

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Красноярский государственный аграрный университет

**Методы выделения и очистки соединений
и пищевых продуктов**

Лабораторный практикум

Красноярск 2010

Рецензент

Г.Г. Первышина, д-р биол. наук, проф. каф. эколого-химической экспертизы товаров ГОУ ВПО КГТЭИ, доцент

Составители:

Стутко О.В.

Черкашина В.С.

Чихачев В.А.

Стутко, О.В.

Методы выделения и очистки соединений и пищевых продуктов: лаборатор. практикум / О.В. Стутко, В.С. Черкашина, В.А. Чихачев; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2010. – 76 с.

Содержит лабораторные работы по методам очистки органических соединений, кристаллизации, возгонке, перегонке, экстракции. Приведены методы идентификации соединений, методики выделения из пищевого сырья липидов, углеводов, белков и способы их очистки, методики идентификации этих соединений в составе пищевых продуктов.

Предназначено для студентов Института агробизнеса пищевой и перерабатывающей промышленности.

Печатается по решению редакционно-издательского совета
Красноярского государственного аграрного университета

ВВЕДЕНИЕ

В результате изучения курса «Методы выделения и очистки соединений и пищевых продуктов» студент должен знать:

- основные особенности химического состава пищевых продуктов;
- состав, свойства и превращения важнейших компонентов пищи (белков, липидов, углеводов, витаминов и минеральных веществ);
- возможные механизмы химических процессов, протекающих при обработке продуктов или при их хранении;
- влияние различных физико-химических параметров на оптимизацию технологического процесса.

Студент должен уметь:

- применять химические методы для оценки пищевого сырья;
- осуществлять постановку и проведение эксперимента;
- анализировать и обрабатывать первичный экспериментальный материал;
- оценивать достоверность полученных данных, формулировать выводы.

Специалист, прослушавший курс органической химии, должен иметь представление об основных классах органических соединений, знать способы их получения, характерные реакции, иметь представления о путях превращения одних органических веществ в другие, правильно называть и уметь по названию представить строение органических соединений.

ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В ХИМИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ И ОКАЗАНИЕ ПЕРВОЙ ПОМОЩИ

Общие правила. Работа в химической лаборатории связана с некоторой опасностью, поскольку многие вещества в той или иной степени ядовиты, огнеопасны и взрывоопасны. Опыт показывает, что большинство несчастных случаев, происходящих в лаборатории, является следствием небрежности и невнимательности работающих.

Возможность несчастных случаев может быть исключена при соблюдении всех мер предосторожности. Обычно характер предупредительных мер, обеспечивающих безопасность выполнения эксперимента, зависит от вида работы. Однако существуют общие правила, выполнение которых обязательно для каждого работающего в лаборатории независимо от того, какой эксперимент он выполняет.

1. Работать одному в лаборатории категорически запрещается, так как в случае несчастного случая будет некому оказать помощь пострадавшему и ликвидировать последствия аварии.

2. Во время работы в лаборатории необходимо соблюдать чистоту, тишину, порядок и правила техники безопасности, так как поспешность, неряшливость часто приводят к несчастным случаям с тяжелыми последствиями.

3. Каждый работающий должен знать, где находятся в лаборатории средства противопожарной защиты и аптечка, содержащая все необходимое для оказания первой помощи.

4. Категорически запрещается в лаборатории курить, принимать пищу, пить воду.

5. Нельзя приступать к работе пока учащиеся не усвоят всей техники безопасности.

6. Опыты нужно проводить только в чистой посуде. После окончания эксперимента посуду следует мыть сразу же.

7. В процессе работы необходимо соблюдать чистоту, аккуратность, следить, чтобы вещества не попадали на кожу лица и рук, так как многие вещества (галогенопроизводные, фенолы, нитросоединения, непредельные соединения и др.) вызывают раздражение кожи и слизистых оболочек.

8. Никаких веществ в лаборатории не пробовать на вкус. нюхать вещества можно, лишь осторожно направляя на себя пары или газы легким движением руки, а не наклоняясь к сосуду и не вдыхая полной грудью.

9. На всех банках, склянках и другой посуде, где хранятся реактивы, должны быть этикетки с указанием названия веществ.

10. Склянки с веществами или растворами необходимо брать одной рукой за горлышко, а другой поддерживать за дно.

11. Категорически запрещается затыгивать ртом в пипетки органические вещества и их растворы.

12. Во время нагревания жидких и твердых веществ в пробирках и колбах нельзя направлять их отверстия на себя и соседей. Нельзя также заглядывать сверху в открытые нагреваемые сосуды во избежание возможного поражения при выбросе горячей массы.

13. После окончания работы необходимо выключить газ, воду, электроэнергию.

14. Категорически запрещается выливать в раковины концентрированные растворы кислот и щелочей, а также различные органические растворители, сильно пахнущие и огнеопасные вещества. Все эти отходы нужно сливать в специальные бутылки.

15. В каждой лаборатории обязательно должны быть защитные маски, очки, противогазы, респираторы.

16. В каждом помещении необходимо иметь средства противопожарной защиты: ящик с просеянным песком и совком к нему, противопожарное одеяло (асбестовое или толстое войлочное), заряженные огнетушители (желательно с сжиженным углекислым газом).

17. На доступном месте в лаборатории должны находиться медикаменты для оказания первой помощи: растворы танина (в спирте), перманганата калия, борной кислоты, гидрокарбоната натрия, иодная настойка, вата, бинты, пластырь, мази от ожогов.

Правила работы с кислотами и щелочами.

1. Все работы с кислотами и щелочами необходимо проводить в защитных очках или масках. Попадание кислот и щелочей на кожу и в глаза может привести к тяжелейшим поражениям.

2. Кислоты и щелочи нельзя затыгивать ртом в сифоны и пипетки.

3. Разбавлять серную кислоту можно, только добавляя ее к воде в жаростойкой посуде, а не наоборот. При этом глаза должны быть защищены очками.

4. Растворение гидроксидов натрия или калия проводить только в защитных очках, прибавляя к воде небольшие порции щелочи. Куски щелочи можно брать только щипцами, а не руками.

5. Запрещается применять серную кислоту в вакуум-эксикаторах в качестве водопоглощающего средства, так как в случае

взрыва эксикатора вылившаяся из него кислота может попасть на работающего и вызвать сильный ожог.

6. Работу с плавиковой кислотой проводят в специальной посуде и с особой осторожностью в вытяжном шкафу. Обязательно следует надевать резиновые перчатки, защитные очки или маску.

Правила работы с особо опасными и токсичными веществами. При всех работах с особо опасными веществами обязательно надевать защитные очки или маску и снимать их только после завершения работы.

Работа с бромом.

1. Держать бром можно только в толстостенных склянках с притертыми пробками. Склянки с бромом должны стоять в вытяжном шкафу в металлических ящиках с песком.

2. Бром сильно действует на слизистые оболочки и при попадании на кожу дает трудно заживающие ожоги. Все работы с бромом проводить только в вытяжном шкафу с полуспущенными створками в резиновых перчатках, защитных очках или маске.

3. Переносить склянки с бромом можно лишь в банях или чашках с песком.

4. Кран капельной воронки, из которой приливают бром, должен быть смазан фосфорной кислотой и укреплен резиновым колечком. Перед работой следует кран воронки проверить на герметичность.

5. В капельную воронку не наливать сразу более 10 мл брома.

Работа с металлическим натрием.

1. При работе с металлическим натрием и калием необходимо соблюдать особую осторожность. Не допускать соприкосновения их с водой и с галогеносодержащими соединениями.

2. Все работы с натрием проводят только в защитных очках, вдали от открытых водопроводных кранов, водоструйных насосов и других источников воды.

3. Хранить металлический натрий можно в толстостенной стеклянной или жестяной таре под слоем обезвоженного керосина, высококипящего инертного углеводорода или трансформаторного масла. Банки с натрием должны быть закрыты корковой пробкой и помещены в металлическую баню или ящик с песком.

4. Вынимают металлический натрий для работы из банки только пинцетом или щипцами. Отрезают ножом необходимое количество натрия только на сухой белой (лучше фильтровальной) бумаге и сра-

зу же помещают в стакан под слой керосина, толуола, ксилола, сухого эфира.

5. С поверхности отрезанного кусочка натрия на фильтровальной бумаге счищают корку, затем его отжимают в фильтровальной бумаге от керосина и тотчас вводят в реакцию.

6. Обрезки щелочных металлов, а также все остатки после проведения эксперимента необходимо собрать в банку с керосином. Бумагу, на которой резали натрий, посуду, в которой был поставлен опыт, заливают техническим этиловым спиртом.

7. Категорически запрещается выбрасывать остатки натрия в раковины или мусорные ящики.

8. При нагревании реакционных сосудов, содержащих натрий, необходимо пользоваться только воздушными и песчаными банями.

9. Нельзя брать натрий для осушивания галоидных алкинов, карбонильных соединений, кислот, спиртов, нитросоединений.

10. Нельзя оставлять кусочки натрия в пустых колбах и склянках. Натрий, покрытый сверху белым налетом, легко можно спутать по внешнему виду с хлоридом кальция (Осторожно!).

Работа с токсичными веществами.

1. Особую осторожность следует соблюдать при работе с цианидами, диметилсульфатом, хлорангидами низших кислот, фосгеном, оксидом азота (IV) и др. Эксперименты с этими веществами необходимо проводить только в хорошо действующем вытяжном шкафу в перчатках.

2. При работе с фенолами, галогенонитросоединениями, непредельными карбонильными соединениями, непредельными кислотами, алифатическими галогенокислотами, гидразинами и др. нужно работать в перчатках, защитных очках, так как многие из этих веществ вызывают ожоги кожи и раздражение слизистых оболочек.

Правила работы с огнеопасными веществами.

1. Опыты с легковоспламеняющимися веществами (эфир, петролейный эфир, ацетон, сероуглерод, бензол и т.д.) проводят дальше от огня и включенных электроплиток. Нагревать легковоспламеняющиеся жидкости можно только на предварительно нагретой водяной бане, в колбе, снабженной водяным холодильником, вдали от нагревательных приборов.

2. Легковоспламеняющиеся вещества (эфир, петролейный эфир, ацетон, сероуглерод, бензол, спирт) можно отгонять в приборе с водяным холодильником на водяной бане или роторных испарителях. Нельзя упаривать горючие жидкости в открытых сосудах.

3. Приборы, в которых содержатся легковоспламеняющиеся вещества, следует разбирать после того, как будут выключены газовые горелки, находящиеся поблизости.

4. Нельзя выливать воспламеняющиеся вещества в канализацию, ведра и ящики для мусора во избежание пожара от случайно брошенной спички.

5. Нельзя проводить перегонку досуха, так как многие вещества (диэтиловый эфир, диоксан) образуют взрывоопасные пероксиды при соприкосновении с воздухом.

Первая помощь при ожогах и отравлениях.

1. При термических ожогах немедленно делают обильные примочки спиртовым раствором танина, этиловым спиртом или раствором перманганата калия.

2. При ожогах кислотами необходимо сразу же промыть пораженное место большим количеством воды, а затем 3%-м раствором гидрокарбоната натрия и опять водой.

3. При ожогах щелочами хорошо и обильно промыть пораженное место проточной водой, затем разбавленным раствором уксусной кислоты, а после этого опять большим количеством воды.

4. При попадании кислоты или щелочи в глаза следует сразу же их промыть. Для этого направляют небольшую струю воды то в один, то в другой глаз в течение 3–5 минут. Затем глаза необходимо промыть или раствором гидрокарбоната натрия (в случае попадания в глаза кислоты), или раствором борной кислоты (в случае попадания в глаза щелочи). После этого нужно немедленно обратиться к врачу.

5. При ожогах фенолом пораженное место обрабатывают глицерином до появления розовой окраски кожи.

6. При ожогах кожи бромом его быстро смывают спиртом или разбавленным раствором щелочи. После этого пораженное место смазывают специальной мазью от ожогов. При вдыхании паров брома нужно глубоко подышать над спиртом, а затем выпить молоко и выйти на свежий воздух.

7. Кожу, пораженную сильно действующим органическим веществом, нужно быстро промыть большим количеством растворителя; пострадавшего доставить в медпункт.

Тушение местного пожара и горящей одежды.

1. При возникновении пожара немедленно отключить газ и электроприборы по всей лаборатории. Быстро убрать все горючие вещества подальше от огня, а пламя тушить огнетушителем, песком

или используя противопожарное одеяло. Не следует заливать пламя водой, во многих случаях это приводит лишь к большему распространению пламени и расширению очага пожара.

2. Если на ком-либо загорелась одежда, нужно пострадавшего повалить на пол и быстро накрыть войлочным одеялом. Ни в коем случае нельзя бежать, так как в этом случае пламя только усилится. Можно потушить на себе одежду обливанием водой или быстрым перекатыванием по полу.

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ, ОЧИСТКИ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Для получения твердых и жидких веществ в чистом виде наиболее часто применяются следующие методы:

1. Кристаллизация.
2. Возгонка (сублимация).
3. Перегонка.
4. Экстракция.
5. Хроматография.

Лабораторная работа №1 КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ

Опыт №1

Перекристаллизация

Метод кристаллизации основан на различной растворимости выделяемого вещества и примесей. В качестве растворителей применяют воду, этиловый спирт, ацетон, бензин, эфир и др. Для процесса кристаллизации имеет большое значение правильный выбор растворителя. Полезно знать правило: подобное растворяется в подобном, например, вещества, содержащие гидроксильную группу, чаще всего растворимы в воде. Полярные молекулы веществ растворимы в полярных растворителях и не растворимы в неполярных; так, щавелевая кислота растворима в воде, но не растворима в бензоле. Растворитель выбирается таким образом, чтобы вещество хорошо растворялось при нагревании и было малорастворимо на холоде.

При проведении перекристаллизации исследуемое вещество растворяют при нагревании в возможно меньшем количестве подходящего растворителя, чтобы получить насыщенный при температуре кипения растворителем раствор. Полученный раствор охлаждают. При этом растворимость веществ снижается, и выпадают кристаллы чистого вещества, а растворимые примеси остаются в маточном растворе.

Методика охлаждения горячего раствора имеет большое значение. При быстром охлаждении получают мелкие кристаллы, которые имеют большую удельную поверхность, чем крупные, поэтому мелкие кристаллы в большей степени адсорбируют примеси из раствора. Для ускорения фильтрования применяют фильтрование под вакуумом.

Кристаллы, после освобождения от маточного раствора, высушивают. Наиболее удобными приборами для высушивания твердых веществ являются эксикаторы, представляющие толстостенные сосуды с пришлифованными крышками.

Высушивание веществ можно производить как при атмосферном давлении, так и в вакууме.

Вакуум-эксикаторы отличаются от обычных наличием в крышке крана, которым эксикатор присоединяется к насосу. В качестве «осушителя» в эксикаторах используются $CaCl_2$, P_2O_5 , концентрированная H_2SO_4 , силикагель или твердая щелочь.

Чтобы убедиться в чистоте вещества, определяют его температуру плавления. Чистое вещество имеет строго постоянную температуру плавления, а примеси понижают ее.

Сырье, реактивы и оборудование: щавелевая кислота, порошок; бензойная кислота, порошок; воронка со стеклянным вкладышем; бумажные фильтры; колба Бунзена; насос Комовского; пробирка; стаканчик или колба на 100 мл.

Ход работы

Этап 1

А. Перекристаллизация щавелевой кислоты

В пробирку помещают 2 г щавелевой кислоты и растворяют при нагревании в 5 мл воды. Если раствор прозрачен, делят его на две части и охлаждают с различной скоростью. Одну часть охлаждают быстро – погружением пробирки в холодную воду, другую часть оставляют медленно охлаждаться на воздухе в течение 15–20 мин (наблюдения записывают в рабочую тетрадь).

Выпавшие кристаллы щавелевой кислоты отфильтровывают с отсасыванием через маленький кружочек фильтровальной бумаги в воронке со стеклянным вкладышем, (воронке Бюхнера, соединенной с колбой Бунзена и насосом Комовского).

Б. Перекристаллизация бензойной кислоты

В стаканчик или колбу емкостью 75–100 мл помещают 1 г бензойной кислоты, 50 мл воды и нагревают смесь до начала кипения, при этом бензойная кислота полностью растворяется. Горячий раствор быстро отфильтровывают через маленький складчатый фильтр и делят на две части. Одну часть быстро охлаждают, погружая сосуд в холодную воду; при этом бензойная кислота образуется в виде мел-

ких кристалликов. Другую часть горячего раствора оставляют медленно охлаждаться на воздухе (20–25 мин); бензойная кислота выпадает в виде крупных пластинчатых кристаллов.

Этап 2

В воронку вкладывают кружок фильтровальной бумаги, смачивают его водой, включают насос; под давлением воздуха бумага плотно закрывает дырчатое дно воронки. Кристаллы щавелевой или бензойной кислоты вместе с маточным раствором переносят на фильтр и вновь включают насос. После полного удаления жидкости кристаллы от маточного раствора отмывают небольшим количеством воды, отсасывают, переносят на листок фильтровальной бумаги и отжимают досуха. Для полного высушивания помещают в эксикатор.

Опыт №2

Возгонка (сублимация)

Возгонкой называется превращение вещества при нагревании из твердого в парообразное, минуя жидкое состояние. При охлаждении пары переходят в кристаллы твердого вещества. Примеси при этом не сублимируются.

Методом сублимации можно очистить вещества, которые при нормальных условиях имеют высокую упругость пара, например, нафталин, бензойная кислота и др.

Сырье, реактивы и оборудование: ступка с пестом; фарфоровая чашка; лист фильтровальной бумаги; воронка; комочек ваты; горелка; прибор для определения температуры плавления.

Ход работы. Для очистки вещества возгонкой его растирают в порошок, помещают в фарфоровую чашку, которую закрывают листом фильтровальной бумаги (с наколотыми на ней отверстиями) и опрокинутой воронкой.

Отверстие воронки закрывают комочком ваты.

Чашку обогревают слабым пламенем горелки. Вещество возгоняется, его пары проходят через отверстия в фильтровальной бумаге. На холодных стенках воронки оседают кристаллы чистого вещества, его собирают на лист фильтровальной бумаги и определяют температуру плавления.

Опыт №3

Перегонка

Перегонкой называется процесс превращения жидкого вещества при нагревании в парообразное с последующей конденсацией паров. Основные виды перегонки следующие:

- 1) простая (см. прибор на рис. 1);
- 2) фракционная (дробная);
- 3) вакуум-перегон;
- 4) перегонка с водяным паром.

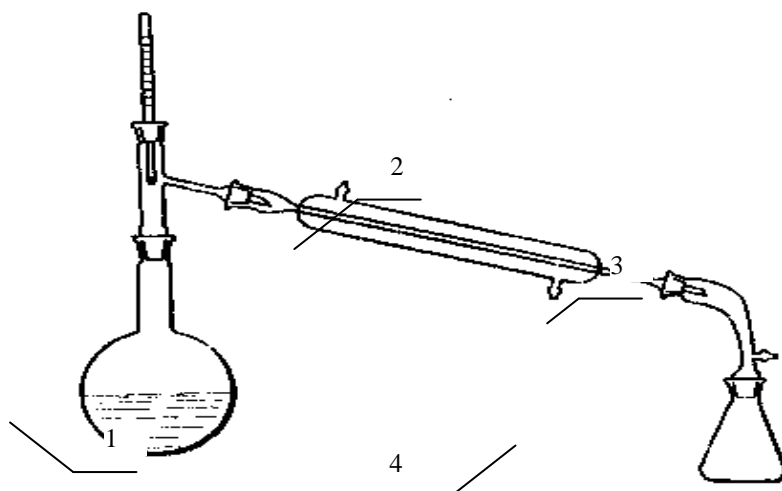


Рис. 1. Прибор для простой перегонки:
1 – колба Вюрца с пробкой и термометром;
2 – холодильник Либиха; 3 – аллонж; 4 – приемник

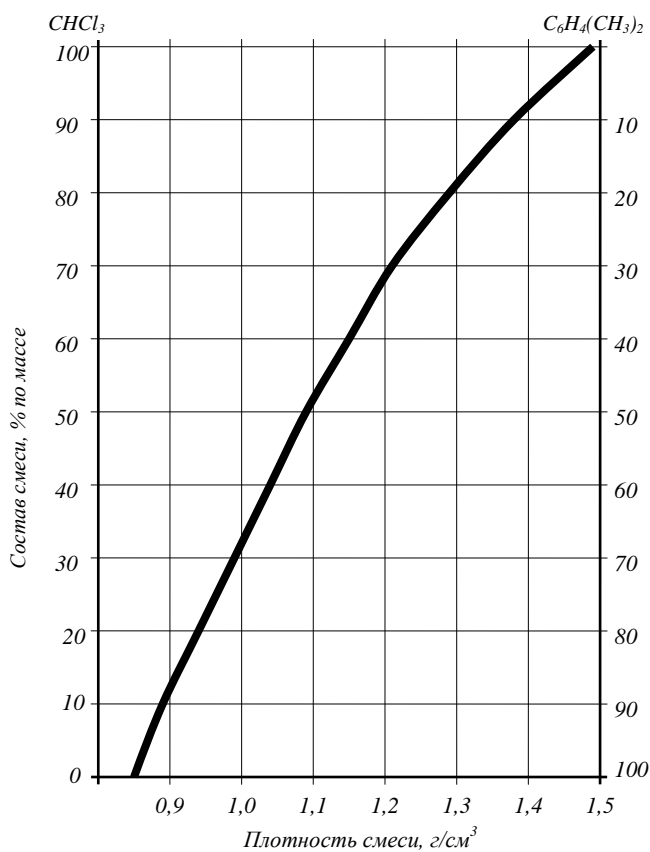
Фракционная перегонка.

