозаминов,
- для превращения поступающей в организм фолиевой кислоты в фолаты,
- для нормальной работы мозга,
- для управления синтезом стероидных гормонов, для синтеза из холестерина желчной кислоты и регулирования уровня холестерина в крови,
- для усиления всасывания негемового железа (т.е. из пищи растительного происхождения).

Витамин С легко распадается под воздействием температуры, кислорода и света.

Лучшими источниками витамина С являются овощи и фрукты, ягоды, соки; шиповник, облепиха, паприка, черная смородина, ежевика, клубника, цитрусовые, красная смородина, капуста, брокколи, лук-порей, брюква, крыжовник, малина, помидоры, цветная капуста.

Аскорбиновую кислоту применяют в фармакологии, в пищевой промышленности в качестве антиокислителей продуктов, в косметологии и фотографии.

Опыт 3. Реакция с нитратом серебра

0,05 г препарата растворяют в 2 мл воды и прибавляют 0,5 мл 2%-ного раствора нитрата серебра. Выпадает темный осадок.

Опыт 4. Реакция с метиленовым синим

Клубень картофеля или часть кочана капусты натирают на терке из нержавеющей стали. Растертую массу отжимают через полотняную ткань. К 1 мл свежееотжатого сока картофеля или капусты добавляют 1–2 капли 0,01%-ного раствора метиленового синего, 2–3 капли 5%-ного раствора карбоната натрия и слегка подогревают. Наблюдается обесцвечивание синей окраски.

Опыт 5. Реакция с 2,6-дихлорфенолиндофенолом (метод Тильманса)

К 1 мл свежееотжатого сока картофеля или капусты добавляют 3–4 капли 2%-ного раствора хлористоводородной кислоты и медленно по каплям 0,0005 М раствор натриевой соли 2,6-дихлорфенолиндофенола. По мере добавления реактива окраска вначале исчезает, а затем появляется розовая окраска.

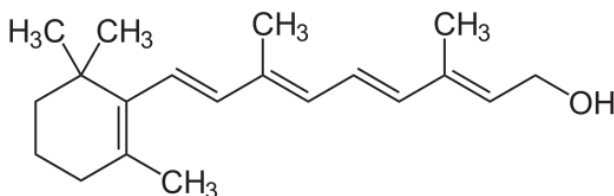
Опыт 6. Реакция с красной кровяной солью

К 1 мл сока капусты или картофеля прибавляют 2 капли 5%-ного раствора гидроксида калия, 2 капли 5%-ного раствора красной кровяной соли и встряхивают пробирку, после чего добавляют 6–8 капель 10%-ного раствора хлористоводородной кислоты и 1–2 капли 1%-ного раствора хлорного железа. Появляется синее или зеленовато-синее окрашивание.

Задание: описать наблюдаемые явления, привести схемы возможных химических реакций, на которых основано качественное определение, описать участие аскорбиновой кислоты в биологических процессах.

Определение витаминов группы А

Витамин А — группа близких по химическому строению веществ, которая включает ретинол (витамин А₁, аксерофтол) и другие ретиноиды, обладающие сходной биологической активностью: дегидроретинол (витамин А₂), ретиналь (ретилен, альдегид витамина А₁) и ретиновую кислоту. К провитаминам А относятся каротиноиды, которые являются метаболическими предшественниками витамина А; наиболее важным среди них является β-каротин. Ретиноиды содержатся в продуктах животного происхождения, а каротиноиды — растительных. Вещества группы витамина А являются кристаллическими веществами. Все эти вещества хорошо растворимы в неполярных органических растворителях (например, в маслах) и плохо растворимы в воде.



Витамин А выполняет множество биохимически важных функций в организме человека и животных. Ретинол является структурным компонентом клеточных мембран, обеспечивает антиоксидантную защиту организма.

Витамин А нужен:

- для зрения,
- для роста и развития многих клеток в организме,
- для нормального развития слизистых оболочек (он обуславливает дезинфицирующий защитный эффект),
- для регулирования антиоксидантных процессов,
- для обеспечения детородной функции.

Лучшими источниками витамина А являются печень, молочные продукты (сыр, масло), яйца. Больше всего каротиноидов в яичных желтках и апельсинах, но есть они и в некоторых зеленых овощах, фруктах и ягодах (ягоды шиповника, морковь, кудрявая капуста, дыня, шпинат, брокколи, листовой салат, паприка, апельсин, папайя, хурма), а также в батате.

Опыт 7. Идентификация витаминов группы А

А. 1 каплю масляного раствора ретинола ацетата или 2–3 капли рыбьего жира растворяют в 1 мл хлороформа и добавляют 5 мл насыщенного раствора хлорида сурьмы в перегнанном хлороформе; появляется синее окрашивание.

Б. 1 каплю масляного раствора ретинола ацетата или 2–3 капли рыбьего жира растворяют в 1 мл хлороформа и добавляют 1 каплю концентрированной серной кислоты и встряхивают; возникает сине-фиолетовое окрашивание, которое быстро переходит в красно-буроватое и затем в бурое.

Задание: описать наблюдаемые явления, привести схемы возможных химических реакций, на которых основано качественное определение, описать участие витамина А в биологических процессах.

Изучение действия ферментов

Цель работы – изучить химические процессы, происходящие при действии некоторых ферментов, качественными реакциями установить наличие продуктов действия ферментов на соответствующие субстраты, оценить значимость ферментативных реакций в биологических процессах.

Ферменты — обычно достаточно сложные молекулы белка, рибосом или их комплексы, ускоряющие химические реакции в живых системах. Каждый фермент, свернутый в определённую структуру, ускоряет соответствующую химическую ре-

акцию: реагенты в такой реакции называются субстратами, а получающиеся вещества — продуктами. Ферменты специфичны к субстратам: АТФ-аза катализирует расщепление только АТФ, а киназа фосфорилазы фосфорилирует только фосфорилазу.

Ферменты присутствуют во всех живых клетках и способствуют превращению одних веществ в другие. Ферменты выступают в роли катализаторов практически во всех биохимических реакциях, протекающих в живых организмах. Они играют важнейшую роль во всех процессах жизнедеятельности, направляя и регулируя обмен веществ организма. Ферменты широко используются в пищевой, текстильной промышленности, в фармакологии и медицине. Большинство лекарств влияют на течение ферментативных процессов в организме, запуская или приостанавливая те или иные реакции.

Реактивы, оборудование и исследуемый материал: яичный белок, растительное масло, NaHCO_3 (1%-ный раствор), фенолфталеин (1%-ный спиртовой раствор), крахмальный клейстер (готовят из 0,2%-ного раствора крахмала), I_2 (0,1%-ный раствор в 0,2%-ном растворе KI), сахароза (2%-ный раствор), реактив Фелинга (раствор А: 40 г сегнетовой соли и 30 г NaOH растворяют в 200 мл дистиллированной воды; раствор Б: 8 г CuSO_4 растворяют в 200 мл дистиллированной воды. Перед применением смешивают равные объемы этих растворов), пробирки, водяная баня, капельницы, стеклянные палочки, пипетки на 2 мл, мерный цилиндр на 5 мл, фарфоровая ступка, термостат, раствор пепсина, липаза (солизин) (5–7%-ный раствор), раствор амилазы (отмеряют 50 мл дистиллированной воды и ополаскивают ею рот в течение 3–5 минут в несколько приемов; собранную жидкость фильтруют через вату и фильтрат используют в качестве источника фермента), раствор сахаразы (10 г пекарских

дрожжей растирают в фарфоровой ступке с 6 мл дистиллированной воды; к растертой массе прибавляют 20 мл дистиллированной воды и фильтруют через вату).

