

СОВРЕМЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ



БИООРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Практикум

Рязань, 2021

УДК 577.1
ББК 22.239
Б13

Биоорганическая химия. Практикум. (Электронный ресурс) / Сост.
А.В. Никулин, А.Г. Ширяев.

Совр. техн. универ-т. – Рязань, 2021. – 63 с.

Рецензент: д.х.н., зав. лабораториями ООО «Экотранс» Гаврилов К. Н.

В практикуме изложен краткий теоретический материал по основным разделам биоорганической химии. Каждый раздел практикума включает методику выполнения лабораторных работ, даны вопросы для самостоятельного изучения.

*Издается по решению Ученого Совета
Современного технического университета*

УДК 577.1
ББК 22.239
Б13

© А.Г. Ширяев, А.В. Никулин
© Современный технический университет, 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
Тема 1. Липиды	9
Лабораторная работа № 1 Качественное определение липидов.	9
Лабораторная работа № 2. Химические свойства липидов	13
Лабораторная работа № 3. Изучение свойств фосфолипидов.	14
Тема 2. Углеводы.	18
Лабораторная работа № 4. Свойства дисахаридов.	20
Лабораторная работа № 5. Свойства полисахаридов	23
Лабораторная работа № 6 Кислотный гидролиз крахмала и идентификация продуктов гидролиза	26
Тема 3. Пептиды. Белки.	31
Лабораторная работа № 7 Цветные реакции на белки	31
Лабораторная работа № 8 Денатурация белков	33
Тема 4. Ферменты	39
Лабораторная работа № 9. Изучение каталитических свойств ферментов	40
Тема 5. Гетероциклические соединения.	43
Лабораторная работа № 10. Изучение химических свойств гетероциклических соединений	45
Лабораторная работа № 11. Выделение никотина и исследование его свойств	50
Тема 6. Низкомолекулярные биорегуляторы.	52
Лабораторная работа № 12. Выделение кофеина из чая	53
Лабораторная работа №13. Химические свойства алкалоидов.	54
Лабораторная работа №14. Выделение и свойства терпенов	59
Список рекомендуемой литературы	62

ВВЕДЕНИЕ

В процессе изучения биорганической химии в сельскохозяйственных вузах большое внимание уделяется лабораторно-практическим занятиям – одному из важнейших звеньев учебного процесса. Выполнение лабораторного практикума в значительной мере способствует развитию у студентов экспериментальных навыков, глубокому пониманию и освоению предмета, умению делать выводы из полученных данных.

Целью данного методического пособия является помочь студентам закрепить теоретические знания, полученные на лекции и в процессе самостоятельного изучения материала по биорганической химии. Предложенные в практикуме лабораторные работы знакомят с основными типами реакций различных классов биорганических соединений и их генетическими связями.

Методы, характер, приемы работы в лаборатории биорганической химии и используемая аппаратура, существенно отличаются от известных студенту при работе в лабораториях неорганической и аналитической химии. Биорганические вещества очень часто не являются электролитами и реакции с их участием протекают медленнее, чем обычные ионные реакции, и часто осложняются параллельными или вторичными процессами. В результате этого при реакции может образоваться не одно желаемое соединение, а смесь веществ различного характера. Поэтому при работе с биорганическими соединениями необходимо строго соблюдать указанные условия опыта: соотношение количеств реактивов, температуру, продолжительность операции и т.п., а также применять специальные приборы и приспособления и уметь очистить полученное вещество.

Многие биорганические соединения малорастворимы в воде, поэтому работа с ними требует применения органических растворителей, большинство которых являются либо летучими, либо легковоспламеняющимися и горючими жидкостями.

Приступая к работе в химической лаборатории, студент должен внимательно изучить правила техники безопасности и строго их выполнять. Во избежание воспламенения жидкостей или их паров на лабораторном столе необходимо вести работу аккуратно. Каждый работающий должен ознакомиться с правилами работы в лаборатории, с правилами предотвращения и ликвидации несчастных случаев и оказания первой помощи.

Каждому лабораторному занятию должна предшествовать домашняя подготовка студента по учебнику, лекционным записям по руководству и практикуму.

По окончании работы следует сформулировать и занести в тетрадь выводы, полученные на основе результатов опыта или группы опытов.

Правила техники безопасности при работе в химической лаборатории:

1. Во время работы в лаборатории необходимо соблюдать чистоту, тишину и порядок.
2. Запрещается посторонним лицам посещать студентов, работающих в лаборатории и отвлекать их.
3. Не разрешается работать в лаборатории в отсутствие лаборанта или преподавателя. Категорически запрещается работать в лаборатории одному.
4. Запрещается производить в лаборатории какие-либо работы, не связанные непосредственно с выполнением задания.
5. В лаборатории не допускается работа без спецодежды – халата, с распущенными волосами и в верхней одежде.
6. Категорически запрещается пробовать вещества на вкус, нюхать выделяющиеся при реакции газы. Определять запах соединения можно лишь, осторожно направляя, к себе его пары легким движением руки.
7. В лаборатории категорически запрещается пить воду и принимать пищу.

8. Запрещается выливать в раковину остатки кислот, щелочей и сильно пахнущих жидкостей. Сливают их в специальные склянки, снабженные пробкой.
9. Запрещается бросать в раковину бумаги, песок и другие твердые вещества.
10. Особую осторожность необходимо соблюдать при работе с бромом!
11. Категорически запрещается проводить реакции с натрием и калием на кипящей водяной или паровой бане; даже, при отгонке эфира над натрием применяют воздушную, песчаную или масляную баню. Нельзя бросать обрезки натрия в раковины или мусорные ящики – это может привести к несчастному случаю или пожару. Обрезки или непригодные кусочки натрия хранят под слоем сухого керосина.
12. Во всех случаях особое внимание уделяйте защите глаз! Помните, что для роговицы глаз особенно опасны щелочь и аммиак. Пользуйтесь защитными очками!

ПЕРВАЯ ПОМОЩЬ ПРИ НЕСЧАСТНЫХ СЛУЧАЯХ

Первая помощь при несчастных случаях должна оказываться быстро и квалифицированно.

1. При порезах стеклом необходимо убедиться в отсутствии в ране осколков стекла, а затем смазать ее края спиртовым раствором йода. После этого в случае необходимости накладывает повязка.
2. При термическом ожоге I или II степени делают длительную примочку обожженного места 0,5% - ным раствором перманганата калия или этиловым спиртом, потом закрывают его стерильной повязкой и обращаются к врачу. Для ожога I степени характерно покраснение кожи и появление болевых ощущений. При ожоге II степени возникают пузыри, прокалывать которые не рекомендуется. Ожоги III и IV степени сопровождаются сильным поражением кожи и появлением обнаженных участков тканей. При таких ожогах накладывают стерильную сухую повязку, дают большую дозу анальгетика и пострадавшего транспортируют к врачу.

3. При ожогах кислотами кожи или глаз сначала хорошо промывают пораженное место проточной водой, затем раствором гидрокарбоната натрия. При ожогах едкими щелочами кожи или глаз хорошо промывают обожженное место проточной водой, затем 1% раствором уксусной или 2%-ным раствором борной кислот и снова водой. Особенно опасно попадание щелочи и аммиака на роговицу глаз. При измельчении твердой щелочи обязательно надевайте очки! При ожогах кожи бромом быстро смойте большим количеством спирта и смажьте пораженное место мазью от ожогов. В случае попадания хлора или паров брома в легкие следует длительно вдыхать пары этилового спирта, затем выйти на свежий воздух. При сильных ранениях, ожогах и отравлениях после оказания первой помощи пострадавшего следует немедленно направить к врачу.

МЕТОДИКА ТУШЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ПОЖАРОВ В ХИМИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЯХ

1. Тушение загоревшейся одежды на человеке.

При загорании одежды надо действовать с учетом некоторых обстоятельств. При появлении пламени на небольшом участке одежды необходимо сорвать одежду и погасить ее на полу, вдали от воспламеняющихся предметов. Если пламя охватило большую часть одежды, нужно закутать пострадавшего в мокрую кошму или какую-либо верхнюю одежду. Если горит одежда ни в коем случае нельзя допускать резких движений!

2. Тушение пожаров на электроустановках.

При возникновении пожара обязательно обесточить установку, а затем гасить огонь водой, пеной, порошковыми средствами. Если же обесточить установку невозможно, применяют порошковые огнетушители газовые, углекислотные, сухие соли, сухой песок.

3. Тушение пожара на лабораторном столе.

Со стола убрать источник обогрева (горелку, спиртовку, электроплитку), отставить от очага пожара склянки с легковоспламеняющимися жидкостями, легковоспламеняющиеся предметы и только после этого накрыть пламя кошмой, засыпать песком или применить огнетушитель.

ЗАПИСЬ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

Во время лабораторных работ студент обязательно должен вести протоколы опытов в специальной тетради. Рекомендуется следующая форма записи лабораторных работ (в тетради на развернутом листе):

Дата _____ Лабораторная работа № _____

Тема: _____

Название опыта	Уравнение основной реакции (с указанием по возможности механизма)	Условия опыта	Результат опыта	Выводы
1	2	3	4	5

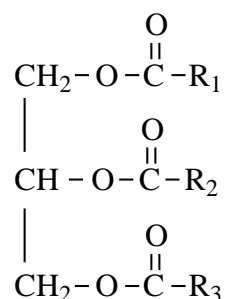
Графы 1,2 и 3 заполняются дома при подготовке к практическому занятию, графы 4 и 5 – в лаборатории после проведения каждого опыта. Условия опыта (графа 3) указываются очень кратко: обычные условия, нагревание, охлаждение и т.д. Результат опыта (графа 4) также записывается несколькими словами: выпадение черного осадка, синее окрашивание раствора, выделение бесцветного горючего газа и т.д. При заполнении протоколов опытов особое внимание следует обратить на графу 5. Выводы из каждого опыта должны быть хорошо продуманы и изложены кратко и ясно, но с достаточной глубиной.

Тема №1 «Липиды»

Лабораторная работа № 1.

Качественное определение жиров и масел

Известно, что жиры животного и растительного происхождения представляют собой сложный комплекс органических соединений. Основной составной частью всех жиров являются сложные эфиры трехатомного спирта – глицерина и жирных кислот, называемые триглицеринами. Такие сложные эфиры имеют следующую общую формулу:



где $\text{R}_1, \text{R}_2, \text{R}_3$ – ацильные остатки жирных кислот.

Естественные жиры в большинстве случаев представляют собой смесь разнокислотных триглицеринов. Содержание ненасыщенных жирных кислот в природных триацилглицеринах выше, чем насыщенных.

Животные жиры содержат большое количество насыщенных жирных кислот, благодаря чему они твердые при комнатной температуре. Растительные жиры (масла) содержат много ненасыщенных жирных кислот, поэтому при комнатной температуре они жидкие.

Качественное определение жиров основано на таких характерных их свойствах, как:

- образование на бумаге пятна, которое не исчезает при нагревании;
- цветная реакция с осмиевой кислотой;
- реакция омыления жира;

- дегидратация глицерина водоотнимающими средствами (гидросульфид калия или магния, борная кислота) с образованием акролеина и др.

Цель работы: Ознакомление с методами качественного обнаружения триглицеридов.

Реактивы и оборудование:

- 1) Растительное масло;
- 2) Спиртовой раствор едкого кали: 30 г КОН растворяют в 20 мл воды, по охлаждении перемешивают с 200 мл этанола.
- 3) 1%-ный раствор осмиевой кислоты;
- 4) 5%-ный раствор хлорида кальция;
- 5) 10%-ный раствор ацетата свинца;
- 6) концентрированная H_2SO_4 ;
- 7) концентрированная HCl ;
- 8) 10%-ный раствор едкого натра;
- 9) 2%-ный раствор сульфата меди;
- 10) пробирки для гидролиза с пробкой и стеклянной трубкой.

Опыт 1.1 Цветная реакция.

