

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания

к практическим занятиям по дисциплине

«Химическая технология синтетических биологически активных веществ»

для направления подготовки 18.03.01 Химическая технология
направленность (профиль) Химическая технология синтетических
биологически активных веществ, химико-фармацевтических препаратов и
косметических средств

Невинномысск 2025

Методические указания разработаны в соответствии с требованиями ФГОС ВО и рабочей программы дисциплины «Химическая технология синтетических биологически активных веществ». Указания предназначены для студентов очной формы обучения направления подготовки 18.03.01 Химическая технология.

Содержат основные разделы изучаемого теоретического материала, перечень вопросов необходимых для проработки, а также список рекомендуемой литературы.

Составители

Гонтарь Н.В.

Практическое занятие №1 Аминокислоты

Цель работы: изучить некоторые физические и химические свойства аминокислот

Теоретическая часть:

Белки - важнейшая и необходимая составная часть всех живых организмов. Они составляют главную массу сухого вещества тканей человека и почти всех животных.

Это очень сложные, высокомолекулярные соединения, находящиеся в организме в коллоидном состоянии. Молекула белка состоит из остатков аминокислот, соединенных между собой пептидными связями. Под действием специфических ферментов, а также при нагревании с кислотами или щелочами белки подвергаются гидролизу (распаду с присоединением элементов воды), давая ряд промежуточных продуктов (пептоны, пептиды), а при полном гидролизе - аминокислоты.

Обладая одновременно кислыми карбоксильными и основными аминными группами, белки являются амфотерными веществами и могут вести себя, и как кислоты, и как основания. При определённом рН, характерном для каждого белка, диссоциация кислых и щелочных групп белковой частицы уравнивается, и заряд амфотерного иона белка становится минимальным. Такое рН раствора носит название изоэлектрической точки белка. В изоэлектрической точке белок наименее устойчив в растворе.

Структура белковой молекулы очень лабильна и даже мягкая обработка может привести к денатурации белка, в результате которой изменяются его биологические и физико-химические свойства.

Реакции на присутствие белка основаны на открытии в нём тех или иных химических групп и на его физико-химических свойствах.

Некоторые реакция присущи не только белкам, но и другим веществам, содержащим те же группы. Так, ряд цветных реакций на белок является по существу реакциями на ту или иную аминокислоту, входящую в состав белка.

Поэтому, для установления наличия белка недостаточно какой-нибудь одной реакции.

Белки разделяют на две группы: протеины, или простые белки, не содержащие небелковых групп, и протеиды, или сложные белки, содержащие помимо собственно белка, ещё и небелковую (простетическую) группу.

Среди простых белков животного происхождения чаще всего приходится встречаться с альбуминами и глобулинами.

Альбумины растворимы в воде, осаждаются при насыщении раствора сернокислым аммонием, обычно не содержат аминокислоты – глицина. Примерами альбуминов являются альбумины кровяной сыворотки, молока, яичного белка, альбумины мышц (миогены).

Глобулины не растворимы в чистой воде, но растворимы в присутствии в ней нейтральных солей; осаждаются в полунасыщенном растворе сернокислого аммония, т. е. при добавлении к раствору белка равного объема насыщенного раствора этой соли. К глобулинам относят глобулины сыворотки крови и молока, куриного яйца, мышечные глобулины (миозин, глобулин X).

Среди сложных белков следует отметить: хромопротеиды - соединения белка с пигментом, например, гемоглобин; нуклеопротеиды - соединения белка с нуклеиновыми кислотами; фосфопротеиды — белки, содержащие фосфор, например казеин, мукопротеиды (гликопротеиды) - соединение белка со сложными углеводами – мукополисахариды, например муцин слюны (простые углеводные группировки содержатся во многих белках)

Оборудование и реактивы: набор химической посуды, 1%-ный раствора яичного белка, реактив Миллона, α -Нафтол, 0,1% спиртовой раствор, Гипобромит натрия, 2%-ный раствор

Практическая часть:

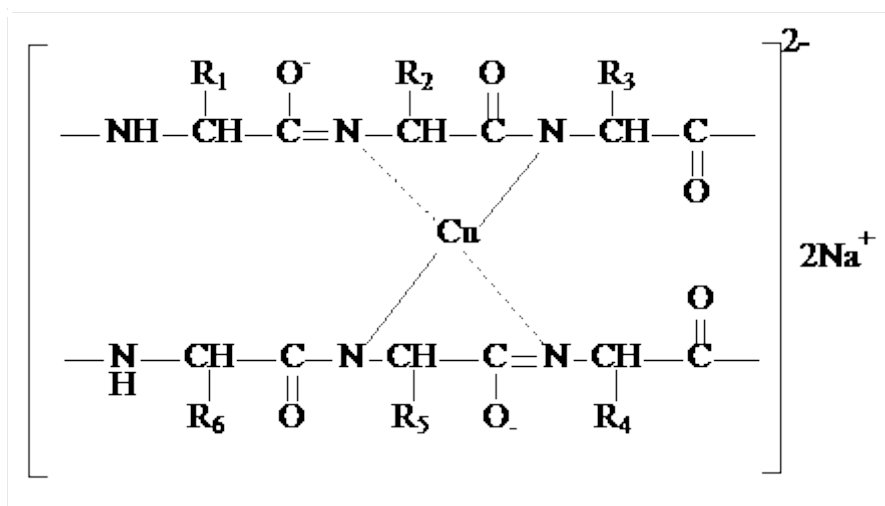
Опыт 1 Биуретовая реакция

(на обнаружение пептидных связей в белках)

В щелочной среде в присутствии солей меди белки дают фиолетовое окрашивание. Окраску дает комплексное соединение меди с пептидными группами: -CO-NH-. Биуретовая реакция получается также с продуктами неполного гидролиза белка – пептонами и полипептидами.

Эта реакция является универсальной для всех белков, так как она открывает наличие не менее двух пептидных связей (первичную структуру белка).

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



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

Свое название биуретовая реакция получила от производного мочевины - биурета, который дает эту реакцию. Биурет образуется при нагревании мочевины с отщеплением от нее аммиака.

Помещают в сухую пробирку несколько кристалликов мочевины и нагревают на слабом огне. Мочевина сначала плавится. Когда сплавленная масса начнет твердеть, нагревание прекращают и дают пробирке остыть. В результате

нагревания из мочевины образуется биурет, а аммиак улетучивается (об этом узнают по запаху).

К полученному в пробирке биурету прибавляют около 1 мл 20% раствора сернокислой меди. При встряхивании получается характерное розовато-фиолетовое окрашивание. Необходимо избегать прибавления избытка раствора сернокислой меди, так как голубая окраска получающегося гидрата окиси меди может маскировать реакцию.

3 Прodelьвают биуретовую реакцию с раствором белка. В пробирку вносят 5-10 капель 1%-ного раствора яичного белка, 3-6 капель 10%-ного раствора гидроксида натрия и 1-2 капли 1%-ного раствора сульфата меди и перемешивают. Содержимое пробирки приобретает сине-фиолетовое окрашивание.

Нельзя добавлять избыток сульфата меди, так как синий осадок гидрата окиси меди маскирует характерное фиолетовое окрашивание биуретового комплекса белка.

Опыт 2 Нингидриновая реакция

Белки, полипептиды и свободные аминокислоты дают с нингидрином синее или фиолетовое окрашивание. Эта реакция характерна для аминогрупп в α -положении и обусловлена наличием α -аминокислоты в молекуле белка. При нагревании белка с водным раствором нингидрина происходит распад аминокислот на углекислый газ и аммиак, соответствующий аминокислоте альдегид и восстановленный нингидрин, который затем конденсируется со своей окисленной формой и аммиаком с образованием окрашенного продукта.

Нингидриновая реакция со спиртовым раствором нингидрина (или ацетона) широко используется для разделения аминокислот хроматографическим методом, для открытия отдельных аминокислот и определения их количества.

К 5-10 каплям 1%-ного раствора яичного белка приливают 5-10 капель 0,5%-ного водного раствора нингидрина и нагревают до кипения. Через 2-3 минуты развивается розовое или сине-фиолетовое окрашивание.

1 Прodelьвают реакцию с какой-нибудь аминокислотой, например с глицином. Наливают в пробирку около 1 мл раствора глицина, добавляют 5-6 капель слабого (0,1%) раствора нингидрина и нагревают. Появляется фиолетово-синее окрашивание

2 Так же производят нингидриновую реакцию с 1-2 мл раствора белка, взяв 0,3-0,5 мл раствора нингидрина. Получается фиолетовое (иногда фиолетово-розовое окрашивание). С течением времени раствор синее

Опыт 3 Ксантопротеиновая реакция.

Подавляющее большинство белков при нагревании с крепкой азотной кислотой дает желтое окрашивание, переходящее в оранжевое при добавлении щелочи или аммиака По-гречески «ксантос» - желтый, откуда реакция и получила название ксантопротеиновой. Такое желтое окрашивание можно наблюдать при попадании крепкой азотной кислоты на кожу, ногти, шерсть и т. п. Эта реакция характерна для бензольного ядра циклических аминокислот (тирозина, фенилаланина, и триптофана), которые содержится почти во всех белках. При действии крепкой азотной кислоты на эти аминокислоты происходит нитрование бензольного кольца с образованием нитросоединений желтого цвета. При добавлении щелочи желтое окрашивание переходит в оранжевое.

2. Проводят милонову реакцию с раствором белка. В пробирку наливают 1-2 мл раствора белка и прибавляют 5-6 капель реактива Милона. Появляется осадок свернувшегося белка, так как реактив Милона содержит соли ртути и азотную кислоту. Содержимое пробирки осторожно нагревают. Осадок окрашивается в кирпично-красный цвет.

Следует избегать прибавления избытка реактива Милона, так как этот реактив содержит азотную кислоту, которая может дать желтое окрашивание (ксантопротеиновую реакцию), маскирующее реакцию Милона.

Продельывают аналогичным образом милонову реакцию с раствором желатины. Если желатина достаточно чиста, реакция не получается, так как в молекуле желатина остаток тирозина отсутствует.

Опыт 5 Реакция Сакагучи

С помощью этой реакции обнаруживают аминокислоту аргинин, содержащую гуанидиновую группировку. Сущность реакции заключается в том, что эта группировка в присутствии щелочи и гипобромита окисляется и, соединяясь с α -нафтолом, образует окрашенное соединение красного цвета.

К 5 каплям 1%-ного раствора яичного белка приливают 5 капель 10%-ного раствора едкого нара, 3 капли 0,1%-ного спиртового раствора α -нафтола и по каплям (всего 1-5 капель) 2%-ного раствора гипобромита натрия. Жидкость в пробирке приобретает красный цвет.

Опыт 6 Реакция Адамкевича (на триптофан)

Эта реакция открывает аминокислоту триптофан и основана на его способности в кислой среде взаимодействовать с альдегидами кислот, и образовывать окрашенные продукты конденсации.

В пробирку вносят 5 капель 1%-ного раствора яичного белка и 5 капель ледяной уксусной кислоты. Раствор вначале слегка нагревают, затем охлаждают и по стенкам пробирки (**осторожно!!!**), чтобы жидкости не смешивались, приливают 10 капель концентрированной серной кислоты. При стоянии на границе двух слоев наблюдается красно-фиолетовое окрашивание в виде кольца.

Опыт 7 Реакция Фоля

В состав молекулы большинства белков входят содержащие серу аминокислоты - цистин и цистеин. Под действием щёлочи эти аминокислоты легко отщепляют серу в виде сероводорода или сульфида натрия. Поэтому почти все белки дают положительную реакцию на слабо связанную серу.

К 5 каплям 1%-ного раствора яичного белка приливают 5 капель 30%-ного раствора гидроксида натрия и 1 каплю 5%-ного раствора ацетата свинца. Через 1-2 мин после интенсивного кипячения появляется бурый или черный осадок.

Ион серы S^{2-} , образующийся из цистеина или цистина в сильнощелочной среде можно обнаружить с помощью нитропруссидной реакции. К 10 каплям 1%-ного раствора яичного белка добавляют 10 капель 20%-ного раствора щелочи, интенсивно кипятят, затем после охлаждения приливают 3-5 капель свежеприготовленного 5%-ного раствора нитропрусида натрия, после чего появляется красно-фиолетовое окрашивание. Интенсивность окрашивания в данных реакциях зависит от количества аминокислот, содержащих серу, и от количества белка в растворе.

Опыт 8 Реакция на остаток аргинина (Сакагучи)

Белки, содержащие аргинин, дают розово-красное окрашивание с гипобромитом (или гипохлоритом) и α -нафтолом в щелочной среде. Окраска зависит от наличия в молекуле белка остатка аминокислоты аргинина

1 В пробирку наливают 1-2 мл раствора белка. Добавляют 1-2 капли 10% раствора едкого натра и 1-2 капли раствора α - нафтола (0,02%).

2 Перемешивают содержимое пробирки и прибавляют каплю гипобромита ($NaBrO$). Появляется малиново-красное окрашивание.

3 Таким же образом проделывают реакцию с раствором аргинина. Получается окраска кирпично-красного оттенка.

Опыт 9 Диазореакция

Белки дают оранжево-красное окрашивание с диазореактивом. Окраска зависит от образования окрашенных азосоединений с остатками аминокислот — тирозина,

триптофана и гистидина, входящих в состав белковой молекулы. Диазореакция используется для качественного и количественного определения тирозина и гистидина в белковых гидролизатах и других объектах.

1 Наливают в пробирку 1-2 мл раствора тирозина, 0,3-0,5 раствора соды и около 1 мл диазореактива. Появляется оранжево-красное окрашивание.

2 Прodelьывают ту же реакцию с раствором белка, беря его вместо раствора тирозина. Получается оранжево-красное окрашивание.