Реактивы: ксилол и хлороформ.

Для опыта берется смесь ксилола и хлороформа. Эта смесь удобна тем, что ее компоненты резко отличаются по свойствам: плотности и температуре кипения (ксиллол кипит при 144 °С, а хлороформ – при 61 °С).

Для фракционной перегонки собирают установку из перегонной колбы, холодильника, аллонжа и приемника. Термометр, показывающий температуру кипения перегоняемой жидкости, размещают так, чтобы шарик ртути находился чуть ниже боковой трубки и полностью омывался парами.

Сырье, реактивы и оборудование: технические весы; склянка с пробкой; мерный цилиндр; прибор для простой перегонки; плитка.



Плотность смесей ксилола и хлороформа

Ход работы.

А. Определение плотности смеси

На технических весах взвешивают пустую склянку с пробкой. Затем цилиндром отмеряют 10 см³ исходной смеси, выливают ее во взвешенную пустую склянку и снова взвешивают на тех же весах склянку с веществом. По разности масс пустой склянки и склянки с веществом определяют массу взятой смеси. Так как объем и масса смеси уже известны, можно определить плотность взятой для перегонки смеси. По плотности определяют состав смеси с помощью графика (рис. 2).

Б. Фракционная перегонка

Взвешенное вещество выливают в перегонную колбу и нагревают на плитке. Сначала будет перегоняться низкокипящее вещество — хлороформ, затем пары отгоняющегося вещества все более обогащаются парами высококипящего вещества и, наконец, наступает такой момент, когда будет перегоняться только высококипящее вещество, то есть исходную смесь можно разделить на три фракции: первая — низкокипящее вещество; вторая — смесь веществ и третья — высококипящее вещество.

Фракции отбирают в следующих температурных интервалах: первая — до 70°C, вторая — от 70 до 120°C, третья — от 120°C и выше, до конца перегонки. После разделения смеси определяют объем каждой фракции с точностью до 0,1 мл. Каждую фракцию взвешивают и находят массу вещества. Зная массу и объем каждой фракции, определяют плотность и сравнивают с табличными данными.

Полученные данные записываются в таблицу по форме:

№	Температура кипения фракции	Масса пустой склянки	Масса склянки с веществом	Масса жидкости, г	Объем жидкости, см ³	Плотность жидкости, г/см ³	Состав (% по массе)	
							хлороформа	ксилола
Исходная смесь								

Опыт №4

Экстракция (извлечение)

Сырье, реактивы и оборудование: гидрохинон, сухой; вода дистиллированная; эфир; колбочка емкостью 50–100 мл; делительная воронка емкостью 100–150 мл; штатив с кольцом; колбочка-приемник; стаканчик или чашка; водяная баня; плитка.

Ход работы. В колбочку емкостью 50–100 мл помещают 2 г гидрохинона и 40 мл воды. Нагревают смесь в теплой воде (температура не выше 50°C) при взбалтывании до полного растворения, после чего хорошо охлаждают раствор в холодной воде и переливают его в делительную воронку емкостью 100–150 мл. Добавляют туда же 10–15 мл эфира, закрывают воронку пробкой и переворачивают ее краном вверх, придерживая одной рукой пробку, а другой – кран. Сразу же, приоткрыв на короткое время кран (для выпуска паров эфира), закрывают его, сильно встряхивают воронку в перевернутом положении в течение нескольких секунд и снова приоткрывают кран. После встряхивания (на этот раз более продолжительного) и выпуска паров эфира поворачивают воронку пробкой вверх и ставят ее в кольцо штатива на несколько минут до четкого разделения водного и эфирного слоев. Затем вынимают пробку и через кран медленно выпускают весь водный слой в колбочку, после чего, закрыв кран, сливают эфирный слой через верхнее отверстие воронки в сухой стаканчик или чашку.

Осторожно выпаривают эфирную вытяжку досуха в вытяжном шкафу на теплой водяной бане (вдали от огня!) и получают в остатке большую часть исходного гидрохинона; его можно отжечь досуха и взвесить.

Опыт №5

Хроматография

Хроматография – это метод динамического разделения смеси веществ.

Существуют несколько разновидностей хроматографического метода анализа, различающихся по механизму разделения веществ. Важнейшими из них являются следующие:

- адсорбционная хроматография, основанная на различной способности отдельных соединений адсорбироваться на тех или иных сорбентах;
- ионообменная хроматография, основанная на различной способности разделяемых веществ к иному обмену с тем или иным ионом;
- распределительная хроматография, основанная на различной растворимости разделяемых веществ в двух частично смешивающихся жидкостях;
- диффузионная хроматография, основанная на разделении веществ по скорости диффузии внутри сорбента; к этому типу хроматографии относится гель-фильтрационная хроматография, разделение веществ, которое основано на механическом явлении молекулярного просеивания;
- хроматография по сродству – новый и высокоспецифический метод разделения различных соединений, основанный на применении нерастворимых форм биологически активных веществ, обладающих сродством к разделяемым веществам.

Различаются хроматографические методы анализа и по технике выполнения. Так, адсорбционная, ионообменная, распределительная и диффузионная хроматографии могут проводиться в колонках и на плоскости (на бумаге или в тонких слоях).

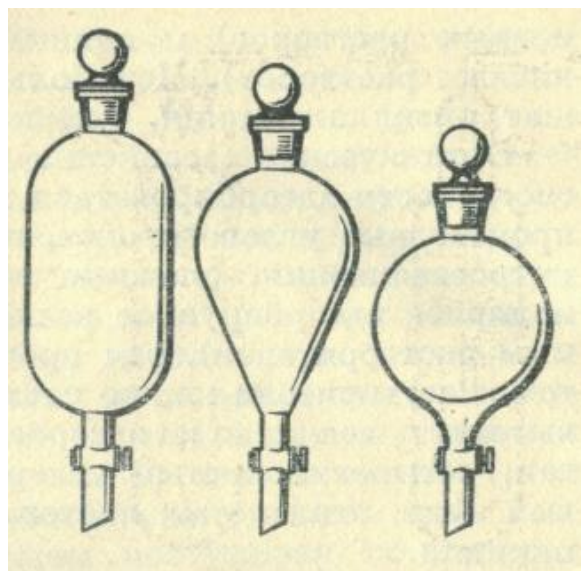


Рис. 3. Делительные воронки

Колоночная гель-фильтрация

Для гель-фильтрации используют так называемые молекулярные сита – инертные гидратированные полисахаридные материалы, представляющие собой пористые гранулы. Их получают на основе декстрана (сефадекс – бактериальный полисахарид), агарозы (из некоторых морских водорослей) или полимеризованных акриламидных гелей (акрилекс).

Принцип метода. Разделительный гель состоит из гранул с определенным размером пор и межгранульного пространства. Молекулы, размер которых превышает размер пор гранул, движутся только в пространстве между гранулами и первыми выходят из колонки. Молекулы, размеры которых меньше размера пор, диффундируют в гранулы и обратно, поэтому их вымывание (элюирование) из колонки замедляется. Чем меньше молекулярная масса вещества, тем больший объем элюирующей жидкости требуется для вымывания его из колонки.

Сырье, реактивы и оборудование: смесь голубого декстрана (ММ 10^7), рибофлавина (ММ $3 \cdot 10^2$) и гемоглобина (ММ $64,6 \cdot 10^3$); изотонический раствор хлорида натрия NaCl; колонка для разделения веществ; капельница; пробирки.

Ход работы. Колонку для разделения веществ заполняют гелем, полученным при гидратировании сефадекса G-200 изотоническим раствором хлорида натрия. Слой последнего всегда должен находиться над гелем, чтобы тот не высыхал. На поверхность геля наносят 2–3 капли раствора, представляющего собой смесь трех веществ: голубого декстрана (ММ 10^7), рибофлавина (ММ $3 \cdot 10^2$) и гемоглобина (ММ $64,6 \cdot 10^3$). Раствор для фиксирования должен сначала впитаться гелем. Затем в колонку дважды вносят по 2 мл изотонического раствора хлорида натрия. После этого подключают капельницу с изотоническим раствором хлорида натрия, предназначенным для элюирования разделяемых веществ. При разделении смеси для гель-фильтрации необходимо следить, чтобы в колонке был ток жидкости, то есть открыт зажим снизу. По мере прохождения через колонку элюирующего раствора смесь разделяется на фракции, окрашенные в различные цвета. Каждую фракцию собирают в отдельную пробирку. В соответствии с относительной моле-

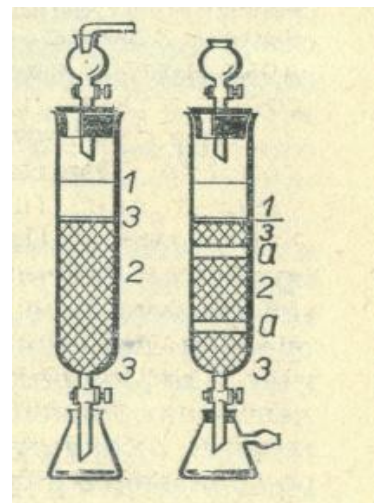


Рис. 4. Хроматографические колонки

кулярной массой быстрее всего элюируется декстран (голубой), а затем гемоглобин (красный) и рибофлавин (желтый). После элюирования смеси колонку промывают изотоническим раствором хлорида натрия до тех пор, пока гель не станет бесцветным, затем закрывают, оставляя небольшой слой раствора над гелем. Только после этого колонку можно использовать повторно.

Опыт №6

Определение температуры плавления

Началом плавления считают уплотнение и намокание вещества. Температуру, при которой все вещество превращается в прозрачную жидкость, называют температурой плавления данного вещества. Интервал между началом плавления и его окончанием будет тем меньше, чем чище вещество. На практике считают допустимым, когда вещество плавится в пределах $1-2^{\circ}\text{C}$.

Сырье, реактивы и оборудование: нафталин; капилляр длиной 3–4 см и диаметром 2 мм; прибор для определения температуры плавления (рис. 5).

Ход работы. При определении температуры плавления, например, нафталина, его необходимо тонко измельчить. Температуру плавления определяют в капилляре – тонкой трубке длиной 3–4 см и диаметром 2 мм, запаянной с одного конца. Открытым концом капилляра набирают столбик вещества высотой 3–5 мм. Капилляр с веществом прикрепляют к термометру резиновым колечком, чтобы столбик вещества находился на уровне ртутного шарика.

Термометр с капилляром укрепляют в чистой сухой пробирке посредством пробки с прорезью, укрепляют пробирку с термометром в лапке штатива и опускают в стакан с водой.

Стакан помещают на асбестированную сетку, нагревают, помешивая воду мешалкой. Наблюдают за состоянием вещества в капилляре. Определяют начальную и конечную температуры плавления. Делают вывод о чистоте исследуемого вещества.

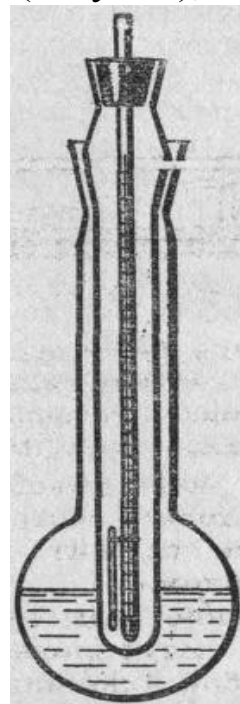


Рис. 5. Прибор для измерения температуры плавления

Лабораторная работа №2

КАЧЕСТВЕННЫЙ ЭЛЕМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

Ниже приведены наиболее простые способы качественного определения основных (*C, H, N, S, Hal, P*) элементов в органических веществах.

Опыт №1

Качественное определение углерода, водорода

Сырье, реактивы и оборудование: глицерин; оксид меди (II) CuO , порошок; безводный сульфат меди (II) CuSO_4 , порошок; известковая вода; пробирка с плотной пробкой и газоотводной трубкой; штатив с лапкой.

Ход работы. Для определения углерода и водорода берут глицерин. Работу проводят следующим образом: в сухую пробирку с плотной пробкой и газоотводной трубкой помещают около 0,5 г глицерина, 1 г порошка оксида меди (II) и хорошо перемешивают. Пробирку укрепляют в лапке штатива почти горизонтально и конец газоотводной трубки опускают в пробирку с известковой водой, чтобы трубка слегка касалась поверхности жидкости. Помутнение известковой воды указывает на выделение углекислого газа CO_2 . В сухую пробирку насыпают безводный сульфат меди (II) (светло-голубого цвета) и опускают в нее конец газоотводной трубки. Образование воды обнаруживается по появлению капель на холодных стенках пробирки и трубки и образованию кристаллогидрата $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (синего цвета).

Опыт №2

Проба Бельштейна на галогены

Сырье, реактивы и оборудование: хлороформ; тонкая проволока из меди; спиртовка; воронка; бумажные фильтры.

Ход работы. Для определения галогена берут хлороформ. Галоген обнаруживают в органическом веществе путем полного его сжигания в пламени спиртовки. Для этого берут тонкую проволоку из меди с петлей на конце и прокалывают ее в пламени спиртовки до прекращения окрашивания пламени. Прокаленную таким образом медную проволоку охлаждают, затем набирают петлей каплю иссле-

дуемого вещества (хлороформа) и снова нагревают. В присутствии галогенов пламя спиртовки окрашивается в изумрудно-зеленый цвет.

Опыт №3

Качественное определение азота и серы

Широко известен простой и вместе с тем надежный способ отличия шерстяной ткани от бумажной, состоящий в поджигании выдернутых из ткани ниток. Шерстяная нитка при горении как бы сжимается и распространяет характерный запах жженого волоса. Этот запах характерен для азотсодержащих белковых веществ (мясо, кожа, яичный белок и др.) и позволяет открывать по запаху ничтожные количества указанных азотистых веществ. Многие азотсодержащие вещества при нагревании с избытком натронной извести выделяют аммиак. Однако универсальным методом открытия азота и серы в органическом веществе является сплавление испытуемого вещества с кусочком металлического натрия:



Опыт проводят в вытяжном шкафу за стеклом или в предохранительных очках, соблюдая правила техники безопасности. При неосторожном обращении с металлическим натрием может произойти несчастный случай.

Сырье, реактивы и оборудование: хлороформ; металлический натрий; дистиллированная вода; железный купорос $FeSO_4$, кристаллы и раствор; соляная кислота; уксусная кислота; ацетат свинца $Pb(CH_3COO)_2$, 2%-й раствор; нитропруссид натрия $Na_2[Fe(CN)_5NO]$, 2%-й раствор; тонкая проволока из меди; спиртовка; деревянный зажим; пробирки; фарфоровая чашка.

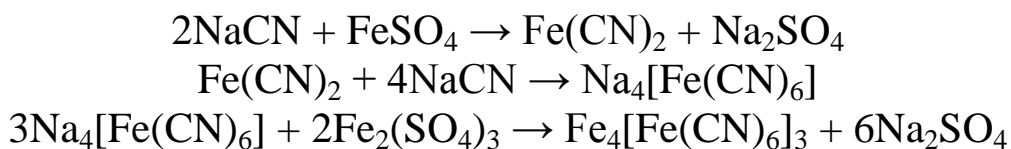
Ход работы.

А. Качественное определение азота

Несколько кристаллов или каплю испытуемого вещества помещают в сухую пробирку, туда же бросают с четверть горошины металлического натрия, хорошо очищенного от наружного слоя оксида. Осторожно нагревают пробирку в пламени горелки, держа ее в деревянном зажиме. Через некоторое время происходит вспышка. Пробирку еще немного нагревают до красного каления, после чего ее осторожно (может произойти легкий взрыв в случае не до конца прореагировавшего натрия) погружают в фарфоровую чашку с 3 мл дис-

тиллированной воды. Пробирка растрескивается, и содержимое выщелачивается водой. Раствор отфильтровывают от кусочков угля, стекла и делят на две части. Одну оставляют для обнаружения серы (опыт 3, Б).

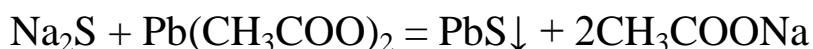
А к другой части фильтрата прибавляют кристаллик железного купороса или 2 капли его раствора и кипятят одну минуту. Вносят каплю раствора соли Fe^{3+} , подкисляют соляной кислотой (5–6 капель). При наличии азота выпадает синий осадок или появляется яркое синее окрашивание.



Б. Качественное определение серы

При сплавлении изучаемого органического вещества с металлическим натрием происходит его разложение, и выделяющаяся сера образует с натрием сульфид. Далее сульфид-ион обнаруживают обычными качественными реакциями.

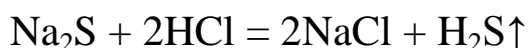
Для обнаружения серы вторую часть фильтрата разливают в три пробирки. В первую добавляют несколько капель уксусной кислоты, а затем приливают 0,5 мл 2%-го раствора ацетата свинца. При наличии сульфид-ионов образуется черный осадок сульфида свинца.



Во вторую пробирку приливают 0,5 мл 2%-го раствора нитропруссид натрия $Na_2[Fe(CN)_5NO]$. Появляется интенсивное краснофиолетовое окрашивание раствора, которое постепенно переходит в бурое.



Раствор в третьей пробирке подкисляют соляной кислотой. Характерный запах сероводорода укажет на наличие двухвалентной серы.



Опыт №4

Качественное определение фосфора

Реактивы и оборудование: металлический натрий; дистиллированная вода; азотная кислота, концентрированный раствор; молибдат аммония $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$, 5%-й раствор в 10н серной кислоте; пробирки; воронка; бумажные фильтры.

Ход работы. Для открытия фосфора также сплавляют вещество с металлическим натрием (как для открытия азота), плав растворяют в 3 мл дистиллированной воды и отфильтровывают. К 1 мл фильтрата добавляют (**осторожно!**) 4 мл концентрированного раствора азотной кислоты и кипятят в пробирке 1–2 мин. К полученному раствору добавляют 8 мл раствора молибдата аммония (молибдат аммония $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$ готовят, смешивая 100 мл 5%-го раствора молибдата аммония со 100 мл 10н серной кислотой) и нагревают до 70°C. В присутствии фосфора выпадает желтый осадок.

Качественный функциональный анализ

Лабораторная работа № 3

УГЛЕВОДОРОДЫ

Экспериментальная часть

Алканы

Опыт №1

Получение метана и изучение его свойств

Реактивы и оборудование: ацетат натрия, обезвоженный; натронная известь; бромная вода, насыщенный раствор; перманганат калия (1н раствор); пробирки; пробирка снабженная пробкой с газоотводной трубкой.

Ход работы.

А. Получение метана и его горение

В пробирку 1, снабжённую пробкой и газоотводной трубкой, насыпают на 1/3 её объёма смесь, состоящую из одной части ацетата натрия и двух частей натронной извести (смесь гидроксида натрия и гидроксида кальция).

Пробирку укрепляют в штативе и нагревают вначале осторожно, затем сильнее. При нагревании ацетата натрия с натронной известью

происходит расщепление соли с образованием метана. Поджигают выделившийся метан у конца пробирки (то есть газоотводной трубки, связанной с пробиркой). Метан горит голубоватым пламенем.

Б. Отношение метана к бромной воде и к раствору перманганата калия

В пробирку 2 помещают 1–2 мл раствора бромной воды и в пробирку 3 – 1–2 мл перманганата калия. Не прекращая нагревания смеси в пробирке 1, вводят поочерёдно конец газоотводной трубки в пробирки 2 и 3. Что наблюдается?

Алкены

Опыт №2

Получение этилена и изучение его свойств

Реактивы и оборудование: этиловый спирт, 96%-й раствор; серная кислота ($\rho=1,84 \text{ г/см}^3$); бромная вода; перманганат калия KMnO_4 , 0,1 н раствор; кипяtilьные камешки; пробирки; пробирка, снабженная пробкой с газоотводной трубкой; спиртовка; зажим с деревянной ручкой.

Ход работы.