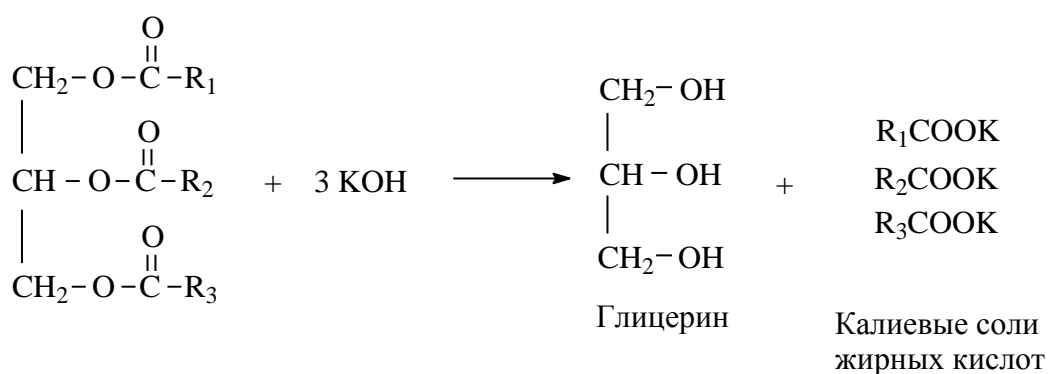
Каплю подсолнечного масла смешивают с 1 каплей 1%-ной осмиевой кислоты. Появляется черное окрашивание, что указывает на наличие жира в исследуемой пробе.

Опыт 1.2 Проба на образование пятна.

Каплю исследуемого жира наносят стеклянной палочкой на фильтровальную бумагу. Появляется сальное пятно, которое не исчезает при нагревании, что свидетельствует о наличии жира.

Опыт 1.3 Щелочной гидролиз жира.

Жиры под влиянием щелочей гидролизуются с образованием калиевых солей жирных кислот (мыла) и глицерина:



0,5 мл растительного масла смешивают в пробирке для гидролиза с 10 мл спиртового раствора гидроксида калия. Пробирку нагревают на кипящей бане, закрыв пробкой с длинной стеклянной трубкой (в качестве обратного холодильника), до полного омыления (примерно 45 мин.). Показателем полноты омыления может служить отсутствие образования жирных пятен на поверхности воды, в которую добавлена капля гидролизата.

Гидролизат разводят до 10 мл дистиллированной водой и полученный раствор используют для выявления составных частей жира, жирных кислот и глицерина.

Опыт 1.4 Открытие жирных кислот.

Для обнаружения жирных кислот используют гидролизат, полученный в опыте 1.3

А) В первую пробирку к 1 мл гидролизата приливают равное количество воды и взбалтывают. Образуется стойкая пена, которая указывает на присутствие в гидролизате растворенного калийного мыла, обладающего способностью понижать поверхностное натяжение растворов.

Б) Во вторую пробирку к 1 мл гидролизата добавляют несколько капель 5%-ного раствора хлорида кальция. Выпадает белый осадок нерастворимого кальциевого мыла.

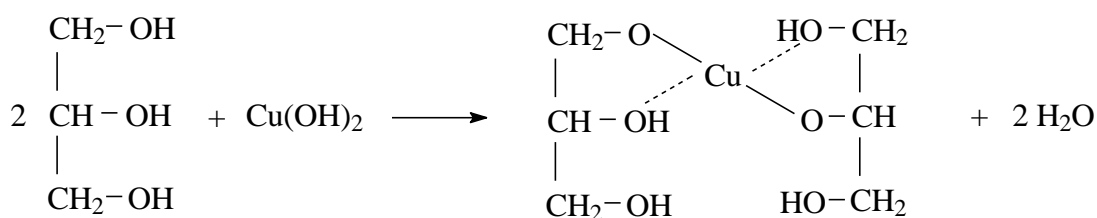
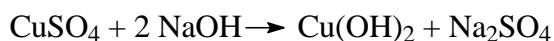
В) В третью пробирку к 1 мл гидролизата прибавляют несколько капель 10%-ного раствора ацетата свинца. Выпадает осадок свинцовых солей жирных кислот, который при нагревании становится вязким (свинцовый пластырь).

Г) В четвертую пробирку к 1 мл гидролизата добавляют 0,5 мл концентрированной HCl. Образующиеся жирные кислоты нерастворимы в воде и будут собираться в верхней части содержимого пробирки.

Д) В пятую пробирку к 2 мл гидролизата добавляют несколько капель 10%-ного раствора H₂SO₄ (осторожно!). Выпадает белый осадок свободных жирных кислот. Содержимое этой пробирки фильтруют и оставляют для открытия глицерина.

Опыт 1.5 Открытие глицерина.

К остатку профильтрованного гидролизата добавляют 8-10 капель 10%-ного раствора NaOH и 1-2- капли 2%-ного раствора сульфата меди. Появляется слабо-синее окрашивание, которое вызвано образованием глицерата меди:



Лабораторная работа № 2.

Химические свойства липидов

Цель работы - при изучении некоторых свойств жиров и масел разобрать вопрос о химической природе, биологической роли и содержании в организме простых липидов.

Реактивы и оборудование:

- 1) Оливковое или подсолнечное масло;
- 2) Маргарин или сливочное масло;
- 3) 5 %-го раствора брома в тетрахлорометане;
- 4) 5%-го раствора карбоната натрия;
- 5) 2%-го раствора перманганат калия;
- 6) 40%-ный раствор гидроксида натрия;
- 7) 1%-го спиртового раствора фенолфталеина;
- 8) штатив с калиброванными пробирками на 10 мл;
- 9) пипетки;
- 10) стеклянная палочка;

Опыт 2.1. Доказательство ненасыщенности олеиновой или линолевой кислоты

А) Бромирование. В пробирку поместите 3 капли олеиновой (линолевой) кислоты (растительного масла) и растворите ее в 1 мл тетрахлорометана. Добавьте в пробирку 4-5 капель 5%-го раствора брома в тетрахлорометане. Происходит обесцвечивание раствора брома.

Б) Окисление. В пробирку поместите по 2 капли олеиновой (линолевой) кислоты (растительной масла), 5%-го раствора карбоната натрия и 2%-го раствора перманганат калия. Встряхните пробирку и отметьте изменение первоначальной окраски раствора.

Опыт 2.2. Омыление жира.

В пробирку поместите кусочек маргарина величиной с горошину, 1 мл этанола и 1 мл 40%-го раствора гидроксида натрия. Нагрейте пробирку при встряхивании или перемешивании палочкой на кипящей водяной бане. Через 5-10 мин смесь становится однородной. Перенесите 2-3 капли раствора в другую пробирку, добавьте 1 мл воды и нагрейте на бане. Если проба полностью растворяется, омыление можно считать законченным.

К густой однородной массе добавьте при перемешивании горячий насыщенный раствор хлорида натрия, чтобы выделившийся слой мыла поднялся до верха пробирки. Дайте смеси отстояться, погрузите пробирку почти целиком в стакан с холодной водой и извлеките мыло палочкой или шпателем. Отожмите его между листами фильтровальной бумаги и сохраните для опыта.

Опыт 2.3. Гидролиз мыла. В пробирку поместите кусочек мыла (0,1-0,2г), полученного в предыдущем опыте, добавьте 1-2мл воды и нагрейте до растворения. Высаливание и извлечение мыла проведите, как описано в предыдущем опыте.

В пробирку поместите крупинку полученного очищенного мыла и добавьте 1-2 капли 1%-го спиртового раствора фенолфталеина. Покраснения не наблюдается. Добавьте в пробирку 5 капель воды и отметьте появление окрашивания.

Лабораторная работа № 3.

Изучение свойств фосфолипидов

Фосфолипиды представляют собой сложные эфиры, в состав которых входят спирты (глицерин, сфингозин, инозит), предельные и непредельные жирные кислоты, фосфорная кислота и азотистые основания. Фосфолипиды в организме представлены в основном соединениями: холинфосфолипиды

(лецитин), коламинфосфолипиды (кефалин), серинфосфолипиды, ацетальфосфолипиды, сфингомиелины, инозитфосфолипиды. Большинство фосфолипидов образовано на основе спирта глицерина. Фосфолипиды наряду с белками являются главными компонентами клеточных мембран (клеточной оболочки органелл) и принимают участие в обмене веществ и энергии в клетке.

Цель работы - при изучении некоторых свойств лецитина разобрать вопрос о химической природе, биологической роли и содержании в организме сложных липидов.

Реактивы и оборудование:

- 1) водный раствор яичного желтка (1:1);
- 2) этиловый спирт;
- 3) 10%-ный раствор гидроксида натрия;
- 4) 10%-ный раствор соляной кислоты;
- 5) штатив с калиброванными пробирками на 10 мл;
- 6) пипетки;
- 7) стеклянная палочка;

Опыт 3.1. Выделение лецитинов из яичного желтка. Для опыта используется раствор яичного желтка. В пробирку взять 1 мл (по объему) раствора яичного желтка, залить 4 мл горячего спирта и тщательно перемешать стеклянной палочкой. Смесь охладить и отфильтровать в сухую пробирку.

Опыт 3.2. Качественные реакции на лецитины

1) В сухую пробирку налить 0,5 мл ацетона и по каплям добавить фильтрат. Появление мути свидетельствует об осаждении лецитина.

2) В сухую пробирку налить 0,5 мл фильтрата и добавить к нему каплями воду. Образование стойкой эмульсии свидетельствует о наличии в ней лецитина.

Опыт 3.3. Гидролиз лецитина и определение продуктов гидролиза

В пробирку налить 3 мл спиртового раствора лецитина, 2 мл 10% раствора гидроксида натрия и кипятить смесь в течение 10 минут. Азотистое основание «холин», отщепившись при гидролизе, распадается до триметиламина, который обладает запахом селедочного рассола.

Полученный гидролизат разбавить 1 мл воды и по каплям добавить 10%-ный раствор соляной кислоты до появления на поверхности раствора маслянистого слоя (свободных жирных кислот).

Вопросы для контроля

1. Что такое липиды?
2. На каких характерных свойствах триглицеридов основано их качественное обнаружение?
3. В чем особенность гидролиза жира в растворе едкого калия?
4. Как можно доказать полноту омыления жира?
5. На каких характерных свойствах жирных кислот основано их обнаружение?
6. Как доказать присутствие глицерина в жирах?
7. Какие виды растительного сырья имеют высокое содержание липидов?
8. Назовите основные представители фосфолипидов и укажите их роль в деятельности растительных организмов.
9. Какие полярные группы входят в состав молекулы фосфолипидов?

Упражнения по теме «Липиды»

1. Что называется реакцией гидрогенизации? Напишите схему гидрогенизации триолеата глицерина. Назовите полученный продукт реакцию
2. Напишите схему получения триолеиноата глицерина.
3. Как можно получить натриевую соль стеариновой кислоты (мыло) из жира?
4. Какие соединения называются лецитинами? Напишите их общую формулу.

5. Какие соединения называются кефалины? Напишите их общую формулу.
6. Переэтерификация жиров. Какое практическое значение имеет этот процесс?
7. Напишите структурную формулу L-фосфатидовой кислоты, в состав которой входят стеариновая и линолевая кислоты. Сколько сложноэфирных связей содержится в данном соединении?
8. Напишите структурную формулу 2-олеолил-1-пальмитоилфосфатидилсерина. Укажите в молекуле этого фосфолипида сложноэфирные связи.
9. Напишите структурную формулу фосфатидилхолина, в состав которого входят остатки пальмитиновой и линоленовой кислот, и приведите схемы его гидролиза в кислой и щелочной средах.
10. Напишите структурную формулу соединения, если известно, что в результате реакции гидролиза в кислой среде образуются глицерин, холин (в виде соли), линоленовая, пальмитиновая и фосфорная кислоты. Назовите это соединение.
11. Напишите структурную формулу 2-линолеил-1-стеарилфосфатидилэтаноламина. Какие продукты получаются в результате реакции гидролиза в кислой среде?
12. Какие продукты получаются в результате щелочного гидролиза 2-линолеил-1-стеарилфосфатидилсерина? Напишите схему реакции.
13. Напишите схему реакции гидролиза 2-олеил-1-пальмитоилфосфатидилхолина.
14. Приведите строение 1-олеил-2-пальмитил-3-стеарилглицерина. Обозначьте сложноэфирные группы. Обладает ли данное соединение эмульгирующей способностью?
15. Объясните причину эмульгирующей способности 2-олеил-1-стеарилфосфатидилэтаноламина.
16. Напишите схему реакции щелочного гидролиза 2-линолеил-1-пальмитилфосфатидилэтаноламина. Обладают ли эмульгирующей

способностью начальное соединение и продукты реакции гидролиза? Ответ обоснуйте.