Опыт 10 Реакция на присутствие углеводных компонентов

Почти все белки содержат в своём составе углеводные компоненты. Благодаря этому большинства белков, как показали Баллас и Подобедов, в присутствии концентрированной серной кислоты дают характерное для углеводов фиолетовое окрашивание с α -нафтолом (реакция Молиша) или красное окрашивание с тимолом. Окраску с нафтолом или тимолом дают фурфурол и его производные, которые образуются из углеводов под действием концентрированной серной кислоты.

1 Наливают в 2 пробирки по 1-2 мл раствора сахара, добавляют в первую пробирку 5-6 капель раствора α -нафтола, а в другую пробирку - 5-6 капель раствора тимола.

2 Осторожно подслаивают в обе пробирки по 1-2 мл концентрированной серной кислоты. Наблюдают фиолетовое (в случае α -нафтола) и красное (в случае тимола) окрашивание на границе раздела серной кислоты и раствора сахара.

3 Прodelьывают те же реакции, взяв вместо раствора сахара раствор белка.

Отмечают положительную реакцию, указывающую на наличие углеводных групп в белке.

Опыт 11 Реакция Вуазене (на триптофан)

В пробирку внесите 2 мл раствора яичного белка и 1 каплю раствора формальдегида. К полученной смеси при охлаждении (лед) добавьте по каплям 6 мл серной кислоты (конц.). Через 10 мин внесите 10 капель раствора нитрита натрия. Аналитический эффект: сине-фиолетовый цвет раствора.

Содержащийся в яичном белке триптофан, конденсируясь с формальдегидом, образует окрашенный продукт конденсации бис-2-трипто-фанилметан (I), который окисляется до бис-2-триптофанилкарбинола (II), образующего в кислой среде соль, окрашенную в фиолетовый цвет.

Опыт 12 . Реакция Паули (на гистидин и тирозин)

Реакция Паули позволяет обнаружить в белке аминокислоты гистидин и тирозин, которые образуют с диазобензол-сульфоновой кислотой комплексные соединения вишнево-красного цвета. Диазобензол-сульфоновая кислота образуется в реакции diazotирования при взаимодействии сульфаниловой кислоты с нитритом натрия (или калия) в кислой среде:

К 1 мл 1% раствора сульфаниловой кислоты (готовится на 5% растворе соляной кислоты) прибавляют 2 мл 0,5% раствора нитрита натрия, тщательно перемешивают, добавляют 2 мл 1% раствора яичного белка и после перемешивания 6 мл 10% раствора карбоната натрия. После перемешивания смесь окрашивается в вишнево-красный цвет.

Продельывают эту реакцию с 0,1% раствором гистидина, сравнивают полученные результаты и делают вывод.

Контрольные вопросы:

- 1 Укажите правила техники безопасности при выполнении опытов.
- 2 Дайте определение и приведите классификацию аминокислот.
- 3 Перечислите протеиногенные аминокислоты.
- 4 Сформулируйте правила образования названия аминокислот.
- 5 Перечислите качественные реакции на аминокислоты (реактивы, условия проведения, аналитический эффект).
- 6 Укажите реакции аминокислот по карбоксильной группе, напишите уравнения реакций.
- 7 Укажите реакции аминокислот по аминогруппе, напишите уравнения реакций.
- 8 Какие элементы можно обнаружить в составе аминокислот?

9 Предложите схему синтеза аланина из этилового спирта. Для аминокислоты напишите уравнения

реакций взаимодействия с гидроксидом натрия и соляной кислотой.

10 Сколько мл раствора NaOH (10 %, $\rho = 1,1$ г/мл) потребуется для нейтрализации карбоксильной группы аминокислоты (глицина), полученной из 3,2 г карбида кальция?

Практическое занятие №2 Реакции осаждения белков

Цель работы: ознакомить студентов с методиками проведения качественных реакций белки; закрепить представления о структурах белковых молекул

Теоретическая часть:

Устойчивость белков в биологических жидкостях организма человека обуславливают два фактора:

- заряд и водная оболочка – для гидрофильных белков
- только заряд – для гидрофобных белков.

Для каждого белка характерна по крайней мере одна трехмерная структура, в которой он стабилен и проявляет биологическую активность при физиологических условиях (рН, температура). Эта структура называется нативной конформацией белка.

При изменении внешних условий белки теряют нативную структуру.

Денатурация – изменение уникальной структуры белковой молекулы, приводящее к потере характерных свойств (растворимости, электрофоретической подвижности, биологической активности и т. д.)

Наиболее ярким признаком денатурации является резкое снижение биологической активности, при этом разрушаются в основном невалентные водородные и дисульфидные связи и не затрагиваются пептидные связи.

При непродолжительном действии возможен возврат биологической активности, т. е. ренатурация белка с полным восстановлением исходной структуры и нативных свойств.

Для белков характерны следующие основные физико-химические свойства: высокая вязкость растворов, незначительная диффузия, способность к набуханию в больших пределах, оптическая активность, подвижность в электрическом поле, низкое осмотическое давление и высокое онкотическое давление, способность к поглощению лучей при 280 нанометрах (10–9м).

Оборудование и реактивы: набор химической посуды, фильтры, стеклянные палочки, спиртовки, пробирки, штативы, электрическая плитка, 1%-ный раствор

яичного белка, 1%-ный раствор уксусной кислоты, 10%-ный раствор уксусной кислоты, 10%-ный раствор гидроксида натрия, концентрированные серная, соляная и азотная кислоты, 10%-ный раствор сульфосалициловой кислоты, 10%-ный раствор трихлоруксусной кислоты, 10%-ный раствор сульфата меди, 5%-ный раствор ацетата свинца, 5%-ный раствор нитрата серебра, неразведенный яичный белок, насыщенный раствор сульфата аммония;

Практическая часть:

Опыт 1 Осаждение белка кипячением

Белки являются термолабильными соединениями и при нагревании свыше 5С наступает денатурация. Сущность тепловой денатурации заключается в разворачивании специфической структуры полипептидной цепи и разрушении гидратной оболочки белковых молекул, что проявляется заметным уменьшением их растворимости. Наиболее полное и быстрое осаждение происходит в изоэлектрической точке белка, т. е. при таком значении рН среды, когда суммарный заряд белковой молекулы равен нулю. Белки, обладающие кислыми свойствами, осаждаются в слабокислой среде, а белки, обладающие щелочными свойствами – в слабощелочной. В сильнокислых и сильнощелочных средах денатурированный при нагревании белок в осадок не выпадает, так как частицы его перезаряжаются и несут в первом случае положительный, а во втором отрицательный заряд, что повышает его устойчивость в растворе.

В четыре пронумерованные пробирки приливают по 10 капель 1%-ного раствора яичного белка. Затем:

- а) первую пробирку нагревают до кипения. Раствор белка мутнеет, но так как частицы денатурированного белка несут заряд, они в осадок не выпадают. Это связано с тем, что яичный белок имеет кислые свойства (изоэлектрическая точка его равна рН 4,8) и в нейтральной среде заряжен отрицательно.
- б) во вторую пробирку добавляют 1 каплю 1%-ного раствора уксусной кислоты и нагревают до кипения. Выпадает осадок белка, так как белок приближается к изоэлектрической точке и белок теряет заряд.

в) в третью пробирку добавляют 1 каплю 10%-ного раствора уксусной кислоты и нагревают до кипения. Осадка не образуется, так как в сильноокислой среде частицы белка приобретают положительный заряд (сохраняется один из факторов устойчивости белка в растворе).

г) в четвертую пробирку добавляют 1 каплю 10%-ного раствора гидроксида натрия и нагревают до кипения. Осадка не образуется, так как в щелочной среде отрицательный заряд частиц увеличивается.

Опыт 2 Осаждение белков концентрированными минеральными кислотами

Концентрированная серная, соляная, азотная и другие кислоты при взаимодействии с белком вызывают его денатурацию. Это связано с тем, что кислоты удаляют гидратную оболочку и нейтрализуют заряд молекулы. При избыточном количестве серной и соляной кислот выпавший осадок денатурированного белка вновь растворяется, по-видимому, за счет перезарядки молекул белка и частичного его гидролиза. При добавлении же избытка азотной кислоты растворения осадка не происходит (механизм этого явления до конца не изучен). Поэтому в клинических лабораториях при определении белка в моче пользуются азотной кислотой.

В три пробирки наливают по 5-10 капель концентрированных серной, соляной и азотной кислот. Затем, наклонив пробирку под углом 45°, осторожно по стенке пробирки (так, чтобы жидкости не смешивались) наслаивают такой же объем 1%-ного раствора яичного белка. На границе двух слоев жидкости появляется осадок белка в виде белого кольца. Затем, осторожно, встряхивая пробирки, обнаруживают растворение белка в пробирках с соляной и серной кислотами, тогда как в пробирке с азотной кислотой растворения белка не происходит.

Опыт 3 Осаждение белков органическими кислотами

Органические кислоты типа трихлоруксусной, сульфосалициловой вызывают необратимое осаждение белков, основанное на нейтрализации заряда и удалении гидратной оболочки с белковой молекулы. Однако, трихлоруксусная кислота денатурирует только белки, тогда как сульфосалициловая кислота осаждает и

белки, и высокомолекулярные полипептиды, поэтому в клинической лабораторной практике при определении остаточного азота используют трихлоруксусную кислоту., чтобы можно было отдельно определить содержание азота белков и других азотсодержащих веществ – пептидов, мочевины, аминокислот и др.

В две пробирки приливают по 5 капель 1%-ного раствора яичного белка, затем в одну из них вносят 1-2 капли 10%-ного раствора сульфосалициловой кислоты, а в другую – такое же количество 10%-ного раствора трихлоруксусной кислоты. В пробирках выпадает осадок белка.

Опыт 4 Осаждение белков солями тяжелых металлов.

Белки при взаимодействии с солями ртути, свинца, меди и других тяжелых металлов денатурируют и выпадают в осадок. В основе этого процесса лежит адсорбция металла на поверхности белковой молекулы, в результате которой происходит образование нерастворимого комплекса. Это свойство белков широко используется в клинике при отравлениях солями тяжелых металлов. В качестве адсорбентов этих металлов применяют белки молока и сырых яиц, что приводит к ограничению всасывания металлов и снижению степени отравления.

Однако при избытке некоторых солей (ацетата свинца, сульфата меди) наблюдается растворение (пептизация) первоначально образовавшегося осадка. Это связано с накоплением ионов металла на поверхности денатурированного белка и появлением положительного заряда на белковой молекуле. При избытке солей серебра и ртути растворения осадка не происходит.

В три пробирки вносят по 5 капель 1%-ного раствора яичного белка и прибавляют: в первую пробирку – 1 каплю 10%-ного раствора сульфата меди, во вторую – 1 каплю 5%-ного раствора ацетата свинца, в третью – такое же количество 5%-ного раствора нитрата серебра. Во всех пробирках выпадает осадок. Затем, в первую пробирку добавляют 10 капель 10%-ного раствора сульфата меди и наблюдают растворение осадка. В третью пробирку наливают 10 капель 5%-ного раствора нитрата серебра – растворение осадка не происходит.

Опыт 5 Осаждение белков органическими растворителями.

К 1 мл 1% раствора белка добавляют 2 мл органического растворителя (этанол, хлороформа, ацетона или эфира) и перемешивают. Образование осадка можно усилить добавлением нескольких капель насыщенного раствора хлорида натрия.

Опыт 6 Осаждение белков реактивами на алкалоиды.

Танин, пикриновая кислота, растворы диодида ртути в иодиде калия, фосфорновольфрамовая и фосфорномолибденовая кислоты взаимодействуют с группой веществ, содержащих пиррольные, индольные, имидазольные гетероциклы, несущие положительный заряд в слабокислой среде. Наличие подобных группировок в белках приводит к образованию осадков, при этом растворы надо подкислить.

Протамины и гистоны осаждаются в нейтральной среде.

В три пробирки наливают по 1 мл 1% раствора белка, по 4-5 капель 1% раствора уксусной кислоты и по 2-3 капли: в первую пробирку - 10% раствора пикриновой кислоты, во вторую - насыщенного раствора танина, в третью - 5% раствора железисто-синеродистого калия. Наблюдают выпадение осадка.

Обратимое осаждение белков

Опыт 5 Обратимое осаждение белков.

Обратимое осаждение белков – это процесс, когда под воздействием факторов осаждения белки выпадают в осадок, но после прекращения действия (удаления) факторов осаждения белки вновь растворяются и приобретают свои нативные свойства. При этом молекулы белка не подвергаются глубоким нарушениям.

Одним из видов обратимого осаждения является высаливание, которое проводится с помощью нейтральных растворов концентрированных солей щелочных и щелочноземельных металлов $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaCl , Na_2SO_4 и др.

В основе осаждения лежит снятие заряда и удаление водной оболочки. Выпадение различных белков в осадок зависит от молекулярной массы и величины их молекул, заряда и степени гидрофильности. Поэтому с помощью метода высаливания можно разделять белки на фракции. Например, глобулины как более крупные и плотные молекулы белка будут выпадать в осадок при меньшей

концентрации солей. Тогда как альбумины, молекулы которых намного меньше и легче высаливаются более концентрированными растворами солей.

Этот метод применяется в клинических лабораториях для разделения белков сыворотки крови на фракции и их исследования, в медицинской промышленности – при получении белковых препаратов (лечебные сыворотки), в научных исследованиях – для выделения и очистки различных белков (ферменты, гормоны и др.)

Опыт 5 Альбумины и глобулины в природных белках

Альбумины и глобулины могут быть разделены, поскольку альбумины растворимы в воде, а глобулины - только в слабых растворах солей, а в крепких растворах (например, полунасыщенном растворе $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ осаждаются).

а) Разделение альбуминов и глобулинов яичного белка.