Действие пепсина

Пепсин — протеолитический фермент класса гидролаз образуется из своего предшественника пепсиногена, вырабатываемого главными клетками слизистой оболочки желудка, и осуществляет расщепление белков пищи до пептидов. Присутствует в желудочном соке человека, млекопитающих, птиц, пресмыкающихся и большинства рыб.

Пепсин, являясь ферментом, который относится к классу гидролаз, гидролизует пептидные связи в белковых молекулах, NH-группа которых принадлежит ароматическим аминокислотам – тирозину, фенилаланину, триптофану. В отличие от других гидролаз, расщепляющих пептидные связи, он отличается высокой устойчивостью в сильноокислой среде. Оптимальные значения pH для каталитического действия пепсина составляют от 1,0 до 2,0.

Пепсин — глобулярный белок с молекулярной массой около 34500. Молекула пепсина — полипептидная цепь, которая состоит из 340 аминокислот, содержит 3 дисульфидные связи (—S—S—) и фосфорную кислоту.

Пепсин используют в лабораториях для изучения первичной структуры белков, в сыроварении и при лечении некоторых заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Ход эксперимента

В пробирку наливают 1 мл яичного белка и подогревают до его осаждения ($t \sim 85^\circ\text{C}$). После этого добавляют раствор пепсина и наблюдают за растворением белка.

Действие липазы

Липаза — водорастворимый фермент, который катализирует гидролиз нерастворимых эстеров-липидных субстратов, помогая переваривать, растворять и фракционировать жиры. Липаза катализирует гидролиз эфирных связей триглицеридов на глицерин и жирные кислоты. Наибольшая активность липазы наблюдается при pH = 8–9.

Ход эксперимента

В пробирку наливают 0,5 мл растительного масла, 2 мл дистиллированной воды и 2,5 мл NaHCO₃. Энергично встряхивают до образования эмульсии (липаза действует только на эмульгированные жиры) и прибавляют 3 капли спиртового раствора фенолфталеина. Затем в пробирку добавляют 0,5 мл препарата липазы, перемешивают и ставят в термостат при $t = 38\text{ }^{\circ}\text{C}$. Через некоторое время в зависимости от активности фермента раствор в пробирке с липазой вследствие образования жирных кислот становится бесцветным, так как жирные кислоты сдвигают pH среды в кислую область.

Действие амилазы

Амилаза является ферментом, который катализирует гидролиз α -глюкозидной связи α -1 \rightarrow 4-крахмала и гликогена до промежуточных продуктов (декстринов). Крахмал обладает способностью образовывать с иодом соединение синего цвета, амилодекстрин — фиолетового, эритродекстрин — красно-бурого, ахродекстрин — желтого.

α -Амилаза (1,4- α -d-глюкан-глюкагоногидролаза, гликогеназа) является кальций-зависимым ферментом. К этому типу относятся амилаза слюнных желез и амилаза поджелудочной железы. Она способна гидролизовать полисахаридную цепь крахмала и других длинноцепочечных углеводов в любом месте. Таким образом, процесс гидролиза ускоряется и приводит к образова-

нию олигосахаридов различной длины. У животных α -амилаза является основным пищеварительным ферментом. Активность α -амилазы оптимальна в нейтральной среде ($\text{pH} = 6,7\text{—}7,0$). Фермент обнаружен также у растений (например, в овсе), в грибах (в аскомицетах и базидиомицетах) и бактериях (*Bacillus*).

β -Амилаза (1,4- α -D-глюкан-мальтогидролаза) присутствует у бактерий, грибов и растений, но отсутствует у животных. Она отщепляет вторую с конца α -1,4-гликозидную связь, образуя, таким образом, дисахарид мальтозу. При созревании фруктов β -амилаза расщепляет плодовой крахмал на сахара, что приводит к сладкому вкусу зрелых плодов. В семенах β -амилаза активна на стадии, предшествующей прорастанию, тогда как α -амилаза важна при непосредственно прорастании семени.

β -Амилаза пшеницы является ключевым компонентом при образовании солода. Бактериальная β -амилаза участвует в разложении внеклеточного крахмала.

γ -Амилаза (1,4- α -D-гликан-глюкогидролаза, глюкан-1,4- α -глюкозидаза, амилоглюкозидаза, экзо-1,4- α -глюкозидаза, глюкоамилаза, лизосомальная α -глюкозидаза) отщепляет последнюю α -1,4-гликозидную связь, приводя к образованию глюкозы. Кроме этого, γ -амилаза способна гидролизовать α -1,6-гликозидную связь. В отличие от других амилаз, γ -амилаза наиболее активна в кислых условиях (при $\text{pH} = 3$).

Амилаза используется в пищевой промышленности в качестве пищевой добавки E1100 как улучшитель муки и хлеба. Бактериальная амилаза используется в стиральных порошках для разложения крахмала, присутствующего в белье.

Ход эксперимента

В пробирку вносят 5 мл крахмального клейстера и добавляют 0,5 мл раствора амилазы. Содержимое пробирки хорошо перемешивают и оставляют стоять; через 15 мин в пробирку до-

бавляют 5 капель раствора I_2 в KI. Через некоторое время раствор становится бесцветным.

Действие сахаразы

Сахараза (синоним инвертаза) — группа ферментов, относящихся к гликозидазам и катализирующих гидролитическое расщепление сахарозы на *D*-глюкозу и *D*-фруктозу. К сахаразам относятся: β -фруктофуранозидаза, отщепляющая концевые нередуцирующие β -*D*-фруктофуранозидные остатки от β -фруктофуранозидов (сахарозы, рафинозы и др.); распространена у высших растений, дрожжей и микроорганизмов; α -гликозидаза (сахарозо-*D*-глюкогидролаза, отщепляющая концевые нередуцирующие остатки α -*D*-глюкозы от некоторых α -глюкозидов (сахарозы мальтозы и др.); встречается у человека и животных (слизистая оболочка тонкой кишки, почки, лейкоциты и др.). В тонкой кишке α -гликозидаза, гидролизующая сахарозу, синтезируется клетками эпителия и в составе их липопротеиновой мембраны участвует в мембранном пищеварении. Фермент обладает также мальтазной активностью и находится в комплексе с изо-мальтазой. Оптимальное значение рН для инвертазы — 6,2. Ионы калия стабилизируют фермент, а мочевины — инактивируют. Сахараза катализирует гидролиз сахарозы до глюкозы и фруктозы, а образовавшиеся моносахариды определяют реакцией Фелинга. Сахараза не имеет свободной альдегидной группы и поэтому не обладает восстановительными свойствами.

Ход эксперимента

В пробирку наливают 1 мл раствора сахаразы и добавляют 3 мл раствора сахарозы, хорошо перемешивают и ставят в термостат при $t = 38^\circ\text{C}$. Через 15 мин в пробирку вносят 2 мл реактива Фелинга, перемешивают и нагревают до кипения, после чего наблюдают образование красного осадка.

Гидролиз нуклеопротеинов дрожжей

В большинстве случаев нуклеиновые кислоты функционируют в биосистемах в виде комплексов с белками (протеинами). Эти комплексы, образованные благодаря высокоспецифичным взаимодействиям между соответствующими полипептидными и полинуклеотидными цепями, называют нуклеопротеинами.