17. Напишите схему реакции щелочного гидролиза 2-линолеил-1-стеарилфосфатидилэтаноламина. Обладают ли эмульгирующей способностью начальное соединение и продукты реакции гидролиза? Ответ обоснуйте.

18. Напишите схему реакции щелочного гидролиза 2-линолеил-1-олеилфосфатидилхолина. Обладают ли эмульгирующей способностью исходное соединение и продукты реакции гидролиза? Ответ обоснуйте.

19. Какая кислота получится в результате β -окисления пальмитиновой кислоты?

20. Приведите схему реакции β -окисления олеиновой кислоты.

21. Приведите строение и название кислоты, получающейся в результате двух циклов β -окисления стеариновой кислоты.

22. Установите строение высшей жирной кислоты, в результате β -окисления которой была получена пальмитиновая кислота.

23. Приведите схему реакции пероксидного окисления линоленовой кислоты.

24. Какая из высших жирных кислот - олеиновая или линоленовая - более подвержена пероксидному окислению? Приведите схему реакции пероксидного окисления на примере олеиновой кислоты.

25. Напишите схему щелочного гидролиза тристеарина.

26. Напишите схему гидрирования триолеина (триолеат глицерина) и укажите катализатор, применяемый в промышленности.

27. Напишите схему реакции бромирования олеиновой кислоты.

28. Напишите схему реакции йодирования линолевой кислоты.

Тема №2 «Углеводы»

Углеводы – это природные соединения, имеющие в подавляющем большинстве состав $C_n(H_2O)_m$.

Моносахариды – мономеры, из остатков которых состоят углеводы более сложного строения. *Олигосахариды* – олигомеры, содержащие от 2 до 10 моносахаридных остатков. *Полисахариды* – полимеры, включающие до нескольких тысяч моносахаридных звеньев.

Связь между двумя молекулами моносахаридов устанавливается с помощью двух гидроксильных групп – по одной от каждой молекулы монозы. Однако характер этой связи может быть различным. Если одна из молекул моносахарида всегда предоставляет свой полуацетальный (гликозидный) гидроксил, то вторая молекула участвует в этом либо полуацетальным гидроксилом (образуется гликозид – гликозидная связь), либо спиртовым гидроксилом (образуется гликозид – гликозная связь).

Отсутствие или наличие в молекуле дисахарида полуацетального гидроксила отражается на свойствах дисахаридов. Если при образовании дисахарида обе молекулы участвовали своими полуацетальными гидроксилами (гликозид – гликозидная связь), то у обоих остатков моноз циклические формы являются закрепленными, альдегидная группа такого дисахарида образоваться не может. Такой дисахарид не обладает восстанавливающими свойствами и называется невозстанавливающим дисахаридом.

В случае гликозид – гликозной связи циклическая форма одного остатка моносахарида не является закрепленной, она может перейти в альдегидную форму, и тогда дисахарид будет обладать восстанавливающими свойствами. Такой дисахарид называется восстанавливающим. Восстанавливающие дисахариды проявляют реакции, характерные для соответствующих моносахаридов.

Полисахариды являются высокомолекулярными веществами. В полисахаридах остатки моносахаридов связываются гликозид – гликозными связями. Поэтому их можно рассматривать как полигликозиды. Остатки моносахаридов, входящие в состав молекулы полисахарида могут быть одинаковыми, но могут и различаться; в первом случае это гомополисахариды, во втором – гетерополисахариды.

Важнейшими гомополисахаридами, состоящими из остатков глюкозы, являются крахмал, гликоген и клетчатка (или целлюлоза).

Лабораторная работа № 4

Свойства дисахаридов

Цель работы: изучение химических свойств дисахаридов.

Реактивы и оборудование:

- 1) 1% - ный раствор сахарозы;
- 2) 1% - ный раствор лактозы;
- 3) 2 н раствор NaOH;
- 4) 0,2 н раствор CuSO_4 ;
- 5) резорцин сухой;
- 6) пробирки;
- 7) спиртовки.

Опыт 4.1. Доказательство наличия гидроксильных групп в сахарозе (тростниковом сахаре)

Поместить в пробирку 1 каплю 1%-ного раствора сахарозы и 6 капель 2н. NaOH. Добавить для разбавления 5-6 капель воды, чтобы высота слоя жидкости была 18-20 мм. Прибавить одну каплю 0,2н. CuSO_4 . Вместо ожидаемого осадка гидрата окиси меди $\text{Cu}(\text{OH})_2$ получается раствор сахарата меди светло-синего цвета. Сохраните раствор до следующего опыта.

В присутствии сахарозы, так же как и в присутствии глюкозы и других веществ, содержащих несколько гидроксильных групп, гидрат окиси меди растворяется, образуя раствор синего цвета.

Опыт 4.2. Отсутствие восстанавливающей способности в сахарозе

Раствор сахарата меди, полученный в опыте, осторожно нагреть над пламенем спиртовки так, чтобы нагревалась только верхняя часть раствора, а

нижняя оставалась холодной для контроля. Нагреть только до кипения. Как можно было ранее убедиться, глюкоза при этих условиях давала отчетливую реакцию восстановления (проба Троммера положительная). Сахароза же в этих условиях не дает реакции восстановления, что указывает на отсутствие свободной альдегидной группы. Формула строения сахарозы согласуется с этим фактом, доказывающим, что эфирная связь между глюкозой и фруктозой образована действительно за счет полуацетальных гидроксильных групп глюкозы и фруктозы.

Опыт 4.3. Доказательство гидролиза сахара

Взять 2 пробирки. В первую пробирку поместить 1 каплю 1%-го раствора сахарозы, добавить 1 каплю 2н. HCl и 6 капель воды. Нагреть над пламенем спиртовки в течение 30 секунд, наблюдая за продолжительностью нагревания с помощью часов. Держать пробирку как можно более наклонно и встряхивая ее, чтобы раствор не выбросило. Отлить половину раствора во вторую пробирку и добавить в нее 6 капель 2н. NaOH, чтобы высота слоя жидкости была 18-20 мм. Едкую щелочь добавить с избытком, чтобы нейтрализовать кислоту, взятую для гидролиза, а также создать необходимую для реакции восстановления щелочную среду. Затем добавить 1 каплю 0,2н. CuSO₄ и нагреть верхнюю часть синего раствора до кипения. Моментально в нагретой части появится оранжево-желтое окрашивание (положительная проба Троммера), что указывает на наличие глюкозы. Во второй части гидролизата, оставшейся в первой пробирке, определить наличие фруктозы с помощью реакции Селиванова. Для этого в пробирку поместить крупинку резорцина и 2 капли концентрированной соляной кислоты и нагреть до начала кипения (не кипятить!). Моментально появится отчетливое красноватое окрашивание, указывающее на наличие фруктозы. Надо иметь в виду, что сахароза и без гидролиза дает слабую реакцию Селиванова, так как в процессе выполнения реакции в кислой среде сахароза успевает частично гидролизаться. Проведенные опыты подтверждают, что сахароза легко расщепляется на

простые сахара - глюкозу и фруктозу. Это говорит о том, что в молекуле сахарозы глюкоза и фруктоза связаны между собой по типу эфирной гликозидной связи, характерной особенностью которой является легкость разрыва при гидролизе по месту кислородного мостика.

Полученная, в результате гидролиза сахарозы, эквимолекулярная смесь глюкозы и фруктозы называется инвертным сахаром. Сам процесс гидролиза сахарозы называют инверсией, так как раствор сахарозы, имевший до гидролиза правое вращение $[\alpha]_D = +66,5^0$, после гидролиза меняет вращение на левое (глюкоза $[\alpha]_D = +52,5^0$, а фруктоза $[\alpha]_D = -92,4^0$).

Опыт 4.4. Восстанавливающая способность лактозы

Налить в пробирку 4 капли 1%-го раствора лактозы, 4 капли 2н. NaOH и 1 каплю 0,2н CuSO₄. Голубой осадок гидрата окиси меди при встряхивании пробирки растворяется, образуя синеватый раствор (доказательство наличия гидроксильных групп). Остатки медного купороса со стенок пробирки, если имеются, смыть 5 каплями воды. Для того, чтобы реакция прошла, высота жидкости в пробирке должна быть 18-20 мм, в противном случае добавить еще несколько капель воды. Затем нагреть верхнюю часть раствора до кипения. Через несколько секунд в нагретой части появится желто-оранжевое окрашивание. (доказательство наличия свободной альдегидной группы у лактозы).

Лактоза является дисахаридом, который при гидролизе дает глюкозу и галактозу. В отличие от сахарозы лактоза имеет в остатке глюкозы свободный полуацетальный гидроксил, который образует свободную альдегидную группу. В силу этого лактоза или молочный сахар, относятся к группе дисахаридов, обладающих восстановительной способностью (дающих положительную пробу Троммера).

Лабораторная работа № 5

Свойства полисахаридов

Цель работы: изучение химических свойств полисахаридов.

Реактивы и оборудование:

- 1) крахмальный клейстер;
- 2) раствор йода;
- 3) 2н раствор гидроксида натрия;
- 4) 0,2 н раствор CuSO_4 ;
- 5) реактив Швейцера;
- 6) клетчатка (фильтровальная бумага, вата);
- 7) пробирки;
- 8) стеклянные палочки;
- 9) спиртовки.

Опыт 5.1. Приготовление крахмального клейстера.

В химическом стакане растворяют 1,5 г крахмала в 25 мл дистиллированной воды и доводят до кипения при интенсивном перемешивании стеклянной палочкой.

Опыт 5.2. Открытие крахмала (качественная реакция)

Крахмал имеет общую формулу $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$, где $n = 1000$ и более и является полиглюкозидом, содержащим α -1,4-глюкозидные связи в амилозе и α -1,4- и α -1,6-глюкозидные связи в амилопектине. Амилоза и амилопектин – две фракции крахмала.

Крахмал нерастворим в воде, но образует коллоидный раствор - крахмальный клейстер

В пробирку прилить 5 капель крахмального клейстера и 1 каплю сильно разбавленного раствора йода. Раствор окрашивается в синий цвет вследствие

образования комплексных соединений и адсорбции, который при легком нагревании исчезает, а при охлаждении вновь появляется.

Опыт 5.3. Отсутствие восстанавливающей способности у крахмала

В пробирку к 1 мл крахмального клейстера добавить 2-3 капли 2н. NaOH и 1 каплю раствора сульфата меди. Раствор перемешать, при этом выпадает осадок гидроксида меди (II), затем нагреть. Восстановления гидроксида меди не происходит. Осадок может почернеть, так как при нагревании гидроксид меди теряет воду и превращается в черный оксид меди (II). Это объясняется тем, что крахмал обладает очень слабой восстанавливающей способностью. Почему?

Опыт 5.4. Растворение клетчатки в аммиачном растворе оксида меди (II) (реактив Швейцера)

Поместите в пробирку с помощью пинцета небольшой кусочек гигроскопической ваты и добавьте 6-8 капель насыщенного аммиачного раствора оксида меди - реактив Швейцера (см.ниже). Энергично встряхивайте до полного растворения ваты, которое происходит постепенно, причем вязкость раствора резко повышается. Не следует брать слишком большой кусочек, так как это удлиняет продолжительность растворения. К полученному вязкому раствору добавьте 4 капли воды и взболтайте. Затем добавьте одну, а в случае необходимости две капли концентрированной соляной кислоты до выделения клетчатки. Обратите внимание на то, что выделившаяся клетчатка потеряла волокнистое строение и имеет вид гомогенного студня.