В пробирку наливают 30 капель неразведенного яичного белка и добавляют равное количество насыщенного раствора сульфата аммония. Содержимое пробирки перемешивают. Получается полунасыщенный раствор $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, и при этом глобулиновая фракция белка осаждается, а альбуминовая фракция остается в растворе. Через 5 минут осадок отфильтровывают. На фильтре остается глобулиновая фракция, а в фильтрате – альбумины. Осадок с фильтра снимают стеклянной палочкой и переносят в пробирку, куда добавляют 5 капель воды. Осадок растворяется. Наличие в растворе белка можно доказать с помощью биуретовой реакции.

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

б) Мышечные белки.

Мышцы содержат белки, растворяющиеся в воде или очень слабых растворах солей. Миофибриллы мышечной клетки содержат сократительные белки (миозин и актин) и регуляторные белки (тропомиозин и тропонин). Белки миофибрилл не

растворяются в воде, но их можно экстрагировать из мышечной ткани солевыми растворами с концентрацией соли 0,5 моль/л. Многие белки саркоплазмы (гиалоплазмы мышечных клеток) растворимы в воде или в солевых растворах низкой концентрации (0,05 моль/л). При экстракции мышечной ткани 5% раствором хлорида калия извлекаются как миофибриллярные, так и саркоплазматические белки.

Мышечную кашицу, полученную измельчением мышцы какой-либо рыбы 5-10 г, растирают с 4-5 кратным количеством воды — в воде будут находиться миоальбумины и сходные с ним белки. Отфильтрованный осадок смешивают с 4-5 кратным количеством 0,6 М раствора КС1 и растирают в ступке 10-20 минут; в раствор переходит миозин.

Полученный гомогенат фильтруют через два слоя марли. С фильтратом (или центрифугатом) проделывают цветные реакции на белки (биуретовую, ксантопротеиновую, реакции Милона, Фоля и Сакагучи). Тот и другой белковой экстракт разливают по пробиркам и прибавляют по каплям 0.5% раствор уксуснокислого свинца. Появляются осадки.

Примечание. Если экстрагировать мышцу 0,5 М раствором НС1 не 20 минут, а сутки - в раствор перейдет более сложный глобулин - актомиозин.

Контрольные вопросы:

1. Общая характеристика, элементарный состав, история изучения белков. Формирование представления о белках как о классе соединений и важнейшем компоненте живых организмов. Исследования Мульдера, Данилевского, Фишера и др.
2. Структура, свойства, классификация и общая характеристика протеиногенных аминокислот.
3. Первичная структура белков (умение писать структуры пептидов). Зависимость биологических, свойств белков от первичной структуры. Методы исследования первичной структуры.

4. Конформация пептидных цепей в белках (вторичная, надвторичная и третичная структуры). Слабые внутримолекулярные взаимодействия в пептидной цепи; дисульфидные связи.
5. Четвертичная структура белков. Кооперативные изменения конформации протомеров на примере гемоглобина, аллостерических ферментов.
6. Биологические функции белков. Способность к специфическим взаимодействиям. И специфическое узнавание как основа биологических функций всех белков. Комплементарность структуры центра связывания белка и лиганда; зависимость связывания от концентрации лиганда.
7. Глобулярные и фибриллярные белки. Пространственные конфигурации (α -кератиновая, β -кератиновая) фибриллярных белков, их свойства.
8. Общая характеристика физико-химических свойств белков. Растворимость и осаждаемость белков. Факторы стабилизации белковой молекулы в растворах.
9. Высаливание белков. Высаливающие агенты. Механизм высаливания. Практическое использование высаливания.
10. Денатурация белков. Факторы, механизм, практическое использование денатурации белков.
11. Электрические свойства белков. Механизм возникновения электрического заряда белков. Изоэлектрическая точка. Электрофоретическое разделение белков сыворотки крови на бумаге, протеинограмма здорового человека.

Практическое занятие №3 Сложные белки

Цель работы: изучить состав сложных белков – хромопротеидов, фосфопротеидов, нуклеопротеидов

Теоретическая часть:

Сложные белки – комплексы, состоящие из белка и небелкового компонента, называемого простетической группой. К сложным белкам относятся: нуклеопротеиды, гликопротеиды, липопротеиды, металлопротеиды и сложные белки-ферменты. Так, небелковой частью хромопротеидов являются окрашенные вещества, фосфопротеидов – фосфорная кислота, нуклеопротеидов – нуклеиновые кислоты и т. д. С помощью цветных реакций можно открыть составные компоненты сложных белков.

Реакции на нуклеопротеиды

Нуклеопротеиды состоят из белка и нуклеиновых кислот, которые построены из моноклеотидов.

Нуклеиновые кислоты – это биополимеры, мономерными звеньями которых являются нуклеотиды живых организмах нуклеиновые кислоты входят в состав нуклеопротеидов. Нуклеопротеиды – комплексы белка, являющиеся важнейшими составными элементами ядер живых клеток и вирусов. Связь белка, обладающего основными свойствами, с молекулами нуклеиновой кислоты (НК) в них осуществляется за счет солеобразных и водородных связей и легко разрушается путем солевой коагуляции белка. В результате этого процесса НК могут быть выделены в свободном виде. Нуклеотидами (в широком смысле) называют природные или синтетические соединения, в которых гидроксилы углеводного остатка нуклеозида этерифицированы одной или несколькими фосфатными группами, т. е. он является нуклеозидфосфатом.

Нуклеозиды – это природные или синтетические соединения, молекулы которых состоят из пуринового или пиримидинового основания, связанного N-гликозидной связью с остатком D-рибозы или 2,-дезокси-D-рибозы.

Важнейшую роль в установлении строения НК сыграла реакция гидролиза, который можно осуществить ступенчато по приведенной схеме:

Нуклеопротеид → Нуклеиновая кислота (+ Белок) → Нуклеотид →
→ Нуклеозид (+H₃PO₄) → Пурины + Пиримидины + Пентозы

Молекулы нуклеиновых кислот всех типов живых организмов – это длинные неразветвленные полимеры полинуклеотидов. Роль мостика между нуклеотидами выполняет 3, 5-фосфорнодиэфирная связь, соединяющая 5-фосфат одного нуклеотида и 3,-гидроксил остаток углеводной составляющей следующей. Поэтому такая цепь является полярной. На одном ее конце остается свободной 5-О-Фн-группа, а на другом – 3-ОН-группа остатка фосфорной кислоты у 5 атома углерода одного мононуклеотида с гидроксильной группой пентозы у 3 атома углерода другого. Данный тип связи осуществляет "первичную структуру" нуклеиновых кислот.

Нуклеиновые кислоты классифицируют на 2 типа:

1 – дезоксирибонуклеиновые кислоты (ДНК), из которых при полном гидролизе можно выделить аденин, гуанин, цитозин, тимин, дезоксирибозу и фосфорную кислоту;

2 – рибонуклеиновые кислоты (РНК), гидролизующиеся до аденина, гуанина, цитозина, урацила, рибозы и фосфорной кислоты.

Нуклеиновые кислоты в клетке находятся в виде нуклеопротеиновых комплексов, которые рассматриваются как сложные белки, простетической группой которых являются нуклеиновые кислоты.

Для качественного анализа химического состава нуклеопротеидов может быть использован гидролизат дрожжей как объект, богатый нуклеопротеидами. При частичном гидролизе нуклеопротеиды распадаются на белок (протамины или гистоны) и нуклеиновые кислоты. При полном гидролизе нуклеопротеидов могут быть обнаружены: полипептиды (биуретовая реакция), пуриновые основания дают специфическую реакцию образования осадка солей серебра; фосфорную кислоту

обнаруживают молибдатом аммония, рибозу или дезоксирибозу – по реакции "серебряного серебра", с реактивом Фелинга или пробой Троммера.

Оборудование и реактивы: 1 г пекарских дрожжей, 10%-ный раствор серной кислоты, дистиллированная вода, концентрированный раствор аммиака, 1%-ный раствор нитрата серебра, 1%-ный спиртовой раствор тимола концентрированная серная кислота, молибденовый реактив (7,5 г молибдата аммония, вода, 32%-ная азотная кислота ($\rho = 1,2$ г/мл), 2 мл молока, ледяная уксусная кислота, стеклянная палочка, 10%-ный раствор гидроксида натрия, 10%-ный раствор азотной кислоты, 0,5%-ный раствора фенолфталеина, 1%-ный раствор яичного белка, круглодонная колба на 100 мл, фильтры, пробка с обратным холодильником длиной 25-30 см, стеклянные палочки, спиртовка, пробирки, штативы, асбестовая сетка

Практическая часть:

Опыт 1. Приготовление гидролизата дрожжей

1 г пекарских дрожжей помещают в круглодонную колбу на 100 мл и добавляют 20 мл 10%-ного раствора серной кислоты и 20 мл дистиллированной воды. Колбу закрывают пробкой с обратным холодильником длиной 25-30 см, закрепляют в несколько наклонном положении и кипятят под тягой 1 ч на асбестовой сетке при слабом нагревании. Затем охлаждают, доводят до первоначального объема и фильтруют. Фильтрат используют для дальнейшей работы

Опыт 2. С гидролизатом проводят следующие реакции:

а) **биуретовую** – для подтверждения наличия белков в составе нуклеопротеидов: к 6 каплям гидролизата прибавляют 10 капель 10%-ного раствора едкого натра до отчетливой щелочной реакции (по лакмусу, опущенному в пробирку), затем 2 капли 1%-ного раствора сульфата меди; появляется розовая или фиолетовая окраска.

б) **пробу на пуриновые основания.** Она основана на образовании комплексных пуриновых оснований с солями серебра.

К 10 каплям гидролизата добавляют 10 капель до щелочной реакции (по лакмусу, опущенному в пробирку) концентрированного раствора аммиака и 10 капель 2%-ного раствора нитрата серебра. Через 3-5 мин образуется рыхлый осадок бурого цвета.

в) **реакцию Молиша** – на пентозную группировку. В её основе лежит взаимодействие тимола с фурфуролом, образующимся из пентоз при нагревании с серной кислотой, что приводит к появлению окрашенного продукта конденсации. К 10 каплям гидролизата дрожжей прибавляют 2-3 капли 1%-ного спиртового раствора тимола и по стенке пробирки (осторожно) – 20 капель концентрированной серной кислоты. При встряхивании на дне пробирки образуется красное окрашивание.

г) **качественная реакция на углевод**. К 5 каплям гидролизата дрожжей приливают 3 капли 0,2%-ного раствора α -нафтола и 20 капель концентрированной серной кислоты; появляется розово-фиолетовое окрашивание.

д) **молибденовую пробу** – на фосфорную кислоту, когда при взаимодействии с молибденовым реактивом образуется фосфорная соль молибдата аммония. В пробирку с 3-5 каплями гидролизата дрожжей вносят 20 капель молибденового реактива. Кипятят несколько минут. При охлаждении образуется желтый кристаллический осадок.

Опыт 3. Реакции на фосфопротеиды.

Простетической группой этих сложных белков является фосфорная кислота.

Представителями фосфопротеидов являются казеиноген молока, вителлин яиц, ихтулин икры рыб, ферменты – пепсин, фосфоорилаза и др.

Биологическая роль фосфопротеидов заключается в том, что они служат одним из питательных материалов для развития эмбрионов и для растущих организмов. Так, казеиноген молока содержит все незаменимые аминокислоты и фосфорную кислоту. Вместе с казеиногеном в организм ребенка попадает фосфорная кислота, необходимая для развития скелета и процессов обмена веществ.

Опыт 4. Выделение казеиногена из молока

80% белков молока приходится на долю специфического фосфопротеида казеина. Этот белок обладает кислыми свойствами и находится в молоке в виде растворимой кальциевой соли. При подкислении казеин выпадает в осадок в виде белых рыхлых хлопьев, которые легко отделяются фильтрованием. Не следует добавлять в молоко избыток кислоты, так как молекулы казеиногена перезаряжаются и вновь переходят в раствор, что мешает осаждению.

К 2 мл молока приливают равный объем дистиллированной воды и затем 2 капли ледяной уксусной кислоты. Выпавший осадок отфильтровывают и промывают на фильтре 2 раза дистиллированной водой, а затем собирают стеклянной палочкой в пробирку и используют для следующих работ.

Опыт 5. Доказательство белковой природы казеиногена

С частью осадка казеиногена проделывают цветные реакции на белки и аминокислоты – биуретовую, Фоля, Миллона.

Оставшуюся часть осадка подвергают гидролизу, для чего помещают его в пробирку, куда добавляют 2 мл 10%-ного раствора гидроксида натрия. Пробирку закрывают пробкой со стеклянной трубкой и кипятят 10-15 мин на асбестовой сетке. Охлаждают. В гидролизате **открывают фосфорную кислоту.**

Гидролизат подкисляют несколькими каплями 10%-ного раствора азотной кислоты, в присутствии 1-2 капель 0,5%-ного раствора фенолфталеина до обесцвечивания и отфильтровывают в сухую пробирку. К 5 мл фильтрата приливают 20 капель молибденового реактива и кипятят несколько минут. Раствор окрашивается в лимонно-желтый цвет, а при стоянии выпадает осадок такого же цвета фосфомолибденовокислого аммония.

Опыт 6. Реакции на гликопротеиды

Это сложные белки, простетическая группа которых представлена углеводами, а также их производными (гексозаминами, глюкуроновой кислотой, сиаловой кислотой и др.) они входят в состав ткани, слизи (муцин), клеточных мембран. Простетическая группа гликопротеидов представлена нейтральными и кислыми мукополисахаридами. К кислым мукополисахаридам относятся гиалуроновая,

хондроитинсерная кислоты и гепарин. Гиалуроновая кислота входит в состав соединительной ткани, роговицы глаза, стекловидного тела, пупочного канатика, сердечных клапанов. Хондроитинсерная кислота содержится в хрящевой и соединительной тканях, гепарин – в легких и печени.

Нейтральные мукополисахариды входят в состав слизистых секретов – слюны, желудочного сока, в веществах, определяющих группу крови, в гормонах, в ферментах (трансферрин, холинэстераза). Мукополисахариды могут встречаться в тканях и жидкостях организма и в свободном состоянии.