Для изучения химического состава нуклеопротеинов проводят кислотный гидролиз дрожжей. С помощью качественных реакций обнаруживают продукты гидролиза – белки, азотистые основания, а также рибозу (дезоксирибозу) и фосфорную кислоту.

Реактивы, оборудование и исследуемый материал: NaOH (10%-ный раствор), CuSO₄ (1%-ный раствор), аммиак (концентрированный раствор), AgNO₃ (2%-ный раствор), дифениламинный реактив (1%-ный раствор) (1 г дифениламина растворяют в 50 мл ледяной уксусной кислоты, добавляют 2,75 мл концентрированной H₂SO₄ и доводят ледяной уксусной кислотой до 100 мл), молибденовый реактив (7,5 г молибдата аммония растворяют в 50 мл концентрированной HNO₃), дистиллированная вода, лакмусовая бумага, круглодонная колба с обратным холодильником, воронка с фильтром, мерный цилиндр, водяная баня и гидролизат дрожжей (помещают 2,5 г дрожжей в круглодонную колбу, добавляют 20 мл 10% - ного раствора H₂SO₄. Затем колбу соединяют с обратным холодильником. Гидролиз дрожжей проводят при нагревании в течение 1 ч с момента закипания жидкости. После охлаждения гидролизат фильтруют и с ним проводят качественные реакции).

Биуретовая реакция на белки

К 5 каплям гидролизата добавляют 10 капель 10%-ного раствора NaOH до отчетливой щелочной реакции (по лакмусу), затем 2 капли 1%-ного раствора CuSO₄. Появляется синевато-фиолетовая окраска.

Серебряная проба на основания

К 10 каплям гидролизата добавляют концентрированный раствор аммиака до щелочной реакции (по лакмусу), затем добавляют 10 капель 2% раствора AgNO_3 . Через несколько минут образуется светло-коричневый осадок солей пуриновых оснований (содержимое пробирки при стоянии перемешивать не надо).

Реакция на углеводный компонент

Дифениламин с дезоксирибозой дает синее окрашивание, а с рибозой – зеленое.

К 5 каплям гидролизата добавляют 20 капель 1%-ного раствора дифениламинового реактива и кипятят на водяной бане 15 мин. Появляется сине-зеленое окрашивание.

Молибденовая проба на фосфорную кислоту

К 10 каплям гидролизата прибавляют 20 капель молибденового реактива и осторожно кипятят несколько минут. В присутствии фосфорной кислоты наблюдается окрашивание раствора в лимонно-желтый цвет.

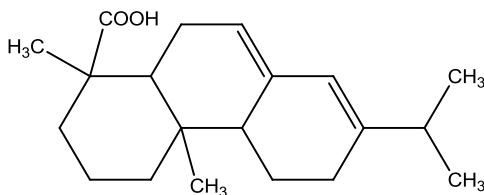
Задание: выполнить экспериментальные опыты, подтверждающие действие ферментов, привести схемы химических реакций доказывающих наличие продуктов ферментативной деградации соответствующих субстратов, привести возможные механизмы действия ферментов на субстраты, оценить значимость ферментативных реакций в биологических процессах.

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ И ИХ КОМПОЗИЦИЙ ИЗ ПРИРОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

Цель работы – познакомиться с методами выделения органических веществ и их композиций из природных объектов, освоить методики работы с природными объектами при получении практически значимых веществ.

Абиетиновая кислота

Абиетиновая кислота или 13-изопропилподокарпа-7,13-диен-15-овая кислота — одна из смоляных кислот, наиболее известная. В природе имеет растительное происхождение, входит в состав смолы хвойных, основной компонент канифоли и янтаря. Её относят к дитерпеновой трициклической группе природных соединений (соединения, полученные из четырёх изопреновых фрагментов). Это аморфное или кристаллическое вещество насыщенно-желтого цвета. Растворима в большинстве популярных неполярных растворителей: хлороформе, спирте, бензине, ацетоне, а также в уксусной кислоте и щелочных водных растворах.



В чистом виде абиетиновая кислота применяется при производстве сиккативов, лакокрасочных материалов, эмульгаторов. Спирты этой кислоты (абиетол, дигидроабиетол) применяют в производстве мыла (так называемого смоляного, используемого в ситцепечатании), косметике. Соли кислоты называют абиетатами и используются как загустители олифы, мыла. Также используется при изготовлении парфюмерии.

Методика 1.

Оборудование: двухгорлая круглодонная колба (250 мл), обратный холодильник, газоподводящая трубка, прямой холодильник, алонж, электрическая плитка, колба Эрлеймеера, воронка Бюхнера, колба Бунзена

Реактивы: канифоль, этанол, соляная кислота (конц.), диэтиловый эфир, подушка с азотом (аргоном или углекислым газом), сульфат натрия, диэтиламин, петролейный эфир.

В двухгорлую круглодонную колбу объемом 250 мл, снабженную обратным холодильником и газоподводящей трубкой, помещают 25 г канифоли, 75 мл этанола и 5 мл концентрированной соляной кислоты. Смесь кипятят 2 ч, пропуская через нее умеренный ток углекислого газа (азота или аргона). Обратный холодильник заменяют на прямой и с водяным паром отгоняют спирт и соляную кислоту. Остаток растворяют в 100 мл эфира (или дихлорметана), органический слой отделяют, дважды промывают водой и сушат над сульфатом натрия. К высушенному раствору медленно приливают 8 мл диэтиламина и раствор помещают в холодильник. Выпавшие кристаллы отфильтровывают на воронке Бюхнера и перекристаллизовывают из петролейного эфира. Выход 3–5 г, т. пл. 170–173 °С, $[\alpha]_D^{20} = -50^\circ$ (из спирта).

Методика 2

Оборудование: химический стакан (500 мл), круглодонная колба, колба для вакуумной перегонки, капилляр для вакуумной перегонки, обратный холодильник, прямой холодильник, алонж, электрическая плитка, колба Эрлеймеера, воронка Бюхнера, колба Бунзена, делительная воронка.

Реактивы: канифоль, этанол, сульфат натрия, петролейный эфир, бензол, раствор гидроксида натрия (15%-ный), серная кислота (10%-ный раствор), ледяная уксусная кислота

Измельченную в порошок канифоль насыпают в стакан и растворяют в 200 мл петролейного эфира или бензола. Спустя некоторое время раствор фильтруют. К фильтрату, помешивая стеклянной палочкой, приливают около 20 мл 15% раствора щелочи. Выпадает осадок солей смоляных кислот. Жидкость с осадком декантируют, сам осадок промывают небольшим количеством воды и отсасывают. Соли переносят в стакан и обрабатывают, перемешивая, 10-процентной серной кислотой до кислой реакции на конго. Полученные таким образом свободные смоляные кислоты растворяют в петролейном эфире. Перелив раствор в делительную воронку, промывают небольшими порциями воды, затем сушат сульфатом натрия. Петролейный эфир отгоняют на водяной бане сначала при обычном давлении, а к концу — в вакууме от водоструйного насоса. Когда закончится отгонка, в колбу приливают 60 мл ледяной уксусной кислоты и кипятят 1 час, включив обратный холодильник. К охлажденному раствору добавляют 30 мл воды. Выпавшую абиетиновую кислоту отфильтровывают и отмывают на фильтре от остатков уксусной кислоты. После трехкратной перекристаллизации из спирта получают, в зависимости от сорта канифоли, 4—8 г абиетиновой кислоты. Чистоту препарата определяют сравнением констант с литературными данными. Температура плавления чистой абиетиновой кислоты 170—173 С; $[\alpha]_{20} = -106^\circ$ (в спирте). Спектр поглощения в ультрафиолетовой области имеет характерный максимум при 240 нм.