Реактив Швейцера- насыщенный раствор оксида меди в концентрированном аммиаке. К 100 мл 10%-ного раствора медного купороса проливают 30-40 мл 10%-ного раствора едкого натра и нагревают до кипения. Образовавшийся коричнево-черный осадок оксида меди отсасывают на воронке Бюхнера, промывают водой и растворяют в 25%-ном растворе аммиака так,

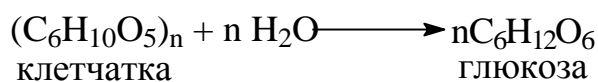
чтобы на дне, остался небольшой осадок. Полученный раствор фильтровать нельзя, а нужно декантировать.

Опыт 5.5. Кислотный гидролиз клетчатки (целлюлоза).

Целлюлоза или клетчатка $(C_6H_{10}O_5)_n$ (где $n=6-12$ тыс.)- полисахарид клеточных стенок растений. Она состоит из остатков β -глюкопиранозы и имеет β -1,4-глюкозидные связи. При гидролизе она образует глюкозу. Это промышленный процесс, однако выделять и очищать глюкозу трудно, продукт гидролиза нейтрализуют, подвергают сбраживанию и отгоняют этиловый («гидролизный») спирт.

Поместите в пробирку маленький кусочек фильтровальной бумаги (0,5×0,5 см), добавьте 6 капель концентрированной серной кислоты (в вытяжном шкафу) и размешайте стеклянной палочкой до полного растворения клетчатки. Можно слегка подогреть (осторожно), чтобы ускорить растворение. В результате растворения должна получиться слабо окрашенная жидкость, которая после добавления 15 капель воды становится бесцветной. Поставьте пробирку в кипящую водяную баню, заметив номер гнезда, чтобы отыскать свою пробирку. Через 20 мин произведите пробу Троммера на глюкозу. Для этого с помощью пипетки поместите 2 мл 2 н. раствора NaOH с расчетом не только нейтрализовать взятую для гидролиза кислоту, но и создать избыток щелочи, необходимый для реакций восстановления. Прибавьте 1 каплю 0,2 н. раствора $CuSO_4$. Образующийся гидроксид меди (II) растворяется с синим окрашиванием. Нагрейте верхнюю часть раствора до кипения. В нагретой части раствора немедленно выделяется желтый осадок гидроксида меди (I). Положительная проба Троммера указывает на появление глюкозы в результате гидролиза клетчатки.

Схематически это можно выразить следующим уравнением:



Целлюлоза или клетчатка $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$ (где $n=6-12$ тыс.)- полисахарид клеточных стенок растений. Она состоит из остатков β -глюкопиранозы и имеет β -1,4-глюкозидные связи. При гидролизе она образует глюкозу. Это промышленный процесс, однако выделять и очищать глюкозу трудно, продукт гидролиза нейтрализуют, подвергают сбраживанию и отгоняют этиловый спирт.

Напишите структурную формулу фрагмента молекулы клетчатки и схему ее гидролиза (глюкозу изобразите в виде β -глюкопиранозы).

Лабораторная работа № 6

Кислотный гидролиз крахмала и идентификация продуктов гидролиза

Цель работы: на примере кислотного гидролиза крахмала изучить процесс последовательной деполимеризации полисахарида. Провести хроматографический анализ гидролизата, идентифицировать продукты гидролиза.

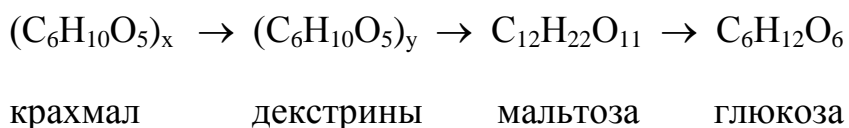
Реактивы и оборудование:

- 1) крахмальный клейстер;
- 2) 10%-ный раствор серной кислоты;
- 3) 0,1 н раствор йода в KI;
- 4) пластинки «Силуфол» для ТСХ;
- 5) разделяющая система растворителей;
- 6) реагент для проявления пластинок;
- 7) вода дистиллированная;
- 8) стаканы химические на 50 мл;
- 9) штатив с калиброванными пробирками на 10 мл;

- 10) пипетки;
- 11) стеклянная палочка;
- 12) хроматографическая камера;
- 13) термостат или водяная баня;
- 14) весы лабораторные;
- 15) мерный цилиндр на 25 мл.

Опыт 6.1. Гидролиз крахмала.

При нагревании крахмала с разбавленными кислотами происходит его гидролиз по следующей схеме:



где $y < x$.

В пробирку помещают 2 мл крахмального клейстера и 4 капель концентрированного раствора серной кислоты. Содержимое пробирки встряхивают и ставят в баню с кипящей водой. Каждые 2 минуты отбирают пипеткой каплю раствора и переносят в пробирку с раствором йода. Для этого предварительно в 8 пробирок помещают по одной капле раствора йода и 5 капель воды.

Последовательные пробы обнаруживают постепенное изменение окраски при реакции с йодом (синюю, сине-фиолетовую, красно-фиолетовую, красновато-оранжевую, оранжевую и желтую).

Крахмал с йодом дает синее окрашивание. Декстрины, в зависимости от величины цепочки, с йодом окрашиваются в фиолетовые, красные и оранжевые цвета. Мальтоза и глюкоза не изменяют окраски йода.

Гидролиз крахмала заканчивают, когда крахмальный клейстер не будет давать цветной реакции с йодом. Отмечают общую продолжительность гидролиза.

По окончании гидролиза проводят анализ реакционной среды методом ТСХ.

Опыт 6.2. Метод ТСХ.

На подготовленную пластинку ТСХ «Силуфол» с помощью хроматографического шприца наносят 1 мкл гидролизата в виде сплошной полосы длиной 2-7 мм, отступая от бокового и нижнего краев пластинки на расстояние 10 мм. Пластинку вертикально помещают в камеру, которая заполнена разделяющей смесью до высоты 5 мм. Состав разделяющей смеси: *n*-бутанол - уксусная кислота - вода (60 мл - 15 мл - 25 мл). Пластинку выдерживают в камере до тех пор, пока высота подъема фронта восходящего растворителя не достигнет отмеченной длины разделительного пути. Разделительный путь (расстояние от линии старта до фронта растворителя) равен 90 мм.

По окончании хроматографического разделения пластинку вынимают из камеры и сушат при комнатной температуре в вытяжном шкафу до полного испарения остатков растворителей.

Затем разделение повторяют в той же системе растворителей. Высушенные пластинки погружают в реагент, представляющий собой смесь: *n*-бутанол – вода - уксусная кислота - фосфорная кислота – анилин - дифениламин (60 мл - 25 мл - 15 мл - 10 мл - 1 мл - 2 г). Пластинки снова сушат и проявляют в термостате при температуре 120⁰С в течение 5 мин.

Идентификацию продуктов гидролиза проводят с помощью свидетелей и по значениям R_f . Данные заносят в таблицу 1.

Таблица 1.

№ п/п	Название компонента смеси	R_f	Цвет пятна
1	Декстрины		
2	Мальтоза		
3	Глюкоза		

Вопросы для контроля.

1. Строение ди- и полисахаридов.
2. Химические свойства дисахаридов.
3. Строение крахмала и гликогена.
4. Строение клетчатки.
5. Гидролиз полисахаридов. Кислотный гидролиз крахмала. Какие продукты образуются при гидролизе? Недостатки кислотного гидролиза.
6. Гидролиз крахмала амилотическими ферментами: α - и β -амилазами, глюкозоамилазой. Особенности ферментативного гидролиза крахмала.
7. Какую окраску с йодом дают крахмал, декстрины, мальтоза и глюкоза?
8. На чем основано хроматографическое разделение смеси веществ? Что такое элюент? Как рассчитывается величина R_f ?

Упражнения по теме «Углеводы»

1. Напишите уравнение реакции получения следующих дисахаридов:
а) лактозы; б) мальтозы в) сахарозы.
2. Напишите уравнение реакций взаимодействия:
а) хлористого пропионила с лактозой;
б) бромистого ацетила с целлобиозой.
Назовите продукты реакций.
3. Напишите уравнение реакции окисления дисахаридов в мягких условиях:
а) мальтозы; б) целлобиозы; в) лактозы.
Назовите образующиеся кислоты.
4. Напишите уравнения реакций взаимодействия метилового спирта (в присутствии катализатора HCl):
а) с мальтозой; б) с лактозой в) с целлобиозой.
Назовите полученные соединения.
5. Напишите схему образования озаона лактозы.

6. Получите из целлюлозы метилцеллюлозу, этилцеллюлозу, условно считая, что алкилированию подвергаются все гидроксильные группы.
7. С помощью каких химических реакций можно отличить сахарозу от мальтозы?
8. Напишите схемы строения крахмала и целлюлозы.
9. Напишите гидролиз сахарозы, используя структурные формулы. В чем заключается явление инверсии? Что такое инвертный сахар?
10. Напишите реакции взаимодействия лактозы со следующими веществами: а) ангидридом этановой кислоты, б) гидроксиламином, в) фенилгидразином.
11. Напишите схему образования оазона целлобиозы.
12. Напишите уравнение реакции гидролиза целлобиозы.
13. Напишите схемы образования следующих дисахаридов:
а) целлобиозы; б) сахарозы.
14. Как реагирует сахароза с избытком уксусного ангидрида?
15. Напишите схему получения оксима целлобиозы?
16. Какова причина растворения $\text{Cu}(\text{OH})_2$ в растворе сахарозы? Как называются соединения образующиеся при этом?
17. Напишите схему синтеза из 2 молекул глюкозы: а) α -глюкопиранозил- α -глюкопиранозида (трегалозы); б) α -глюкопиранозил-глюкозы (мальтозы); в) β -глюкопиранозил-глюкозы (целлобиозы).
18. Напишите схему гидролиза (в присутствии кислоты) β -галактопиранозил-глюкозы (лактозы, молочного сахара).
19. Приведите пример образования следующих видов гликозидных связей: а) α (1 \rightarrow 4); б) β (1 \rightarrow 6); в) α (1 \rightarrow 6) на примере молекулы глюкозы.
20. Дисахарид лактоза, состоящий из галактозы и глюкозы, существует в двух аномерных формах, для обозначения которых используют буквы α и β . Эти аномеры значительно различаются по свойствам. Так, например, β -аномер слаще на вкус и обладает лучшей растворимостью по сравнению с α -аномерами; из-за этого при длительном хранении мороженого в

холодильнике может произойти кристаллизация α -аномера, и тогда мороженое становится рассыпчатым. а) Нарисуйте проекционные формулы Хеуорса двух аномерных форм лактозы. б) Нарисуйте проекционные формулы Хеуорса для всех веществ, образующихся в результате гидролиза α -аномера до галактозы и глюкозы. Сделайте тоже для β -аномера.

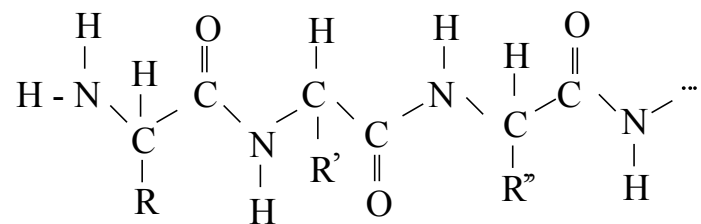
21. Как реагирует амилоза с диметилсульфатом? Напишите схему реакции.

22. Напишите структурную формулу фрагмента амилопектина.

23. Напишите схемы синтеза триацетата и тринитрата целлюлозы (используя формулу Хеуорса для изображения остатка глюкозы).

Тема №3 «Пептиды. Белки»

Согласно общепринятой теории молекула белка состоит из остатков α -аминокислот, связанных между собой пептидными связями:



Качественными реакциями на белки являются:

а) биуретовая реакция;

б) ксантопротеиновая реакция;

в) реакция Миллона;

г) нингидринная реакция.

Лабораторная работа № 7

Цветные реакции на белки

Цель работы: изучение химических свойств аминокислот и белков.