Гликопротеиды играют важную роль в организме, неся опорную и защитную функции, препятствуя проникновению в организм инфекции. Входя в состав межклеточного и межтканевого вещества, они оказывают цементирующее действие, являются связкой в суставах.

Опыт 7. Открытие углеводного компонента в яичном белке

В сухую пробирку вносят 5 капель 1%-ного раствора яичного белка и проводят реакцию Молиша. К 10 каплям раствора яичного белка прибавляют 2-3 капли 1%-ного спиртового раствора тимола и по стенке пробирки (осторожно) – 20 капель концентрированной серной кислоты. При встряхивании на дне пробирки образуется красное окрашивание.

Опыт 8. Выделение муцина из слюны

В пробирку собирают 2-3 мл слюны и добавляют 4-5 капель ледяной уксусной кислоты. Выпадает осадок муцина. Жидкость из пробирки осторожно сливают, а с осадком муцина проводят реакцию Молиша для доказательства присутствия углевода в этом белке.

Контрольные вопросы:

- 1 Укажите правила техники безопасности при выполнении опытов.
- 2 Укажите элементный состав белков и пептидов.
- 3 Охарактеризуйте свойства пептидов.
- 4 Белки как природные полипептиды.
- 5 Функции белков.

6 Классификация белков.

7 Структуры белка.

8 Понятие о коагуляции и денатурации. Причины данных явлений.

9 Растворимость белков.

10 Отношение белков к нагреванию в нейтральной, кислой и щелочных средах.

11 Качественные реакции на белки (реактивы, условия проведения, аналитический эффект).

12 Укажите общие цветные реакции на белки и аминокислоты

13 Укажите условия выделения казеина из молока.

14 Какой состав имеют продукты гидролиза казеина?

Практическое занятие №4 Ферменты

Цель работы:ознакомить студентов с методиками проведения ферментативных реакций на примере сахарозы, амилазы, холинэстеразы

Теоретическая часть:

Ферменты — биологические катализаторы белковой природы. Термин фермент (от лат. fermentum закваска) был предложен в начале XVII в. голландским ученым Ван. Гельмонтом для веществ, влияющих на спиртовое брожение. Ферменты и катализаторы неорганической природы, подчиняясь общим законам катализа, имеют сходные признаки:

- катализируют только энергетически возможные реакции;
- не изменяют направление реакции;
- не расходуются в процессе реакции;
- не участвуют в образовании продуктов реакции.

Почти все химические процессы в организмах и в различных производственных смесях протекают при участии ферментов.

Ферменты очень чувствительны к воздействию тепла, кислот, щелочей и солей металлов.

Большинство ферментов в водном растворе при комнатной температуре быстро теряет свою активность, поэтому растворы и препараты ферментов необходимо хранить при пониженных температурах. При длительной работе с растворами ферментов необходимо вносить антисептики (толуол или тимол) во избежание развития в растворах микроорганизмов.

Ферменты можно экстрагировать из растительного или животного материала водой, а затем водным экстрактом действовать на тот или иной субстрат (например, на крахмал или на белок). Учитывая количество образующихся продуктов реакции или изменения субстрата, определяют активность того или иного фермента. Так определяется активность ферментов, растворимых в воде. Однако ферменты не всегда растворяются в воде. Например, фермент липаза из семян клещевины не растворяется в воде. Поэтому в некоторых случаях

применяются автолитические методы, основанные на том, что размолотый и растертый испытуемый материал помещается в воду и оставляется на определенное время при температуре 40-45°C. Под действием как растворимых, так и нерастворимых ферментов, содержащихся в испытуемом материале, происходят соответствующие реакции. Таким образом, определяется суммарное действие ферментов, как растворимых в воде, так и нерастворимых.

Действие ферментов можно определить по вызываемому ферментами изменению окраски субстрата, по накоплению продуктов распада субстрата, по изменению вязкости, по изменению угла вращения плоскости поляризации и другими способами.

Белковую часть сложных белков ферментов называют апоферментом, а небелковую – кофактором. Кофактор условно делится на кофермент (коэнзим), легкодиссоциирующий и простетическую группу, труднодиссоциирующую. Кофермент легко присоединяется к различным апоферментам, а простетическая группа соединяется только с одним апоферментом.

Оборудование и реактивы: 1% раствора крахмала, термостат или водяная баня, 1% раствор йода, 5 % раствор сульфата меди, 10% раствор гидроокиси натрия, дистиллированная вода, 2% раствор соляной кислоты, 1% раствор хлорида натрия, 1% раствор сульфата меди, 5% эмульсия сухих сливок, 5% раствор панкреатина, 1% раствор фенолфталеина, 1% раствор карбоната натрия.

Практическая часть:

Опыт 1. Реакция на крахмал. В одну из пробирок добавляет 1 каплю 1% раствора йодида калия (реакция с йодом). В присутствии крахмала появляется синее окрашивание.

Опыт 2. Реакция Троммера. В другую – 3 капли 5 % раствора сульфата меди и 5 капель 10% раствора гидроокиси натрия и осторожно нагревают до кипения (реакция Троммера). Появление красного окрашивания указывает на присутствие в растворе конечных продуктов гидролиза крахмала – глюкозы и мальтозы.

Аналогичную процедуру сделать с содержимым пробирки №2.

Результат должен показать, что в присутствии воды гидролиза крахмала не происходит, и реакция с йодом должна быть положительной, а реакция Троммера – отрицательной, тогда как в присутствии амилазы слюны результаты должны быть противоположными, так как произошел гидролиз крахмала.

Опыт 3. Влияние температуры на активность ферментов. Ферменты весьма чувствительны к температуре и проявляют свою наивысшую активность при оптимальном ее значении, которая для ферментов тела человека находится в пределах 35-45°C. При высокой температуре (выше 50°C) их активность снижается, а затем наступает инактивация, так как при этом нарушается структура активного центра и не происходит соединения его с субстратом.

Степень инактивации зависит от длительности теплового воздействия. Вследствие тепловой денатурации белковой молекулы фермента происходит замедление и прекращение ферментативных реакций. При низких температурах ферменты хорошо сохраняются, но скорость ферментативного катализа резко снижается. Температура, при которой каталитическая активность фермента максимальна, называется температурным оптимумом фермента. Различные клеточные ферменты имеют собственные температурные оптимумы, которые определяются экспериментально. Для ферментов животного происхождения температурный оптимум находится в интервале 40...50 °C.

В термолабильности ферментов можно убедиться на примере действия фермента амилазы слюны

В две пробирки прилить по 10 капель 1% раствора крахмала. Затем в одну из них добавить 5 капель раствора слюны, разведенной в 5 раз, а в другую – такое же количество предварительно прокипяченной в течение 10 мин слюны. Пробирки встряхнуть и поставить в термостат на 15 мин при 37°C, после чего с содержимым каждой пробирки сделать реакции с йодом, Троммера. В пробирке с прокипяченной слюной гидролиза крахмала не произойдет (почему?).

Опыт 4. Специфичность действия ферментов. Каждый фермент действует только на одно вещество или на группу сходных субстратов, что обусловлено

соответствием структуры фермента, точнее его активного центра и структуры субстрата. Например, амилаза действует только на крахмал, сахароза – только на сахарозу и т. п.

Специфичность действия бывает абсолютная (действует только на определенный субстрат), относительная, групповая и стереохимическая. Высокая специфичность ферментов определяется только тем, что только некоторые строго определенные функциональные группы, входящие в состав ферментов, могут участвовать в образовании фермент – субстратного комплекса. Специфичность – это избирательность фермента по отношению к субстрату (или субстратам).

Специфичность действия ферментов объясняется тем, что субстрат должен подходить к активному центру как "ключ к замку".

Амилаза слюны ускоряет гидролиз только полисахаридов, не действуя на дисахариды. Сахароза состоит из двух молекул глюкозы, но на неё не действует амилаза, поэтому пробирка с сахарозой не даст реакции в реактиве Фелинга.

В две пробирки (№1) вносят 10 капель 1% раствора крахмала, в другую (№2) – 10 капель 2% раствора сахарозы. Затем в пробирки добавляют по 4 капли раствора слюны, разведенной в 5 раз. Перемешивают и оставляют в термостате на 15 мин. при 37°C. После этого с содержимым всех четырех пробирок проделывают реакции с йодом, с реактивом Фелинга: к 5 каплям исследуемого раствора приливают 3 капли реактива, нагревают пробирку до кипения и кипятят в течение 1 мин. В случае положительной реакции на глюкозу наблюдается красное окрашивание вследствие образующейся закиси меди

Приготовление реактива Фелинга: медный купорос х. ч. выкристаллизовывают из горячего раствора и высушивают на фильтровальной бумаге. Готовят отдельно два раствора: а) 200 г сегнетовой соли и 150 г едкого натра разводят в мерной колбе (1 л) и доводят водой до метки; б) 40г медного купороса разводят в колбе вместимостью 1 л и доводят водой до метки. Перед употреблением смешивают эти два раствора в равных пропорциях.

Опыт 5 Влияние рН среды на активность ферментов. Для каждого фермента существует определенное значение реакции среды, при которой он проявляет наивысшую активность. Изменения рН вызывают снижение или полное торможение деятельности фермента. В основе этого лежит нарушение структуры активного центра (при изменении реакции среды происходит изменение заряда функциональных групп, входящих в состав активного центра). Большинство ферментов проявляет максимальную активность при значениях рН, близких к нейтральным. Лишь отдельные ферменты "работают" в сильно кислой или сильно щелочной среде. Например, активность пепсина – фермента, гидролизующего белки в желудке, – максимальна при рН 1,5...2,5. В щелочной среде "работают" ферменты, локализованные в кишечнике. Изменение оптимального для данного фермента значения рН-среды может привести к изменению третичной структуры фермента, что скажется на его активности. С другой стороны, при изменении рН может измениться ионизация субстрата, что повлияет на образование фермент-субстратного комплекса.

Оптimum рН для амилазы слюны можно определить при взаимодействии её с крахмалом при различных значениях рН.

О степени расщепления крахмала судят по его реакции с раствором йода. При оптимальном значении рН расщепление крахмала произойдет полностью и реакция на крахмал с йодом будет отрицательная, но по мере удаления от этой точки в кислую или щелочную среду расщепление крахмала произойдет только частично, до стадии декстринов, которые дадут и йодом красно-бурую или фиолетовую окраску, или же крахмал вообще не будет расщепляться и реакция с йодом будет положительная.

а) В 8 пробирках приливают по 1 мл дистиллированной воды, а затем в пробирку №1 вносят 1 мл 0,2% раствора соляной кислоты, перемешивают и отбирают из нее 1 мл смеси, которую переносят в пробирку №3 и так далее. Из пробирки №8 отбирают 1 мл и выливают. Таким образом, получают различные разведения соляной кислоты, которые соответствуют различным значениям рН среды. После

этого в каждую пробирку добавляют по 2 мл 1% раствора крахмала и по 1 мл раствора слюны, разведенной 1:10. Пробирки встряхнуть и поставить в термостат на 15 мин при 37°C. Затем охладить и добавить во все пробирки по 1 капле 1% раствора йода в йодиде калия. Отметить, что полный гидролиз крахмала произошел в пробирках № 5 и 6, где рН среды раствора находится в пределах 6,8 – 7,2, т. е. оптимальных для действия амилазы.

Опыт 6. Влияние активаторов и ингибиторов на активность ферментов.

Различные вещества могут вызывать или активирование действия фермента (активаторы) или тормозить его активность (ингибиторы). Примерами активаторов служат ионы хлора для амилазы, желчные кислоты для липазы поджелудочной железы, тогда как в качестве ингибиторов амилазы выступают ионы меди; цитохромов, ферментов, участвующих в биологическом окислении, - цианиды и т. п.

Активаторы и ингибиторы влияют на активный центр фермента, способствуют образованию его или блокированию. Они могут взаимодействовать с аллостерическим центром и тем самым менять ферментативную активность. Например, сульфат меди оказывает тормозящее действие на активность амилазы. Ингибиторами нередко являются продукты промежуточных или конечных реакций какого-либо биохимического процесса. Некоторые природные или синтетические вещества оказывают избирательное ингибирующее действие на ферменты и используются в качестве лекарственных препаратов. В больших дозах подобные вещества могут оказаться ядами.

Обратимые ингибиторы

Различают три типа обратимого ингибирования ферментов; конкурентное, неконкурентное и бесконкурентное,

Конкурентным называют ингибитор, обратимо взаимодействующий с активным центром фермента. Как правило, конкурентные ингибиторы по структуре похожи на субстрат и могут вытесняться из фермент-ингибиторного комплекса избытком субстрата. Взаимодействие с конкурентным ингибитором не приводит к

денатурации или инактивации фермента, поэтому при замене ингибитора на субстрат скорость ферментативной реакции не снижается.

Неконкурентные ингибиторы взаимодействуют с ферментами не в области активного центра, а на каком-то от него удалении, причем никаким избытком субстрата из комплекса не удаляются. При взаимодействии ингибитора с ферментом происходит изменение его конформации с последующей частичной дезинтеграцией активного центра.

Бесконкурентное ингибирование имеет место, когда ингибитор взаимодействует с ферментом только в составе фермент-субстратного комплекса, препятствуя его распаду. Примером необратимого действия ингибиторов на ферменты могут служить фосфорорганические вещества, применяемые в качестве инсектицидов.

В пробирку №1 вносят 1 каплю 1% раствора хлорида натрия, в пробирку №2 – 1 каплю 1% раствора сульфата меди, а в пробирку №3 – 1 каплю воды. Затем во все пробирки добавляют по 10 капель слюны в разведении 1:5. Перемешивают и вносят в каждую пробирку по 5 капель 1% раствора крахмала и оставляют 1-3 мин при комнатной температуре. После чего вносят во все пробирки по 1 капле 1% раствора йода в йодиде калия.