А. Получение этилена и его горение

Для получения этилена в пробирку на $1/3$ её объёма наливают смесь, состоящую из одной части этилового спирта и трёх частей концентрированной серной кислоты, бросают маленький кипяtilьный камешек для равномерного кипения смеси. Закрывают пробирку пробкой с газоотводной трубкой и осторожно нагревают смесь. Не прекращая нагревания, поджигают выделяющийся газ у конца газоотводной трубки.

Что наблюдается? Напишите уравнение реакции.

Б. Отношение этилена к бромной воде перманганату калия

Берут две пробирки. В одну из них наливают 1,5–3 мл бромной воды, в другую – 1,5–2 мл раствора перманганата калия. Пропускают в каждую пробирку ток этилена. Что наблюдается? Напишите уравнение реакции.

Алкины

Опыт №3

Получение ацетилена и изучение его свойств

Реактивы и оборудование: карбид кальция CaC_2 , в кусочках; бромная вода; перманганат калия KMnO_4 , 0,1 н раствор; аммиачный раствор оксида серебра; пробирки; пробирка, снабженная пробкой с газоотводной трубкой; воронка; бумажные фильтры.

Ход работы.

А. Получение ацетилена и его горение

Работу с ацетиленом проводят в вытяжном шкафу, так как неочищенный ацетилен, полученный из карбида кальция, содержит вредные, неприятно пахнущие примеси.

В пробирку помещают кусочек карбида кальция, приливают несколько капель воды и быстро закрывают пробкой с газоотводной трубкой. Поджигают ацетилен у конца газоотводной трубки. Что наблюдается? Напишите уравнение реакции.

Б. Отношение ацетилена к бромной воде и перманганату калия

Берут две пробирки. В одну из них наливают 1,5–3 мл бромной воды, в другую – 1,5–2 мл раствора перманганата калия. Пропускают в каждую пробирку ток ацетилена. Что наблюдается? Напишите уравнение реакции.

В. Образование ацетиленида серебра

Ток ацетилена пропускают в пробирку с 0,5–1 мл аммиачного раствора оксида серебра. Что наблюдается? Напишите уравнение реакции.

Полученный ацетиленид отфильтровывают и просушивают. Кладут небольшой кусочек на асбестовую сетку и нагревают. Что наблюдается?

Остаток ацетиленида необходимо разрушить действием разбавленной соляной кислоты.

Делают общий вывод о реакционной способности алканов, алкенов и алкинов. Чем объясняются различия в их свойствах?

Арены

Опыт №4

Изучение свойств толуола

Реактивы и оборудование: толуол (насыщенный раствор); железные опилки; перманганат калия KMnO_4 , 0,1 н раствор; этиловый спирт; диэтиловый эфир; нитрующая смесь (смесь азотной и серной кислоты 1:2); пробирки; фарфоровая чашка.

Ход работы.

А. Растворимость толуола в различных растворителях

В три пробирки помещают по несколько капель толуола. В одну пробирку добавляют 0,5 мл воды, в другую – 0,5 мл спирта, в третью – 0,5 мл эфира. Содержимое пробирок тщательно взбалтывают. Что наблюдается?

Б. Горение толуола (опыт проводят в вытяжном шкафу)

В фарфоровую чашку помещают несколько капель толуола и поджигают. Что наблюдается?

Сравнивают, как горят метан, этилен, ацетилен и толуол.

В. Действие перманганата калия

В пробирку наливают 2–3 мл раствора перманганата калия, прибавляют несколько капель толуола, содержимое пробирки встряхивают. Что наблюдается?

Г. Действие брома на толуол

Без катализатора.

В пробирку наливают 2–3 мл бромной воды и прибавляют несколько капель толуола. Содержимое пробирки энергично взбалтывают и дают отстояться. Что наблюдается?

Д. В присутствии катализатора

В сухую пробирку помещают 1–2 мл толуола, прибавляют 3–4 капли раствора брома в четырёххлористом углероде, встряхивают, добавляют немного железных опилок и снова встряхивают. Наблюдают изменение окраски смеси? Пишут уравнение реакции бромирования толуола (реакция замещения).

Е. Нитрование толуола

Наливают в пробирку 3 мл нитрующей смеси, состоящей из одной части концентрированной азотной кислоты и двух частей концентрированной серной кислоты и добавляют в неё по каплям 1–2 мл толуола. Содержимое пробирки осторожно встряхивают и охлаждают холодной водой. После добавления всего толуола встряхивание про-

должают ещё пять минут, а затем выливают в стакан с 10 – 15 мл воды. Что наблюдается?

Опыт №5

Окисление гомологов бензола

Реактивы и оборудование: толуол; *n*-ксилол; серная кислота, 10%-й раствор; перманганат калия KMnO_4 , 0,1%-й раствор; спиртовка; зажим с деревянной ручкой.

Ход работы.

Наливают в пробирку 1–2 мл толуола, 1–2 капли серной кислоты и 1 мл раствор перманганата калия. Смесь взбалтывают и осторожно нагревают. Что наблюдается?

Аналогичный опыт проделывают с *n*-ксилолом.

Лабораторная работа № 4

КИСЛОРОДСОДЕРЖАЩИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

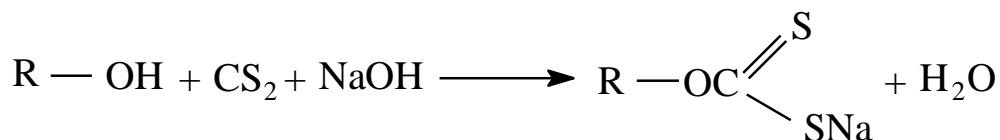
Качественные реакции на гидроксильную группу

Спирты

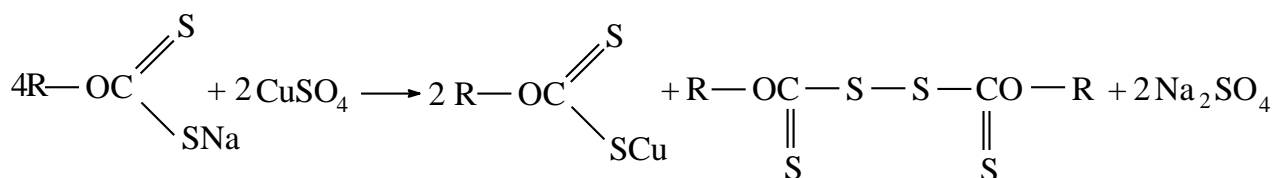
Опыт №1

Реакция с сероуглеродом и щелочью (ксантогеновая проба) на первичные и вторичные гидроксильные группы

Первичные и вторичные спирты в присутствии щелочей реагируют с сероуглеродом, образуя растворимые в воде соли алкилксантогенатов:



Соли алкилксантогенатов в реакции с растворами солей двухвалентной меди дают коричневые ксантогенаты одновалентной меди.



Ксантогенаты третичных спиртов неустойчивы и разлагаются до непредельных соединений, вследствие чего эта реакция для определения третичных спиртов непригодна.

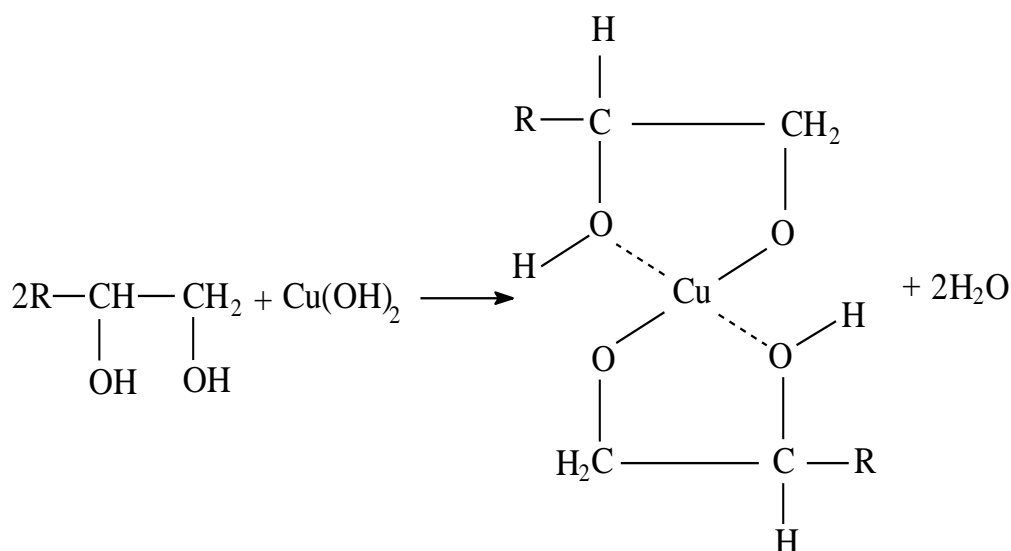
Сырье, реактивы и оборудование: эфир; сероуглерод; гидроксид натрия, кристаллический; CuSO_4 , 2%-й раствор; водяная баня; пробирки.

Ход работы. Растворяют в маленькой пробирке каплю исследуемого вещества в 1 мл эфира. Добавляют каплю сероуглерода и несколько крупинок гидроксида натрия. Смесь, встряхивая, слегка нагревают на водяной бане. Прибавляют каплю 2%-го раствора CuSO_4 . При наличии в веществе спиртовой группы выпадает коричневый осадок ксантогената меди. При отсутствии гидроксильных групп цвет осадка синий.

Опыт №2

Реакция на многоатомные спирты

Большинство полиатомных спиртов, содержащих гидроксогруппы у соседних атомов С, образуют гликоляты меди (II), растворимые в воде и окрашенные в ярко-синий цвет:



Гликоляты устойчивы в щелочной среде, но разлагаются на исходные соединения (соли меди и гликоли) в кислой среде.

Сырье, реактивы и оборудование: исследуемый раствор; гидроксид натрия, 5%-й раствор; CuSO_4 , 3%-й раствор; пробирки.

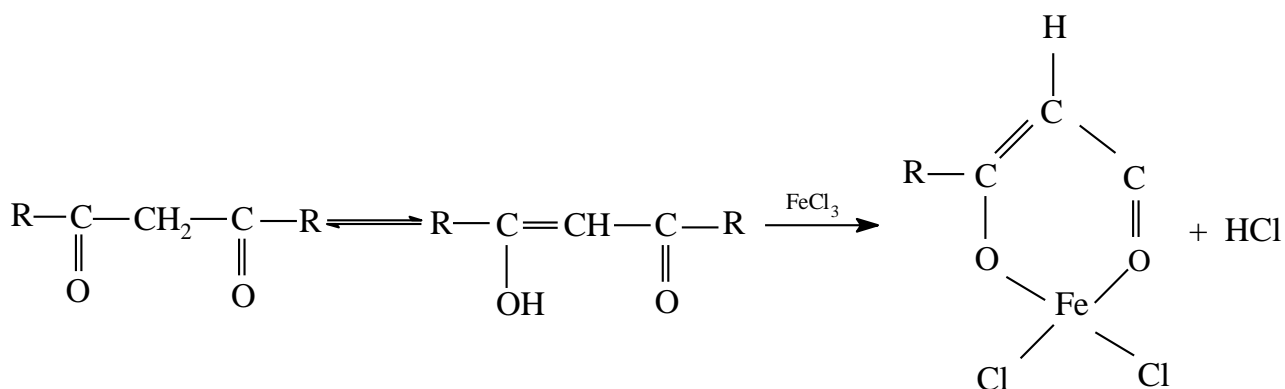
Ход работы. В маленькую пробирку наливают 10 капель 3%-го раствора CuSO_4 и 1 мл 5%-го раствора гидроксида натрия. К смеси

быстро добавляют три капли исследуемого раствора. Если в нем присутствует полиатомный спирт, голубой осадок свежевыпавшего гидроксида меди (II) растворяется, и раствор принимает интенсивную синюю окраску. Таким же образом ведут себя α -аминокислоты и α -аминоспирты.

Опыт №3

Реакция на енолы

Енолы, как и фенолы, образуют с $FeCl_3$ окрашенные хелатные соединения. Обычно реакцию проводят в спиртовых, а не в водных растворах.



Сырье, реактивы и оборудование: ацетоуксусный эфир; метанол; $FeCl_3$, 3%-й раствор в метаноле; пробирки.

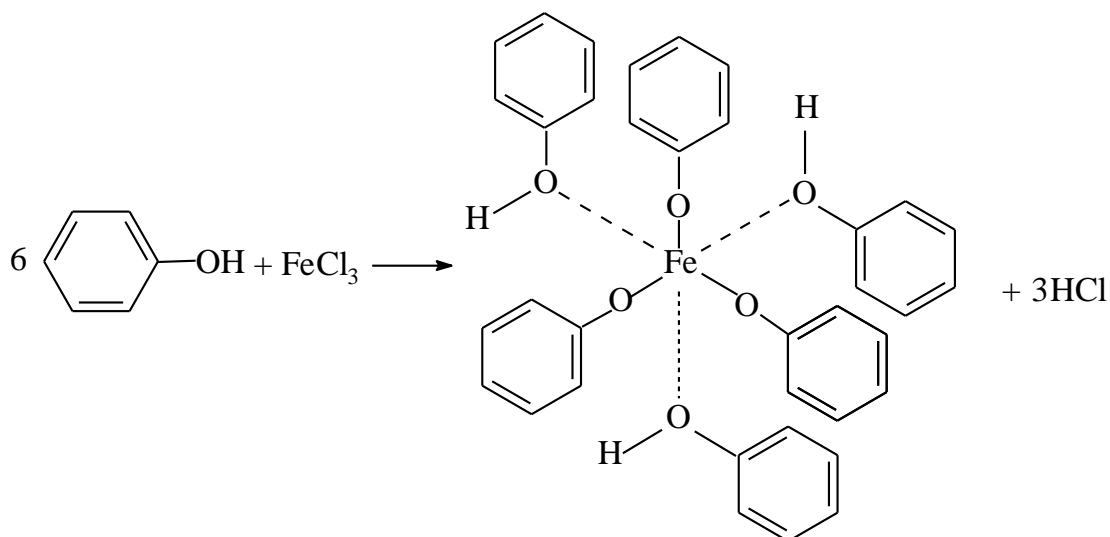
Ход работы. К капле вещества (например, ацетоуксусного эфира), растворенной в 1 мл метанола, добавляют три капли 3%-го метанольного раствора $FeCl_3$. Появляющаяся желто-красная (реже синезеленая) окраска говорит о наличии кето-енольной группировки. При разбавлении водой окраска заметно бледнеет. В случае фенола, наоборот, разбавление водой увеличивает интенсивность окраски.

Фенолы

Опыт №4

Реакция на фенолы

Большинство фенолов дает интенсивную окраску с раствором $FeCl_3$:



Обычно окраска раствора синяя или фиолетовая. Но у сложных фенолов она бывает зеленой или красной. Реакции проводят в водных растворах или хлороформе, чтобы отличить фенолы от енолов. Последние дают более интенсивное окрашивание в метаноле или этаноле.

Сырье, реактивы и оборудование: дистиллированная вода; хлороформ; FeCl_3 , 1%-й водный раствор; пробирки.

Ход работы. В маленькой пробирке растворяют несколько кристаллов или одну каплю вещества в 1 мл воды или хлороформа. Встряхивая, добавляют 1 каплю 1%-го водного раствора FeCl_3 . В присутствии фенольного гидроксила тотчас же появляется интенсивная окраска. Енолы в этих условиях дают лишь слабое окрашивание.

Способы очистки спиртов

Опыт №5

Высаливание спирта из его водного раствора

Разогревание, а также уменьшение объема при смешивании спирта с водой обусловлено гидратацией спирта. Наличие гидратов в водно-спиртовых смесях установил Д.И. Менделеев, изучая плотности этих смесей.

Водно-спиртовые смеси, содержащие много воды, негорючи и лишь при нагревании дают горючие пары.

При добавлении минеральных солей, достаточно хорошо растворимых в воде и сильно гидратирующихся в растворе, значительная часть воды связывается, вследствие чего уменьшается гидратация и растворимость спирта. Отслоившийся при высаливании спирт содержит еще до 10% воды, но уже способен гореть.

Реактивы и оборудование: этиловый спирт (ректификат), карбонат калия (в порошке), тиосульфат натрия (кристаллический); пробирки; термометр; предметное стекло.

Ход работы. Смешивают в пробирке 2 мл этилового спирта и 2 мл воды той же (комнатной) температуры. Погрузив в смесь термометр, отмечают повышение температуры при смешивании спирта с водой на несколько градусов.

Несколько капель полученного ~50%-го спирта помещают на стекло и испытывают, горюча ли эта жидкость.

Затем добавляют к смеси около 2 г карбоната калия (K_2CO_3) или гидросульфита калия ($KHSO_3$), взбалтывают и дают отстояться. Над водным раствором добавленной соли всплывает слой спирта, который испытывают на горючесть.

Опыт №6

Обнаружение воды в спирте и обезвоживание спирта

Чистые спирты часто содержат примесь растворенной воды. В обычном этиловом спирте-ректификате содержится ~5% воды, которая не может быть удалена простой дробной перегонкой, так как ректификат является постоянно кипящей – азеотропной – смесью. Легкогидратирующиеся: оксид кальция, безводный сульфат меди и другие – при добавлении их к спирту связывают содержащуюся в нем воду, и при последующей отгонке получается уже безводный – абсолютный – спирт.

Обезвоженный прокаливанием медный купорос, связывая воду, переходит в синий кристаллогидрат $CuSO_4 \cdot 5H_2O$; по этому изменению окраски легко судить о наличии воды в спирте и о ходе обезвоживания его, а также других, индифферентных к медному купоросу органических жидкостей, в которых он не растворим.

Безводные – абсолютные – спирты обычно очень гигроскопичны. Для удаления последних следов воды из спирта добавляют к обезвоженному спирту немного металлического натрия и отгоняют спирт от образовавшихся щелочи и алкоголята.

Безводный этиловый спирт был впервые получен русским академиком Т.Е. Ловицем.

Реактивы и оборудование: этиловый спирт (ректификат); сульфат меди $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (в порошке); медная проволока; фарфоровая чашка; пробирки.

Ход работы. В фарфоровой чашке или тигле нагревают на пламени горелки 1,5–2 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, перемешивая соль медной проволокой, до полного исчезновения голубой окраски соли и прекращения выделения паров воды. Дают остыть полученному белому порошку, пересыпают его в сухую пробирку и добавляют 2–3 мл этилового спирта. При встряхивании и слабом нагревании содержимого пробирки белый порошок быстро окрашивается в голубой цвет. Полученный обезвоженный спирт осторожно сливают – он готов к дальнейшему использованию.

Опыт №7

Обнаружение примеси метилового спирта в этиловом спирте

Окисление первичных спиртов перманганатом калия, распадающимся при этом по уравнению



идет энергично и ведет главным образом к образованию солей соответствующих органических кислот. Эти кислоты, будучи в растворах слабо диссоциированными, вытесняются из своих солей такими минеральными кислотами, как серная или соляная. Еще более энергично реакция окисления спиртов перманганатом калия протекает в сильнощелочной среде. В кислой среде первичные спирты окисляются перманганатом калия при комнатной температуре преимущественно до альдегидов. Из них лишь формальдегид дает в кислой среде характерную для альдегидов цветную реакцию с фуксинсернистой кислотой.

Реактивы и оборудование: этиловый спирт; этиловый спирт, содержащий 3–5% метилового спирта; средний или кислый сульфат натрия или калия (в порошке или растворе); перманганат калия KMnO_4 , раствор; фуксинсернистая кислота, раствор; пробирки.

Ход работы. Опыт проводят с обычным этиловым спиртом и параллельно со спиртом, содержащем примесь метилового спирта.

К 3–5 каплям испытуемого спирта приливают 1 мл разбавленной серной кислоты и 3 мл раствора перманганата калия; через несколько минут добавляют еще 2 мл серной кислоты. При этом должно произойти обесцвечивание раствора. Если окраска KMnO_4 не исчезла, вносят очень немного сульфита до полного обесцвечивания. Затем приливают к полученной жидкости равный объем раствора фуксинсернистой кислоты.

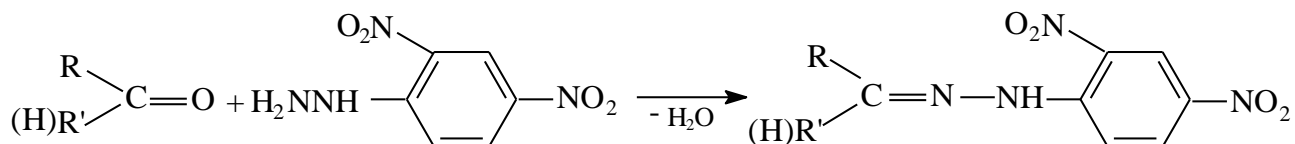
Через 5–10 минут сравнивают окраску растворов.

Качественные реакции на карбонильную группу

Опыт №8

Реакция с 2,4-динитрофенилгидразином

Наиболее общая реакция на альдегиды и кетоны – образование 2,4-динитрофенилгидразонов (ДНФГ):



Образующиеся ДНФГ обычно плохо растворимы и выделяются в виде ярко-желтых или красных осадков.