Реактивы и оборудование:

1) раствор белка;

2) 2н раствор NaOH;

3) 1 % раствор CuSO₄;

- 4) 0,5% водный раствор нингидрина
- 5) 2н раствор HNO_3 ;
- 6) 2н раствор NH_4OH ;
- 7) раствор $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$;
- 8) раствор формалина 40%,
- 9) пробирки и спиртовки.

Опыт 7.1. Цветные реакции на белки

А) Биуретовая реакция.

К 1 -2 мл раствора белка добавить равный объем щелочи и затем 3-4 капли медного купороса. Как изменится окраска раствора?

Б) Нингидриновая реакция.

К 5 каплям раствора белка прибавить 5 капель 0,5 % раствора нингидрина и кипятить 1-2 минуты. Как изменяется окраска раствора?

В) Ксантопротеиновая реакция.

К 1 мл раствора белка прибавить 0,2-0,3 мл азотной кислоты. Затем нагреть до кипения и кипятить 1-2 минуты. При добавлении нескольких капель аммиака как изменится окраска раствора?

С помощью этой реакции обнаруживают наличие в белке ароматических ядер, т.е. остатков таких аминокислот, как фенилаланин, тирозин и триптофан.

Изложить ваши наблюдения и написать структурные формулы:

а) фенилаланина, тирозина и триптофана, б) образование дипептида из аланина.

Опыт 7.2. Реакция на обнаружение серосодержащих аминокислот (цистин, цистеин)

Налить в пробирку 3 капли раствора уксуснокислого свинца и 1-2 капли едкого натра до растворения образовавшегося осадка гидроокиси свинца.

Прибавить 3-4 капли белка и смесь осторожно нагреть. Раствор начинает темнеть (выделяется осадок сернистого свинца).

Лабораторная работа № 8

Денатурация белков

При необратимом осаждении белков нарушается их вторичная, третичная и четвертичная структуры, белки денатурируют и утрачивают свои биологические и физико-химические свойства.

Денатурация белков может быть вызвана рядом физических и химических факторов: повышением температуры, взаимодействием с солями тяжелых металлов, концентрированными минеральными кислотами, продолжительным воздействием органических растворителей и другими.

Денатурация чаще всего необратима, но в ряде случаев наблюдается ренатурация – восстановление исходной конформации молекулы белка и его природных свойств.

Цель работы: изучение осаждения белков и изменения его свойств при действии различных реагентов.

Реактивы и оборудование:

- 1) раствор белка;
- 2) 96% этиловый спирт;
- 3) ацетон;
- 4) 1% раствор уксусной кислоты;
- 5) концентрированный раствор HCl;
- 6) концентрированный раствор HNO₃;
- 7) концентрированный раствор H₂SO₄;
- 8) 10% раствор трихлоруксусной кислоты;
- 9) Раствор сульфосалициловой кислоты;
- 10) 1 % раствор CuSO₄;

- 11) раствор $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$;
- 12) раствор пикриновой кислоты;
- 13) гексацианоферрат калия(II).

Опыт 8.1. Осаждение белков органическими растворителями

Добавление смешивающих с водой нейтральных органических растворителей, например этанола, ацетона, хлороформа, уменьшает растворимость большинства белков в воде и вызывает выпадение их в осадок. Органические растворители снижают диэлектрическую постоянную белковых растворов, вследствие чего усиливается притяжение между белковыми частицами, способствующее агрегации белков и снижению их растворимости. Кроме того органические растворители нарушают гидрофобные взаимодействия внутри белковой молекулы.

Кратковременное воздействие на белки органическими растворителями при низких температурах вызывает их обратимое осаждение. Однако длительное воздействие высоких концентраций органических растворителей при относительно высоких температурах ($+20^\circ$ и выше) приводит к денатурации белков, необратимому осаждению.

А) К 1 мл раствора яичного альбумина добавляют 1,5-2 мл 96%-ного этилового спирта и встряхивают пробирку. Выпадает белый осадок белка.

Б) К 1 мл раствора яичного альбумина добавляют 1,5-2,0 мл ацетона и встряхивают пробирку. Выпадает осадок белка.

Опыт 8.2. Денатурация белков при нагревании

Белки подвергаются денатурации и выпадают в осадок при нагревании их растворов до температуры выше $50-60^\circ\text{C}$. Свернувшиеся белки не могут быть снова переведены в раствор, так как при нагревании нарушаются связи, стабилизирующие четвертичную, третичную и вторичную структуры белковых

молекул, изменяются их физико-химические свойства, в том числе уменьшается их способность к гидратации.

В изоионном состоянии при нагревании увеличивается степень денатурации белков. Так как изоионная точка для большинства белков находится в слабокислой среде, то небольшое подкисление раствора белка способствует более полной его коагуляции при нагревании.

В две пробирки вносят по 1 мл раствора яичного альбумина. В одну из пробирок добавляют 1 каплю 1%-ного раствора уксусной кислоты. Обе пробирки нагревают. В пробирке, где раствор подкислен, свертывание белка происходит быстрее. Объясните результаты наблюдения и разницу в появлении осадков.

Опыт 8.3. Осаждение белков концентрированными минеральными кислотами.

Концентрированные минеральные кислоты (H_2SO_4 , HCl , HNO_3 и др.) вызывают необратимое денатурационное изменение белков, следствием чего является агрегация белковых молекул и их осаждение.

Денатурирующее действие минеральных кислот может быть объяснено их воздействием на функциональные группы белка. Минеральные кислоты, например, превращают отрицательную группу $-\text{COO}^-$ в недиссоциированную группу $-\text{COOH}$, что приводит к нарушению ионных связей /солевых мостиков/ и, как следствие, к разворачиванию полипептидных цепей. При длительном воздействии концентрированными минеральными кислотами могут произойти гидролиз белка (разрыв пептидных связей), а также реакции нитрования, окисления, сульфирования, конденсации и др.

А) К 1 мл концентрированной серной кислоты осторожно, под тягой, по стенке пробирки добавляют 1 мл раствора яичного альбумина так, чтобы не смешивать жидкости.

На границе соприкосновения двух жидкостей образуется белое кольцо выпавшего в осадок белка. При осторожном смешивании жидкостей осадок не исчезает.

Б) В двух других пробирках проводят такие же опыты, но с концентрированными соляной и азотной кислотами.

Опыт 8.4. Осаждение белков органическими кислотами

Белки из растворов необратимо осаждают органическими кислотами. Трихлоруксусная кислота CCl_3COOH и сульфосалициловая кислота $\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})(\text{COOH})\text{SO}_3\text{H}$ являются очень чувствительными, специфическими реактивами на белок и широко применяется с этой целью.

Осаждение белков трихлоруксусной кислотой часто применяют для полного удаления белков из биологических жидкостей (например, из сыворотки крови), продукты их распада при этом остаются в растворе.

А) В пробирку вносят 1 мл раствора белка и добавляют несколько капель 10%-ного раствора трихлоруксусной кислоты. Выпадает осадок белка.

Б) В другую пробирку вносят 1-2 мл раствора белка и добавляют несколько капель сульфосалициловой кислоты. Наблюдают выпадение белка в осадок.

Опыт 8.5. Осаждение белков солями тяжелых металлов

При действии небольших концентраций солей тяжелых металлов (Cu^{+2} , Pb^{+2} , As^{+3} , Hg^{+2} , Bi^{+3}) на растворы белка происходит денатурация белковых молекул. Осаждение денатурированного белка обусловлено адсорбцией иона тяжелого металла на поверхности белковой молекулы и образованием нерастворимых в воде комплексных соединений. Кроме того, тяжелые металлы

снимают электрический заряд и глубоко изменяют вторичную и третичную структуру макромолекул белка, образуют связи между функциональными группами молекул.

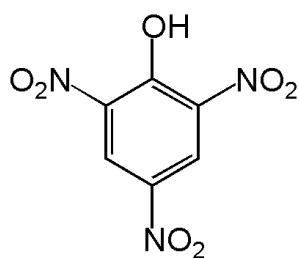
Существуют определенные границы концентраций солей тяжелых металлов, при которых комплекс белка с солью тяжелого металла переходит в осадок, либо находится в растворимом состоянии.

А) К 2 мл раствора яичного альбумина добавляют 5 капель 1%-ного раствора сульфата меди. Выпадает осадок, который растворяется в избытке (7-10 мл) раствора этой соли.

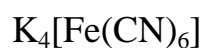
Б) К 2 мл раствора яичного альбумина добавляют 5 капель 0,5%-ного раствора уксуснокислого свинца. Выпадает осадок, который растворяется также в избытке раствора этой соли.

Опыт 8.6. Осаждение белков специфическими реактивами

Необратимое осаждение белков можно вызвать воздействием на их растворы различными специфическими реактивами: пикриновой кислотой, гексацианоферратом (II) калия, танином и др.



Пикриновая кислота



Гексацианоферрат (II) калия

Механизм осаждения белков этими реактивами заключается в образовании нерастворимых комплексных соединений с аминными группами белков.

А) К 1 мл раствора яичного альбумина, подкисленного уксусной кислотой, добавляют несколько капель насыщенного раствора пикриновой кислоты. Образуется желтоватый осадок белка.

Б) К 1 мл раствора яичного альбумина, подкисленного уксусной кислотой, по каплям добавляют 5%-ный раствор гексацианоферрата (II) калия. Выпадает осадок белка.

Контрольные вопросы

1. Классификация белков. Простые и сложные белки.
2. Строение белковой молекулы: первичная, вторичная, третичная и четвертичная структура белка.
3. Что такое денатурация белков?
4. Какие вы знаете денатурирующие факторы и в чем особенности их действия?
5. Какие структуры белковых молекул изменяются при денатурации?
6. Является ли денатурация обратимым процессом?
7. Какие методы определения аминокислотной последовательности вы знаете?
8. В чем заключается стабилизация вторичной и третичной структур.
9. Что значит окислительное дезаминирование?
10. Какие белки называются глобулярными? Приведите примеры глобулярных белков.
11. Какие белки называются фибриллярными? Приведите примеры фибриллярных белков.

Упражнения по теме «Белки».

1. Название глутатиона – трипептида, широко распространенного в живой природе – γ – глутамилцистеилглицин. Напишите структурную формулу и опишите физиологические свойства этого пептида.

2. Укажите методы, которые применяют для определения последовательности аминокислотных остатков в пептиде. Проиллюстрируйте их на примере глицилаланилфенилаланина.
3. Напишите формулы: а) изомерных дипептидов, составленных из глицина и аланина; б) изомерных трипептидов, составленных из глицина, аланина и серина. Назовите их.
4. Приведите примеры, позволяющие определять N-и C-концевые аминокислоты в полипептиде. Проиллюстрируйте их на примере трипептида – фенилаланилвалилглицина.
5. Напишите структурную формулу трипептида, при полном гидролизе которого образуется глицин, аланин и цистеин, а при частичном гидролизе – аланилглицин и глицилцистеин.
6. Используя метод защиты аминогруппы карбобензоксилом ($C_6H_5CH_2OCOCI$), осуществите синтез трипептидов; а) глицилаланилглицина; б) аланилглицилфенилаланина.
7. Аспартам - пищевая добавка для придания продуктам сладкого вкуса, имеет полное название L – аспартил – L – фенилаланин – метиловый эфир. Напишите структурную формулу.
8. Укажите наиболее характерные свойства молекул белка.
9. Какие белки называются гормонами?
10. Как осуществляется синтез белков в живых клетках?

Тема №4 «Ферменты»

Ферменты – это биологические катализаторы белковой природы, образуемые живой клеткой. Ускоряя многочисленные реакции, протекающие в живом организме, ферменты являются движущей силой обмена веществ.

Все ферменты в зависимости от типа катализируемой реакции подразделяются на 6 классов:

- 1 *Оксидоредуктазы* – катализируют окислительно - восстановительные реакции.
- 2 *Трансферазы* – катализируют реакции переноса различных химических групп с одной молекулы на другую.
- 3 *Гидролазы* – катализируют реакции гидролиза.
- 4 *Лиазы* – катализируют реакции отщепления от субстратов негидролитическим путем той или иной химической группы с образованием двойной связи или присоединение химической группы по месту двойной связи.
- 5 *Изомеразы* – катализируют реакции изомеризации органических соединений.
- 6 *Лигазы, или синтетазы* – катализируют реакции синтеза веществ, сопровождающиеся расщеплением высокоэнергетической связи в молекуле АТФ или аналогичного нуклеозидтрифосфата.