Задание: выделить абиетиновую кислоту по одной из предложенных методик, установить физико-химические константы полученного вещества, охарактеризовать его значимость в быту, промышленности и других сферах, привести схемы возможных химических процессов, протекающих в процессе выделения, привести химические процессы, происходящие в природных объектах, способствующие образованию смоляных кислот.

Казеин и тирозин из молока

Казеин — сложный белок, образующийся из предшественника казеина — казеиногена при створаживании молока.

Казеин (казеиноген) присутствует в молоке в связанном виде как соль кальция (казеинат кальция). Свёртывание казеина в молоке происходит под действием протеолитических ферментов сычужного сока (сыр), кислот, вырабатываемых молочнокислыми бактериями (творог), либо при прямом добавлении кислот (технический казеин).

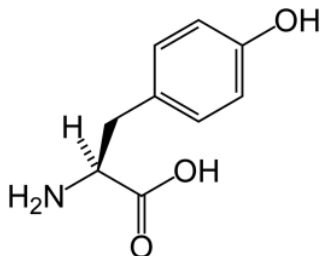
Казеин (казеиноген) является одним из основных белков молока, сыров, творога и других молочных продуктов наряду с сывороточными белками (альбумины и др.). Содержание в коровьем молоке — 78-87 % от всех белков.

Высушенный казеин представляет собой белый порошок без вкуса и запаха.

По структуре казеин относится к фосфопротеинам (содержит фосфатную группу), выполняющий запасующую функцию в молоке млекопитающих. Казеин состоит из нескольких фракций: α -, β - и γ - казеин, каждая из фракций имеет несколько разновидностей. Фракции и их разновидности отличаются аминокислотным составом, в частности две из наиболее распространенных разновидностей β -казеина, A1 и A2, отличаются одной аминокислотой в позиции 67. Элементарный состав казеина (в %): углерод — 53,1; водород — 7,1; кислород — 22,8; азот — 15,4; сера — 0,8; фосфор — 0,8.

Казеин применяется для производства казеиновой краски, казеинового клея, пластмасс (галалит и др.), искусственных пищевых продуктов. Для выделения технического казеина из снятого молока используют кислоты, в частности уксусную кислоту, либо молочную кислоту.

Тирозин (α -амино- β -(*p*-гидроксифенил)пропионовая кислота, принятые сокращения: Тир, Тург, Y) — ароматическая альфа-аминокислота. Существует в двух оптически изомерных формах — L и D и в виде рацемата (DL). Известны менее важные с биологической точки зрения *мета*- и *орто*- изомеры тирозина.



L-тирозин является протеиногенной аминокислотой и входит в состав белков всех известных живых организмов. Тирозин входит в состав ферментов, во многих из которых именно тирозину отведена ключевая роль в ферментативной активности и её регуляции.

Тирозин подавляет аппетит, способствует уменьшению отложения жиров, способствует выработке меланина и улучшает функции надпочечников, щитовидной железы и гипофиза

Методика выделения казеина

Оборудование: стаканы (3 л, 250 мл), фарфоровая чашка, воронка, фильтры, полотно для фильтрования, электрическая плитка, круглодонная колба (500 мл), обратный холодильник, воронка Бюхнера, колба Бунзена

Реактивы: молоко (1 л), уксусная кислота, р-р NaOH (1%), р-р H₂SO₄ (25%)

Молоко (1 л) разбавляют дистиллированной водой (2 л) и приливают 6 мл уксусной кислоты. Полученную сыворотку отфильтровывают через ткань, хорошо отжимают и промывают водой. Сыворотку, содержащую казеин и жир, растирают в

фарфоровой чашке с небольшим объемом 1%-го раствора едкого натра. Густую кашицу при перемешивании нейтрализуют этим же раствором едкого натра по фенолфталеину и слабо подогревают. Получается раствор, который переливают в стакан и оставляют на ночь. Всплывший на поверхность жир отделяют, а раствор фильтруют от остатков жира через тонкое полотно.

Фильтрат подкисляют уксусной кислотой (6-10 мл), осадок казеина отцеживают, промывают, еще раз растворяют в щелочи и осаждают уксусной кислотой. Казеин отфильтровывают, растирают с небольшим количеством спирта и сушат на воздухе.

Выход казеина 20–25 г.

Методика выделения тирозина

В колбе объемом 500 мл, снабженной обратным холодильником, кипятят в течение 16 ч весь полученный казеин с трехкратным весовым количеством 25%-ной серной кислоты. К реакционной смеси добавляют раствор гидроксида бария (или нейтрализуют карбонатом кальция). Осадок отфильтровывают и промывают небольшим количеством воды. Фильтрат упаривают в чашке, пока не начнут выделяться кристаллы. Охлажденную смесь фильтруют, маточный раствор снова упаривают до появления кристаллов тирозина. Выпавшие фракции тирозина объединяют и перекристаллизовывают из горячей воды, добавляя активированный уголь.

Выход тирозина около 1 г, т. пл. 341–344 °С.

Задание: выделить казеин и тирозин из обезжиренного молока по предлагаемой методике, оценить их выход, установить физико-химические константы тирозина, описать химические и физические явления, происходящие при этом, обосновать значимость казеина и тирозина в биологических процессах.

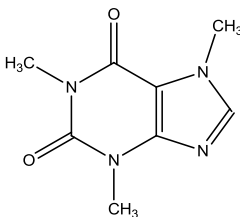
Кофеин из чая

Кофеин — алкалоид пуринового ряда, бесцветные или белые горькие кристаллы без запаха. Хорошо растворим в хлороформе, плохо растворим в холодной воде, легко — в горячей, трудно растворим в этаноле. Растворы имеют нейтральную реакцию.

Кофеин содержится в растениях, таких, как кофейное дерево, чай, какао, мате, гуарана, кола и некоторых других. Он синтезируется растениями для защиты от насекомых, поедающих листья, стебли и зёрна, а также для поощрения опылителей.

У животных и человека он стимулирует центральную нервную систему, усиливает сердечную деятельность, ускоряет пульс, вызывает расширение кровеносных сосудов (преимущественно сосудов скелетных мышц, головного мозга, сердца, почек), усиливает мочеотделение, снижает агрегацию тромбоцитов (однако в некоторых случаях отмечаются противоположные эффекты).

Кофеин (1,3,7-триметил-2,6-диоксипурин или 1,3,7-триметил-ксантин) — наиболее важное производное пурина.



В щелочной среде (при $\text{pH} > 9$), превращается в кофеидин $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}$. Кофеин, как и другие пуриновые алкалоиды, даёт положительную мурексидную реакцию, при нагревании с реактивом Несслера кофеин образует красно-бурый осадок.

В медицине кофеин применяется в составе средств от головной боли, при мигрени, как стимулятор дыхания и сердечной деятельности при простудных заболеваниях, для повышения

умственной и физической работоспособности, для устранения сонливости.