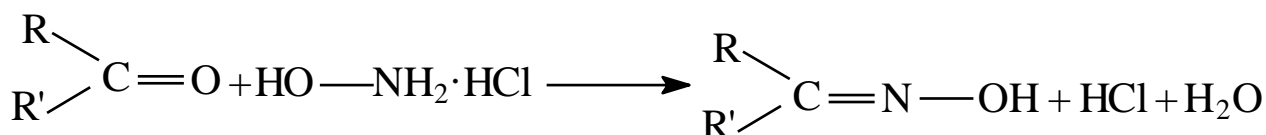
Сырье, реактивы и оборудование: исследуемое вещество; этанол; 2,4-динитрофенилгидразин, 2%-й раствор в 20%-й хлорной или уксусной кислоте; пробирки; водяная баня.

Ход работы. В маленькую пробирку к 2 мл 2%-го раствора 2,4-динитрофенилгидразина в 20%-й хлорной или уксусной кислоте добавляют раствор 0,02 г исследуемого вещества в 2 мл этанола. Смесь нагревают на кипящей водяной бане и оставляют охлаждаться. 2,4-динитрофенилгидразон выпадает в виде желтых (или красных) кристаллов или хлопьев.

Опыт №9

Реакция с солянокислым гидроксиламином

Реакция гидроксилamina с пространственно незатрудненной карбонильной группой также является весьма общей.



Так как солянокислый гидроксиламин обладает практически нейтральной реакцией, а образующийся оксим не является сильным основанием, то ход реакции легко контролировать по увеличению кислотности среды за счет выделения хлороводорода.

Сырье, реактивы и оборудование: исследуемое вещество; этанол; метиловый оранжевый, раствор; лакмус, раствор; солянокислый гидроксилламин, 3%-й раствор; пробирки; водяная баня.

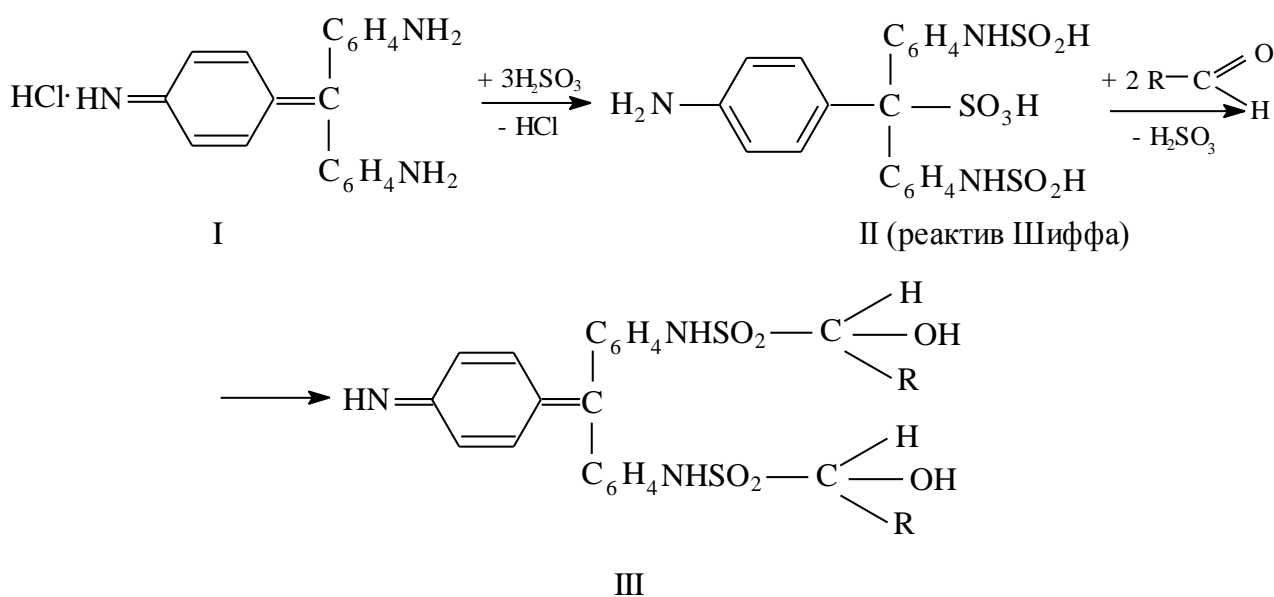
Ход работы. К 2 мл 3%-го раствора солянокислого гидроксилламина в маленькой пробирке прибавляют раствор, состоящий из 0,1 г исследуемого вещества в 0,5 мл этанола. Нагревают смесь на водяной бане. Добавляют одну каплю раствора метилового оранжевого. Если исследуемое вещество содержит карбонильную группу, наблюдается отчетливое покраснение индикатора. Реакции мешают карбоновые кислоты, реагирующие с гидроксилламином. В их отсутствии легко убедиться, проверив исследуемый раствор на лакмус.

Опыт №10

Реакция с фуксинсернистой кислотой (реакция Шиффа)

Все альдегиды, метилкетоны и простейшие алициклические кетоны дают цветную реакцию с раствором фуксинсернистой кислоты.

Химизм реакции заключается в следующем. Ярко-розовый раствор фуксина (I) обесцвечивается при обработке сернистой кислотой. При добавлении альдегида от бесцветного продукта присоединения (II) отщепляется молекула сернистой кислоты и снова – вследствие образования хиноидной формы (III) – появляется фиолетово-пурпурное окрашивание:



Сырье, реактивы и оборудование: исследуемое вещество; фуксинсернистая кислота, свежеприготовленный бесцветный раствор; пробирки.

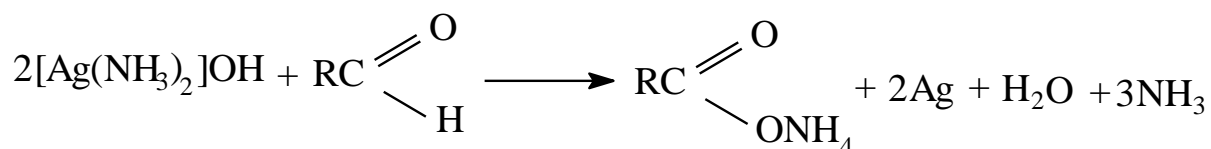
Ход работы. В микропробирке к 1 мл свежеприготовленного бесцветного раствора фуксинсернистой кислоты прибавляют каплю или кристаллик исследуемого вещества. Встряхивают. При наличии в исследуемом веществе альдегида через несколько минут появляется интенсивная розово-фиолетовая окраска.

Примечание: 0,2 г фуксина растворяют в 200 мл дистиллированной воды, затем добавляют 2 г гидросульфита натрия и 2 мл концентрированной HCl. Если через 20 мин жидкость не обесцветится, добавляют 0,1 г активированного угля и встряхивают, а затем фильтруют. Раствор хранят в темной склянке.

Опыт №11

Реакция Толленса на альдегидную группу

Если вещество дает положительные реакции на карбонильную группу с 2,4-динитрофенилгидразином и с солянокислым гидроксиламином, то проводят специальные реакции на альдегидную группу. Аммиачный раствор оксида серебра окисляет альдегиды до кислот. Выделяющееся при этом металлическое серебро оседает на стенках сосуда в виде зеркального слоя (реакция серебряного зеркала):



Сырье, реактивы и оборудование: исследуемый альдегид; свежеприготовленный 10%-й раствор нитрата серебра AgNO₃; гидроксид натрия, 2н раствор; аммиак, 25%-й раствор; пробирки.

Ход работы. В маленькой пробирке смешивают 1 мл свежеприготовленного 10%-го раствора нитрата серебра и 1 мл 2н раствора гидроксида натрия. В смесь по каплям вносят 25%-й раствор аммиака до растворения выпавшего осадка гидроксида серебра. Добавляют несколько капель исследуемого раствора вещества в спирте. При наличии альдегида быстро начинается выделение серебра на стенках пробирки.

Подобную реакцию дают также многоатомные фенолы, diketоны и некоторые ароматические амины.

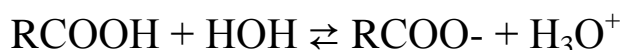
Внимание! Аммиачные растворы нитрата серебра немедленно после реакции вылить в соляную кислоту (специальная склянка для отходов серебра у лаборанта), а посуду обмыть водой, так как при стоянии образуется чрезвычайно взрывчатое гремучее серебро, взрывающееся без всяких причин.

Качественные реакции на карбоксильную группу

Опыт №12

Реакция на кислотность среды

Карбоновые кислоты, будучи кислотами средней силы ($K_1 \approx 10^{-3} \div 10^{-5}$), приближаются по силе к фосфорной кислоте ($K_1 = 8 \cdot 10^{-3}$), заметно диссоциируют в водном растворе и окрашивают лакмус или конго:



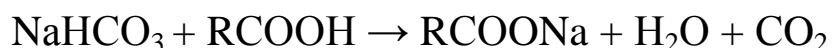
Сырье, реактивы и оборудование: исследуемое вещество, раствор; бумажка конго; пробирки.

Ход работы. Раствор исследуемого вещества в воде (~10%-й) наносят на бумажку конго. Алифатические и ароматические карбоновые кислоты окрашивают ее в коричневый цвет, довольно быстро бледнеющий. Аналогичную реакцию дают также сульфокислоты, нитрофенолы и некоторые другие соединения с «кислым» атомом водорода.

Опыт №13

Реакция с гидрокарбонатом натрия

Карбоновые кислоты вытесняют из гидрокарбоната натрия оксид углерода (IV):



Сырье, реактивы и оборудование: гидрокарбонат натрия, насыщенный раствор; 50%-й раствор исследуемого вещества в спирте или воде; пробирки.

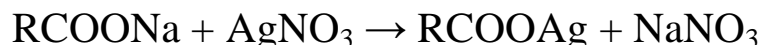
Ход работы. В маленькую пробирку наливают 2 мл насыщенного раствора гидрокарбоната натрия и 0,2 мл 50%-го исследуемого

раствора в спирте или воде. При наличии кислоты выделяются пузырьки CO_2 .

Опыт №14

Образование нерастворимых солей

Как правило, свинцовые и серебряные соли карбоновых кислот сложного строения плохо растворимы в воде и выпадают в виде белых осадков:



Сырье, реактивы и оборудование: исследуемый раствор; $Pb(NO_3)_2$ или $AgNO_3$, концентрированный водный раствор; универсальная индикаторная бумажка; гидроксид натрия, 5%-й раствор; пробирки.

Ход работы. Исследуемый раствор (~1 мл) осторожно нейтрализуют 5%-м раствором гидроксида натрия до $pH = 7 \div 8$ по универсальной индикаторной бумажке. Добавляют несколько капель концентрированного водного раствора $Pb(NO_3)_2$ или $AgNO_3$. При наличии карбоновой кислоты мгновенно выпадает объемистый белый осадок. В случае нитрата серебра осадок быстро темнеет на свету.

Производные карбоновых кислот обычно определяют, переводя их предварительно в карбоновые кислоты.

Опыт №15

Непредельные карбоновые кислоты. Свойства олеиновой кислоты

Реактивы и оборудование: олеиновая кислота, 2%-й раствор перманганата калия, 10%-й раствор карбоната натрия, бромная вода (насыщенная), концентрированная азотная кислота, медные стружки или проволока; пробирки; штатив.

Ход работы.

А. Взаимодействие олеиновой кислоты с бромной водой

В пробирку наливают 1 мл бромной воды и 1 мл олеиновой кислоты. Смесь энергично перемешивают. Наблюдают обесцвечивание бромной воды.



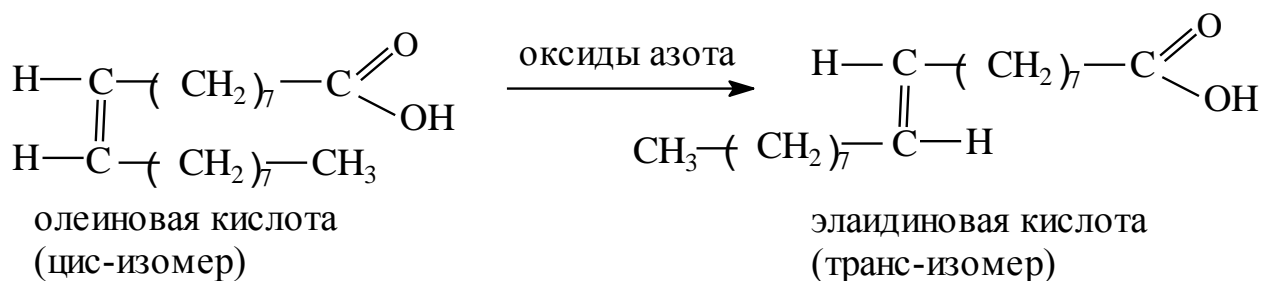
Б. Окисление олеиновой кислоты перманганатом калия (реакция Вагнера)

В пробирку вносят 1,5 мл 2%-го раствора перманганата калия, 1,5 мл 10%-го раствора карбоната натрия и 0,5 мл олеиновой кислоты. Полученную смесь энергично встряхивают. Наблюдают переход фиолетовой окраски перманганата калия в бурую и выпадение осадка диоксида марганца.



В. Изомеризация олеиновой кислоты в элаидиновую

В пробирку помещают 1 мл олеиновой кислоты, немного медных стружек (или небольших кусочков медной проволоки) и 1,5 мл концентрированной азотной кислоты. Содержимое пробирки энергично встряхивают и оставляют в штативе под тягой. Наблюдают выделение оксидов азота бурого цвета, образующихся в результате взаимодействия азотной кислоты с медью. Оксиды азота являются катализаторами процесса изомеризации олеиновой кислоты в элаидиновую. Вспенившаяся масса олеиновой кислоты (*цис*-изомер) затвердевает вследствие образования твердой элаидиновой кислоты (*транс*-изомер). Следует помнить, что затвердевание массы кислоты происходит не сразу, и поэтому пробирку оставляют в вытяжном шкафу на 1,5 часа.



Лабораторная работа № 5 ЖИРЫ, ЛИПИДЫ, МЫЛА

При анализе растительных и животных жиров используют такие показатели, как кислотное, иодное числа и число омыления. Кислотное число характеризует количество свободных жирных кислот в жирах, иодное число – их общую ненасыщенность, а число омыления позволяет судить о средней молекулярной массе входящих в состав жира высших жирных кислот и определить количество щелочи, необходимое для омыления жира. Эти показатели позволяют установить состав, пищевую и техническую ценность жиров.

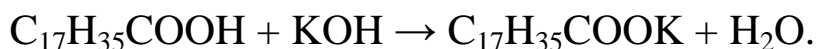
Опыт №1

Определение кислотного числа

При выделении пищевых жиров из жиросодержащих тканей происходит незначительный гидролиз, поэтому наличие некоторого количества свободных жирных кислот возможно и в свежем жире. Их содержание выражается кислотным числом (К.Ч.) и нормируется стандартом. В несвежем масле количество свободных кислот увеличивается, и кислотное число повышается.

Кислотным числом (К.Ч.) называется количество миллиграммов гидроксида калия, необходимое для нейтрализации свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г жира.

На примере стеариновой кислоты нейтрализация протекает по уравнению:



Сырье, реактивы и оборудование: сливочное масло (несвежее); этиловый спирт; фенолфталеин, 2%-й раствор; гидроксид калия, 0,1н раствор; стакан на 50 мл; водяная баня; стеклянная палочка; колба на 50 мл; бюретка.

Ход работы. В химический стаканчик на 50 мл помещают не-свежее сливочное масло. Расплавляют масло, нагревая стаканчик в водяной бане с горячей водой. С помощью короткой стеклянной палочки отбирают из стаканчика навеску расплавленного масла 0,2 г в колбу на 50 мл. Растворяют навеску масла в 2–3 мл горячего этилового спирта и добавляют 1–2 капли 2%-го раствора фенолфталеина. Затем из бюретки по каплям, постоянно взбалтывая содержимое колбы, приливают раствор 0,1н КОН до появления светло-розового окрашивания, не исчезающего в течение 2 минут. Отмечают количество щелочи, пошедшее на нейтрализацию свободных кислот в жире.

Рассчитывают К.Ч. по приведенной ниже формуле и делают вывод о свежести масла

$$К.Ч. = \frac{K \cdot 5,61 \cdot V}{a},$$

где a – навеска жира, г;

V – количество щелочи КОН в мл, пошедшее на титрование;

5,61 – титр 0,1н раствора КОН;

K – поправочный коэффициент к 0,1н раствору КОН (если раствор приготовлен из фиксанала $K = 1$).

Опыт №2

Определение числа омыления жира

Числом омыления (Ч.О.) называют число миллиграммов гидроксида калия, необходимое для омыления одного грамма жира при кипячении его с избытком гидроксида калия в спиртовом растворе.

Сырье, реактивы и оборудование: жир; гидроксид калия, 0,5н раствор; соляная кислота, 0,5н раствор; фенолфталеин, 1%-й спиртовой раствор; колба на 50 мл; обратный холодильник; аналитические весы; пипетка; бюретка.

Ход работы. В коническую колбочку на 100 мл, снабженную обратным холодильником (стеклянная трубка длиной 60–75 см), помещают навеску жира 0,5 г, взятую на аналитических весах. Добавляют пипеткой или из бюретки 8 мл 0,5н спиртового раствора КОН. Одновременно берут колбочку для контрольного опыта, в которую наливают 8 мл щелочи без навески. Обе колбочки нагревают на водяной бане при слабом кипении 15–20 минут. При этом происходит омыление жира и нейтрализация свободных жирных кислот. Избыток

щелочи в обеих колбочках после охлаждения оттитровывают 0,5н раствором соляной кислоты в присутствии нескольких капель 1%-го раствора индикатора фенолфталеина до исчезновения красного окрашивания. Рассчитывают Ч.О. по формуле:

$$Ч.О. = \frac{T \cdot (V_2 - V_1) \cdot K}{a},$$

где V_1 – количество мл 0,5н раствора соляной кислоты, израсходованной при контрольном опыте;

V_2 – количество мл 0,5н раствора соляной кислоты, израсходованной при основном опыте;

T – титр 0,5н раствора соляной кислоты;

a – навеска жира;

K – поправочный коэффициент к 0,5н раствору соляной кислоты (если раствор приготовлен из фиксанала $K = 1$).

Опыт №3

Определение ненасыщенных жиров

Жиры растительного происхождения содержат большее количество остатков ненасыщенных жирных кислот, чем животные жиры. Различная степень непредельности жиров может быть выявлена на примере насыщения бромом свиного сала и подсолнечного масла.

Сырье, реактивы и оборудование: жир и растительное масло; карбонат натрия, 25%-й раствор; перманганат калия, 1%-й раствор; спиртовой раствор иода, 0,1 М; тиосульфат натрия, 0,1н раствор; крахмал; аналитические весы; обратный холодильник; коническая колба на 100 мл; пробирки.

Ход работы. В одну пробирку вносят 10 капель растительного масла, во вторую – 10 капель расплавленного свиного жира. В каждую из пробирок добавляют по 15 капель 25%-го раствора карбоната натрия и затем по каплям из бюретки приливают 1%-й раствор перманганата калия до образования устойчивой малиновой окраски раствора с одновременным появлением бурой взвеси диоксида марганца.