Лабораторная работа № 9

Изучение каталитических свойств ферментов

Цель работы: выяснить химическую природу, отдельные свойства ферментов. Изучить основные факторы определяющие ферментативную активность.

Реактивы и оборудование:

- 1) 1 % раствор крахмала;
- 2) 1% раствор сахарозы,
- 3) слюна;
- 4) 1% раствор I₂ (или 1 % раствор йода в KI);
- 5) 1% раствор CuSO₄;
- 6) 10% раствор NaOH
- 7) картофель сырой и вареный;
- 8) раствор пероксида водорода;
- 9) штатив с пробирками;

- 10) водяная баня;
- 11) термометр;
- 12) электроплитка.

Опыт 9.1. Ферментативный гидролиз крахмала

В пробирку собрать 2 – 3 мл. слюны, разбавить ее водой в 5 – 6 раз.

Взять 3 пробирки, пронумеровать и налить в каждую примерно 1 мл раствора слюны.

Раствор слюны в первой пробирке прокипятить, во вторую пробирку добавить 1 мл раствора CuSO_4 и раствора NaOH . В первые две пробирки прилить по 5 мл. раствора крахмала, а в третью раствора сахарозы. Поставить все три пробирки в водяную баню ($39 - 41^\circ\text{C}$) на 15 минут затем достать, охладить до комнатной температуры, добавить в первые две пробирки по одной капле раствора йода. В тех пробирках, где нет синего (сине – фиолетового) окрашивания и с раствором третьей пробирки проделать реакцию Троммера.

В четвертую и пятую пробирки налить 5 капель раствора крахмала и добавить 3 капли воды: в четвертую- добавить раствор йода в KI , в пятую – 2 капли раствора CuSO_4 и 2 - 3 капли раствора NaOH (нагреть).

Полученные результаты занести в таблицу.

№ п/ п	Субстрат	Ферменты	Дополните- льный фактор	Результаты опыта		Выводы
				реакция с йодом	реакция Троммера	
1	крахмал	амилаза	кипячение			
2	крахмал	амилаза				
3	сахароза	амилаза				
4	крахмал	вода				
5	крахмал	вода				

Опыт 9.2 Открытие каталазы

Каталаза – фермент, который разлагает пероксид водорода. Относится к классу оксидоредуктаз. Каталаза является сложным ферментом, состоящим из белкового комплекса и группы, содержащей железо.

Каталаза расщепляет перекись водорода на молекулярный кислород и воду

$$2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$$

В пробирку поместить 10 капель H_2O_2 и кусочек сырого картофеля. В другую пробирку - 10 капель H_2O_2 и кусочек вареного картофеля.

Отметить происходящие изменения.

Контрольные вопросы

1. Что такое ферменты?
2. Какова природа ферментов?
3. Приведите примеры ферментов протеинов.
4. Приведите примеры ферментов протеидов.
5. Что такое кофермент? Приведите примеры.
6. Что такое кофактор? Приведите примеры.
7. В чем различие между простетической группой и коферментом?
8. Какие факторы влияют на ферментативную активность?
9. Что такое специфичность фермента? Назовите виды специфичности.
10. Что такое субстратная специфичность фермента?
11. Что такое каталитическая специфичность фермента?
12. Приведите примеры субстратной специфичности.
13. Приведите примеры групповой (относительной) специфичности.
14. Приведите примеры стереоспецифичности.
15. Что такое активный центр фермента?
16. Какую модель взаимодействия фермента и субстрата предложил Фишер?
17. Какова последовательность событий в ходе ферментативного катализа?
18. Что понимают под активностью фермента?
19. Что такое ингибиторы?

20. Назовите типы ингибирования.
21. Каков механизм специфического необратимого ингибирования? Приведите примеры.
22. Каков механизм неспецифического необратимого ингибирования? Приведите примеры.
23. Что такое конкурентное ингибирование? Приведите примеры.
24. Что такое аллостерический центр?
25. Что такое активаторы? Как ионы металлов активируют фермент?
26. Какова роль ионов металлов в катализе?
27. Какими способами регулируется активность ферментов?
28. На чем основана классификация ферментов?
29. Как используются ферменты в медицине, сельском хозяйстве и научных исследованиях? Приведите примеры.

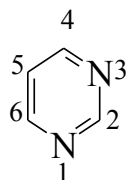
Тема № 5. Гетероциклические соединения

Циклические соединения, у которых циклы образованы не только углеродными атомами, но и атомами других элементов – гетероатомами (O, S, N), - называются гетероциклическими. Гетероциклические соединения делят по размерам цикла и числу гетероатомов в цикле.

Среди этих соединений наибольшее значение имеют пяти- и шестичленные гетероциклические соединения. Типичные гетероциклические соединения обладают ароматическим характером. Однако, наличие гетероатома сказывается на распределении электронной плотности. Например, в пятичленных гетероциклах (в фуране, тиофене, пирроле) электронная плотность смещена от гетероатома в сторону кольца и максимальна в α -положениях. Поэтому в α -положениях наиболее легко идет реакция электрофильного замещения (S_E).

В шестичленных циклах (например, пиридине) гетероатом, связанный с углеродом двойной связью, оттягивает на себя π -электронную плотность цикла, поэтому электронная плотность в молекуле пиридина понижена в α и γ -положениях. Это согласуется с предпочтительной ориентацией в эти положения реагентов при нуклеофильном замещении (S_N). Так как в пиридине электронная плотность больше в β -положении, то электрофильный реагент ориентируется в β -положение.

При изучении гетероциклов с двумя гетероатомами особо обратить внимание на пиримидин и его производные: урацил, тимин, цитозин. Пиримидиновое ядро встречается в многочисленных природных продуктах: витаминах, коферментах и нуклеиновых кислотах:



пиримидин

Электрофильное замещение для пиримидина проходит в положении 5; нуклеофильное (как и для пиридина) затруднено и атаке подвергается атом углерода в положениях 4 и 6.

Сложная гетероциклическая система, состоящая из двух конденсированных гетероциклов – пиримидина и имидазола называется ядром пурина.

Пуриновая группировка лежит в основе многих соединений, прежде всего нуклеиновых кислот, в которые она входит в виде пуриновых оснований: аденина (6-аминопурин) и гуанина (2-амино-6-оксипурин).

Интерес представляет кислородное производное пурина - мочевиная кислота (2,6,8 – триоксипурин).

Лабораторная работа № 10

Исследование свойств гетероциклических соединений

Цель работы: изучение химических свойств гетероциклических соединений

Реактивы и оборудование:

- 1) антипирин;
- 2) 0,1н раствор хлорида железа (III);
- 3) амидопирин,
- 4) 2н раствор серной кислоты;
- 5) 0,5н раствор NaNO_2 ;
- 6) пиридин;
- 7) 2н раствор гидроксида натрия;
- 8) мочева кислота;
- 9) 2н раствор соляной кислоты;
- 10) насыщенный раствор NH_4Cl ;
- 11) пикриновая кислота ;
- 12) лакмусовая бумага;
- 13) бромтимоловый синий;
- 14) микроскоп;
- 15) пробирки.

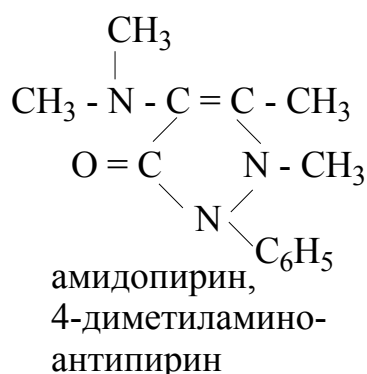
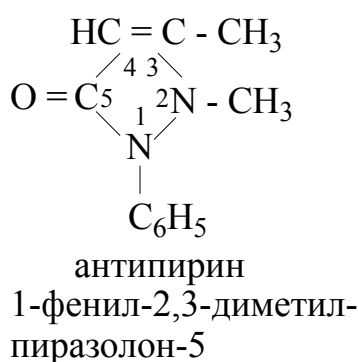
**Опыт 10.1. Реакции антипирина и амидопирина (пирамидона)
с хлоридом железа (III)**

Поместить в пробирку несколько кристаллов антипирина, прибавить две капли воды и каплю 0,1н раствора FeCl_3 . Немедленно появляется интенсивное и стойкое оранжево-красное окрашивание, не исчезающее при стоянии. Для сравнения в другую пробирку поместить несколько кристаллов амидопирина (пирамидона). Добавить две капли воды и одну каплю 0,1н раствора FeCl_3 . Появляется фиолетовое окрашивание, быстро исчезающее. Добавить еще сразу

три капли хлорида железа (III). Окраска вновь появится, держится несколько дольше, но постепенно бледнеет. Окрашивание антипирина от хлорида железа (III) обусловлено образованием комплексного соединения – ферропирина.

Амидопирин – производное антипирина. Подвижный атом водорода в положении 4 замещен в данном случае диметиламиногруппой.

Появление окраски обусловлено окислением амидопирина хлоридом железа (III). Поэтому окраска получается нестойкая, а избыток хлорида железа (III) вредит реакции.

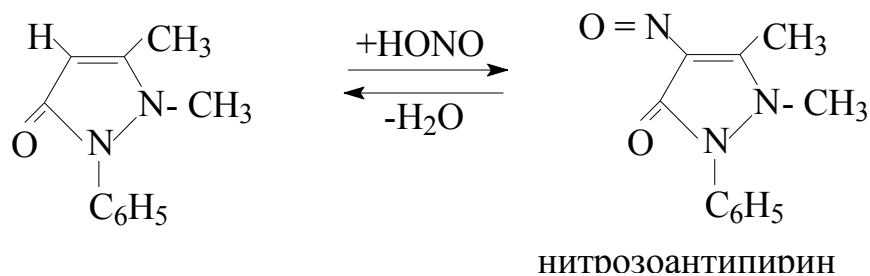


Приведенными реакциями пользуются в фармацевтической практике для распознавания антипирина и амидопирина и отличия их друг от друга. Ввиду этого, указанные реакции следует делать для сравнения параллельно в двух пробирках.

Опыт 10.2. Реакции антипирина и амидопирина с азотистой кислотой

Поместить в пробирку несколько кристаллов антипирина, добавить две капли воды, одну каплю 2н. H_2SO_4 и одну каплю 0.5н. NaNO_2 . Появится изумрудно-зеленое окрашивание, постепенно исчезающее, особенно быстро при относительном избытке нитрита натрия. Для сравнения в другую пробирку поместить несколько кристаллов амидопирина, добавить две капли воды, одну каплю 2н. H_2SO_4 и одну каплю 0.5н. NaNO_2 . Появляется очень нестойкое фиолетовое окрашивание. Если окрашивание исчезает слишком быстро,

добавить еще немного амидопирина. Реакция с антипирином протекает по уравнению:



С амидопирином образуются окрашенные продукты окисления. Подобно приведенным выше реакциям с хлоридом железа (III) обе реакции применяются в фармацевтической практике для распознавания антипирина и амидопирина и отличия их друг от друга. Поэтому их следует делать параллельно в двух пробирках.

Опыт 10.3. Осаждение гидроксида железа (III) водным раствором пиридина

Поместить в пробирку две капли водного раствора пиридина и добавить каплю 0,1н FeCl₃. Немедленно выпадают бурые хлопья гидроксида железа Fe(OH)₃ с образованием легко растворимой в воде хлористоводородной соли пиридина (гидрохлорида пиридина).

Образование гидроксида железа (III) подтверждает основные свойства пиридина.

Написать схему образования хлоргидрата пиридина (пиридиный хлорида) при взаимодействии гидрата окиси пиридина с хлоридом железа (III).