Кофеин экстрагируют из отходов чая, кофейных зёрен, выделяют из огрубевших чайных листьев и обрезков кустов, а также из чайной пыли. Содержание его в листьях чая достигает 3%, в зернах кофе — 1,5%. Получают его и синтетически. В промышленности кофеин синтезируют из мочевой кислоты и ксантина.

Методика выделения кофеина

Оборудование: стаканы (500 мл, 250 мл), фарфоровая чашка, воронка, фильтры, делительная воронка, электрическая плитка, круглодонная колба (500 мл), прямой холодильник, воронка Бюхнера, колба Бунзена

Реактивы: чай или чайная пыль, 50 г; окись магния, 25 г; хлороформ, 150 мл; соляная кислота, перекись водорода, аммиак (конц.), HNO_3 (конц.).

Выделение кофеина. К тонко измельченному чаю или к чайной пыли (50 г) приливают взвесь окиси магния (25 г MgO в 150 мл воды), 250 мл воды и кипятят 10–15 мин. Водный раствор декантируют через тампончик ваты. Кипячение повторяют еще два раза с новыми порциями воды по 150 мл. Объединенную водную вытяжку подкисляют 25 мл разбавленной серной кислоты (проверяют по конго кислотность среды) и концентрируют в выпарительной чашке на водяной бане до одной трети объема. Горячий раствор фильтруют через складчатый фильтр и пять раз извлекают хлороформом.

На каждую экстракцию затрачивают 30 мл растворителя.

Хлороформную вытяжку промывают сначала несколькими миллилитрами разбавленной щелочи, а затем таким же количеством воды. Растворитель отгоняют на водяной бане. В остатке получают сырой кофеин, который перекристаллизовывают из 8–10 мл горячей воды. Выход 0,8–1 г.

Кофеин кристаллизуется в виде тонких белых шелковистых игл; т. пл. 234°.

Возгонка кофеина из сухого чая. Небольшое количество растертого чая помещают на часовое стекло и накрывают его вторым часовым стеклом. Осторожно нагревая, наблюдают возгонку кофеина. Он оседает на верхнем стекле в виде длинных, слегка окрашенных игл.

Качественные реакции. Несколько кристаллов положите на фарфоровую или керамическую пластинку и капните одну-две капли концентрированной азотной кислоты. (*Осторожно!*) Нагревайте пластинку до тех пор, пока смесь на ней не станет сухой. Кофеин при этом окислится и превратится в заметную, оранжевого цвета, амалиновую кислоту. После охлаждения добавьте к ней каплю десятиконцентрированного раствора аммиака. При нейтрализации образуется соль очень красивого, красного, переходящего в пурпурный, цвета. Такая соль носит название мурексида, а реакция – мурексидной.

Задание: выделить кофеин из природных объектов по предложенным методикам, оценить его выход, определить физико-химические константы, провести качественные реакции, подтверждающие наличие в полученном веществе кофеина, написать схемы возможных химических реакций, отразить возможный механизм биологической активности кофеина и его значимость в медицине.

Выделение эфирных масел

Эфирные масла — летучие, с характерным сильным запахом и вкусом, маслоподобные (маслянистые), нерастворимые в воде, в основном бесцветные или слабо окрашенные жидкости. В отличие от настоящих жиров большинство эфирных масел, состоящих из легких фракций, не оставляют жировых пятен на бумаге, потому что испаряются (улетучиваются) уже при комнатной температуре.

Эфирные масла образуются в растениях. Имеют чрезвычайно сильные физиологические и фармакологические свойства.

Эфирные масла находят также применение в пищевой промышленности — в пряностях и специях.

Эфирные масла обладают широчайшим спектром биологической активности. К приоритетным свойствам следует отнести следующие эффекты:

1. Антимикробные (бактерицидные, антисептические) свойства (листья эвкалипта, почки тополя, гвоздичное масло, масло сосны, корневища аира).
2. Противовоспалительные свойства (камфора, цветки ромашки аптечной, трава тысячелистника, корневища девясила и др.).
3. Спазмолитическая активность (листья мяты перечной, цветки ромашки аптечной, плоды кориандра, плоды укропа огородного и др.).
4. Отхаркивающие свойства (побеги багульника, плоды фенхеля и аниса, корневища девясила, трава чабреца, трава душицы и др.).
5. Седативное действие (корневища валерианы, трава Melissa лекарственной, цветки лаванды и др.).
6. Мочегонные свойства (почки и листья берёзы, плоды можжевельника и др.).
7. Регенерирующее действие (хамазулен цветков ромашки аптечной).

В состав эфирных масел входят терпены и терпеноиды, ароматические соединения, предельные и непредельные углеводороды, альдегиды, органические кислоты и спирты, их сложные эфиры, а также гетероциклические соединения, амины, фенолы, органические сульфиды, оксиды и др. Состав эфирных масел зависит от вида растения, его хемотипа, погодных условий в год сбора, условий хранения сырья, способа извлечения эфирных масел, а также нередко от длительности и условий хранения.

Эфирные масла широко распространены в растительном мире, и их роль весьма велика. К важнейшим физиологическим функциям относятся следующие:

1. Эфирные масла являются активными метаболитами обменных процессов, протекающих в растительном организме. В пользу этого суждения свидетельствует высокая реакционная способность терпеноидных и ароматических соединений, являющихся основными компонентами эфирных масел.
2. Эфирные масла при испарении окутывают растение своеобразной «подушкой», уменьшая теплопроницаемость воздуха, что способствует предохранению растения от чрезмерного нагревания днём и переохлаждения ночью, а также регуляции транспирации.
3. Запахи растений служат для привлечения опылителей-насекомых, что способствует опылению цветков.
4. Эфирные масла могут препятствовать заражению патогенными грибами и бактериями, а также защищать растения от поедания животными.

Мировое производство эфирных масел в связи с сокращением сырьевой базы и вытеснением эфирных масел продуктами органического синтеза постепенно сокращается. Наиболее крупнотоннажные продукты — скипидар, за ним следуют эфирные масла апельсина, лимона, мяты.

Так как эфирные масла хорошо растворимы в спиртах, жирах и других органических соединениях, эти свойства часто используют при их получении. Основными методами экстракции эфирных масел являются: дистилляция, холодное прессование, мацерация или анфлераж и экстракция растворителями.

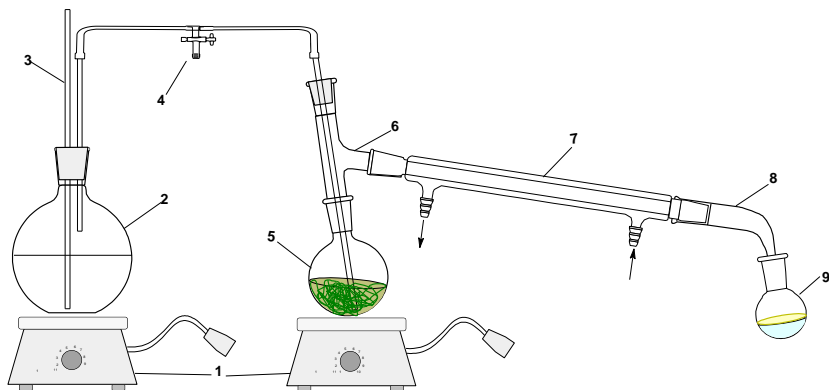
Методика выделения эфирных масел

Оборудование: установка для перегонки с водяным паром, электрическая плитка, колба Эрлеймеера,

Материалы и реактивы: корка свежих citrusовых или другой растительный материал.