Отмечают израсходованные количества перманганата калия и по способности окисляться делают вывод о сравнительной непредельности испытанных жиров. Записать реакцию окисления на примере одной из пар глицеридов: 2-стеарил-1,3-диолеилглицерин и 1-олеил-2,3-дилинолеилглицерин или 1,2-дистеарил-3-олеилглицерин и 1-

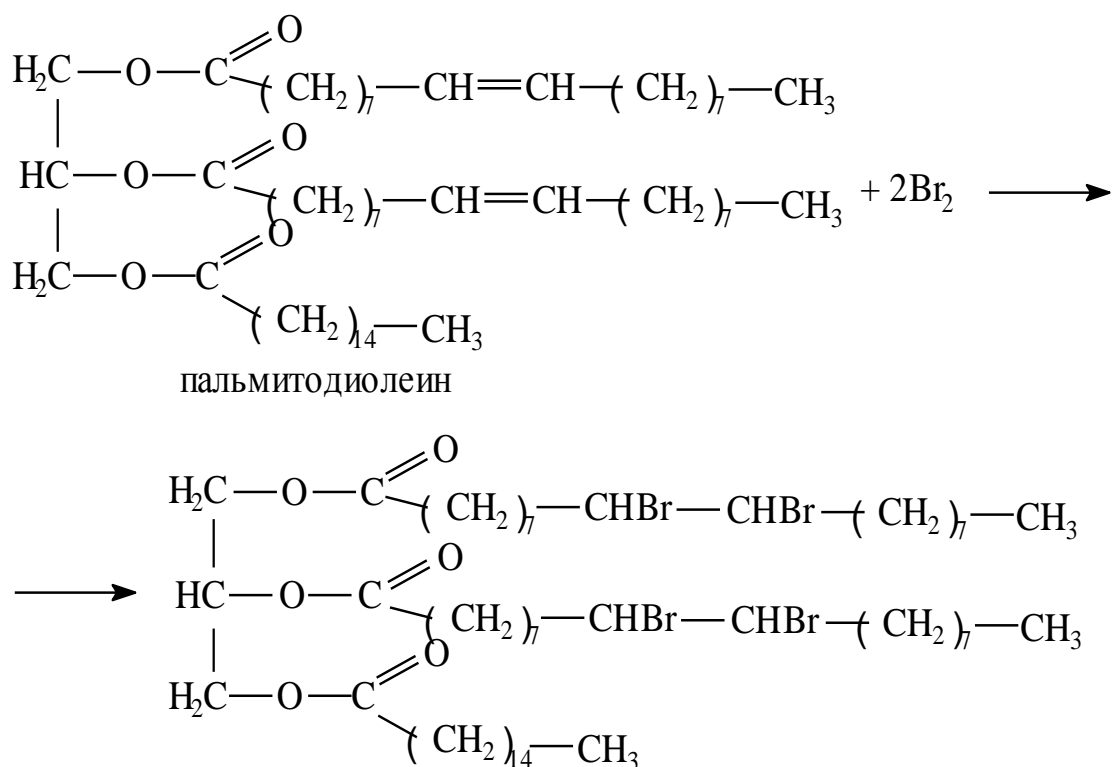
пальмитил-2,3-дилинолеилглицерин и сравнивают их непредельность.

Опыт № 4

Определение непредельности растительного масла реакцией с бромной водой

Реактивы и оборудование: подсолнечное масло; бромная вода, насыщенный раствор; пробирки.

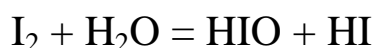
Ход работы. В пробирку вносят 0,5 мл растительного масла и 1–2 мл насыщенной бромной воды, которая при встряхивании содержимого пробирки быстро обесцвечивается вследствие присоединения брома к остаткам непредельных жирных кислот:



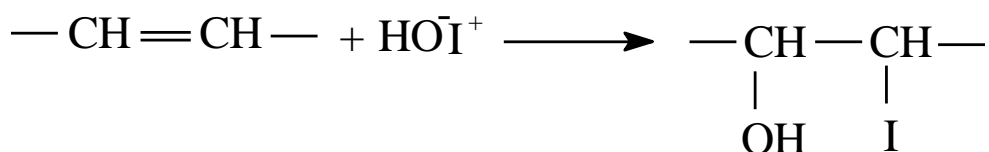
Опыт №5

Определение иодного числа

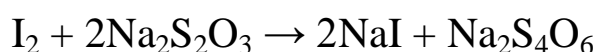
Важнейшим химическим показателем жиров, характеризующим степень их непредельности, является иодное число. Иодным числом называют количество граммов иода, присоединившееся к 100 г исследуемого жира. Кратко его обозначают: И.Ч. и выражают в процентах иода. Реагентом на двойные связи в этом методе является иодноватистая кислота, которая образуется при взаимодействии иода с водой:



Она присоединяется по двойным связям:



Избыток иода, не вошедший в реакцию, оттитровывают тиосульфатом:



Сырье, реактивы и оборудование: жир; растительное масло; дистиллированная вода; иод, 0,1M спиртовой раствор; $Na_2S_2O_3$, 0,1н. раствор; раствор крахмала; конические колбы; бюретка.

Ход работы. В одну коническую колбу помещают навеску жира 0,2 г, в другую – 0,2 мл растительного масла, в третью – 0,2 мл воды (контрольная проба), прибавляют по 10 мл спиртового раствора иода 0,1M и перемешивают. Через 15 минут содержимое колб оттитровывают раствором $Na_2S_2O_3$ 0,1н сначала до появления слабо-желтого окрашивания, а потом, прибавив 1 мл раствора крахмала, титруют до исчезновения синего окрашивания.

Иодное число рассчитывают по формуле в %:

$$И.Ч. = \frac{1,26 \cdot K \cdot (V_1 - V_2) \cdot 100}{a},$$

где 1,269 (Т) – титр 0,1н раствора тиосульфата натрия по иоду;

K – поправочный коэффициент для приведения титра тиосульфата натрия по иоду точно к 0,1н;

V_2 – количество мл 0,1н. раствора тиосульфата, израсходованного на оттитровывание иода в опытах с навеской исследуемого жира;

V_1 – количество мл 0,1н раствора тиосульфата, израсходованного на титрование иода в контрольном опыте без жира;

a – масса жира в граммах.

Опыт №6

Экстрагирование растительного масла на бумаге

Характерным свойством жиров является их хорошая растворимость в любых органических растворителях (ацетон, хлороформ, эфир и др.) и нерастворимость в воде. При смешивании жиров с водой образуются эмульсии, стойкость которых зависит от среды, в которой она образуется. Наличие в воде веществ – эмульгаторов (мыла, желчные кислоты, карбонаты) делает эмульсии очень стойкими. Образование эмульсии обусловлено тем, что в поверхностный водный слой, окружающий жировые капельки, устремляются поверхностно-активные частицы желчных кислот, мыла, карбоната, которые обволакивают капельки жира и препятствуют их слипанию.

Сырье, реактивы и оборудование: подсолнечное масло; диэтиловый эфир; ацетон; четыреххлористый углерод; этиловый спирт; бензол; хлороформ; фильтровальная бумага.

Ход работы. На кусок фильтровальной бумаги размером $3,5 \times 3,5 \text{ см}^2$ наносят капилляром подсолнечное масло так, чтобы образовалось пятно диаметром 5–6 мм. Готовят таким образом семь образцов. К центру масляного пятна прикасаются капилляром, содержащим испытуемый органический растворитель; капилляр держат перпендикулярно к бумаге. Растворитель добавляют в таком количестве, чтобы образовалось пятно диаметром около 20 мм. После испарения органических растворителей в центре пятен образуются круги обезжиренной бумаги, а по периферии – концентрические кольца масла. Если капля масла в центре пятна образует самостоятельное пятно, то это указывает на плохую растворимость масла в данном растворителе, а если же образуется единый фронт растекания масла и растворителя, то говорят о хорошей растворимости. Все наблюдения записывают в лабораторную тетрадь и делают вывод, в каких растворителях жиры растворяются хорошо, а в каких – плохо.

Опыт №7

Экстрагирование жира из масличных семян

Сырье, реактивы и оборудование: семена подсолнечника или льна; хлороформ или четыреххлористый углерода; песок; ступка с пестом; стеклянная палочка; пробка с обратным холодильником; водяная баня; воронка; фильтровальная бумага; пробирки.

Ход работы. Смешивают 2 г семян подсолнечника или льна с песком и тщательно растирают в ступке. Измельченные семена пере-

носят в пробирку, приливают 5 мл хлороформа (или четыреххлористого углерода) и перемешивают содержимое пробирки стеклянной палочкой. Пробирку закрывают пробкой с обратным холодильником и нагревают в водяной бане при 75–80°C в течение 10–15 минут. После охлаждения отфильтровывают немного раствора и наносят несколько капель его на фильтровальную бумагу. После испарения растворителя на бумаге образуется масляное пятно.

Опыт №8

Омыление жиров щелочью в водно-спиртовом растворе

При омылении жиров щелочью образуются глицерин и соли высших жирных кислот (мыла).

Реактивы и оборудование: масло растительное; этиловый спирт; поваренная соль, насыщенный раствор; гидроксид натрия, 40%-й раствор; водяная баня; пробирки; фильтровальная бумага; стеклянная палочка.

Ход работы. В большую пробирку наливают 2 мл растительного масла, 2 мл 40%-го раствора щелочи и 1 мл этилового спирта. Спирт добавляется для увеличения растворимости масла и ускорения реакции гидролиза. Смесь нагревают на кипящей водяной бане 5–10 минут. Окончание реакции омыления определяют по растворимости нескольких капель гидролизата в горячей дистиллированной воде (проба на полноту омыления).

По окончании омыления получают продукты, растворимые в воде. Если в пробе заметны капельки жира, омыление продолжают.

В пробирке получается клеевое мыло, в состав которого входят мыло, глицерин, избыток щелочи и вода. Чтобы отделить мыло от остальных компонентов, его высаливают. Для этого к полученному клеевому мылу в пробирку наливают насыщенный горячий раствор поваренной соли. Содержимое пробирки перемешивают стеклянной палочкой и охлаждают холодной водой под краном. Мыло высаливается и всплывает наверх. Чистое мыло, свободное от примесей, называют ядровым. Выделение мыла из смеси объясняется уменьшением диссоциации мыла при введении одноименных ионов натрия и снятии гидратных оболочек с коллоидных частиц мыла вводимыми ионами соли.

Всплывший слой мыла вынимают стеклянной палочкой на фильтровальную бумагу, сложенную в несколько слоев, отжимают от жидкости и используют для дальнейших опытов.

Опыт №9

Гидролиз спиртового раствора мыла

Сырье, реактивы и оборудование: мыло; дистиллированная вода; спиртовой раствор фенолфталеина; пробирки.

Ход работы. Помещают в пробирку крупинку мыла и добавляют 1 каплю спиртового раствора фенолфталеина. Покраснения не наблюдается. Это подтверждает, что мыло является смесью солей высших жирных кислот и не содержит свободной щелочи. Прибавляют в пробирку 5–10 капель дистиллированной воды. По мере прибавления воды происходит гидролиз мыла и появляется розовое окрашивание, которое усиливается.

Опыт №10

Выделение свободных жирных кислот из мыла

Сырье, реактивы и оборудование: концентрированный раствор мыла; серная кислота H_2SO_4 ; пипетки; пробирки.

Ход работы. С помощью пипетки помещают в пробирку 5 капель приготовленного концентрированного раствора мыла и добавляют к нему 1 каплю серной кислоты H_2SO_4 . Немедленно выпадает белый хлопьевидный, маслянистый осадок свободных жирных кислот.

Опыт №11

Образование нерастворимого в воде медного мыла

Сырье, реактивы и оборудование: раствора мыла; сульфат меди, 0,02н раствор; спиртовка; зажим с деревянной ручкой; пробирки.

Ход работы. В пробирку помещают 1 каплю раствора мыла и 4 капли 0,02н раствора сульфата меди. Выпадает голубовато-белый осадок медного мыла. Раствор нагревают до кипения, при этом медное мыло всплывает на поверхность раствора в виде зеленого кольца. Если в растворе остается не вошедшее в реакцию натриевое мыло, то зеленого кольца не получится. В таком случае добавляют еще 2–3 капли раствора сульфата меди и снова нагревают до кипения. Напишите уравнение реакции.

Опыт №12

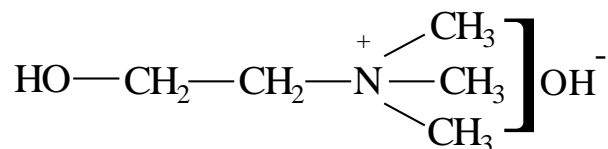
Выделение лецитинов и кефалинов из желтка куриного яйца.

Качественные реакции на структурные компоненты

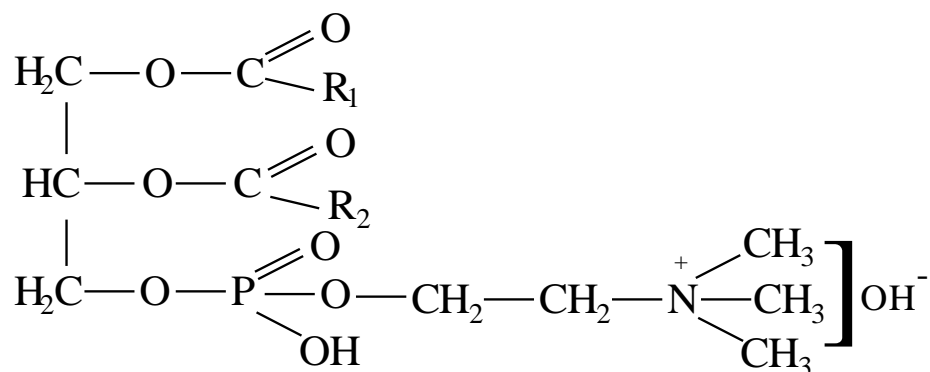
Лецитины и кефалины составляют подавляющую часть всех фосфолипидов животного организма и содержатся во всех его клетках, представляя собой основные липидные компоненты биологических мембран, то есть выполняют в организме пластическую (строительную) функцию.

Лецитины (фосфатидилхолины) и кефалины (фосфатидилэтаноламины) – это природные соединения из класса липидов, группы фосфолипидов.

В состав молекул лецитинов входят остатки глицерина, жирных кислот, фосфорной кислоты и аминоспирта – холина (гидроксида оксиэтилтриметиламмония).



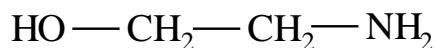
Строение молекулы лецитинов можно представить следующим образом:



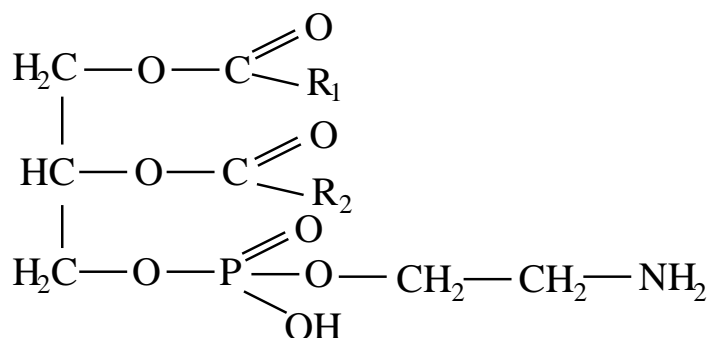
Многообразие молекулярных форм лецитинов определяется строением входящих в их состав остатков жирных кислот.

Лецитины содержатся во всех тканях организмов животных, особенно богаты этой группой липидов ткани с высокой интенсивностью обмена: печень, сердечная мышца, ткани мозга, эритроциты, сперма, а также яичный белок.

Молекулы кефалинов построены из остатка глицерина, двух остатков жирных кислот, остатка фосфорной кислоты и остатка аминок спирта – этаноламина (коламина).



Строение молекулы лецитинов можно представить следующим образом:



Различаются кефалины входящими в их состав жирными кислотами, из которых наиболее часто встречаются пальмитиновая, стеариновая, олеиновая. Особенно богата кефалинами нервная ткань.

Принцип метода. Лецитины и кефалины выделяют из сухого яичного желтка путем экстрагирования их спиртом при нагревании. Затем в кислом гидролизате спиртовой вытяжки с помощью качественной реакции обнаруживают структурные компоненты лецитинов.

Сырье, реактивы и оборудование: сухой желток куриного яйца; этиловый спирт; ацетон; серная кислота H_2SO_4 , 10%-й раствор; насыщенный раствор I_2 в растворе KI ; уксусная кислота концентрированная CH_3COOH ; сульфат железа (II) FeSO_4 , порошок; пероксид водорода H_2O_2 , 15%-й раствор; азотная кислота концентрированная HNO_3 ; молибдат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ в азотной кислоте; весы; пробирки с обратным холодильником; микроскоп; фарфоровые чашки; предметные и покровные стекла; пипетки; воронки; складчатые фильтры.

Ход работы. Часть 1. Выделение лецитинов и кефалинов. 1 г сухого желтка куриного яйца помещают в пробирку с обратным холодильником, наливают 5 мл спирта и нагревают до кипения на водяной бане при температуре 70–75°C. Кипятят в течение 10 минут. При этом в спирте растворяются лецитины, кефалины и часть пигментов

желтка куриного яйца. Вытяжка окрашивается в желтый цвет, а желток обесцвечивается. После экстрагирования содержимое пробирки фильтруют через бумажный фильтр. Получаемый фильтрат должен быть прозрачным.

Часть 2. Гидролиз лецитинов. К 1–2 мл спиртового экстракта добавляют равный объем концентрированной серной кислоты и кипятят 10–15 минут на водяной бане. Происходит гидролиз лецитинов с отщеплением свободного холина и жирных кислот.

Гидролизат охлаждают.

Часть 3. Качественные реакции на структурные компоненты:

а) на жирные кислоты. При охлаждении гидролизата на его поверхности появляются жирные пятна – это жирные кислоты.

б) на холин. Каплю гидролизата наносят на предметное стекло и добавляют большую каплю насыщенного раствора I_2 в растворе KI. Накрывают покровным стеклом и наблюдают под микроскопом образование кристаллов холина в виде кососрезанных пластинок и призм бурого цвета (кристаллы Флоранса).

в) на фосфат-ионы. Остаток экстракта упаривают в фарфоровой чашке на водяной бане, добавляют несколько капель концентрированной уксусной кислоты, кристаллик сульфата железа (II) $FeSO_4$, 1 мл раствора пероксида водорода и слабо подогревают (мокрое озоление). Реакция протекает бурно. По окончании реакции экстракт фильтруют и в фильтрате делают пробу на фосфор. Для этого к 1 капле фильтрата прибавляют 1 мл концентрированной азотной кислоты и 5–6 мл раствора молибдата аммония в азотной кислоте. Нагревают. Через 2–3 минуты после начала нагревания образуется желтый кристаллический осадок фосфорно-молибденового аммония, указывающий на присутствие фосфат-иона.

Лабораторная работа № 6

УГЛЕВОДЫ

Опыт №1

Общая реакция на углеводы с α -нафтолом (реакция Молиша)

При действии серной кислоты на самые различные углеводы (кроме моносахаридов) первоначально идет гидролиз. Образующийся моносахарид конденсируется в 5-оксиметилфурфурол. Последний

конденсируется с двумя молекулами α -нафтола в хиноидную структуру, подвергающуюся сульфированию. Образуется ярко окрашенное красно-фиолетовое соединение хиноидного типа.

Сырье, реактивы и оборудование: дистиллированная вода; глюкоза (кристаллическая) или свежеприготовленный 10%-й спиртовой раствор α -нафтола; пипетка; концентрированная серная кислота H_2SO_4 ; пробирки.

Ход работы. В 1 мл воды вносят около 0,01 г глюкозы и 2 капли свежеприготовленного 10%-го спиртового раствора α -нафтола. Смесь слегка мутнеет из-за выпадения α -нафтола. Осторожно из маленькой пипетки по стенке пробирки приливают 1 мл концентрированной H_2SO_4 так, чтобы она опустилась на дно, не смешавшись с водным слоем. При наличии в исследуемом веществе углеводов на границе слоев появляется красно-фиолетовое кольцо. Реакция очень чувствительна, и необходимо следить, чтобы в реакционную смесь не попали углеводные загрязнения.

Опыт №2

Взаимодействие сахаров с солями меди (II) в щелочном растворе (реакция Троммера)

Сырье, реактивы и оборудование: 2%-й раствор моно- или дисахаридов; 2н раствор NaOH; 5%-й раствор $CuSO_4$; спиртовка; зажим с деревянной ручкой; пробирки.

Ход работы. В 2 мл 2%-го раствора моно- или дисахаридов вливают 1 мл 2н раствора NaOH и 2 капли 5%-го раствора $CuSO_4$. Выпадающий гидроксид быстро растворяется, давая темно-синий раствор вследствие образования хелатов меди по расположенным рядом оксигруппам. Медленно нагревают верхнюю часть пробирки в пламени горелки до начала кипения. В присутствии восстанавливающих (глюкоза) сахаров синий цвет исчезает, выделяется желтый или красно-коричневый осадок; если сахара невосстанавливающие (сахароза), то изменения окраски не происходит.

Опыт №3

Взаимодействие альдоз с аммиачным раствором оксида серебра (реакция серебряного зеркала)

Альдегидная группа альдоз, как и обычная альдегидная группа, реагирует с $[Ag(NH_3)_2]OH$ с выделением металлического серебра.

Реактивы: глюкоза 0,5%-й раствор, нитрат серебра 0,2н раствор, аммиак 2н раствор, гидроксид натрия 2н раствор.

Сырье, реактивы и оборудование: раствор нитрата серебра; раствор щелочи; раствор аммиака; раствор глюкозы; спиртовка; зажим с деревянной ручкой; пробирки.

Ход работы. Помещают в пробирку 1 каплю раствора нитрата серебра, 2 капли раствора щелочи и добавляют по каплям 3–4 капли раствора аммиака до растворения образовавшегося ранее осадка гидроксида серебра.

К полученному прозрачному бесцветному аммиачному раствору оксида серебра прибавляют 1 каплю раствора глюкозы и слегка нагревают пробирку до начала побурения раствора. Далее реакция идет без нагревания, и металлическое серебро выделяется в виде черного осадка либо в виде блестящего зеркального налета.