Контрольные вопросы:

- 1 Правила техники безопасности при выполнении работы.
- 2 Понятие о ферментах.
- 3 Классификация ферментов.
- 4 Строение фермента.
- 5 Как можно обнаружить присутствие фермента в исследуемом материале?
- 6 Перечислите основные факторы, влияющие на скорость ферментативной реакции.
- 7 Чем обусловлена специфичность ферментов?
- 8 Понятие об ингибиторах и активаторах.
- 9 Обратимое и необратимое ингибирование.
- 10 Методика исследования свойств сахаразы.

11 Методика исследования свойств амилазы.

12 Методика проведения биохимической реакции.

13 Особенность действия фосфорорганических соединений на фермент холинэстеразу.

14 Уравнение реакции гидролиза: сахарозы, крахмала, бутирилхолинйодида.

15 Определение ингибирующего действия хлорофоса.

Практическое занятие №5 Нуклеиновые кислоты

Цель работы: провести кислотный гидролиз пекарских дрожжей, изучить некоторые продукты гидролиза дрожжей

Теоретическая часть:

Нуклеиновые кислоты, биополимеры, состоящие из остатков фосфорной кислоты, сахаров и азотистых оснований (пуринов и пиримидинов). Имеют фундаментальное биологическое значение, поскольку содержат в закодированном виде всю генетическую информацию любого живого организма, от человека до бактерий и вирусов, передаваемую от одного поколения другому.

Нуклеиновые кислоты были впервые выделены из клеток гноя человека и спермы лосося швейцарским врачом и биохимиком Ф.Мишером между 1869 и 1871.

Впоследствии было установлено, что существует два типа нуклеиновых кислот: рибонуклеиновая (РНК) и дезоксирибонуклеиновая (ДНК), однако их функции долго оставались неизвестными.

В 1928 английский бактериолог Ф.Гриффит обнаружил, что убитые патогенные пневмококки могут изменять генетические свойства живых непатогенных пневмококков, превращая последние в патогенные. В 1945 микробиолог О.Эвери из Рокфеллеровского института в Нью-Йорке сделал важное открытие: он показал, что способность к генетической трансформации обусловлена переносом ДНК из одной клетки в другую, а следовательно, генетический материал представляет собой ДНК. В 1940–1950 Дж.Бидл и Э.Тейтум из Станфордского университета (шт. Калифорния) обнаружили, что синтез белков, в частности ферментов, контролируется специфическими генами. В 1942 Т.Касперсон в Швеции и Ж.Браше в Бельгии открыли, что нуклеиновых кислот особенно много в клетках, активно синтезирующих белки. Все эти данные наводили на мысль, что генетический материал – это нуклеиновая кислота и что она как-то участвует в синтезе белков. Однако в то время многие полагали, что молекулы нуклеиновых

кислот, несмотря на их большую длину, имеют слишком простую периодически повторяющуюся структуру, чтобы нести достаточно информации и служить генетическим материалом. Но в конце 1940-х годов Э.Чаргафф в США и Дж.Уайатт в Канаде, используя метод распределительной хроматографии на бумаге, показали, что структура ДНК не столь проста и эта молекула может служить носителем генетической информации.

Структура ДНК была установлена в 1953 М.Уилкинсом, Дж.Уотсоном и Ф.Криком в Англии. Это фундаментальное открытие позволило понять, как происходит удвоение (репликация) нуклеиновых кислот. Вскоре после этого американские исследователи А.Даунс и Дж.Гамов предположили, что структура белков каким-то образом закодирована в нуклеиновых кислотах, а к 1965 эта гипотеза была подтверждена многими исследователями: Ф.Криком в Англии, М.Ниренбергом и С.Очоа в США, Х.Кораной в Индии. Все эти открытия, результат столетнего изучения нуклеиновых кислот, произвели подлинную революцию в биологии. Они позволили объяснить феномен жизни в рамках взаимодействия между атомами и молекулами.

Типы и распространение. Как мы уже говорили, есть два типа нуклеиновых кислот: ДНК и РНК. ДНК присутствует в ядрах всех растительных и животных клеток, где она находится в комплексе с белками и является составной частью хромосом. У особей каждого конкретного вида содержание ядерной ДНК обычно одинаково во всех клетках, кроме гамет (яйцеклеток и сперматозоидов), где ДНК вдвое меньше. Таким образом, количество клеточной ДНК видоспецифично. ДНК найдена и вне ядра: в митохондриях («энергетических станциях» клеток) и в хлоропластах (частицах, где в растительных клетках идет фотосинтез). Эти субклеточные частицы обладают некоторой генетической автономией.

Бактерии и цианобактерии (сине-зеленые водоросли) содержат вместо хромосом одну или две крупные молекулы ДНК, связанные с небольшим количеством белка, и часто – молекулы ДНК меньшего размера, называемые плазмидами. Плазмиды

несут полезную генетическую информацию, например содержат гены устойчивости к антибиотикам, но для жизни самой клетки они несущественны. Некоторое количество РНК присутствует в клеточном ядре, основная же ее масса находится в цитоплазме – жидком содержимом клетки. Большую ее часть составляет рибосомная РНК (рРНК). Рибосомы – это мельчайшие тельца, на которых идет синтез белка. Небольшое количество РНК представлено транспортной РНК (тРНК), которая также участвует в белковом синтезе. Однако оба этих класса РНК не несут информации о структуре белков – такая информация заключена в матричной, или информационной, РНК (мРНК), на долю которой приходится лишь небольшая часть суммарной клеточной РНК. Генетический материал вирусов представлен либо ДНК, либо РНК, но никогда обеими одновременно.

Оборудование и реактивы: спектрофотометр, термостат, раствор ДНК – 0,003%.

Практическая часть:

Чистоту препаратов нуклеиновых кислот определяют по спектральной кривой поглощения в ультрафиолетовом свете и по величине отношений $E_{260} : E_{230}$ и $E_{240} : E_{280}$.

В спектрофотометрическую кювету наливают 3 мл раствора ДНК (0,003%) и на спектрофотометре измеряют оптическую плотность (D) при длине волн: 200, 210, 220, 230, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300 нм.

На основе полученных данных строят график зависимости D (ДНК) от длины волны. Находят максимум поглощения в ультрафиолетовом свете препарата ДНК. Затем высчитывают отношения $E_{260} : E_{230}$ и $E_{240} : E_{280}$. Для препаратов нуклеиновых кислот достаточно хорошо очищенных от примесей белков и полисахаридов, эти показатели должны быть в пределах 2,1 – 2,4. Делают вывод о чистоте исследованного препарата ДНК.

Контрольные вопросы:

1. Сложные белки, общая характеристика, классификация..

2. Нуклеопротеины – строение, классификация, биологическая роль. Уровни упаковки ДНК в составе хроматина. Строение простетической группы нуклеопротеинов – понятие о нуклеиновых кислотах, отличия ДНК от РНК.
3. Собственно гликопротеины. Классификация. Характеристика простетической группы гликопротеинов – классификация, структура, химические свойства углеводов. Гликопротеины слизи.
4. Гликопротеины плазмы крови. Методы их исследования. Биологическая роль отдельных представителей (трансферрин, гаптоглобин, церрулоплазмин, транскортин, урогликопротеиды и др.).
5. Протеогликаны. Строение простетической группы – гликозаминогликанов. Принцип построения протеогликановых комплексов, цементирующая роль гиалуронвой кислоты.
6. Понятие о мукополисахаридах или болезнях накопления гликозаминогликанов в тканях.

Практическое занятие №6 Липиды

Цель работы: ознакомить студентов с методиками проведения качественных реакций на липиды

Теоретическая часть: Липиды (от греч. липос – жир) – низкомолекулярные органические соединения, практически нерастворимые в воде, которые могут быть извлечены из клеток неполярными органическими растворителями (хлороформ, бензол, петролейный эфир). Отличительным свойством липидов является их гидрофобность (липофильность). Липиды представляют собой разнородные химические соединения

I Простые липиды:

1 ацилглицеролы (жиры, триглицериды и т. п.);

2 воска.

II Сложные липиды:

1 фосфолипиды

- глицерофосфолипиды (фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин, фосфатидилинозитол, фосфатидилглицерол, кардиолипин, плазмалоген);

- сфингофосфолипиды (сфингомиелин);

2 стероиды (холестерол, эргостерол, ланостерол, стигмастерол, экистероиды);

3 гликолипиды (цереброзиды, ганглиозиды, сульфатиды).

Для характеристики жира используют константы или жировые числа:

Кислотное число – масса КОН (мг), необходимая для нейтрализации свободных жирных кислот в 1 г жира.

Число омыления – это масса КОН (мг), необходимая для гидролиза нейтральных липидов (омыления) и нейтрализации всех жирных кислот (в том числе и свободных), содержащихся в 1 г жира. Чем выше число омыления, тем больше низкомолекулярных кислот входит в состав жира.

Йодное число – это масса йода (г), связываемая 100 г жира. Йодное число характеризует степень ненасыщенности, так как присоединение йода происходит

по месту разрыва кратных связей в остатке жирной кислоты. Чем больше йодное число, тем выше ненасыщенность жира.

Липиды широко применяют в медицине и технике. Из них получают основу для мазей, мыло (соли жирных кислот), масляные краски, олифу и т. п.

Оборудование и реактивы: Жиры (говяжий, свиной, бараний) 10 г, масло (подсолнечное, касторовое, растительное) 10 г, толуол, ацетон, петролейный эфир, диэтиловый эфир, гексан, этиловый спирт, серная кислота (конц.), соляная кислота (0,5н), соляная кислота (разб. 1:1), гидроксид калия (водный 0,1 н), гидроксид калия, (спиртовой раствор 0,5н), раствор гидроксида натрия (разб.), раствор карбоната натрия 10%, гидросульфат калия (безвод.), раствор нитрата серебра, аммиак (водный раствор), раствор фуксинсернистой кислоты, спиртовой раствор йода (0,2н), раствор тиосульфата натрия (0,1н), раствор крахмала 1 %, бромная вода, раствор гидроксида натрия 35 %; пробирки, колбочки для титрования, держатель, спиртовка, водяная баня, кристаллизатор со льдом, часовое стекло, бюретки.

Практическая часть:

Опыт 1 Растворимость жиров и масел

а) в 5 пробирок поместите по небольшому кусочку твердого жира (свиного, говяжьего и т. п.) и прилейте по 1 мл: 1 – воды, 2 – этанола, 3 – толуола, 4 – петролейного эфира, 5 – ацетона. Если жир не растворяется, пробирку поместите в водяную баню на 5 минут. Сделайте вывод о растворимости жира на холоде и при нагревании.

б) в 5 пробирок поместите по 0,5 мл растительного масла (подсолнечного, оливкового, кукурузного и т. п) и прилейте по 1 мл: 1 – воды, 2 – этанола, 3 – толуола, 4 – петролейного эфира, 5 – ацетона. Если масло не растворяется, пробирку поместите в водяную баню на 5 минут. Сделайте вывод о растворимости растительного масла на холоде и при нагревании.

Опыт 2 Гидролиз жиров и масел

а) В 2 пробирки поместите по небольшому кусочку жира и прилейте в 1 пробирку 1...2 мл раствора щелочи (NaOH разб.), а во вторую – 1...2 мл соляной кислоты (1:1). Пробирки встряхните. Если изменений не наблюдается, поместите пробирки в водяную баню на 5...10 мин.

Сделайте вывод о гидролизе жиров на холоду и при нагревании.

б) в 2 пробирки поместите по 0,5 мл растительного масла и прилейте в 1 пробирку 1...2 мл раствора щелочи (NaOH разб.), а во вторую – 1...2 мл соляной кислоты (1:1). Пробирки встряхните. Если изменений не наблюдается, поместите пробирки в водяную баню на 5...10 мин.

Сделайте вывод о гидролизе растительного масла на холоде и при нагревании.

Опыт 3 Выделение жира из молока

К 6 мл цельного молока прибавляют 2 мл 10 %-ного раствора Na_2CO_3 , хорошо перемешивают и взбалтывают с 5 мл эфира. Эфирный слой помещают в чашечку для выпаривания на водяную баню (под тягой). После испарения эфира остается сливочное масло – молочный жир.

Опыт 4 Обнаружение глицерина в жирах (акролеиновая проба)

В пробирку вносят 2...3 капли масла (жира), 0,1...0,2 г безводного KHSO_4 и нагревают на спиртовке (под тягой) до появления белых густых паров. В пары вносят бумажку, смоченную аммиачным раствором нитрата серебра или раствором фуксинсернистой кислоты.

Аналитический эффект: Бумажка с раствором солей серебра темнеет, а с раствором фуксинсернистой кислоты становится ярко-розовой.

Акролеиновая проба проводится для обнаружения в липидах глицерина. При нагревании в присутствии водоотнимающих средств (KHSO_4 , MgSO_4 , борная кислота) из глицерина образуется непредельный альдегид – акролеин (пропеналь).

Опыт 5 Определение ненасыщенности кислот в составе жира

В пробирку поместите 2–3 капли масла (жира) и 8 – 10 капель бромной воды. Пробирку встряхните.

Аналитический эффект: Обесцвечивание бромной воды

Опыт 6 Определение йодного числа

В предварительно взвешенную сухую колбу для титрования помещают 3...4 капли масла (жира).

Колбу повторно взвешивают на аналитических весах. По разности весов рассчитывают массу навески масла (жира). В колбу добавляют 25 мл спирта (при плохой растворимости слегка подогревают на водяной бане). Затем в колбу вносят 12,5 мл 0,2н спиртового раствора йода (из бюретки), 100 мл воды и перемешивают 5 мин. Содержимое колбы титруют 0,1н раствора тиосульфата натрия до появления слабо желтого окрашивания.

Для более точного определения в колбу приливают 1 мл раствора крахмала и титрование заканчивают до исчезновения синего окрашивания.

Опыт повторяют – контроль, но без масла (жира).