Собирают установку для перегонки с водяным паром (см. рис.). В колбу для перегонки помещают растительное сырьё (200 г), подают в нее пар из парогонератора. Перегонку ведут не менее 3 ч, добавляя по мере необходимости в парообразователь

воду и отделяя эфирное масло в приемнике. Эфирное масло собирают и сушат над безводным сульфатом натрия, и хранили при 4°C до использования.



Прибор для перегонки с водяным паром. 1 – нагреватели; 2 – парообразователь; 3 – предохранительная трубка; 4 – стеклянный тройник с зажимом; 5 – перегонная колба с сырьем; 6 – насадка Вюрца; 7 – холодильник; 8 – алонж; 9 – колба-приемник с водой и эфирным маслом

Задание: получить эфирное масло по предложенной методике из любого доступного растительного материала, содержащего эфирное масло (корка citrusовых, цветки ромашки аптечной, трава мяты перечной и др.), оценить выход эфирного масла, сравнить полученные результаты с литературными данными, привести биологическую и фармакологическую значимость полученного эфирного масла.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Цель работы – провести комплексное исследование природных веществ, являющихся продуктами питания, установить влияние ферментативных препаратов на процесс гидролиза пищевых полисахаридов, оценить энергетическую ценность пищевых полисахаридов.

Определение гидролизуемых полисахаридов и расчет энергетической ценности пищевого сырья

Энергетическая ценность продуктов питания (*калорийность*) — расчетное количество тепловой энергии (измеряемое в калориях или джоулях), которое вырабатывается организмом человека или животных при усвоении съеденных продуктов. Зависит от химического состава пищи (количества белков, жиров, углеводов и других веществ).

Оборудование и реактивы. Анализируемое сырье (мука пшеничная, ржаная, рисовая, гречневая и др.), раствор HCl (2 н), метилоранж, конические колбы на 250 мл, мерный цилиндр на 100 мл, обратный холодильник, электрическая плитка, асбестовая сетка, воронка Бюхнера, колба Бунзена, мерные колбы на 100, 500 и 1000 мл, стакан на 100 мл, пипетка на 50 мл.

Определение гидролизуемых полисахаридов в пищевом сырье основано на реакциях их гидролиза с последующим нахождением общего количества образовавшихся моносахаридов по редуцирующей (восстанавливающей) способности.

Методика анализа. Навеску пищевого сырья массой около 2 г помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, добавляют 100 мл 2 н раствора HCl (соответствует кислотности желудочного сока) и нагревают с обратным холодильником на электрической плитке в течение 2 ч при температуре не выше 40 °С. Необходимо, чтобы все частицы пищевого сырья находились в кислоте. Для этого после разогрева содержимое колбы осторожно перемешивают. По окончании гидролиза отфильтровывают осадок на воронке Бюхнера с бумажным фильтром. Остаток на фильтре промывают горячей водой до отрицатель-

ной реакции на кислоту по индикатору метиловому оранжевому. Фильтрат и промывные воды переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят раствор после охлаждения дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают. В полученном растворе определяют массовую долю РВ в процентах (см. Примечание 1).

Массовую долю гидролизуемых полисахаридов, %, рассчитывают по формуле:

$$X_{л} = \frac{c_{л} V k_{л}}{g 100},$$

где c – массовая доля РВ в гидролизате полисахаридов, %; V – объем гидролизата, $V=500$ мл; $k_{л}$ – коэффициент пересчета моносахаридов в полисахариды; g – масса навески пищевого сырья, г.

Коэффициент пересчета $k_{л}$ вычисляется на основании реакций гидролиза полисахаридов. Для пентозанов $k_{л}=132/150=0,88$, а для гексозанов $k_{л}= 162/180=0,90$, где 132 и 162 – молекулярные массы звеньев соответствующих полисахаридов, а 150 и 180 – молекулярные массы пентоз и гексоз. Принимая содержание гексоз и пентоз в гидролизатах примерно равным, для расчета используют значение коэффициента $k_{л}=0,89$.

Примечание 1. Определение массовой доли РВ в гидролизатах по методу Макэна и Шоорля

Для получения реактива Фелинга готовят два раствора A – 69,3 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 1 л водного раствора; B – 346 г сегнетовой соли и 100 г NaOH в 1 л водного раствора.

Методика анализа. В коническую колбу вместимостью 250 мл вливают пипеткой 10 мл раствора A , затем 10 мл раствора B и 20 мл гидролизата полисахаридов (в случае неразбавленного гидролизата - 10 мл). Смесь разбавляют дистиллированной водой до общего объема 50 мл и хорошо перемешивают. Ставят колбу на горячую включенную электроплитку, нагревают смесь до кипения в течение 3 мин и кипятят точно 2 мин (по секундомеру или по песочным часам), считая с момента появления первого пузырька на поверхности раствора. Под колбу рекомендуется подложить асбестовую пластинку с круглым вырезом диа-

метром около 6 см. Кипение должно быть умеренным, чтобы объем жидкости в колбе оставался примерно постоянным. Для уменьшения испарения в горло колбы вставляют маленькую конусообразную стеклянную воронку. При недостатке реактива Фелинга, о чем свидетельствует исчезновение синей окраски раствора после кипячения, объем пробы гидролизата уменьшают, добавив при разбавлении соответствующий объем воды.

По окончании кипячения колбу быстро охлаждают холодной водой до 25 °С, добавляют раствор KI (3 г KI в 10 мл воды) и 10 мл 25%-ной H₂SO₄ и сразу же при непрерывном перемешивании титруют выделившийся иод раствором тиосульфата натрия концентрацией (Na₂S₂O₃) 0,1 моль/л до перехода коричневой окраски в светло-желтую. Затем добавляют 10 мл 0,5–1%-ного раствора крахмала и медленно дотитровывают раствор до полного исчезновения синей окраски. Раствор остается окрашенным в кремовый цвет вследствие образования иодида меди (I). В аналогичных условиях, но без добавления раствора сахара, проводят контрольный опыт. По разности объемов израсходованного раствора Na₂S₂O₃ в контрольном и рабочем опытах, *a*, мл, с помощью эмпирической таблицы (табл. 1) находят количество сахара в пробе гидролизата, взятой на анализ, *b*, мг.

При анализе гидролизуемых полисахаридов расчет ведут на глюкозу.

Затем рассчитывают массовую долю РВ в гидролизате *c*, %, по формуле:

$$c = \frac{b \cdot 100}{v \cdot 1000},$$

где *b* – количество сахара в пробе гидролизата объемом *v*, мл (20 или 10 мл), найденное по таблице, мг.

Задание: провести гидролиз пищевых продуктов, содержащих полисахариды, определить массовую долю редуцирующих веществ, рассчитать энергетическую ценность пищевого продукта, если считать, что в результате гидролиза получается только глюкоза.

Изучение влияния ферментных препаратов на процесс гидролиза пищевого сырь

Определение гидролизуемых полисахаридов в пищевом сырье основано на реакциях их гидролиза в присутствии ферментных препаратов, содержащих амилазу, с последующим нахождением общего количества образовавшихся моносахаридов по редуцирующей (восстанавливающей) способности.