Опыт №4

Реакция Селиванова на фруктозу (на кетозы)

Сырье, реактивы и оборудование: фруктоза, 3%-й раствор; реактив Селиванова; водяная баня; пробирки.

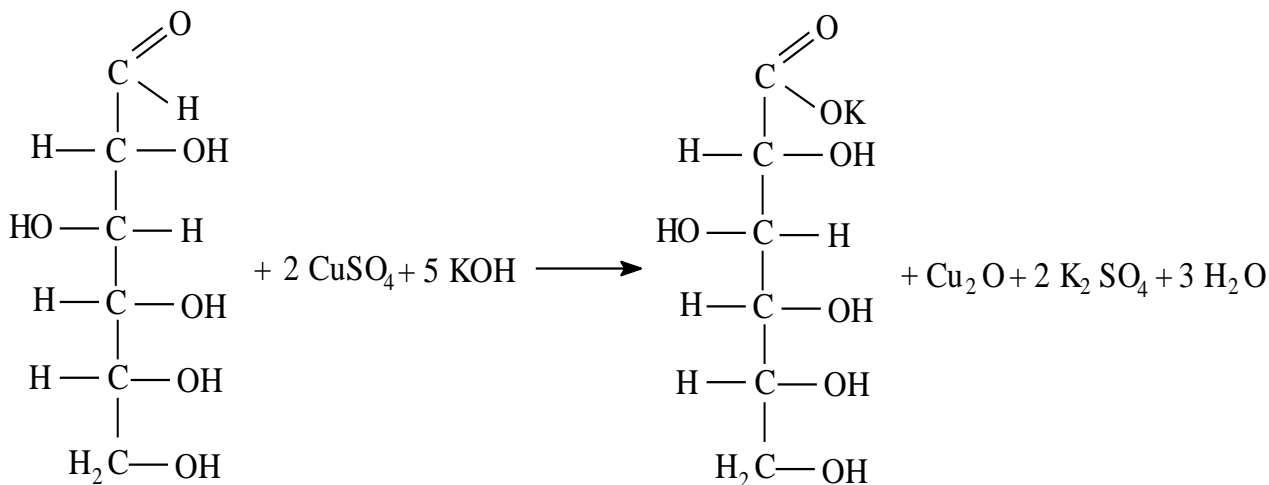
Ход работы. Смешивают 1 мл 3%-го раствора фруктозы с 2 мл реактива Селиванова и нагревают 2–3 мин на кипящей водяной бане. Появление ярко-красного окрашивания указывает на присутствие кетозы.

Реактив Селиванова готовят растворением 0,01 г резорцина в смеси 10 мл воды и 10 мл концентрированной соляной кислоты.

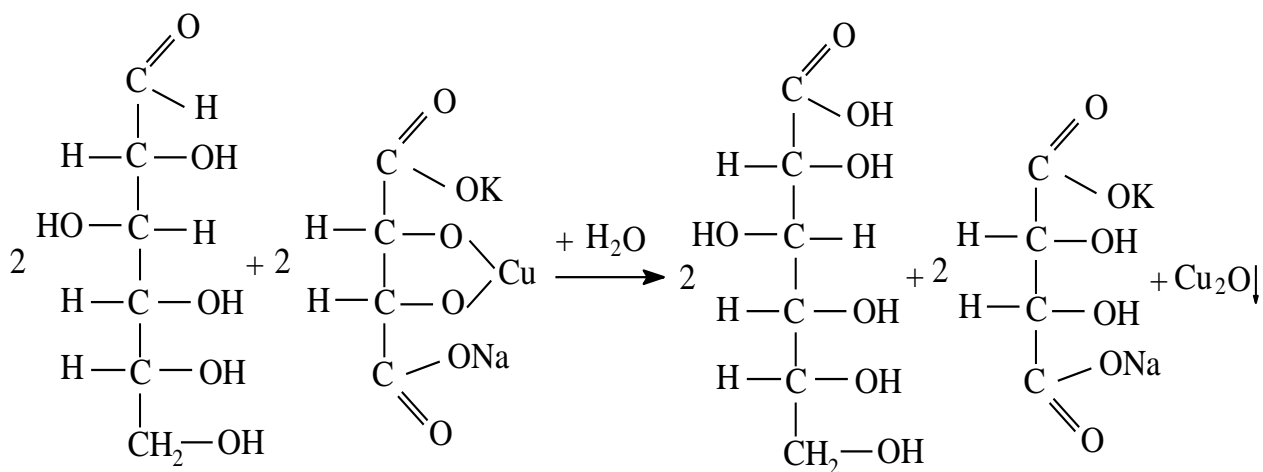
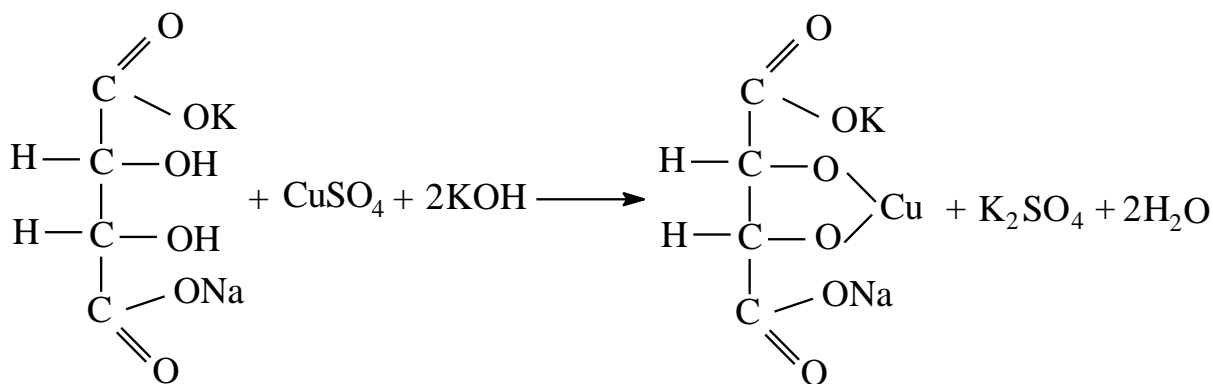
Опыт №5

Определение глюкозы при помощи окислителей

Этот метод основан на способности оксида меди (II) в специально приготовленном растворе количественно реагировать с восстанавливающими углеводами. В основе этого метода находится реакция Троммера:



Эта реакция оксидов меди с глюкозой не идет количественно, однако, если к такой реакционной смеси прибавить сегнетову соль, то образуется комплекс, в котором медь реагирует с глюкозой в точном стехиометрическом соотношении:



Количество Cu_2O , эквивалентное окисленной глюкозе, определяют иодометрическим методом по реакции: $\text{Cu}_2\text{O} + \text{I}_2 = \text{CuO} + \text{CuI}_2$.

Эта реакция в присутствии солей винной и щавелевой кислот практически идет до конца с образованием CuI_2 .

Реактивы и оборудование: глюкоза; раствор Фелинга I, который содержит 40 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 1 л; раствор Фелинга II, который содержит 100 г сегнетовой соли и 100 г NaOH в 1 л; тиосульфат натрия, 0,1н раствор; иод, 0,1н раствор; крахмал, 1%-й раствор; щавелевая кислота, насыщенный раствор; колбы с пробкой на 50 мл.

Ход работы. В две колбочки берут по 5 мл раствора Фелинга I и по 5 мл раствора Фелинга II. Затем в колбу с пробкой добавляют 10 мл раствора глюкозы (около 30 мг); в контрольную колбочку – 10 мл дистиллированной воды. Нагревают до кипения, кипятят 5 минут, затем охлаждают.

Потом в обе колбочки добавляют по 10 мл насыщенного раствора щавелевой кислоты и по 10 мл 0,1н раствора I_2 , перемешивают, оставляют стоять 5 минут, титруют 0,1н раствором $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (индикатор – крахмал). 1 мл 0,1н раствора I_2 соответствует 9,0 мг глюкозы. Количество глюкозы во взятом объеме равняется:

$$C = (B - A) \cdot f \cdot 0,9,$$

где B – количество 0,1н раствора $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, затраченное на титрование контроля;

A – количество 0,1н раствора $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, затраченное на титрование пробы;

f – коэффициент поправки на 0,1н раствор $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (если раствор $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ приготовлен из фиксанала, то $f = 1$).

Опыт №6

Открытие восстанавливающих сахаров в вытяжке из лука, моркови, ягоды, перца

При нагревании водной вытяжки из репчатого лука, моркови и др. с реактивом Фелинга появляется желтый осадок гидроксида меди (I) или красный осадок оксида меди (I). Реакция обусловлена наличием в водной вытяжке глюкозы и других восстанавливающих сахаров, способных восстанавливать гидроксид меди (II) в оксид меди (I).

Реактивы и оборудование: лук репчатый; морковь; ягоды, перец, реактив Фелинга; складчатый фильтр; пробирки.

Ход работы. Репчатый лук и морковь натирают на терке. Из полученной мезги берут около 0,5 г в 2 пробирки, добавляют в каждую

по 2 мл воды и кипятят 3–4 минуты. Жидкость фильтруют через бумажный фильтр и в фильтрате открывают редуцирующие сахара по реакции Фелинга.

Реактив Фелинга разливают в две пробирки и в каждую добавляют по 5–6 капель исследуемого фильтрата лука и моркови. Жидкость перемешивают и нагревают до начала кипения. В присутствии глюкозы выпадает желтый осадок гидроксида меди (I) или красный осадок оксида меди (I).

Опыт №7

Определение крахмала в семенах фасоли

В семенах фасоли содержатся углеводы в форме полисахаридов, в частности, крахмала, который может быть обнаружен реакцией с иодом.

Реактивы и оборудование: фасоль; иод, 1%-й раствор; ступка; стакан на 25 мл; складчатый фильтр; пробирки.

Ход работы. Получение вытяжки из семян фасоли. Берут одно набухшее семечко фасоли и растирают в ступке до состояния кашицы. В ступку добавляют 3 мл воды, тщательно размешивают и содержимое ступки переносят в стакан для отстаивания. После 10–15-минутного настаивания вытяжку отфильтровывают и проводят реакцию на открытие крахмала.

Открытие крахмала реакцией с иодом. В пробирку наливают 10 капель вытяжки фасоли. Содержимое пробирки кипятят 1–2 минуты и охлаждают. В пробирку добавляют 1 каплю 1%-го раствора иода, и жидкость окрашивается в синий цвет.

Опыт №8

Весовой метод определения содержания пектина

Пектин содержится во всех растениях, так как входит в состав клеточных стенок. Особенно богаты им фрукты и ягоды. При нагревании с кислотой и сахаром пектин образует студнеобразную массу.

Реактивы и оборудование: свекла, морковь, яблоко, ягода, цитрусовые; гидроксид натрия, 2н раствор; уксусная кислота, 1н раствор; хлорид кальция, 2н раствор; лимонная кислота; нитрат серебра; сахароза; аналитические весы; мерная колба на 500 мл; химический стакан на 400 мл; беззольный складчатый фильтр; бюкс; сушильный шкаф; фарфоровая чашка; песчаная баня; плоские формочки.

Ход работы. К 100 г овощей или фруктов растертых в ступке до однородной массы и отвешенных с точностью до 0,01 г прибавляют 100 мл дистиллированной воды и тщательно размешивают стеклянной палочкой, после чего фильтруют до полной прозрачности. Далее 10 мл полученного таким образом экстракта количественно переносят в химический стакан емкостью 400 мл, прибавляют 100 мл 2н раствора NaOH и оставляют стоять на 25 минут при комнатной температуре. Затем к раствору в стакане прибавляют 50 мл 1н раствора уксусной кислоты, через 5 мин – 50 мл 2н раствора хлорида кальция и оставляют стоять на 1 час. Через 1 час смесь кипятят 5 мин, фильтруют через взвешенный и высушенный до постоянной массы беззольный фильтр, промывают осадок пектата кальция кипящей водой до тех пор, пока в промывной жидкости при качественной реакции с нитратом серебра перестанет выпадать белый осадок хлорида серебра. Осадок пектата кальция, не содержащего хлора, вместе с фильтром помещают в бюкс и сушат в сушильном шкафу при 100°С до постоянного веса.

Обработка результатов. Содержание пектиновой кислоты (X) в процентах вычисляют по формуле

$$X = \frac{(y_2 - y_1) \cdot 0,99 \cdot V \cdot 100}{y \cdot V_1},$$

где y_1 – масса бюкса с высушенным фильтром и осадком пектата кальция, г;

y_2 – масса бюкса с высушенным фильтром, г;

0,99 – коэффициент пересчета на пектиновую кислоту;

V – объем, до которого разбавлена навеска, мл;

V_1 – объем раствора, взятый для определения, мл;

y – навеска экстракта, г.

Вычисления производят с точностью до 0,01 % .

Испытание желирующей способности пектина. Оптимальные условия образования желе системы пектин-сахар-кислота следующие: 60% содержания сахара, 1% концентрация пектина, $pH = 2,6 \div 3,1$. В фарфоровую чашку наливают 25 мл 1%-го раствора пектина, добавляют 15 г сахарозы, перемешивают стеклянной палочкой и нагревают до кипения на песчаной бане. После 10-минутного кипячения в слегка упаренную смесь добавляют 1 мл 40%-го раствора лимонной кислоты, хорошо перемешивают и разливают в плоские формочки. Через

2–3 часа желе застывает. Сырьем для получения пектина на производстве служат яблоки, корки цитрусовых, свекловичный жом, шляпки подсолнечника и др.

Опыт №9

Получение сахара кальция

Сахарозу в промышленности получают из сока сахарного тростника или сахарной свеклы. Сахарная свекла содержит в среднем около 17,5% сахара. Для получения сахарозы свекла или сахарный тростник подвергаются обработке: мойке, резке, обработке в диффузионных аппаратах. В диффузионном аппарате происходит извлечение сахарного сока методом экстракции растворимых веществ из твердого измельченного материала путем нагревания с водой. Затем следует очистка диффузионного сока методом дефикации. *Дефикация* – это очистка свекловичного сока от примесей с помощью извести. На этой стадии обработки к соку добавляют небольшое количество извести (0,2–0,3%), создавая условия для выпадения в осадок белков и коллоидных веществ. После отделения осадка в раствор вводят около 2–3% оксида кальция. Образующийся при этом гидроксид кальция взаимодействует с раствором сахарозы с образованием сахара кальция.

Следующий этап получения сахара – сатурация. *Сатурация* – это насыщение раствора (сахарного сиропа) углекислым газом. В сатурационных котлах углекислый газ противотоком движется навстречу сахарному соку, обработанному известью, и из сахаратов под воздействием диоксида углерода регенерируется сахароза. Далее следует выпаривание раствора до концентрации сухих веществ 92,5%, центрифугирование и высушивание осадка. В результате перечисленных процессов получают сахар-песок.

Сырье, реактивы и оборудование: сахароза, 20%-й раствор; свежеприготовленное известковое молоко; воронка, фильтровальная бумага; спиртовка; зажим с деревянной ручкой; стакан вместимостью 50 мл; пробирки; стеклянная палочка.

Ход работы. В стакан вместимостью 50 мл наливают 10 мл 20%-го раствора сахарозы и по каплям при перемешивании прибавляют свежеприготовленное известковое молоко. Происходит растворение гидроксида кальция. После этого добавляют еще 5 мл известкового молока, перемешивают и через несколько минут фильтруют через складчатый фильтр. Прозрачный фильтрат, содержащий рас-

творимый при комнатной температуре сахарат кальция, наливают в пробирку и нагревают в пламени горелки. При этом раствор становится мутным, и выпадают мелкие кристаллы сахарата кальция $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot 3CaO \cdot 6H_2O$. при охлаждении на ледяной бане кристаллы снова растворяются.

Опыт №10

Образование декстрина и его реакции

При нагревании до 200–250°C большие молекулы крахмала (амилоза и амилопектин) распадаются на молекулы меньшего размера, образуя смесь декстринов. Эти продукты распада крахмала в отличие от самого крахмала довольно хорошо растворимы в воде, содержат значительно большее число свободных гликозидных гидроксильных групп и обнаруживают явные восстановительные свойства.

Сырье, реактивы и оборудование: сухой крахмал; иод, раствор; спирт; щелочь, раствор; соль двухвалентной меди в щелочном растворе; спиртовка; зажим с деревянной ручкой; вода; воронка, фильтровальная бумага; пробирки.

Ход работы. Около 0,5 г сухого крахмала очень осторожно, при постоянном встряхивании нагревают в сухой пробирке на пламени горелки до начала пожелтения порошка. Дают пробирке остыть. К образовавшемуся декстрину добавляют 5–6 мл холодной воды, смесь сильно встряхивают 1–2 минуты и фильтруют через бумажный фильтр. Прозрачный фильтрат делят на четыре части и проводят с ним реакции с иодом, со спиртом, щелочью при нагревании и с солью двухвалентной меди в щелочном растворе при нагревании. Во всех случаях наблюдается различие между отношением крахмала и декстрина к этим реактивам. Так, иод окрашивает раствор декстрина в бурый или красноватый цвет, спирт осаждает из водного раствора хлопья декстрина, при кипячении со щелочью раствор декстрина окрашивается в ярко-желтый или коричневый цвет, двухвалентная медь восстанавливается декстрином до одновалентной, и реакционная смесь при нагревании краснеет.

Лабораторная работа № 7

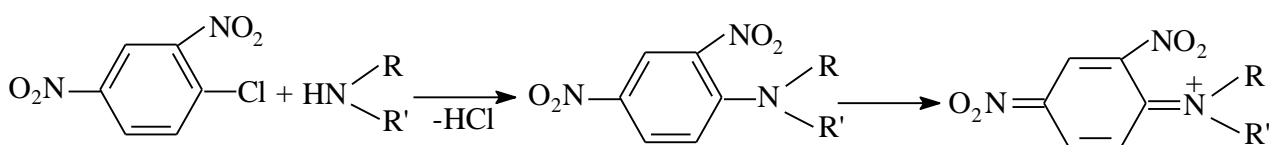
АЗОТСОДЕРЖАЩИЕ ОРГАНИЧЕСКИЕ СОЕДИНЕНИЯ

Амины

Опыт №1

Обнаружение аминогруппы по реакции с 2,4-динитрохлорбензолом

В бесцветном 2,4-динитрохлорбензоле атом хлора весьма подвижен и в мягких условиях реагирует с аминами, образуя окрашенные в желтый цвет продукты конденсации:



Реакция проходит только со свободными основаниями.

Сырье, реактивы и оборудование: исследуемое вещество, эфирный раствор; 2,4-динитрохлорбензол, 1%-й раствор в эфире; пробирки.

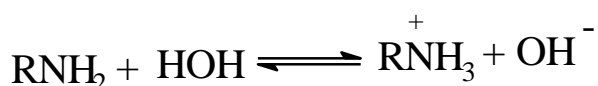
Ход работы. К 1–2 каплям исследуемого эфирного раствора вещества в микропробирке прибавляют 1–2 капли 1%-го эфирного раствора 2,4-динитрохлорбензола и выпаривают эфир на водяной бане. Желтое или бурое остающееся пятно указывает на наличие аминов. Гетероциклы, содержащие атом азота с основными свойствами, также дают положительную реакцию (пиридин, хинолин, имидазол, пурин и т.д.).

Опыт №2

Исследование основных свойств аминов

Сырье, реактивы и оборудование: универсальная индикаторная бумага или фенолфталеин; пробирки.

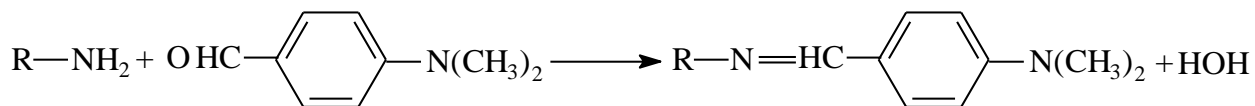
Ход работы. Исследуемый водный раствор желательно испытать на универсальную индикаторную бумагу или фенолфталеин. Хотя основность аминов колеблется весьма сильно ($pK_a = 5$ для анилина и $pK_a = 10$ для алифатических аминов), но в случае алифатических аминов эта простая проба позволяет сразу установить их присутствие:



Опыт №3

Обнаружение первичных аминов реакцией с *n*-диметиламино-бензальдегидом (реакция Эрлиха)

Соединения с первичной аминогруппой реагируют с *n*-диметиламинобензальдегидом, образуя желтые основания Шиффа:



Окрашенные соединения дают также некоторые гетероциклические соединения (индол и др.). Но в этих случаях обычно требуется добавить следы кислоты.

Сырье, реактивы и оборудование: *n*-диметиламинобензальдегида, насыщенный бензольный раствор; исследуемый эфирный раствор; фильтровальная бумага; сушильный шкаф.

Ход работы. Каплю насыщенного бензольного раствора *n*-диметиламинобензальдегида помещают на полоску фильтровальной бумаги. Наносят каплю исследуемого эфирного раствора и помещают в сушильный шкаф (100°C) на 3–4 мин. При положительной реакции появляется желто-оранжевое пятно.