Расчет йодного числа проводят по формуле:

$$\text{И. ч.} = (V_2 - V_1) \times 0,0127 \times 100 / m,$$

где V_2 – объем (мл) раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование контроля; V_1 – объем (мл) раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование пробы масла; 0,0127 – титр тиосульфата по йоду; m – навеска масла (г)

Опыт 7 Определение кислотного числа

В предварительно взвешенную сухую колбу для титрования помещают примерно 2 мл масла (жира) – 2...3 г. Колбу повторно взвешивают на аналитических весах. По разности рассчитывают массу навески масла (жира) \approx 2...3 г. В колбочку добавляют 10...15 мл смеси спирта с эфиром (1:1), 1...2 капли фенолфталеина и титруют 0,1 н раствор КОН до появления слабо-розового окрашивания. Окраска после взбалтывания не должна исчезать в течение 0,5...1 мин.

Кислотное число рассчитывают по формуле:

$$\text{К. ч.} = V T / m,$$

где К. ч. – кислотное число; V – объем (мл) спиртового раствора КОН, пошедшего на титрование (мл); T – титр 0,1 н раствора КОН; m – масса навески масла (жира), г.

Опыт 8 Омыление жиров

В фарфоровую чашечку поместите 0,5 мл касторового масла (жира) и 4 капли 35 %-ного раствора гидроксида натрия. Тщательно размешайте смесь стеклянной палочкой до получения однородной эмульсии и поставьте на песчаную баню.

Продолжайте тщательно размешивать смесь до получения однородной прозрачной слегка желтоватой жидкости. Затем добавьте 2 мл дистиллированной воды и вновь нагрейте, тщательно перемешивая до полного удаления воды. В результате получается кусочек твердого белого мыла.

Опыт 9 Определение числа омыления

В 2 колбочки помещают: 1...0,5 г жира (навеска на аналитических весах), 2...0,5 мл воды. Затем в обе колбочки добавляют по 15 мл 0,5н спиртового раствора КОН. Колбочки закрывают пробками, соединенными с обратными холодильниками, и кипятят на водяной бане 30...40 минут.

После охлаждения в колбочки прибавляют по 15...20 мл воды, 3–4 капли раствора фенолфталеина и титруют 0,5н раствором соляной кислоты до исчезновения розового окрашивания.

Расчет числа омыления проводят по формуле:

$$\text{Ч. о.} = (V_2 - V_1) \times 28 / m,$$

где Ч. о. – число омыления; V_2 – объем (мл) раствора соляной кислоты, израсходованного на титрование контроля; V_1 – объем (мл) раствора соляной кислоты, израсходованного на титрование пробы масла; m – навеска масла (г); 28 – масса КОН в 1 мл спиртового раствора.

Контрольные вопросы:

- 1 Укажите правила техники безопасности при выполнении опытов.
- 2 Дайте определение и проведите классификацию липидов.
- 3 Укажите функции липидов в организме.
- 4 Особенности высших жирных кислот, входящих в состав липидов человека.

- 5 Приведите примеры качественных реакций, доказывающих неопредельный характер ВЖК.
- 6 Напишите структурные формулы представителей простых и сложных липидов: ТАГ, фосфолипидов, холестерина.
- 7 Какие реакции лежат в основе омыления жира?
- 8 Какие числа характеризуют состав и строение липидов?
- 9 Перечислите компоненты, участвующие в переваривании жиров.
- 10 Значение ВЖК, холестерина в метаболических процессах.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Методические указания

к лабораторным работам по дисциплине

«Химическая технология синтетических биологически активных веществ»

для направления подготовки 18.03.01 Химическая технология
направленность (профиль) Химическая технология синтетических
биологически активных веществ, химико-фармацевтических препаратов и
косметических средств

Невинномысск 2025

Методические указания разработаны в соответствии с требованиями ФГОС ВО и рабочей программы дисциплины «Химическая технология синтетических биологически активных веществ». Указания предназначены для студентов очной формы обучения направления подготовки 18.03.01 Химическая технология.

Содержат основные разделы изучаемого теоретического материала, перечень вопросов необходимых для проработки, а также список рекомендуемой литературы.

Составители

Гонтарь Н.В.

Лабораторная работа №1

Изучение свойств спиртов

Цель: Исследовать химические свойства спиртов и провести их сравнение.

Теоретическая часть.

Этиловый спирт широко используют в различных областях промышленности и прежде всего в химической. Из него получают синтетический каучук, уксусную кислоту, красители, эссенции, фотопленку, порох, пластмассы. Спирт является хорошим растворителем и антисептиком. Поэтому он находит применение в медицине.

Основным спиртом, используемых в медицинских целях, является этанол. Его используют в качестве наружного антисептического и раздражающего средства для приготовления компрессов и обтираний. Ещё более широко применяется этиловый спирт для приготовления различных настоек, разведений, экстрактов и прочих лекарственных форм.

Спирты довольно широко используются в качестве душистых веществ для составления композиций в парфюмерно-косметической промышленности.

В пищевой промышленности широкое применение спиртов общеизвестно: основой всех алкогольных напитков является этанол, который получается при сбраживании пищевого сырья — винограда, картофеля, пшеницы и прочих крахмало- или сахаросодержащих продуктов. Кроме того, этиловый спирт используется в качестве компонента (растворителя) некоторых пищевых и ароматических эссенций (ароматизаторов), широко используемых в кулинарии, при выпечке кондитерских изделий, производстве шоколада, конфет, напитков, мороженого, варений, желе, джемов, конфитюров и пр.

Однако, этиловым, список спиртов, используемых в индустрии продуктов питания, не ограничивается. Спирты можно встретить среди самых разных пищевых добавок

Практическая часть. Этиловый спирт (этанол) C_2H_5OH — бесцветной жидкость, легко испаряющаяся (температура кипения $64,7\text{ }^{\circ}C$, температура плавления $-97,8\text{ }^{\circ}C$, оптическая плотность $0,7930$). Спирт, содержащий 4—5 % воды, называют ректификатом, а содержащий только доли процента воды — абсолютным спиртом. Такой спирт получают химической обработкой в присутствии водоотнимающих средств (например, свежепрокаленного CaO).

Как у всех кислородосодержащих соединений, химические свойства этилового спирта определяются, в первую очередь, функциональными группами и, в известной степени, строением радикала.

Характерной особенностью гидроксильной группы этилового спирта является подвижность атома водорода, что объясняется электронным строением гидроксильной группы. Отсюда способность этилового спирта к некоторым реакциям замещения, например,

щелочными металлами. С другой стороны, имеет значение и характер связи углерода с кислородом. Вследствие большой электроотрицательности кислорода по сравнению с углеродом, связь углерод-кислород также в некоторой степени поляризована с частичным положительным зарядом у атома углерода и отрицательным – у кислорода. Однако, эта поляризация не приводит к диссоциации на ионы, спирты не являются электролитами, а представляют собой нейтральные соединения, не изменяющие окраску индикаторов, но они имеют определенный электрический момент диполя.

Спирты являются амфотерными соединениями, то есть могут проявлять как свойства кислот, так и свойства оснований.

Физико-химические свойства спиртов определяются в основном строением углеводородной цепи и функциональной группы –ОН, а также их взаимным влиянием.

Оборудование и реактивы: кипятильные камешки, водяная баня, фильтровальная бумага, стеклянная палочка, колбы для титрования, мерная пипетка на 10 см³ и 5 см³, бюретки, мерный цилиндр, стеклянная воронка этиловый спирт, изоамиловый спирт (техническое сивушное масло), метиловый спирт, пропиловый спирт, изопропиловый спирт, этиленгликоль, глицерин, медный купорос (кристаллический), натрий металлический, серная кислота (конц.), фенолфталеин, раствор дихромата калия (5 %), серная кислота (разб.), перманганат калия (крист.), лакмусовая бумага, раствор йода (10 %), раствор щелочи (10 %), бура (крист.), соляная кислота (разб.), йодид калия, раствор крахмала, тио-сульфат натрия (стандартный раствор), карбонат калия (кристаллический).

Ход работы:

1. Высаливание спирта из его водного раствора.

Смешайте в пробирке 2 см³ этилового спирта и 2 см³ воды комнатной температуры. Погрузив в смесь термометр, отметьте повышение температуры при смешении спирта с водой на несколько градусов.

Несколько капель полученного ~50 %-ного спирта поместите на стекло и испытайте, горюча ли эта жидкость.

Затем добавьте к смеси около 2 г карбоната калия (или гипосульфита), взболтайте и дайте отстояться. Над водным раствором добавленной соли всплывает слой спирта, который снова испытывают на горючесть.

Разогревание (а также уменьшение объема) при смешении спирта с водой обусловлено гидратацией спирта. Наличие гидратов в водно-спиртовых смесях установил Д.И. Менделеев методом физико-химического анализа, а именно, изучая плотность 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.

2. Обнаружение воды в спирте и обезвоживание спирта.

В фарфоровой чашке или тигле нагрейте на пламени горелки 1,5-2 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, перемешивая соль медной проволочкой, до полного исчезновения голубой окраски соли и прекращения выделения паров воды. Дайте остыть полученному белому порошку, пересыпьте его в сухую пробирку и добавьте 2-3 см³ этилового спирта. При встряхивании и слабом нагревании содержимое пробирки (белый порошок) быстро окрашивается в голубой цвет.

Полученный обезвоженный спирт осторожно слейте и используйте для опыта 3.

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. Легко гидратирующиеся вещества: окись 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 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 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 нерастворим. Чрезмерно прокаленный медный купорос гидратируется медленно. Безводный хлорид кальция непригоден для обезвоживания спиртов, так как образует со многими спиртами кристаллоалкоголяты. Концентрированная серная кислота также непригодна для этой цели.

Безводные - абсолютные - спирты обычно очень гигроскопичны. Для удаления последних следов воды из спирта, что необходимо при многих синтезах, добавляют к обезвоженному спирту немного металлического натрия и отгоняют спирт от образовавшихся щелочи и алкоголята.

3. Образование и гидролиз алкоголята.

Полученный в опыте 2 обезвоженный этиловый спирт осторожно слейте с осадка в сухую пробирку и погрузите в него кусочек чистого (свежеотрезанного, очищенного от корочек и отжатого от керосина) металлического натрия размером с горошину. Чтобы предотвратить разогревание смеси и выкипание спирта, охладите пробирку в стакане с водой. Когда газ станет

выделяться спокойно, поднесите пробирку отверстием к пламени горелки. Выделяющийся водород образует с воздухом смесь, вспыхивающую с характерным резким звуком.

Жидкость постепенно густеет, натрий покрывается слоем твердого алкоголята, и реакция замедляется настолько, что для ее ускорения требуется слегка нагревать пробирку. Если выделение водорода почти прекратится, а натрий полностью не растворится, подогрейте смесь до разжижения, удалите из нее оставшийся кусочек натрия при помощи изогнутой проволочки и поместите его в банку для остатков натрия.

Полученный концентрированный раствор алкоголята при охлаждении закристаллизовывается.

Добавьте в ту же пробирку 5-6 см³ воды и испытайте фенолфталеином реакцию полученного раствора.

4. Взаимодействие изоамилового спирта с серной кислотой.

В пробирку поместите 4 см³ холодной концентрированной серной кислоты и осторожно небольшими порциями добавьте 2 см³ изоамилового спирта. Смесь следует часто встряхивать и охлаждать, погружая пробирку в воду, лучше ледяную. По окончании введения спирта полученную однородную, почти не имеющую запаха жидкость оставьте стоять в течение 3... 5 мин, после чего разделите ее на две части.

Половину реакционного раствора осторожно, небольшими порциями вылейте в другую пробирку с 5.7 см³ холодной воды, взбалтывая и хорошо охлаждая. Образуется прозрачный раствор без запаха, в то время как исходный спирт мало растворим в воде и имеет характерный запах.

Если при смешивании спирта с кислотой было допущено разогревание, то водный раствор получается слегка мутным и появляется запах диизоамилового эфира, однако заметного нерастворимого слоя жидкости все же не образуется.

Другую половину реакционного раствора нагрейте почти до кипения в течение 2-3 мин. При этом жидкость сильно бурлит, выделяются мелкие пузырьки газа с характерным запахом сернистого ангидрида. Охладив жидкость, осторожно вылейте ее в пробирку с водой. В этом случае выделяется нерастворимый в воде слой диизоамилового эфира.

5. Окисление этилового спирта хромовой смесью.

Смешайте в пробирке 2 см³ раствора бихромата калия, 1 см³ разбавленной серной кислоты и 0,5 см³ этилового спирта и осторожно нагрейте смесь. Течение реакции окисления обнаруживается по изменению окраски раствора, а образование ацетальдегида - по его характерному запаху.

6. Окисление этилового спирта перманганатом калия.

В пробирку с заранее подогнанной пробкой с отводной трубкой поместите 0,5 г перманганата калия, 3 см³ воды и 0,5 см³ этилового спирта. При слабом нагревании начинается энергичная реакция, поэтому пробирку со смесью охладите в стакане с водой. Затем снова осторожно нагрейте смесь до начала кипения и кипятите 1-2 мин, после чего добавьте 3 см³ разбавленной серной кислоты, внесите кипяточный камешек, присоедините отводную трубку и отгоните около 0,5 см³ жидкости в пробирку-приемник. Отметьте запах отгона и реакцию его на лакмус. С пробой отгона проведите характерную реакцию на уксусную кислоту.

Контрольные вопросы.