Опыт 10.4. Образование пикрина пиридина

С помощью пипетки поместить одну каплю водного раствора пиридина в пробирку и добавить три капли насыщенного водного раствора пикриновой кислоты. При встряхивании постепенно выделяются хорошо выраженные

игельчатые кристаллы пикрата пиридина. В избытке пиридина кристаллы растворяются.

Поместить часть кристаллов на предметное стекло, рассмотреть их под микроскопом и зарисовать форму кристаллов полученного препарата в рабочем журнале.

Образование относительно трудно растворимого пикрата пиридина также подтверждает основной характер пиридина. Реакцией этой пользуются для идентификации пиридина (пикрат пиридина плавится при 167°C).

Написать схему образования пикрата пиридина.

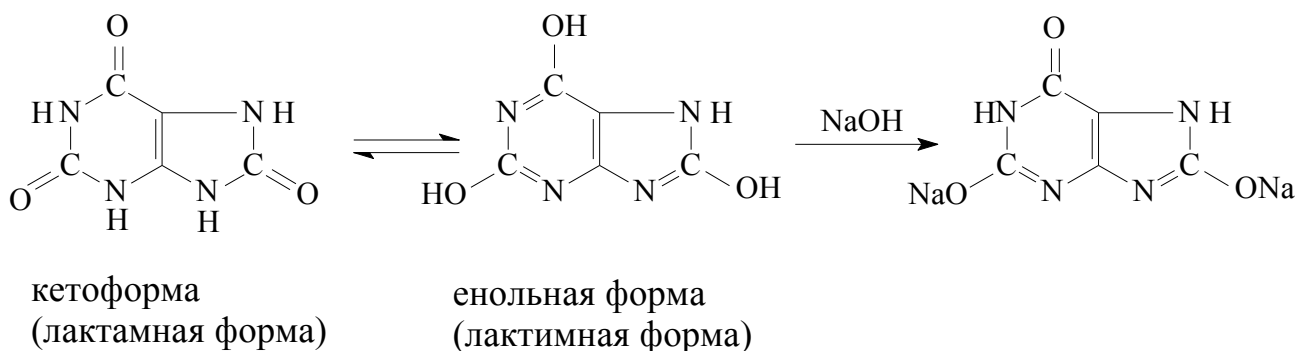
Опыт 10.5. Растворимость мочевой кислоты и ее средней натриевой соли в воде

Поместить в пробирку небольшое количество (на кончике лопаточки) мочевой кислоты. Прибавить по каплям воду, каждый раз встряхивая пробирку.

Обратить внимание на плохую растворимость мочевой кислоты в воде. В холодной воде мочевая кислота почти нерастворима: 1 часть ее растворяется в 39000 частях воды.

После добавления 8 капель воды растворения все еще не заметно. Стоит, однако, добавить всего 1 каплю 2н раствора NaOH, как мутный раствор моментально просветляется, вследствие образования относительно легко растворимой средней двузамещенной соли натрия. Полученный раствор сохранить для последующих опытов.

Мочевая кислота существует в виде двух таутомерных форм:



От лактимной-енольной формы и образуются со щелочью так называемые соли мочевой кислоты, или ураты. Фактически это не соли, а еноляты.

Очень слабо выраженный кислотный характер мочевой кислоты обуславливает то, что из трех атомов водорода теоретически возможной енольной формы могут замещаться на натрий только два. Трехзамещенные соли мочевой кислоты неизвестны.

Опыт 10.6. Образование труднорастворимого урата аммония

К четырем каплям прозрачного раствора средней двузамещенной натриевой соли мочевой кислоты (опыт 8.5) добавить две капли насыщенного раствора хлорида аммония. Немедленно выпадает белый осадок мочекислового аммония. Сохранить этот осадок для последующего опыта выделения свободной мочевой кислоты (опыт 8.7).

Написать схему реакции, учитывая, что оба иона натрия замещаются в урате натрия на ионы аммония.

Опыт 10.7. Разложение уратов под влиянием минеральной кислоты (выделение кристаллической мочевой кислоты)

С помощью пипетки нанести на предметное стекло одну каплю мутного раствора, содержащего мочекислый аммоний (опыт 10.6). Добавить в центр

капли одну каплю 2н раствора HCl. Наблюдается частичное растворение осадка.

При рассматривании под микроскопом видны желтоватые глыбки еще не разложившегося урата аммония и вновь образовавшиеся характерные кристаллы мочевой кислоты в виде удлиненных призм, напоминающих точильные бруски. Зарисовать в рабочем журнале форму кристаллов полученного препарата.

Отложение кристаллов мочевой кислоты в организме (мочевые камни, подагрические узлы и т.п.) происходит под влиянием изменения реакции среды в сторону увеличения кислотности.

Написать схему выделения мочевой кислоты из ее соли.

Лабораторная работа № 11.

Выделение никотина и исследование его свойств

Содержания в листьях табака никотина в виде соли с лимонной кислотой достигает 8%. Никотин применяют в сельском хозяйстве как инсектицид, в ветеринарии – при лечении чесотки. В медицине никотин из-за высокой токсичности (отравление при курении может наступить от 1-4 мг никотина) не используют, но он имеет практическое значение как исходное вещество для получения никотиновой кислоты и ее производных (витамина PP).

Цель работы: выделение и изучение химических свойств никотина

Реактивы и оборудование:

- 1) табак;
- 2) гашеная известь Ca(OH)_2 ;
- 3) 1% - спиртовой раствор фенолфталеин;
- 4) колба Вюрца; прибор для отгонки;
- 5) колбонагреватель;
- 6) мерный цилиндр на 50мл;

7) пробирки.

Опыт 11.1. Получение раствора никотина из табака

В фарфоровой ступке тщательно разотрите 5 г табака или махорки с 1 г гашеной извести и 2 мл воды. Полученную кашицу перенесите в колбу Вюрца, добавьте 35-40 мл воды и отгоните 15-20 мл жидкости. Отметьте характерный запах отгона (запах никотина). Полученный отгон используйте для проведения опытов.

Опыт 11.1. Основные свойства никотина

В пробирку к 2-3 каплям раствора никотина, полученного в предыдущем опыте, добавьте 1 каплю 1%-го спиртового раствора фенолфталеина. Происходит изменения окраски индикатора.

Вопросы для контроля

1. Какие соединения называются гетероциклическими?
2. Классификация гетероциклических соединений?
3. В чем выражается ароматичность гетероциклических соединений?
4. Напишите формулы гетероциклов, входящих в состав аминокислот.
5. Биологическая роль пурина и пиримидина.

Упражнения по теме «Гетероциклические соединения»

1. Напишите схему превращений пятичленных гетероциклов по Юрьеву.
2. Объясните кислотные свойства пиррола. Напишите схему получения α -метиллпиррола из пиррола.
3. Напишите схему получения оксима фурфурола.
4. Напишите структурную формулу порфина.
5. Напишите формулы оснований – производных пурина, входящих в состав нуклеиновых кислот.

6. Напишите схему получения α -аминопиридина (реакция Чичибабина). К какому типу реакций замещения относится данная реакция?
7. Напишите схему получения β -пиридинкарбоновой кислоты (витамин PP).
8. Напишите формулы оснований – производных пиримидина, входящих в состав нуклеиновых кислот.
9. Приведите схему метаболизма триптофана в живом организме.
10. Напишите для пиридина уравнения следующих реакций с введением одной замещающей группы:
- а) бромирования; б) хлорирования; в) нитрования;
г) сульфирования.
- Назовите образующиеся соединения.
11. Предложите схему синтеза противомикробного лекарственного средства фурацилина, исходя из фурфурола и используя другие необходимые реагенты.
12. Предложите пути получения 2-амино и 3-аминопиридинов, исходя из пиридина. Какое из этих аминопроизводных синтезируется по реакции Чичибабина?
13. Диэтиламид никотиновой кислоты (кордиамин) применяется в кардиологической практике. Предложите путь синтеза кордиамина, исходя из β -пиколина и используя необходимые реагенты.

Тема №6 Низкомолекулярные биорегуляторы

Алкалоиды

Название алкалоид происходит от арабского слова *al kali* –щелочь и греческого *eidos* – подобный. Под алкалоидами подразумевают содержащиеся в растениях сильнодействующие вещества основного характера. Во всех алкалоидах имеются азотосодержащие гетероциклы, которые и обуславливают их основной характер.

Лабораторная работа № 12.

Выделение кофеина из чая

Содержание кофеина в листьях чая достигает 3%, в зернах кофе — 1,5%. Кофеин возгоняется без разложения при температуре 180 °С.

Цель работы: выделить и изучить некоторые химические свойства гетероциклического соединения – кофеина.

Реактивы и оборудование:

- 1) черный или зеленый чай;
- 2) порошок оксида магния;
- 3) тигель;
- 4) фарфоровая чашка;
- 5) предметное стекло;
- 6) концентрированный раствор HNO_3 ;
- 7) концентрированный раствор аммиака;

Опыт 12.1. Возгонка кофеина.

В фарфоровый или металлический тигель помещают 1 чайную ложку измельченного в ступке черного чая и 2 г оксида магния. Смешивают оба вещества и ставят тигель на плитку. Нагрев должен быть умеренным. Сверху на тигель ставят фарфоровую чашку с холодной водой. В присутствии оксида магния кофеин возгоняется. Попадая на холодную поверхность, кофеин оседает на дне чашки в виде бесцветных кристаллов. Нагрев прекращают, осторожно снимают чашку с тигля и соскребают кристаллы в чистую склянку.

Опыт 12.2 Качественная реакция на кофеин.

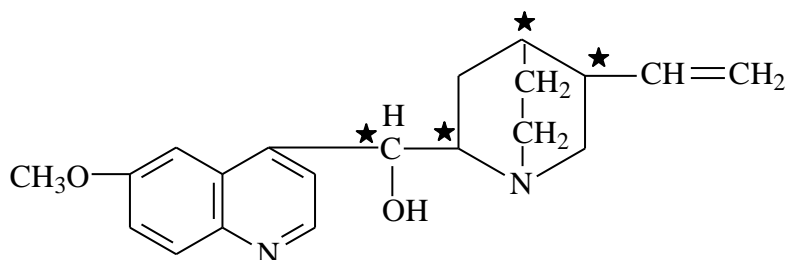
Несколько кристаллов кофеина помещают на предметное стекло и добавляют одну каплю концентрированной азотной кислоты. Нагревают пластинку до тех пор, пока смесь на ней не высохнет. Кофеин при этом окис-

ляется и превращается в амалиновую кислоту, оранжевого цвета. Добавьте к ней десять капель концентрированного аммиака, образуется соль красного, переходящего в пурпурный, цвета. Эта соль носит название мурексида, а реакция — мурексидной.

Напишите уравнение реакции.

Лабораторная работа №13. Химические свойства хинина

Хинин содержит ядро хинолина (бензопиридина) и ядро хинуклидина, метоксигруппу, вторичную спиртовую и винильную группу, 4 асимметрических углеродных атома. Он дает соли с 2 эквивалентами кислот, образует сложные эфиры по спиртовой группе (эфиры не имеют горького вкуса) и является непределельным соединением.



Цель работы: изучить некоторые химические свойства алкалоидов (хинина).

Реактивы и оборудование:

- 1) 1%-ного водного раствора солянокислого хинина;
- 2) раствора иода в иодиде калия;
- 3) 0,5% - ного раствора танина;
- 4) насыщенного раствора пикриновой кислоты;
- 5) хлороформ;
- 6) 2н. раствор H₂SO₄;
- 7) раствор бромной воды;
- 8) 2 н. раствора NH₄OH.

Опыт 13.1 Общие реакции на алкалоиды

Поместите в пробирку 1 каплю 1%-ного водного раствора солянокислого хинина (*Chininum hydrochloricum*) (В 1 л раствора содержится 10 г хинина). Добавьте 5 капель воды. С помощью пипетки нанесите на предметное стекло 3 капли полученного раствора хинина, расположив их на некотором расстоянии друг от друга. Раствор из пробирки сохраните для последующих опытов.