Методика анализа. Навеску пищевого сырья массой около 2 г помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, добавляют 100 мл дистиллированной воды, добавляют навеску ферментного препарата, содержащего амилазу (например, «Мезим-форте») в количестве 1–10% от массы пищевого сырья, и нагревают с обратным холодильником на электрической плитке в течение 2 ч при температуре не выше 40 °С. Необходимо, чтобы все частицы пищевого сырья находились в растворе. Для этого после разогрева содержимое колбы осторожно перемешивают. По окончании гидролиза отфильтровывают осадок на воронке Бюхнера с бумажным фильтром. Остаток на фильтре промывают дистиллированной водой. Фильтрат и промывные воды переносят в мерную колбу вместимостью 500 мл, доводят раствор после охлаждения дистиллированной водой до метки и тщательно перемешивают. В полученном растворе определяют массовую долю РВ в процентах аналогично как в предыдущей работе (см. Примечание 1).

Задание: провести ферментативный гидролиз пищевых продуктов, содержащих полисахариды, определить массовую долю редуцирующих веществ, рассчитать энергетическую ценность пищевого продукта, если считать, что в результате гидролиза получается только глюкоза, оценить влияние концентрации ферментного препарата на процесс гидролиза полисахаридов в пищевом сырье.

Таблица 1. Соотношение меди, глюкозы, маннозы и ксилозы, мг, для анализа РВ по методу Макэна и Шоорля

Разность расхода 0,1 моль/л раство- ра $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, а мл	Медь	Глюкоза b		Манноза b	Ксилоза,
1	6,4	3,2		3,1	
2	12,7	6,3	3,1	6,3	3,2
3	19,1	9,4	3,1	9,5	3,2
4	25,4	12,6	3,2	12,8	3,3
5	31,8	15,9	3,3	16,1	3,3
6	38,1	19,2	3,3	19,4	3,3
7	44,5	22,4	3,2	22,8	3,4
8	50,9	25,6	3,2	26,2	3,4
9	57,3	28,9	3,3	29,6	3,4
10	63,6	32,2	3,4	33,0	3,4
11	70,0	35,7	3,4	36,5	3,5
12	76,3	39,0	3,3	40,0	3,5
13	82,7	42,4	3,4	43,5	3,5
14	89,1	45,8	3,4	47,0	3,5
15	95,4	49,3	3,5	50,6	3,6
16	101,8	52,8	3,5	54,2	3,6
17	108,1	56,3	3,5	57,9	3,7
18	114,4	59,8	3,5	62,6	3,7
19	120,8	63,3	3,5	65,3	3,7
20	127,2	66,9	3,6	69,2	3,9
21	133,5	70,7	3,8	73,1	3,9
22	139,8	74,5	3,8	77,0	3,9
23	146,2	78,5	4,0	81,0	4,0
24	152,6	82,6	4,1	85,0	4,0
25	159,0	86,6	4,0	89,0	4,0

Примечание. Для проведения интерполяции в правой половине каждой колонки приведена разность масс сахара, соответствующая увеличению объема израсходованного на титрование раствора тиосульфата натрия a на 1 см^3 . Если на титрование израсходовано дробное число см^3 раствора тиосульфата натрия, то при расчете производят интерполяцию с использованием приведенных разностей.

Определение содержания сахара в различных продуктах питания*

Сахар – очень важный пищевой продукт, источник углеводов, который обеспечивает наш организм энергией. В отличие от других источников углеводов, сахар, или сахароза расщепляется в пищеварительном тракте быстрее, что упрощает их попадание в кровоток. Одна из составляющих сахарозы – глюкоза, чью роль в организме трудно переоценить. Благодаря ей поддерживается барьерная функция печени при столкновении с токсическими веществами, поэтому при отравлениях и некоторых болезнях печени глюкоза вводится внутривенно.

Согласно недавним исследованиям польских ученых, сахар активизирует кровообращение в спинном и головном мозге, а отказ от сахара может привести к склеротическим изменениям. Более того, сахар способен предотвратить образование бляшек в кровеносных сосудах, которые приводят к тромбозам, а также помогает наладить работу селезенки. Эти данные разбивают давний стереотип о вреде сахара, в соответствии с которым его даже называют иногда «белой смертью». Научно доказано, что без сахара и глюкозы организм человека не может существовать без вредных последствий. Например, артриты мучают любителей сладкого гораздо реже, нежели людей, отказавшихся от десертов.

Все же злоупотреблять сахаром не стоит, поскольку он плохо влияет на состояние зубов. Кроме того, существует проблема калорийности сладких продуктов. Поэтому существует необходимость контроля содержания сахара в пищевых продуктах и не только.

* Практикум по органической химии : учебное пособие / под ред. Н. Г. Базарновой. – Барнаул : Изд-во Алт. ун-та, 2006. – 231 с.

Цель работы: с помощью рефрактометра ИРФ-454 Б2М определить содержание сахара и сухих веществ по сахарозе в напитках, плодах, ягодах (ГОСТ 28562–90).

Реактивы и материалы: напитки, содержащие сахарозу, фрукты, ягоды, этанол, дистиллированная вода.

Оборудование: центрифуга с набором пробирок, колба Бунзена, воронка Бюхнера, бумажные фильтры, фарфоровая ступка с пестиком, водяная баня, плитка, вата, рефрактометр ИРФ-454 Б2М, технические весы, пипетки, набор пробирок, стеклянная палочка, электроплитка.

Подготовка пробы продукта и рефрактометра к работе

Жидкие продукты, не содержащие большого количества взвешенных частиц, используют непосредственно для измерений.

Пуреобразные и жидкие продукты, содержащие большое количество взвешенных частиц, предварительно центрифугируют или фильтруют через бумажный фильтр (или через несколько слоев марли, или слой ваты). Первые порции фильтрата отбрасывают, а остальную часть используют для измерений.

Густые продукты с трудно отделимой жидкой фазой предварительно измельчают, берут навеску не менее 40 г и разбавляют дистиллированной водой (не более чем в два раза). Помещают в кипящую водяную баню и выдерживают не менее 15 мин. Затем смесь охлаждают, отфильтровывают как указано выше и взвешивают.

Темноокрашенные жидкие продукты разбавляют дистиллированной водой, определяют массу навески и смеси.

Перед началом работы протирают призмы рефрактометра марлей или ватой, смоченной дистиллированной водой или этиловым спиртом, высушивают и проверяют юстировку рефрактометра в соответствии с требованиями.

Проведение измерений

Измерения проводят при интервале температур 10–40 °С, используя шкалу рефрактометра, градуированную в единицах массовой доли сахарозы. Во время измерений постоянно поддерживают температуру в пределах $\pm 0,5$ °С. При необходимости применяют систему термостатирования призм рефрактометра. Температуру измеряемого раствора доводят до значения, отличающегося от температуры призм рефрактометра не более чем на $\pm 2,0$ °С.

Проводят два параллельных измерения. Показатель преломления прозрачных сред измеряют в проходящем свете, а окрашенных и мутных в отраженном.

Обработка результатов

Результаты измерений приводят к температуре 20 °С, для чего используют таблицу температурных поправок (см. табл. 2).