Опыт №4

Обнаружение третичных аминов по реакции с лимонной кислотой и уксусным ангидридом

Сырье, реактивы и оборудование: 2 г лимонной кислоты в 100 мл уксусного ангидрида; исследуемое вещество; водяная баня; пробирки.

Ход работы. Каплю раствора (2 г лимонной кислоты в 100 мл уксусного ангидрида) смешивают с кристалликом или каплей исследуемого вещества. Нагревают смесь на кипящей водяной бане. При наличии третичных аминов появляется пурпурно-красное окрашивание. Химизм процесса не установлен.

Аминокислоты

Все описываемые ниже качественные реакции приведены для α -аминокислот, имеющих наиболее важное значение в жизни организмов. Аминокислоты других типов обычно обнаруживают, используя качественные реакции на амино- и карбоксильную группы.

Опыт №5

Отношение аминокислот к индикаторам

Сырье, реактивы и оборудование: аминокусусная кислота; аспарагиновая кислота; лизин; метиловый оранжевый, раствор; лакмус, раствор; пробирки.

Ход работы. В пробирку помещают 2 капли раствора аминокусусной кислоты и добавляют одну каплю метилового оранжевого. Такой же опыт проделывают с лакмусом. Окраска индикаторов не меняется.

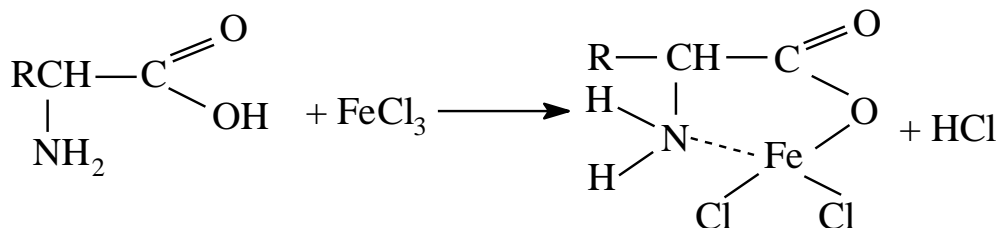
Во второй пробирке проделывают аналогичный опыт с аспарагиновой кислотой. В третьей – с лизином. Какая среда будет в данных случаях?

Поясните ваши наблюдения с помощью соответствующих уравнений реакций.

Опыт №6

Реакция α -аминокислот с $FeCl_3$

При действии $FeCl_3$ в водных растворах на α -аминокислоты образуются хелаты, окрашенные в красный цвет:



При добавлении минеральных кислот окраска исчезает.

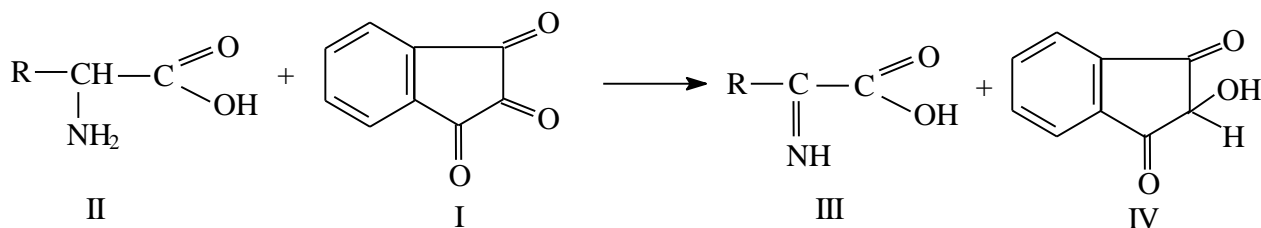
Сырье, реактивы и оборудование: α -аминокислота; $FeCl_3$, 3%-й раствор; пробирки.

Ход работы. К 0,05 г α -аминокислоты, растворенной в 1 мл воды, добавляют каплю 3%-го раствора $FeCl_3$. Возникшая красная окраска доказывает присутствие аминокислот.

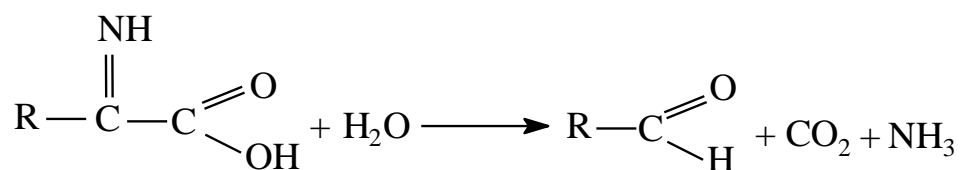
Опыт №7

Реакция с нингидрином

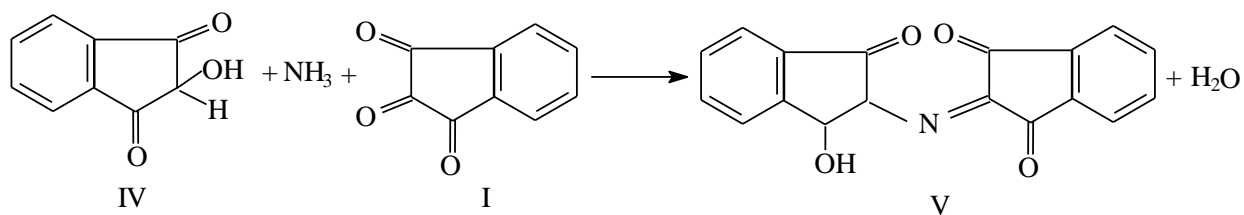
Нингидрин (I) дегидрирует аминокислоту (II) до иминокислоты (III), превращаясь в спирт (IV).



Иминокислота разлагается, образуя альдегид, CO_2 и NH_3 .



Последний конденсируется с избытком нингидрина (I) и спиртом (IV), давая сине-фиолетовый краситель (V).

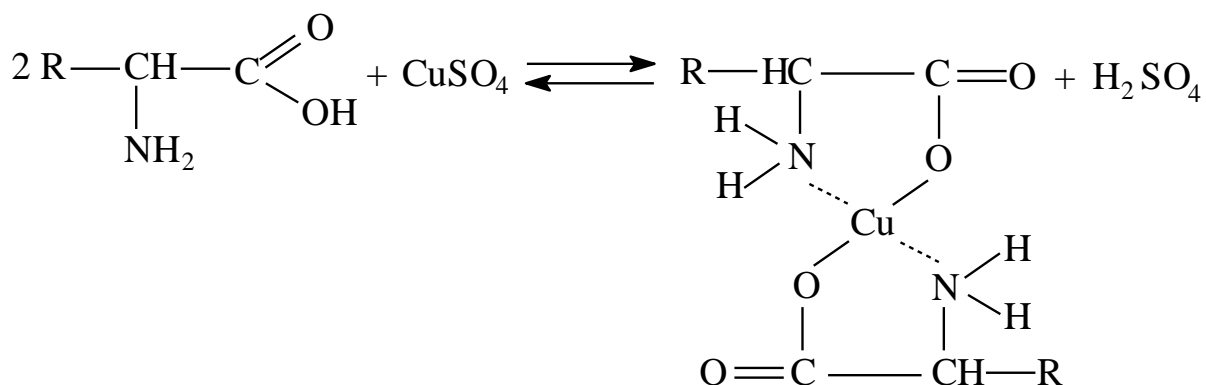


Ход работы. В 1 мл 1%-го раствора аминокислоты вливают каплю 0,03%-го раствора нингидрина. Смесь в микропробирке нагревают до кипения. Появление желтой, красной или синей окраски подтверждает присутствие аминокислоты.

Опыт №8

Реакция с солями меди

В слабых кислотах аминокислоты дают с солями меди яркие синие хелаты:



Для сдвига равновесия реакции вправо ее лучше проводить в буферном растворе с добавкой ацетата натрия.

Сырье, реактивы и оборудование: аминокислота, 1%-й раствор; кристаллик медного купороса; кристаллик ацетата натрия; пробирки.

Ход работы. В 1 мл 1%-го раствора аминокислоты вносят кристаллик медного купороса и кристаллик ацетата натрия. В присутствии аминокислоты раствор становится густо-синим.

Опыт №9

Разделение аминокислот методом хроматографии на бумаге

Принцип метода. Метод распределительной хроматографии на бумаге представляет собой одну из модификаций метода хроматографического анализа, предложенного М.С. Цветом в 1903 г.

Разделение смеси аминокислот основано на их различной растворимости в двух несмешивающихся жидкостях. Одной из жидкостей служит вода, другой – насыщенный водой органический растворитель.

Каплю смеси аминокислот наносят на полоску (или кружок) фильтровальной бумаги, конец которой опускают в подходящий органический растворитель. Растворитель поднимается по полоске бумаги, растворяет нанесенные на бумагу аминокислоты и увлекает их за собой. Скорость перемещения разных аминокислот по бумаге различна, так как зависит от их различной растворимости: чем больше растворимость аминокислоты в воде и чем меньше ее растворимость в органическом растворителе, тем медленнее движется аминокислота по сравнению с фронтом органического растворителя.

Положение отдельных аминокислот на фильтровальной бумаге обнаруживают при помощи цветной реакции с нингидрином.

Идентификация (опознание) аминокислот на хроматограммах проводится путем нанесения на ту же хроматограмму «свидетелей» – растворов отдельных аминокислот. Можно также идентифицировать аминокислоты по величине R_f – отношению расстояния, пройденного аминокислотой от места нанесения (a), к расстоянию, пройденному фронтом растворителя (b), то есть $R_f = a/b$. Коэффициент R_f является величиной, характерной для аминокислоты и постоянной при данных условиях опыта.

Сырье, реактивы и оборудование: смесь аминокислот; гистидин, 0,4%-й раствор; глутаминовая кислота, 0,6%-й раствор; лейцин, 0,5%-й раствор; нингидрин, 0,2%-й раствор в ацетоне; система растворителей: бутанол, уксусная кислота и вода в соотношении 4:1:5; хроматографическая бумага; чашки Петри; стеклянные капилляры; пульверизатор; толстая игла.

Ход работы. Диск из хроматографической бумаги диаметром 12 см размечают карандашом на 4 сектора. Вокруг центра карандашом описывают окружность радиусом 10 мм (линия старта), сектора диска нумеруют. Затем бумажный диск помещают на чашку Петри так, чтобы она лежала на краях чашки. После этого в середину каждого сектора на линию старта наносят растворы «свидетелей» и анализируемую смесь аминокислот.

Из небольшого треугольника хроматографической бумаги скатывают фитилек и вставляют в отверстие, сделанное заранее толстой иглой в центре бумажного диска. Нижний конец фитилька должен касаться дна чашки. В чашку Петри наливают 10–15 мл системы растворителей.

Хроматограмму плотно прикрывают крышкой, внутренний диаметр которой равен диаметру основания чашки Петри. По фитильку растворитель поднимается и распределяется по бумаге от центра к краям. Когда фронт растворителя дойдет до краев чашки Петри, хроматограмму снимают, отмечают карандашом фронт растворителя и сушат при 105°C в течение 5 минут.

Высушенную хроматограмму проявляют – опрыскивают из пульверизатора раствором нингидрина и вновь сушат минуты 3–4. На хроматограмме появляются окрашенные пятна, указывающие положение аминокислот.

Для каждой аминокислоты рассчитывают среднее значение R_f . Аминокислоты анализируемой смеси идентифицируют, сравнивая их R_f с R_f аминокислот – «свидетелей».

Белки

Опыт №10

Денатурация белков при кипячении

Сырье, реактивы и оборудование: раствор яичного белка; спиртовка; зажим с деревянной ручкой; пробирки.

Ход работы. В пробирку помещают 5 капель раствора яичного белка и нагревают до кипения. Содержимое пробирки охлаждают и пытаются растворить его в воде.

Опыт №11

Осаждение белка солями тяжелых металлов

Сырье, реактивы и оборудование: раствор яичного белка; сульфат меди (II), 2%-й раствор; ацетат свинца (II), 10%-й раствор; пробирки.

Ход работы. Возьмите две пробирки и в каждую из них поместите по 10 капель раствора яичного белка. В первую пробирку прилейте 1 каплю 2%-го раствора сульфата меди (II), а во вторую – 1 каплю 10%-го раствора ацетата свинца (II). В обеих пробирках выпадают осадки, растворимые в избытке реактива.

Опыт №12

Осаждение белков концентрированными минеральными кислотами

Сырье, реактивы и оборудование: концентрированная азотная кислота; раствор яичного белка; концентрированная серная кислота; пробирки.

Ход работы. К 5 каплям концентрированной азотной кислоты осторожно по стенке пробирки приливают 5 капель раствора белка так, чтобы обе жидкости не смешивались. На границе двух жидкостей образуется осадок в виде небольшого белого кольца (проба Геллера). Осторожно встряхивают пробирку и добавляют избыток азотной кислоты: осадок не исчезает, так как в избытке азотной кислоты он не растворяется.

Осаждение серной кислотой проводят аналогично реакции с азотной кислотой. К 5 каплям концентрированной серной кислоты осторожно по стенке пробирки приливают 5 капель раствора белка. Образуется осадок, растворимый в избытке серной кислоты (при встряхивании).

Опыт №13

Осаждение белков органическими веществами

Сырье, реактивы и оборудование: раствор яичного белка; раствор сульфосалициловой кислоты; раствор трихлоруксусной кислоты; этиловый спирт; насыщенный раствор хлорида натрия; насыщенный раствор пикриновой кислоты; раствор уксусной кислоты; пробирки.

Ход работы. Осаждение:

а) *органическими кислотами.* В две пробирки и помещают по 5 капель раствора яичного белка. В первую пробирку добавляют 2 капли раствора сульфосалициловой кислоты. А во вторую – 2 капли трихлоруксусной кислоты. В обеих пробирках выпадают осадки белка;

б) *спиртом.* К 5 каплям раствора яичного белка приливают 15–20 капель этилового спирта. При этом наблюдается помутнение раствора. Прибавляют к полученному раствору 1 каплю насыщенного раствора хлорида натрия. Выпадает осадок белка;

в) *алкалоидными реактивами.* К 5 каплям раствора яичного белка прибавляют 2 капли насыщенного раствора пикриновой кислоты и 2 капли раствора уксусной кислоты. Наблюдается выпадение осадка.

Опыт №14

Денатурация белков фенолом и формальдегидом

Белки образуют с фенолом и формальдегидом малорастворимые продукты конденсации. Реакция протекает с участием имеющихся в молекуле белка свободных аминогрупп. Фенол быстро осаждает белок из раствора, при этом раствор мутнеет, образуются хлопья или сгустки. Формалин «дубит» белок, уплотняя его консистенцию и сильно снижая растворимость в воде и способность к набуханию. В обоих случаях происходит денатурация белка. Живые клетки микроорганизмов при денатурации белков их плазмы гибнут, на этом основано применение фенола и формалина для дезинфекции.

Сырье и реактивы: яичный белок или желатин, нейтрализованный раствор; желатин сухой в виде полосок 50×8 мм²; фенол, насыщенный водный раствор; формалин, 30–40%-й раствор формальдегида.

Ход работы.

1. К 1–2 каплям раствора яичного белка или желатина прибавляют по каплям раствор фенола и отмечают наблюдаемые изменения.

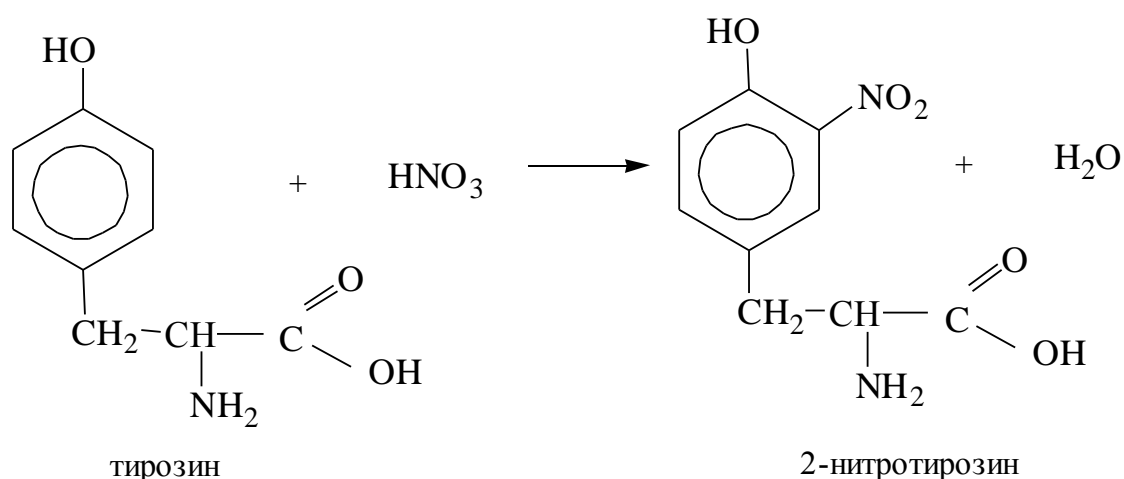
2. В пробирку наливают 1–1,5 мл формалина и равный объем воды. Встряхнув полученный раствор, помещают в него полоску сухого желатина так, чтобы лишь нижняя ее половина была погружена в жидкость. Через 15–20 минут сливают жидкость, а оставшуюся в пробирке полоску желатина заливают горячей водой так, чтобы полоска полностью погрузилась в нее. Отмечают различие характера набухания и растворения верхней и нижней частей полоски желатина.

Качественные реакции на белки

Опыт №15

Ксантопротеиновая реакция на белки

Ксантопротеиновая реакция обнаруживает наличие в белке одиночных или конденсированных ароматических ядер, то есть остатков таких кислот, как фенилаланин, тирозин, триптофан. Желтое окрашивание появляется в результате нитрования этих ядер азотной кислотой и образования полинитросоединений. Переход в щелочной среде желтой окраски подобных веществ в оранжевую обусловлен образованием более интенсивно окрашенных анионов.



Кислотные альбуминаты, образующиеся при энергичном действии кислот на белки, нерастворимы в воде и в разбавленных растворах солей, но хорошо растворяются в щелочах и разбавленных кислотах. Кислотные альбуминаты связывают значительно большее количество щелочи, чем исходный белок.

Чистый желатин не содержит аминокислот, перечисленных выше, и не дает ксантопротеиновой реакции.

Сырье, реактивы и оборудование: 10%-й раствор яичного альбумина; концентрированная азотная кислота; концентрированный раствор аммиака; пробирки.

Ход работы. В пробирку вносят около 1 мл 10%-го раствора яичного альбумина и 1 мл концентрированной азотной кислоты.

Образующийся при нагревании сгусток белка окрашивается в желтый цвет, который от добавления концентрированного раствора аммиака переходит в оранжевый. Окрашивание возникает в результате нитрования остатков ароматических аминокислот белковой молекулы.

Опыт №16

Биуретовая реакция на белки

Биуретовая реакция является качественной реакцией для обнаружения пептидов и белков – соединений, содержащих группу $-\text{CO}-\text{NH}-$.

Продукты распада белка – полипептиды – также дают биуретовую реакцию. Цвет образующихся медных комплексов определяется числом аминокислот, связанных пептидной связью. Дипептиды дают синюю окраску, трипептиды – фиолетовую, а тетрапептиды и более сложные пептиды – красную. Фиолетовый цвет медного комплекса с белком в условиях проведения биуретовой реакции указывает на преобладание в сложной белковой частице трипептидных группировок (это подтверждается и другими данными).

Некоторые атомные группы, как $-\text{CS}-\text{NH}-$, $-\text{C}(\text{NH})\text{NH}-$, накапливаясь в молекуле, также дают биуретовую реакцию. При ее проведении следует избегать избытка медной соли, так как образующийся в этом случае синий гидроксид меди (II) маскирует появление фиолетовой окраски.

Сырье, реактивы и оборудование: 10%-й раствор яичного альбумина; 10%-й раствор гидроксида натрия; 2%-й раствор сульфата меди (II) CuSO_4 ; пробирки.

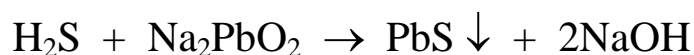
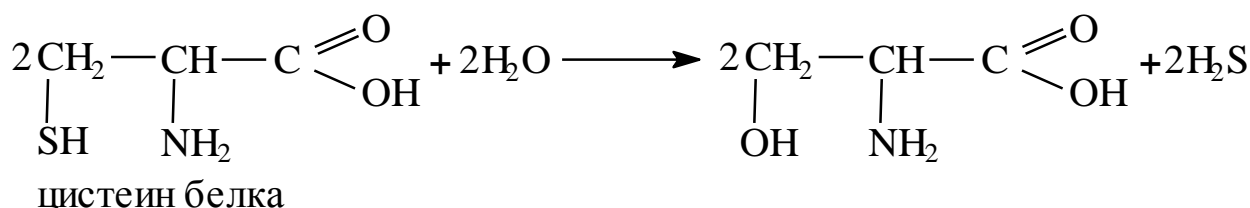
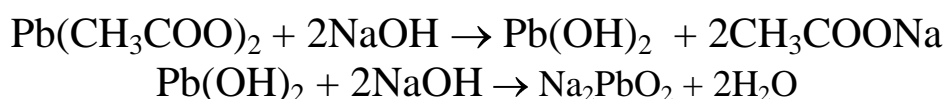
Ход работы. В пробирку с 1 мл 10%-го раствора яичного альбумина вливают 1 мл 10%-го раствора гидроксида натрия и 2 капли 2%-го раствора сульфата меди (II). Появляется красно-фиолетовое окрашивание, указывающее на наличие в белковой молекуле пептидных связей $-\text{CO}-\text{NH}-$.