1. Охарактеризуйте химические свойства спиртов на примере этилового спирта, аллилового спирта, этиленгликоля и глицерина. Укажите условия проведения реакций.
2. Предложите реакции, с помощью которых можно обнаружить этиловый спирт, метиловый спирт, глицерин.
3. Опишите физические свойства спиртов.
4. Приведите примеры реакций получения первичных, вторичных и третичных спиртов с помощью реактивов Гриньяра.
5. Укажите условия и механизм реакции дегидратации спиртов.
6. Приведите примеры реакций замещения гидроксильной группы в спиртах.
7. Приведите уравнение реакции окисления этилового спирта дихроматом калия и перманганатом калия в кислой среде. Расставьте коэффициенты методом электронного баланса.
8. Укажите области промышленного использования метанола, этанола, пропилового и изобутилового спиртов, этиленгликоля, глицерина.
9. Приведите реакции получения алкоголятов и их гидролиза.
10. Какая реакция называется этерификацией?

Лабораторная работа №2

Получение сложных эфиров минеральных кислот

Цель:изучить на практике синтез сложных эфиров минеральных кислот, научиться проводить реакцию этерификации

Теоретическая часть.

Среди функциональных производных кислот особое место занимают сложные эфиры — производные кислот, у которых кислотный водород заменён на алкильные (или вообще углеводородные) радикалы.

Сложные эфиры делятся в зависимости от того, производной какой кислоты они являются (неорганической или карбоновой).

Среди сложных эфиров особое место занимают природные эфиры — жиры и масла, которые образованы трехатомным спиртом глицерином и высшими жирными кислотами, содержащими четное число углеродных атомов. Жиры входят в состав растительных и животных организмов и служат одним из источников энергии живых организмов, которая выделяется при окислении жиров.

Практическая часть.

Среди изученных и широко применяемых сложных эфиров большинство представляют соединения, полученные на основе карбоновых кислот. Сложные эфиры на основе минеральных (неорганических) кислот не столь разнообразны, такой класс менее многочислен, чем класс карбоновых кислот.

Когда число атомов С в исходных карбоновой кислоте и спирте не превышает 6–8, соответствующие сложные эфиры представляют собой бесцветные маслянистые жидкости, чаще всего с фруктовым запахом. Они составляют группу фруктовых эфиров.

Если в образовании сложного эфира участвует ароматический спирт (содержащий ароматическое ядро), то такие соединения обладают, как правило, не фруктовым, а цветочным запахом. Все соединения этой группы практически нерастворимы в воде, но легко растворимы в большинстве органических растворителей. Интересны эти соединения широким спектром приятных ароматов, некоторые из них вначале были выделены из растений, а позже синтезированы искусственно.

Оборудование и реактивы: пробирки, пипетка, стеклянная палочка, часовое стекло, прямая газоотводная трубка с оттянутым концом, ледяная баня, холодильник, этиловый спирт, борная кислота, серная кислота концентрированная, нитрит натрия, соляная кислота концентрированная

Ход работы:

Получение этилнитрита

В пробирке растворите 1 г нитрита натрия в 2 см³ воды, добавьте 1,5 см³ спирта и раствор хорошо охладите в смеси воды со льдом и снегом. В другой пробирке смешайте 1 см³ концентрированной соляной кислоты с 1 см³ воды и также охладите смесь до 0 °С. Осторожно, малыми порциями, влейте кислоту в водно-спиртовой раствор нитрита натрия, все время взбалтывая и тщательно охлаждая смесь. Над водным раствором быстро всплывает желтоватый слой этилнитрита, имеющий приятный фруктовый запах.

Образование эфира борной кислоты.

Нагрейте в пробирке 1,5-2 г борной кислоты, при этом пробирку держите горизонтально и прогрейте время от времени ее стенки пламенем горелки для удаления капель воды. Кислота постепенно обезвоживается и плавится. Когда последние кристаллики исчезнут, дайте пробирке остыть в горизонтальном положении; густой прозрачный плав затвердевает, частично растрескиваясь. Затем добавьте 4-5 см³ спирта, 2 см³ концентрированной серной кислоты и внесите кипяточные камешки. Пробирку закройте заранее подготовленной пробкой с отводной трубкой, присоедините холодильник и отгоните 1-2 см³ жидкости в сухую пробирку.

Часть отгона вылейте на часовое стекло и подожгите; отметьте характерную окраску пламени и выделение негорючих продуктов, образующих белый налет на поднесенном холодном стекле. К другой части отгона при встряхивании добавьте по каплям воду.

Контрольные вопросы.

1. Охарактеризуйте физические свойства сложных эфиров минеральных кислот. Проведите их сравнение с физическими свойствами сложных эфиров карбоновых кислот.
2. Объясните аналитический эффект реакции этилнитрита с йодидом калия и напишите уравнения реакций, протекающих в этом случае.
3. Укажите условия протекания гидролиза сложных эфиров.
4. Укажите биологическое действие на организм человека этилнитрита.
5. Приведите возможные области применения сложных эфиров минеральных кислот.
6. Почему алкилнитрит менее растворим в воде, чем исходный спирт?
7. Почему реакцию синтеза этилнитрита осуществляют при тщательном охлаждении?
8. Что называется реакцией этерификации?
9. Укажите, что происходит с химической точки зрения при смешении этилнитрита с раствором щелочи.
10. Перечислите химические свойства нитросоединений, являющихся изомерами эфиров азотистой кислоты.

Лабораторная работа №3

Синтез этилацетата

Цель:изучить на практике синтез сложных эфиров, научиться проводить реакцию этерификации

Теоретическая часть.

Сложные эфиры низших карбоновых кислот и спиртов представляют собой летучие, нерастворимые в воде жидкости. Многие из них имеют приятный запах. Они употребляются для отдушки напитков. Сложные эфиры имеют, как правило, более низкую температуру кипения, чем соответствующие им кислоты. Например, стеариновая кислота кипит при 232 °С (P = 15 мм рт. ст.), а метилстеарат— при 215 °С (P =15 мм рт. ст.). Объясняется это тем, что между молекулами сложных эфиров отсутствуют водородные связи.

Сложные эфиры высших жирных кислот и спиртов — воскообразные вещества, не имеют запаха, в воде не растворимы.

Приятный аромат цветов, плодов, ягод в значительной степени обусловлен присутствием в них тех или иных сложных эфиров.

Жиры широко распространены в природе. Наряду с углеводородами и белками они входят в состав всех растительных и животных организмов и составляют одну из основных частей нашей пищи.

По агрегатному состоянию при комнатной температуре жиры делятся на жидкие и твердые. Твердые жиры, как правило, образованы предельными кислотами, жидкие жиры (их часто называют маслами) — непредельными. Жиры растворимы в органических растворителях и нерастворимы в воде.

Практическая часть.

Получение с помощью реакции этерификации, при нагревании кислоты и спирта в присутствии серной кислоты или других минеральных кислот. Минеральные кислоты (точнее протон, образующийся при диссоциации этих кислот) являются катализатором реакции. Изотопными исследованиями показано, что в реакции этерификации от молекулы спирта отделяется атом водорода, а от молекулы кислоты - гидроксильная группа. Эта реакция обратима и подчиняется правилу Ле – Шателье. Для увеличения выхода сложных эфиров необходимо удалять из реакционной среды образующуюся воду.

Оборудование и реактивы:

коническая колба, обратный воздушный холодильник, водяная баня, воронка Бюхнера, термометр, фильтровальная бумага, уксусная кислота, этанол, серная кислота концентрированная, насыщенный раствор хлорида кальция, сульфат натрия.

Ход работы:

В колбу налейте 5 см³ этилового спирта и 5 см³ концентрированной серной кислоты, а затем соберите установку для синтеза.

В капельную воронку налейте смесь спирта и уксусной кислоты.

Колбу со смесью спирта и серной кислоты нагрейте на песчаной бане до температуры 140.150 °С и начинайте приливать из капельной воронки смесь этилового спирта и уксусной кислоты с такой же скоростью, с какой отгоняются продукты реакции. После окончания реакции (прекращение поступления отгона в приемник) содержимое приемника перелейте в дели-тельную воронку, добавьте в нее концентрированный раствор соды для нейтрализации отогнанной, не вступившей в реакцию, уксусной кислоты. Промывку считают законченной, если не выделяются пузырьки углекислого газа.

Эфирный слой отделите и промойте от остатков спирта насыщенным раствором хлорида кальция, объем которого берут в два раза меньше объема образовавшегося эфира.

Эфирный (верхний) слой перенесите в сухую коническую колбу с притертой пробкой и добавьте к нему 5.10 г безводного сульфата натрия (хлорида кальция) для удаления воды.

Соберите установку для перегонки этилацетата и отберите фракцию с температурой кипения 75.78 °С. Замерьте объем, вычислите массу полученного этилацетата и рассчитайте выход по отношению к теоретическому.

Контрольные вопросы.

1. Какие меры техники безопасности следует соблюдать при получении этилацетата?
2. Сформулируйте правила образования названий карбоновых кислот и их производных по рациональной номенклатуре и номенклатуре ИЮПАК. Приведите примеры.
3. Укажите особенности строения молекул: а) муравьиной кислоты; б) уксусной кислоты; в) этилацетата; г) хлорангидрида уксусной кислоты; д) уксусного ангидрида; е) амида уксусной кислоты.
4. Напишите уравнения реакции получения всеми возможными способами: а) уксусной кислоты; б) этилацетата.
5. Охарактеризуйте химические свойства карбоновых кислот (на примере уксусной кислоты). Приведите уравнения реакций, укажите условия:
 - а) образования солей, б) образования производных (ангидридов, галогенангидридов, сложных эфиров, амидов, нитрилов); в) замещения атома водорода в α-положении к функциональной группе; г) декарбоксилирования.
6. Охарактеризуйте химические свойства сложных эфиров (на примере этилацетата). Приведите уравнения реакций и укажите условия:

а) гидролиза (кислотного и щелочного); б) переэтерификации.

7. Какие соединения называются жирами? Приведите примеры.

8. Предложите реакции, при помощи которых можно обнаружить и разделить смесь карбоновой кислоты и сложного эфира.

9. Укажите области применения карбоновых кислот и их производных.

Предложите схему получения уксусной кислоты и этилацетата из неорганических реактивов.

Лабораторная работа №4

Получение хинона из гидрохинона

Цель:изучить на практике методы синтеза и очистки ароматических кислородсодержащих биологически активных веществ

Теоретическая часть.

Хиноны — полностью сопряжённые циклогексадиеноны и их аннелированные аналоги. Существуют два класса хинонов: пара-хиноны с пара — расположением карбонильных групп (1,4-хиноны) и орто-хиноны с орто-расположением карбонильных групп (1,2-хиноны). Благодаря способности к обратимому восстановлению до двухатомных фенолов некоторые производные пара-хинонов участвует в процессах биологического окисления в качестве коферментов ряда оксидоредуктаз.

Ядро хинонов не является ароматическим, вклад резонансных структур ароматического типа в свойства хинонов невелик. Спектроскопические свойства близки к свойствам 1,2-ненасыщенных кетонов, при этом свойства 1,4-хинонов ближе к перекрестно-сопряжённым ненасыщенным 1,4-дикетонам, в то время как 1,2-хиноны ближе к диендионам.

Так, например, простейший 1,4-хинон — пара-бензохинон — имеет жёлтую окраску, тогда как 1,2-бензохинон окрашен в ярко-красный цвет за счёт более длинной цепи сопряжения, обуславливающей батохромный сдвиг.

В инфракрасных спектрах для 1,4-хинонов типичны две полосы поглощения карбонила, обусловленные резонансом Ферми при 5.98 и 6.06 мкм, в случае 1,2-хинонов присутствует слабая полоса при 5.95 мкм и более сильная при 6.02 мкм. В спектрах ¹H ЯМР сигналы протонов хиноидного ядра лежат в области $\delta \sim 6.7$, что близко к к химическим сдвигам протонов при двойной связи α,β -ненасыщенных кетонов ($\delta 6.63$ для α -протона метилвинилкетона[3]) и указывает на отсутствие эффекта кольцевого тока ароматической π -системы, то есть на неароматичность хиноидного ядра.

Хиноны — кристаллические вещества с высокими температурами плавления, низшие хиноны окрашены, так как молекула имеет протяжённую цепь сопряжения.

Практическая часть.

Общий метод синтеза хинонов — как моноциклических бензохинонов и их производных, так и полициклических конденсированных хинонов, причём если для окисления производных бензола требуется, как правило, наличие электродонорных заместителей, активирующих ароматическое кольцо (например, гидрокси- или аминогрупп), то в случае

полициклических ароматических углеводородов возможно и прямое окисление до соответствующих хинонов.

Окисление активированных ароматических соединений может проводиться с использованием различных окислителей ($\text{CrO}_3/\text{H}_2\text{CrO}_4$ в кислой среде, Ag_2O , Fe^{3+}), однако для синтеза пара-бензохинонов наиболее широко используется реакция Гойбера — окисление активированных производных бензола (фенолов, ароматических аминов, аминафенолов) солью Фреми (нитрозодисульфатом калия).

Оборудование и реактивы: колба, пипетка на 10 см³, химический стакан, цилиндр, колба Бунзена, воронка Бюхнера, термометр на 150 °С, техно-химические весы, разновесы, водяная баня, ледяная баня, установка для перегонки, кипяtilьные камешки, спиртовка, гидрохинон, бихромат калия.

Ход работы:

1. Получение п-хинона.

В небольшую колбу с отводной трубкой и присоединенной к ней широкой холодильной трубкой поместите 1 г гидрохинона, 3 г дихромата калия и 20 см³ воды. Смесь постепенно бурет, темнеет и сильно густеет вследствие выделения кристаллов хингидрона. Добавьте в колбу 1 см³ концентрированной серной кислоты, внесите кипяtilьные камешки и нагрейте смесь пламенем горелки до энергичного кипения, собирая отгон в пробирку. Сначала появляются желтые пары хинона, затем быстро отгоняется несколько миллилитров его водного раствора, а в холодильной трубке скапливаются ярко-желтые кристаллы. Когда их количество перестанет увеличиваться, прекратите перегонку, разберите прибор, вытолкните кристаллы из трубочки (палочкой или проволокой), отсосите и отожмите в фильтровальной бумаге. Отметьте характерный запах хинона.