Если продукт был разбавлен, то массовую долю растворимых сухих веществ в продукте (X) вычисляют по формуле

$$X = a \cdot \left[1 + \frac{100 \cdot m_1}{(100 - E) \cdot m_2} \right],$$

где a – значение массовой доли растворимых сухих веществ, полученное для разбавленного водой продукта, % (определяют по шкале рефрактометра с поправкой на температуру); m_1 – масса добавленной воды, г; E – массовая доля нерастворимых в воде сухих веществ в продукте, % ($E = 5,5$ % – для томатной пасты с массовой долей растворимых сухих веществ 25–30 %, $E = 5,0$ % – для сушеного винограда, $E = 1,8$ % – для джемов и повидла, $E = 0$ % – для темноокрашенных прозрачных жидких продуктов); m_2 – масса навески продукта, г.

Результат измерений округляют до десятичного знака. За окончательный результат измерения принимают среднее ариф-

метическое значение результатов параллельных определений двух проб, абсолютное расхождение между которыми должно составлять не более 0,5% для жидких и пюреобразных светло-окрашенных продуктов и 1 % для густых и темноокрашенных продуктов, разбавленных водой ($P = 0,95$).

По окончании измерения **обязательно** очистить поверхность призм мягкой салфеткой, аккуратно (**без нажима**) удаляя основное количество жидкости с рабочих поверхностей призм и оправ. После этого призмы протирают ватой, смоченной спиртом, до тех пор, пока поверхность призм не станет блестящей. Затем рефрактометрический блок оставляют на некоторое время открытым для просушки.

Задание: провести измерение количественного содержания сахара и сухих веществ (в пересчете на сахарозу) рефрактометрическим способом, сравнить полученные результаты, с данными указанными на упаковке пищевых продуктов и напитков или литературными данными, оценить значение сахарозы в процессах энергообмена человека.

Таблица 2. Поправки к показателям рефрактометра, для которого юстировка нуль-пункта проводилась при температуре 20 °С

t, °С	Поправка к показаниям рефрактометра при значении массовой доли растворимых сухих веществ по сахарозе, %																
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80
	От показания рефрактометра следует вычитать																
10	0,53	0,56	0,59	0,62	0,65	0,67	0,69	0,71	0,72	0,73	0,74	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	0,74
11	0,49	0,52	0,54	0,57	0,59	0,61	0,63	0,64	0,65	0,66	0,67	0,68	0,68	0,68	0,68	0,67	0,67
12	0,44	0,47	0,49	0,51	0,53	0,55	0,56	0,57	0,58	0,59	0,60	0,60	0,61	0,61	0,60	0,60	0,60
13	0,40	0,41	0,43	0,45	0,47	0,48	0,50	0,51	0,52	0,52	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53	0,52
14	0,34	0,36	0,38	0,39	0,40	0,42	0,43	0,44	0,44	0,45	0,45	0,46	0,46	0,46	0,46	0,45	0,45
15	0,29	0,31	0,32	0,33	0,34	0,35	0,36	0,37	0,37	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,38	0,37
16	0,24	0,25	0,26	0,27	0,28	0,28	0,29	0,30	0,30	0,30	0,31	0,31	0,31	0,31	0,31	0,30	0,30
17	0,18	0,19	0,20	0,20	0,21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23
18	0,12	0,13	0,13	0,14	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
19	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
	К показанию рефрактометра следует прибавить																
21	0,06	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08
22	0,13	0,14	0,14	0,14	0,15	0,15	0,15	0,15	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,15	0,15	0,15
23	0,20	0,21	0,21	0,22	0,22	0,23	0,23	0,23	0,23	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,23	0,23	0,23
24	0,27	0,28	0,29	0,29	0,30	0,30	0,31	0,31	0,31	0,32	0,32	0,32	0,32	0,32	0,31	0,31	0,30
25	0,34	0,35	0,36	0,37	0,38	0,38	0,39	0,39	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,40	0,39	0,39	0,38
26	0,42	0,43	0,44	0,45	0,46	0,46	0,47	0,47	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,48	0,47	0,46	0,46
27	0,50	0,51	0,52	0,53	0,54	0,55	0,55	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,56	0,55	0,54	0,53
28	0,58	0,59	0,60	0,61	0,62	0,63	0,64	0,64	0,64	0,65	0,65	0,65	0,64	0,64	0,63	0,62	0,61

Окончание таблицы 2

t, °C	Поправка к показаниям рефрактометра при значении массовой доли растворимых сухих веществ по сахарозе, %																
	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80
29	0,66	0,67	0,68	0,69	0,70	0,71	0,72	0,73	0,73	0,73	0,73	0,73	0,72	0,72	0,71	0,70	0,69
30	0,74	0,75	0,77	0,78	0,79	0,80	0,81	0,81	0,81	0,82	0,81	0,81	0,81	0,80	0,79	0,78	0,77
31	0,83	0,84	0,85	0,87	0,88	0,89	0,89	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,89	0,88	0,87	0,86	0,84
32	0,91	0,93	0,94	0,95	0,96	0,97	0,98	0,99	0,99	0,99	0,99	0,98	0,97	0,96	0,95	0,94	0,92
33	1,00	1,02	1,03	1,04	1,05	1,06	1,07	1,08	1,08	1,08	1,07	1,07	1,06	1,05	1,03	1,02	1,00
34	1,10	1,11	1,12	1,13	1,15	1,15	1,16	1,17	1,17	1,17	1,16	1,15	1,14	1,13	1,12	1,10	1,08
35	1,19	1,20	1,22	1,23	1,24	1,25	1,25	1,26	1,26	1,25	1,25	1,24	1,23	1,21	1,20	1,18	1,16
36	1,29	1,30	1,31	1,32	1,33	1,34	1,35	1,35	1,35	1,35	1,34	1,33	1,32	1,30	1,28	1,26	1,24
37	1,38	1,40	1,41	1,42	1,43	1,44	1,44	1,44	1,44	1,44	1,43	1,42	1,40	1,38	1,36	1,34	1,32
38	1,48	1,50	1,51	1,52	1,53	1,53	1,54	1,54	1,53	1,53	1,52	1,51	1,49	1,47	1,45	1,42	1,39
39	1,59	1,60	1,61	1,62	1,62	1,63	1,63	1,63	1,63	1,62	1,61	1,60	1,58	1,56	1,53	1,50	1,47
40	1,69	1,70	1,71	1,72	1,72	1,73	1,73	1,73	1,72	1,71	1,70	1,69	1,67	1,64	1,62	1,59	1,55

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. М., 1998. 704 с.
2. Чиркин А.А., Данченко Е.О. Биохимия. 2010. 610 с.
3. Нельсон Д, Кокс М. - Основы биохимии Ленинджера. 2011. Т. 1. 693 с.
4. Нельсон Д, Кокс М. - Основы биохимии Ленинджера. 2011. Т. 2. 633 с.
5. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. М., 1987. 412 с.
6. Племенков В.В. Введение в химию природных соединений. Казань, 2001. 376 с.
7. Garrett R.H., Grisham C.M. Biochemistry. 2010. 851 p.
8. Лазурьевский Г.В., Терентьева И.В., Шамшурин А.А. Практические работы по химии природных соединений М., 1966. 335 с.
9. «Википедия» — общедоступная многоязычная универсальная интернет-энциклопедия со свободным контентом: URL: www.wikipedia.org.
10. Ресурсы сети Интернет.

Подписано в печать 28.05.2019. Формат 60x84/16
Усл.-печ. л. 3,25. Тираж 100 экз. Заказ № 286
Типография Алтайского государственного университета:
656049, Барнаул, ул. Димитрова, 66