К первой капле добавьте сбоку 1 каплю раствора иода в иодиде калия, ко второй - 1 каплю 0,5% - ного раствора танина (5%-ный водный раствор. В 1 л содержится 50 г танина) и к третьей - 1 каплю насыщенного раствора пикриновой кислоты (растворяют около 12 г пикриновой кислоты в 1 л воды при подогревании). Во всех случаях в месте соприкосновения с реактивом образуются осадки. Обратите внимание на характер осадков и на то, где они более заметны.

Опыт 13.2 Отношение к растворителям солей алкалоидов и их свободных оснований

К оставшемуся в пробирке (см. опыт 13.1) раствору хлористоводородной соли хинина добавьте 1 каплю 2 н. NaOH. Немедленно выделяется белый осадок свободного основания хинина, который нерастворим в воде.

Добавьте в пробирку 8 капель хлороформа и энергично взболтайте. Дайте отстояться получившейся эмульсии хлороформа, на что потребуется около 10 мин. С помощью пипетки возьмите 1 каплю водного раствора, находящегося над слоем хлороформа, и нанесите ее на предметное стекло. Добавьте к ней 1 каплю насыщенного раствора пикриновой кислоты и убедитесь, что в подщелоченном водном растворе хинин отсутствует (осадок не образуется).

Добавьте в пробирку 2 капли 2 н. H_2SO_4 и вновь энергично встряхните.

Как реагирует хинин-основание с H_2SO_4 ? Напишите схему реакции.

Дав смеси отстояться, вновь возьмите пипеткой 1 каплю водного раствора, находящегося над хлороформом, и поместите ее на предметное

стекло. Добавьте к ней 1 каплю насыщенного раствора пикриновой кислоты и убедитесь, что в подкисленном водном растворе вновь появился хинин, образовавший сернокислую соль, которая нерастворима в хлороформе, но хорошо растворима в воде. Сохраните раствор сернокислого хинина для следующего опыта.

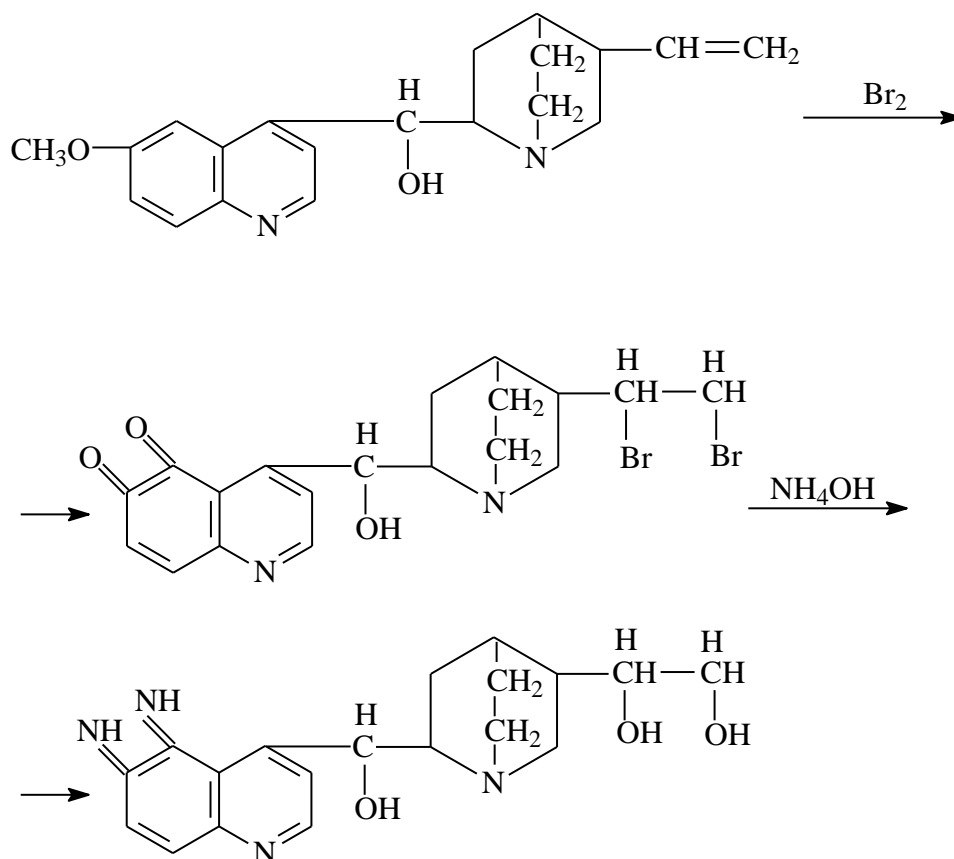
Опыт 13.3 Флуоресценция разбавленных растворов сернокислого хинина

К отстоявшемуся в пробирке раствору сернокислого хинина (см. опыт 13.2) добавьте дистиллированную воду почти доверху и взболтайте. Обратите внимание на слабую, но все же ясно выраженную синюю флуоресценцию разбавленного раствора сернокислого хинина.

Наблюдать флуоресценцию лучше всего в толстом слое жидкости сверху при освещении пробирки сбоку из окна солнечным светом, но не очень ярким. При ярком солнечном свете, а также при электрическом освещении слабая флуоресценция сернокислого хинина плохо различима. При подкислении соляной кислотой, а также при подщелачивании раствора флуоресценция немедленно пропадает. Флуоресценция проявляется очень сильно при применении кварцевой (ртутной) лампы, свет которой богат ультрафиолетовыми лучами.

Опыт 13.4 Реакция хинина с бромной водой и аммиаком (галейохинная проба)

Поместите в пробирку 1 каплю 1%-ного раствора солянокислого хинина. Добавьте 5 капель воды и 2 капли насыщенного раствора бромной воды, а затем 1 каплю 2 н. NH_4OH . Раствор постепенно принимает характерную изумрудно-зеленую окраску. Схема реакции:



Приведенные реакции на хинин являются примером частных реакций на алкалоиды. Частные реакции проводят после того, как с помощью общих реакций установлено наличие какого-то алкалоида.

Вопросы для контроля

1. Понятие об алкалоидах. Кофеин. Никотин. Анабазин.
2. Наличие каких реакционных центров в молекулах алкалоидов обуславливает протекание общих реакций осаждения?

Упражнения по теме «Алкалоиды»

1. Написать схемы последовательно протекающих реакций при добавлении к раствору гидрохлорида хинина бромной воды, а затем раствора гидроксида аммония.
2. Напишите схему реакции конденсации α -пиколина с уксусным альдегидом с последующим восстановлением продукта конденсации.

- Будет ли обладать оптической активностью конин, полученный описанным способом?
3. Напишите схему реакции образования пикрата никотина
 4. Напишите схему реакции хинина с пикриновой кислотой.
 5. Продуктами реакции гидролиза основного метаболита кокаина является эггонин и бензойная кислота. Какое строение имеет метаболит? Напишите схемы реакций гидролиза в кислой и щелочной средах.
 6. Напишите схему реакции морфина с диазотированной сульфаниловой кислотой. В какой среде необходимо проводить эту реакцию.
 7. Какие гетероциклические системы входят в состав хинина? Напишите структурную формулу хинина.

Терпены

Терпеноиды – соединения природного происхождения, углеродный скелет которых построен из остатков изопрена. Терпеноиды включают соединения различных классов. Наиболее распространены среди терпеноидов углеводороды и кислородсодержащие соединения.

Углеводороды, построенные из изопреновых звеньев, называют терпенами. *Терпены* – углеводороды природного происхождения состава $(C_5H_8)_n, n \geq 2$, в строении которых можно выделить повторяющиеся звенья углеродной цепи изопрена. Число звеньев изопрена в молекуле определяет тип изопрена.

Источником терпенов и терпеноидов является растительное сырьё, для их получения используют метод экстракции.

Скипидар — жидкая смесь терпенов и терпеноидов, получаемых из смол хвойных деревьев.

Состав скипидара:

α - пинен	60-70 %
------------------	---------

β-пинен	6-8%
карен -3	12-20%
лимонен	3-4%
камфен	2% и др. компоненты

Лабораторная работа № 14. Выделение и свойства терпенов

Цель работы: изучить некоторые химические свойства терпенов.

Реактивы и оборудование:

- 1) скипидар или эфирное масло из хвои сосны;
- 2) кожура цитрусовых или хвоя;
- 3) морковь;
- 4) тетрахлорметан;
- 5) бромная вода;
- 6) 2%-го раствора перманганата калия;
- 7) 5%-ный раствор брома в тетрахлорэтаноле;
- 8) пробирки;
- 9) газоотводная трубка.

Опыт 14.1. Доказательство ненасыщенности α-пинена.

А) Проба с бромной водой. В пробирку пометите 2 капли бромной воды и 1 каплю скипидара, встряхните. Если водный слой обесцвечивается, то проба положительная.

Б) Проба с перманганатом калия в нейтральной среде. В пробирку поместите 1 каплю 2%-го раствора перманганата калия, 5 капель воды, добавьте 1 каплю скипидара и встряхните. Если водный слой обесцвечивается, проба положительная.

Опыт 14.2. Перегонка с водяным паром терпенов из кожуры плодов цитрусовых.

Измельчите кусочек лимонной или апельсиновой корки размером 1 см² и пометите в первую пробирку с 3 мл воды. Пробирку снабдите газоотводной трубкой, конец которой опустите во вторую пробирку, помещенную в стакан с холодной водой. Жидкость в первой пробирке осторожно кипятите, пока во второй пробирке соберется 1-2 мл бесцветной жидкости (конденсата); отметьте его характерный запах.

Конденсат разделите на две части и проделайте пробы на ненасыщенность (см. опыт 14.1.).

Опыт № 14.3. Экстракция каротиноидов из моркови

Кусочек моркови измельчите и поместите в пробирку с 10 каплями тетрахлорметана. Для ускорения экстракции пробирку энергично встряхните в течение 20-30 секунд. Отметьте изменение окраски экстрагента.

Полученный экстракт слейте в другую пробирку. И добавьте в нее 1 каплю 5%-ного раствора брома в тетрахлорэтаноле. Через несколько секунд окраска брома исчезнет.

Вопросы для контроля

1. Что такое терпены? Терпеноиды? Их состав и классификация.
2. Приведите примеры ациклические, моноциклических и бициклических терпенов и терпеноидов.
3. Приведите основной состав живицы, скипидара, канифоли.
4. Физические свойства монотерпенов (на примере скипидара).
5. Опишите состав и свойства смоляных кислот.

Упражнения по теме «Терпены»

1. Почему для терпенов характерны реакции присоединения?
2. Как относятся терпены к окислению?

3. Абиетиновая кислота является одним из основных компонентов канифоли. Выделите в структуре абиетиновой кислоты изопреновые звенья.
4. α - и β -пинены при взаимодействии с 2 моль хлороводорода могут образовать один и тот же продукт – 1,8-дихлоро-п-ментан. Напишите возможные схемы реакций и объясните их результат.
5. Напишите возможную схему реакции лимонена (одного из компонентов эфирного масла лимона) с бромом.

Список рекомендуемой литературы

Наименование литературы	Наличие в библиотеке БГАУ, шт.
а) основной:	
1. Тюкавкина Н.А., Бауков Ю.И. Биоорганическая химия. М.: Дрофа, 2011. – 542с.	150
2. Тюкавкина Н.А., Артемьева Н.А. Руководство к лабораторным занятиям по биоорганической химии. М.: Дрофа, 2009.-320с.	150
3. Тюкавкина Н.А. Руководство к практическим занятиям по биоорганической химии. М.: Дрофа, 2010.-168с.	100
б) дополнительной:	
1. Тюкавкина Н.А., Овчинников Ю.А. Биоорганической химия. М.: Дрофа, 2010.-320с.	3
2. Тюкавкина Н.А. Биоорганическая химия: руководство к практическим занятиям. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.-168с.	5
3. Грандберг И.И. Органическая химия. – М.: Высшая школа, 2008. – 672с.	650
4. www.chemistry-chemists.com	
5. him.Iseptember.ru	
6. www.alhimik.ru	
7. www.himik.ru	

Подписано в печать 15.03.18

Издательство Современного технического университета
390048, г. Рязань, ул. Новоселов, 35А.
(4912) 300630, 30 08 30