Опыт №17

Реакция на серу в белках

Сырье, реактивы и оборудование: 10%-й раствор яичного альбумина; 30%-й раствор гидроксида натрия; раствор ацетата свинца; пробирки.

Ход работы. В 1 мл 10%-го раствора яичного альбумина вливают 1 мл 30%-го раствора гидроксида натрия и 3–4 капли раствора ацетата свинца. При кипячении выделяется коричнево-черный осадок сульфида свинца.



Опыт №18

Реакция Миллона

При использовании реакции Миллона как реакции на белок основываются на присутствии в большинстве белков тирозина, являющегося замещенным фенолом.

Сырье, реактивы и оборудование: 10%-й раствор яичного белка; реактив Миллона; спиртовка; зажим с деревянной ручкой; пробирки.

Ход работы. К 1 мл 10%-го раствора яичного белка прибавляют 1 мл реактива Миллона и нагревают смесь в пробирке. Образование кирпично-красного сгустка указывает на присутствие белка.

Реактив Миллона готовят растворением 1 г ртути в 2 мл концентрированной HNO_3 ($\rho = 1,42$) сначала на холоде, а затем при нагревании (**осторожно! под тягой!**). Реактив разбавляют двойным объемом воды, оставляют на 2 ч и декантацией сливают с осадка.

Выделение белков

Опыт №19

Разделение альбуминов и глобулинов яичного белка методом высаливания

Сырье, реактивы и оборудование: раствор яичного белка, 3%-й раствор; дистиллированная вода; уксусная кислота, 1%-й раствор; хлорид натрия NaCl, кристаллы; сульфат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, насыщенный раствор; сульфат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, кристаллы; пробирки; воронки; стеклянные палочки; бумажные фильтры; спиртовка; пипетка на 10 мл.

Ход работы.

1. К 1 мл раствора яичного белка приливают 9 мл дистиллированной воды. Наблюдают помутнение раствора вследствие выпадения осадка глобулинов.

2. К 1 мл раствора яичного белка добавляют поваренную соль до насыщения (пока соль не перестанет растворяться). Выпадает белый аморфный осадок глобулинов. Через 10 минут осадок отфильтровывают. Пробирку с фильтратом кипятят и наблюдают выпадение осадка яичного альбумина.

3. К 1 мл раствора яичного белка добавляют равный объем насыщенного раствора сульфата аммония. Выпадает осадок глобулинов. Осадок отфильтровывают и к фильтрату добавляют порошок сульфата аммония до насыщения, при этом образуется коагулят яичного альбумина, который всплывает вверх вследствие высокой плотности жидкости.

Опыт №20

Выделение казеина из молока

В молоке казеин находится в виде растворимой кальциевой соли, то есть в виде анионов. Свободный же казеиноген в форме электронейтральных молекул отличается весьма малой устойчивостью в воде. Поэтому при подкислении молока до pH 4,7 (изоэлектрическая точка казеиногена) казеиноген выпадает в осадок, то есть молоко свертывается.

Сырье, реактивы и оборудование: молоко; дистиллированная вода; 10%-й раствор уксусной кислоты; 10%-й раствор гидроксида натрия; 1%-й раствор сульфата меди (II); концентрированная уксусная кислота; концентрированная серная кислота; воронка; фильтро-

вальная бумага; стеклянная палочка; спиртовка; зажим с деревянной ручкой; пробирки.

Ход работы. К 2 мл молока добавляют 2 мл дистиллированной воды и 2 капли 10%-й уксусной кислоты. Образовавшийся осадок казеина отфильтровывают, осторожно снимают с фильтра стеклянной палочкой и помещают в чистые пробирки.

Для доказательства белковой природы казеина с осадком проводят цветные реакции на белки:

А. Биуретовая реакция (реакция Пиотровского)

При добавлении к щелочному раствору белка раствора сульфата меди жидкость приобретает красно-фиолетовое или сине-фиолетовое окрашивание. Реакция обусловлена присутствием в белке пептидных связей, которые с ионами меди образуют окрашенные солеобразные комплексные соединения.

Ход работы. В пробирку с водной смесью казеина приливают 5 капель 10%-го раствора гидроксида натрия и 2 капли 1%-го раствора сульфата меди (II). В пробирке появляется устойчивое красно-фиолетовое или сине-фиолетовое окрашивание.

Б. Реакция на триптофан (реакция Адамкевича)

Триптофан в кислой среде вступает в реакцию с глиоксалевой кислотой, присутствующей в виде примеси в концентрированной уксусной кислоте, образуя при этом окрашенные в красно-фиолетовый цвет продукты конденсации.

Ход работы. В пробирку со взвесью казеина в ацетоне приливают 5 капель концентрированной уксусной кислоты, слегка нагревают и подкисливают равным объемом концентрированной серной кислоты. На границе двух слоев жидкости появляется красно-фиолетовое кольцо, постепенно распространяющееся на всю жидкость. При нагревании в кипящей водяной бане окраска развивается быстрее.

Опыт №21

Гидролиз казеина и открытие в гидролизате фосфорной кислоты

Сырье, реактивы и оборудование: казеин, порошок; 10%-й раствор гидроксида натрия; концентрированная азотная кислота; лакмус, раствор; молибдат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, раствор в азотной кислоте; пробирка снабженная пробкой с газоотводной трубкой; штатив; спиртовка; зажим с деревянной ручкой; воронка; фильтровальная бумага; пробирки.

Ход работы. В большую широкогорлую пробирку (15×1,5 см) помещают 100 мг казеина в виде порошка, приливают 4 мл 10%-го раствора гидроксида натрия, закрывают пробкой с трубкой длиной 25–30 см и закрепляют жестко в штативе под углом 45°. Гидролиз проводят при нагревании около часа, считая с момента закипания. После окончания гидролиза жидкость охлаждают, нейтрализуют концентрированной азотной кислотой (12–15 капель) до слабокислой реакции на лакмус. При этом выпадает осадок продуктов неполного гидролиза белка. Осадок отфильтровывают, а с фильтратом проделывают пробу на фосфорную кислоту, для чего к 1 капле фильтрата прибавляют 1 мл концентрированной азотной кислоты и 5–6 мл раствора молибдата аммония в азотной кислоте. Нагревают. Через 2–3 минуты после начала нагревания образуется желтый кристаллический осадок фосфорно-молибденового аммония, указывающий на присутствие фосфат-иона.

Опыт №22

Определение белков в молоке по реакции с концентрированной азотной кислотой

Метод основан на ксантопротеиновой реакции белков с концентрированной азотной кислотой, сопровождающейся образованием желто-оранжевого продукта.

Сырье, реактивы и оборудование: молоко; азотная кислота концентрированная, плотность $1,48 \cdot 10^3 \text{ кг/м}^3$; гидроксид натрия, 0,2M раствор; аммиак, 15%-й раствор; фотоэлектроколориметр или спектрофотометр и кюветы с толщиной поглощающего слоя 1 см; водяная баня; воронка диаметром 5–7 см; складчатый фильтр; градуированные пипетки на 1 мл, 5 мл и 10 мл; пробирки на 20 мл.

Ход работы. В пробирку помещают 1 мл анализируемого молока и 9 мл раствора гидроксида натрия, перемешивают. Через 30 минут 1 мл жидкости переносят в другую пробирку, добавляют 1 мл азотной кислоты, перемешивают и нагревают 5 минут на кипящей водяной бане. При этом раствор становится желтым. Пробирку охлаждают струей водопроводной воды, осторожно добавляют 3 мл раствора аммиака и 5 мл воды, раствор приобретает оранжевую окраску. Жидкость фильтруют и измеряют оптическую плотность прозрачного фильтрата при 420 нм (спектрофотометр) или при светофильтре № 4 (фотоэлектроколориметр). Контроль – дистиллированная вода.

Вычисления. Найденную оптическую плотность умножают на эмпирический коэффициент, равный 7,3–7,5, получают процентное содержание белков в анализируемом молоке. Коэффициент пересчета находят заранее путем определения белков по Кьельдалю и описанным выше ксантопротеиновым методам.

Лабораторная работа №8

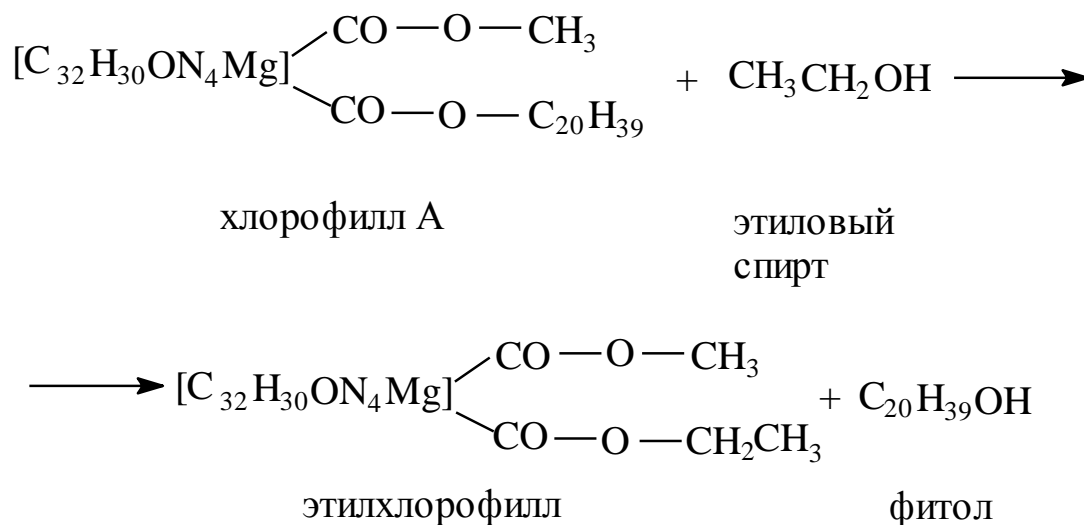
РАСТИТЕЛЬНЫЕ ПИГМЕНТЫ И КРАСИТЕЛИ

Хлорофилл и каротиноиды являются растительными пигментами, которые играют важную роль в процессе обмена веществ у растений. Они хорошо растворяются в органических растворителях (эфир, ацетон, спирт) и не растворяются в воде. При экстрагировании высушенных растений органическими растворителями в экстракт переходят растительные пигменты и растения обесцвечиваются.

Опыт №1

Экстрагирование пигментов из листьев крапивы

При настаивании листьев крапивы с горячим спиртом хлорофилл и другие пигменты с разной скоростью переходят в раствор. Хлорофилл при взаимодействии со спиртом превращается в этилхлорофилл – сложный эфир, в котором остаток фитола замещен остатком этилового спирта.



Сырье, реактивы и оборудование: сушеная крапива; этиловый спирт; бензин; баритовая вода; ступка; пробирки; водяная баня; складчатый фильтр.

Ход работы. 0,5 г сушеной крапивы измельчают в ступке, заливают 5 мл этилового спирта, переносят в пробирку и нагревают на кипящей водяной бане. Когда спирт закипит, жидкость фильтруют через бумажный фильтр. Фильтрат зеленого цвета с интенсивно красной флюоресценцией содержит хлорофилл, ксантофилл и другие пигменты. Фильтрат используют для открытия в нем пигментов.

Разделение пигментов по Краусу

Ход работы. К 10 каплям полученного спиртового раствора хлорофилла прибавляют равный объем бензина, и содержимое пробирки тщательно встряхивают, постукивая пальцами по дну пробирки. Зеленые пигменты – хлорофилл и хлорофиллиды – переходят в верхний бензиновый слой, а в нижнем слое остается желтый пигмент – ксантофилл. Если разделение слоев сразу не происходит, добавляют 1–2 капли воды и содержимое пробирки вновь встряхивают.

Опыт №2

Получение вытяжки из шиповника и открытие в нем каротина

Каротиноиды представляют собой красящие вещества, широко распространенные в растительном мире. Каротин встречается в природе в виде трех изомеров (α , β и γ), являясь провитамином А.

Сырье, реактивы и оборудование: шиповник (плоды); хлороформ; серная кислота концентрированная; ступка; пробирки.

Ход работы. Мякоть шиповника в количестве 50 мг растирают в ступке со стеклянным песком, переносят в чистую сухую пробирку, добавляют 5–10 капель хлороформа и встряхивают. Каротин переходит в хлороформный раствор. Три капли полученной вытяжки переносят в чистую сухую пробирку, по стенке добавляют 5 капель концентрированной серной кислоты и осторожно встряхивают. В присутствии каротина верхний хлороформный слой жидкости окрашивается вначале в зеленоватый, а затем в синий цвет.

Опыт №3

Гамма цветов одного красителя

Сок обыкновенной красной свеклы может служить в качестве примера зависимости цвета природных красителей от кислотности среды.

Сырье, реактивы и оборудование: свекла; розы; васильки; гортензия; уксус, 3%-й раствор; нашатырный спирт; сода; аскорбиновая

кислота; известковое молоко; стакан на 100 мл; терка; банка с крышкой; сосуд.

Ход работы. Измельчите свеклу и отожмите сок. Разбавьте слегка водой и разделите на четыре порции в стаканы емкостью 100 мл. В первый из стаканов прилейте разбавленный раствор уксуса, во второй – слабый раствор нашатырного спирта, в третий – раствор стиральной соды. Четвертый стакан дополните водой до половины объема. Наблюдайте образование целой гаммы различных цветов растворов. В первом стакане среда кислая – цвет раствора пурпурный. Во втором – слабощелочная – раствор голубоватый, в третьем – окраска усилилась, так как среда щелочная. В нейтральном растворе цвет красителя бордово-коричневый и возможно выпадение хлопьев.

Синие розы, красные васильки и разноцветные гортензии. Природные красители класса антацианов представляют собой сложные неустойчивые гетероциклические системы. Они очень чувствительны к кислотности среды. В кислой среде они красные, в щелочной – голубые или синие, а в слабощелочной (известковое молоко) становятся фиолетовыми. Вспомните изменение окраски лакмусовой бумажки.

Ход работы. Необходим цилиндр или банка с крышкой. На дно налейте раствор нашатырного спирта (раствор аммиака). Укрепите цветок красной розы на крышке, внесите его в сосуд. Наблюдайте изменение окраски через несколько минут. В воде растворите 2–3 таблетки витамина С (аскорбиновая кислота) и налейте в сосуд. Опустите в сосуд васильки. Постепенно окраска цветов меняется. Цветы гортензии можно по желанию превратить в пурпурные, фиолетовые или голубые, если поливать эти растения слабыми растворами соответственно аскорбиновой кислоты и известкового молока.

Лабораторная работа № 9

ВИТАМИНЫ

Определение аскорбиновой кислоты во фруктовых соках

Количественное определение аскорбиновой кислоты (витамина С) является примером, когда окрашенный продукт получается в результате окислительно-восстановительной реакции. Метод основан на применении реактива Фолина (молибденофосфорный реактив), который при взаимодействии с аскорбиновой кислотой восстанавливается до молибденовой сини; интенсивность окраски зависит от концентрации восстановителя.

Сырье, реактивы и оборудование: сок фруктовый; молибдат аммония; гидрофосфат калия; серная кислота, 0,8М раствор; реактив Фолина (в мерную колбу вместимостью 250 мл помещают 100 мл серной кислоты, 1,03 г молибдата аммония и 0,047 г гидрофосфата калия, объем раствора доводят до метки серной кислотой, осторожно перемешивают); аскорбиновая кислота (стандартный раствор аскорбиновой кислоты: в мерную колбу на 100 мл помещают 0,1 г аскорбиновой кислоты, растворяют в дистиллированной воде, объем раствора доводят водой до метки и перемешивают; в 1 мл полученного раствора содержится 1 мг аскорбиновой кислоты); фотоэлектроколориметр или спектрофотометр и кюветы с толщиной поглощающего слоя 1 см; аналитические весы; водяная баня; мерные колбы емкостью 100 и 250 мл; химические стаканы емкостью 50 мл; градуированные пипетки на 2 и 5 мл; пипетка Мора на 20 мл; бюретка на 25 мл; мерный цилиндр на 100 мл.

Ход работы. В семь химических стаканов отбирают по 5 мл реактива Фолина и последовательно вводят 0; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 и 3,5 мл стандартного раствора аскорбиновой кислоты. Из бюретки добавляют в каждый стакан дистиллированную воду до общего объема 25 мл, растворы перемешивают. Получают серию растворов, содержащих соответственно 0; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0 и 3,5 мг аскорбиновой кислоты в 25 мл.

Стаканы помещают в кипящую водяную баню и кипятят в течение 10 минут, затем охлаждают струей водопроводной воды. Оптическую плотность окрашенных в синий цвет растворов измеряют при 590 нм (спектрофотометр) или светофильтр №7 (фотоэлектроколориметр), или визуально, контроль – раствор с нулевой концентрацией аскорбиновой кислоты. По полученным данным строят градуировочный график в координатах: содержание аскорбиновой кислоты, мг/25 мл – оптическая плотность растворов.

В химический стакан отбирают 20 мл анализируемого сока, содержащего около 1–2 мг аскорбиновой кислоты, добавляют 5 мл реактива Фолина, тщательно перемешивают, кипятят 10 минут на водяной бане, охлаждают струей водопроводной воды. Оптическую плотность раствора измеряют в указанных выше условиях и по градуировочному графику находят содержание аскорбиновой кислоты (мг) в 20 мл исследуемого сока.

Вычисления. Содержание аскорбиновой кислоты (С), г/л) рассчитывают по уравнению:

$$C = \frac{m \cdot 1000}{20 \cdot 1000} = \frac{m}{20},$$

где m – найденное по градуировочному графику количество аскорбиновой кислоты, мг/20 мл;
20 – объем анализируемого сока, мл.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коренман, Я.И. Анализ пищевых продуктов: практикум по аналитической химии: в 4 кн./ Я.И. Коренман. – М.: Колос: 2005. – 236 с.
2. Гамаюнова, В.С. Пищевая химия: лаборатор. практикум / В.С. Гамаюнова. – СПб: ГИОРД, 2006. – 136 с.
3. Аношина, О.М. Лабораторный практикум по общей и специальной технологии пищевых производств / О.М. Антошина [и др.]. – М.: Колос, 2007. – 183 с.
4. Арутюнян, Н.С. Лабораторный практикум по химии жиров / Н.С. Арутюнян [и др.]. – СПб: ГИОРД, 2004. – 264 с.
5. Охрименко, О.В. Лабораторный практикум по химии и физике молока / О.В. Охрименко [и др.]. – СПб: ГИОРД, 2006. – 200 с.
6. Антипова, А.А. Физические методы контроля сырья и продуктов в мясной промышленности: лаборатор. практикум / А.А. Антипова [и др.]. – СПб: ГИОРД, 2006 – 200 с.
7. Нилова, Л.Р. Товароведение и экспертиза зерно-мучных товаров / Л.Р. Нилова. – СПб: ГИОРД, 2005. – 416 с.
8. Врублевская, И.Н. Методы выделения, очистки органических соединений и пищевых продуктов / И.Н. Врублевская [и др.]. – Красноярск: КрасГАУ, 2005. – 26 с.
9. Поздняковский, В.М. Экспертиза напитков / В.М. Поздняковский [и др.]. – Новосибирск: Стереотип, 2000. – 334 с.
10. Нечаев, А.П. Органическая химия / А.П. Нечаев, Т.В. Еременко. – М.: Высш. шк., 1985. – 463 с.
11. Грандберг, И.И., Практические работы и семинарские занятия по органической химии. – М: Высш. шк., 1987. – 272 с.
12. Смолина, Т.А. Практические работы по органической химии. Малый практикум / Т.А. Смолина, Н.В. Васильева, Н.Б. Куплетская. – М.: Просвещение, 1986. – 303 с.

Редактор К.О. Тимофеева

Санитарно-эпидемиологическое заключение № 24.49.04.953.П. 000381.09.03 от 25.09.2003 г.

Подписано в печать .02.2010. Формат 60x84/16. Бумага тип. № 1.

Печать – ризограф. Усл. печ. л. Тираж 110 экз. Заказ №

Издательство Красноярского государственного аграрного университета
660017, Красноярск, ул. Ленина, 117