Водный раствор используйте для следующих опытов.

2. Получение хингидрона.

В небольшой стаканчик поместите 0,5 г гидрохинона, прилейте 30 см³ воды и слегка нагрейте до полного растворения кристаллов. Отдельно в пробирке растворите 0,5 г хинона в 8-9 см³ спирта и влейте этот раствор в стакан с теплым раствором гидрохинона. Стакан поставьте в холодную воду на 10-15 мин, после чего отсосите выделившиеся зеленовато-черные кристаллы хингидрона, промойте их на фильтре небольшим количеством холодной воды и отожмите в фильтровальной бумаге досуха.

Хингидрон образуется и при непосредственном смешении хинона и гидрохинона. В нем молекулы исходных веществ связаны не только водородными связями, но и переносом части заряда п-электронов бензольного ядра от гидрохинона к хинону.

Хингидрон интенсивно окрашен, почти не имеет запаха и малорастворим в воде. Он часто применяется при потенцио-метрическом определений концентрации ионов водорода, т.е. кислотности растворов ("хингидронный электрод"). Темпера-тура плавления хингидрона 171 °С, т.е. выше, чем каждого из его компонентов в отдельности.

При дальнейшем действии окислителя весь гидрохинон (т.е. и свободный и связанный в хингидрон) переходит в бензохинон. Последний имеет едкий, раздражающий запах и очень летуч, несмотря на относительно высокую температуру плавления; поэтому его необходимо хранить в плотно закрытых сосудах. Яркая окраска хинона - пример влияния хиноидной группы атомов на цвет соединения. Дихромат калия в описанных условиях получения хинона можно заменить более растворимой солью $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, а также двуокисью марганца.

Контрольные вопросы.

1. Охарактеризуйте химические свойства фенолов и хинонов. Приведите уравнения реакций, укажите условия.
2. Перечислите реактивы, используемые при синтезе и анализе хинона.
3. Укажите условия проведения синтеза хинона.
4. Укажите переход окраски в условиях синтеза хинона и объясните его с точки зрения теории цветности
5. Что характеризует реакция с бисульфитом натрия в кислой среде?
6. Приведите уравнение реакции восстановления хинона йодидом калия в кислой среде.
7. Перечислите аналитические эффекты реакций, протекающих в данной лабораторной работе.
8. Укажите тип реакции, протекающей при добавлении щелочи к раствору хинона.
9. В каких биологически активных веществах могут встречаться хиноны?
10. Напишите уравнения реакции получения фенола из: а) бензолсульфокислоты; б) хлорбензола; в) кумола; г) бензол- диазохлорида.

Лабораторная работа №5

Синтез бензойной кислоты

Цель:изучить на практике методы синтезаи очистки ароматических кислородсодержащих биологически активных веществ

Теоретическая часть.

Ароматическими карбоновыми кислотами называются производные бензола, содержащие карбоксильные группы, непосредственно связанные с углеродными атомами бензольного ядра. Кислоты, содержащие карбоксильные группы в боковой цепи, рассматриваются как жирноароматические.

Ароматические кислоты могут быть разделены по количеству карбоксильных групп на одно-, двух- и более основные. Названия кислот, у которых карбоксильная группа непосредственно связана с ядром, производятся от ароматических углеводородов. Названия кислот с карбоксилем в боковой цепи производятся обычно от наименований соответствующих кислот жирного ряда. Наибольшее значение имеют кислоты первого типа: например, бензойная (бензолкарбоновая) C_6H_5-COOH , п-толуиловая (п-толуолкарбоновая), фталевая (1,2-бензолдикарбоновая), изофталевая (1,3-бензолдикарбоновая), терефталевая (1,4-бензолдикарбоновая).

Монокарбоновые кислоты ряда бензола — бесцветные кристаллические вещества с температурой плавления выше $100\text{ }^\circ\text{C}$. Кислоты с пара- положением заместителей плавятся при значительно более высоких температурах, чем их изомеры. Ароматические кислоты кипят при несколько более высоких и плавятся при значительно более высоких температурах, чем кислоты жирного ряда с тем же числом углеродных атомов. Монокарбоновые кислоты довольно плохо растворяются в холодной воде и значительно лучше в горячей. Низшие кислоты летучи с парами воды. В водных растворах монокарбоновые кислоты обнаруживают большую степень диссоциации, чем кислоты жирного ряда: константа диссоциации бензойной кислоты $6,6 \cdot 10^{-5}$, уксусной кислоты $1,8 \cdot 10^{-5}$. При $370\text{ }^\circ\text{C}$ она разлагается до бензола и CO_2 (в небольшом количестве образуются фенол и CO). При взаимодействии с бензоилхлоридом при повышенных температурах бензойная кислота превращается в бензойный ангидрид. Бензойная кислота и ее эфиры содержатся в эфирных маслах (например, в гвоздичном, толуанском и перуанском бальзамах, бензойной смоле). Производное бензойной кислоты и глицина — гиппуровая кислота — продукт жизнедеятельности животных.Кристаллизуется в виде бесцветных пластинок или игл, плавящихся при $121\text{ }^\circ\text{C}$, легко растворимых в спирте и эфире, но трудно растворимых в воде. В настоящее время бензойная кислота довольно широко применяется в промышленности красителей. Бензойная кислота обладает антисептическими

свойствами и поэтому используется для консервирования пищевых продуктов. Значительное применение находят также различные производные бензойной кислоты.

Практическая часть.

Традиционные названия бензойная кислота,

Химическая формула C_6H_5COOH

Молярная масса 122.12 г/моль

Физические свойства

Состояние (ст. усл.) твердая

Термические свойства

Температура плавления 122.4 °С

Температура кипения 249.2 °С

Температура разложения 370 °С

Удельная теплота парообразования 527 Дж/кг

Удельная теплота плавления 18 Дж/кг

Растворимость в воде 0,001 г/100 мл

Оборудование и реактивы: коническая колба, обратный воздушный холодильник, водяная баня, воронка Бюхнера, термометр, фильтровальная бумага, толуол, перманганат калия, этанол, хлороводородная кислота 20%, лакмус вода, БАУ.

Ход работы: В круглодонную колбу вместимостью 200 мл, снабженную обратным холодильником, помещают 3,4 г растертого в порошок перманганата калия, 1,2 мл толуола, 75 мл воды и 2-3 «кусочка неглазурованного фарфора в качестве «кипятильников». Смесь кипятят на песчаной бане в течение 3-4 ч при периодическом взбалтывании. В процессе реакции исчезает фиолетовая окраска перманганата калия и появляется бурый осадок оксида марганца(IV). Если реакционная смесь по истечении указанного времени остается окрашенной, то через форштосс холодильника добавляют несколько капель этанола до полного обесцвечивания раствора. Смесь охлаждают, осадок отфильтровывают на воронке Бюхнера с отсасыванием и промывают на фильтре горячей водой (2 порции по 10 мл). Фильтрат, содержащий бензоат калия, упаривают в фарфоровой чашке до объема 15-20 мл и добавляют к нему 20% раствор хлороводородной кислоты до кислой реакции на лакмус. Выпавшую бензойную кислоту отфильтровывают на воронке Бюхнера, промывают на фильтре ледяной водой и перекристаллизовывают из воды с добавлением активированного угля. Выход ~ 70%, т. пл. 122 °С.

Контрольные вопросы.

1. Сравните условия реакций бромирования бензола и толуола. Предложите механизмы реакций.
2. Сравните отношение к окислению бензола и толуола. Почему бензол устойчив к действию окислителей, а гомологи бензола окисляются сравнительно легко.
3. Напишите схемы реакций окисления этилбензола, кумола, о-ксилола, трет-бутилбензола.
4. Предложите механизмы реакций сульфирования бензола и толуола. В чем состоит особенность реакции сульфирования, по сравнению с другими реакциями электрофильного замещения.
5. Напишите схемы реакций сульфирования фенола, нитробензола, бензолсульфокислоты, этилбензола.
6. Как называются продукты реакции сульфирования ароматических углеводородов. Какими свойствами они обладают?
7. Предложите механизмы реакций нитрования бензола и толуола.
8. Как влияет метильный радикал на скорость реакции нитрования толуола по сравнению с бензолом.
9. Напишите схемы реакций нитрования бензойной кислоты, анилина, изопропилбензола, хлорбензола.
10. Какая реакция позволяет отличить углеводороды ароматического ряда от углеводородов жирного ряда.

Лабораторная работа №6

Синтез п-АЦЕТАМИДОФЕНОЛА (ПАРАЦЕТАМОЛА)

Цель:изучить на практике методы синтезаи очистки ароматических кислородсодержащих биологически активных веществ

Теоретическая часть.

Парацетамол (лат. Paracetamolum) - лекарственное средство, анальгетик и антипиретик из группы анилидов, оказывает обезболивающее и жаропонижающее действие. Является широко распространённым центральным ненаркотическим анальгетиком, обладает довольно слабыми противовоспалительными свойствами (и поэтому не имеет связанных с ними побочных эффектов, характерных для НПВП). Вместе с тем, может служить причиной нарушений работы печени, кровеносной системы и почек. Риск нарушений данных органов и систем увеличивается при одновременном принятии спиртного, поэтому лицам, употребляющим алкоголь, рекомендуют употреблять пониженную дозу парацетамола.

Механизм действия и профиль безопасности парацетамола хорошо изучены, его эффективность клинически апробирована, в связи с чем данный препарат входит в список важнейших лекарственных средств Всемирной организации здравоохранения, а также в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов, утверждённый распоряжением Правительства.

Парацетамол является основным метаболитом фенаcetина с химически близкими ему свойствами. При приёме фенаcetина быстро образуется в организме и обуславливает анальгетический эффект последнего. По болеутоляющей активности парацетамол существенно не отличается от фенаcetина, подобно ему, он обладает слабой противовоспалительной активностью. Основными преимуществами парацетамола являются малая токсичность и меньшая способность вызывать образование метгемоглобина. Вместе с тем, этот препарат при длительном применении, особенно в больших дозах, также может вызывать побочные эффекты, в частности, оказывать нефротоксическое и гепатотоксическое действие. Тем не менее, парацетамол остается безопасным и подходящим выбором анальгетика для детей и включён ВОЗ, наряду с ибупрофеном, в список "наиболее действенных, безопасных и эффективных с точки зрения затрат лекарственных средств".

Практическая часть.

Синтез парацетамола выполняют ацетилированием п-аминофенола:

п-Аминофенол получают электролитическим восстановлением нитробензола или из п-нитрохлорбензола:

В процессе синтеза п-аминофенола п-нитрохлорбензол частично гидрируется и ацетируется, образуя весьма токсическое вещество - п-хлорацетанилид:

Известен также способ синтеза парацетамола из фенола:

Парацетамол представляет собой белое или белое с кремоватым или розовым оттенком кристаллическое вещество, умеренно растворимое в воде, легко растворимое в этаноле, растворимое в ацетоне и растворах едких щелочей, практически нерастворимое в эфире. Его растворимость в растворах гидроксидов щелочных металлов обусловлена наличием в молекуле свободного фенольного гидроксила. Т. пл. 168-172°C.

Оборудование и реактивы: коническая колба, обратный воздушный холодильник, водяная баня, воронка Бюхнера, термометр, фильтровальная бумага, п-аминофенол, уксусный ангидрид, вода, БАУ.

Ход работы:

В коническую колбу вместимостью 50 мл, снабженную коротким обратным воздушным холодильником, помещают 3,1 г п-аминофенола и 10 мл воды. К полученной суспензии добавляют 3,6 мл уксусного ангидрида. Смесь нагревают на кипящей водяной бане, периодически энергично встряхивая колбу. Через 10 мин весь п-аминофенол растворяется. После охлаждения из реакционной смеси выкристаллизовывается парацетамол, который отфильтровывают на воронке Бюхнера и промывают на фильтре небольшим количеством холодной воды. Продукт перекристаллизовывают из воды, используя активированный уголь, если кристаллы были окрашены. Выход ~ 85%, т. пл. 169 °С.

Контрольные вопросы.

1. Приведите примеры обнаружения аминов действием нитропруссид натрия, гексацианоферрата (II) калия и смеси хлороформа и спиртового раствора щелочи.
2. Охарактеризуйте изменение основных свойств аминов алифатического и ароматического ряда в сравнении с аммиаком.
3. Охарактеризуйте химические свойства алифатических и ароматических аминов.
4. Укажите способы получения алифатических и ароматических аминов.
5. Перечислите продукты восстановления нитробензола в кислой, нейтральной и щелочной среде.
6. Укажите область применения алифатических и ароматических аминов.
7. Сформулируйте правила образования названий алифатических и ароматических аминов.

8. Укажите условия проведения реакций электрофильного замещения в кольце для анилина.
9. Какие реакционные центры имеют алифатические и ароматические амины? Ответ проиллюстрируйте уравнениями химических реакций.
10. Укажите аналитические эффекты качественных реакций на амины.

Лабораторная работа №7

Гидролиз фенолсалицилата

Цель: изучить на практике щелочной гидролиз ароматических кислородсодержащих биологически активных веществ

Теоретическая часть.

Первыми препаратами, оказывающими специфическое противовоспалительное действие, были салицилаты. Это действие сочетается у них с болеутоляющим и жаропонижающим эффектом, однако по сравнению с анальгетиками-антипиретиками противовоспалительный эффект у них является у них доминирующим.

В 1827 году из коры ивы (*Salix alba*), жаропонижающее действие которой было известно с давних времен, был выделен гликозид салицин. В 1838 году из салицина была получена салициловая кислота, а в 1860 году был осуществлен полный синтез этой кислоты и её натриевой соли. В 1869 году была синтезирована ацетилсалициловая кислота (аспирин).

Противовоспалительная активность салицилата натрия и его лечебная эффективность при ревматизме (ревматоидной лихорадке) были впервые обнаружены в 1875 году, а в 1899 году получила распространение ацетилсалициловая кислота как препарат, сохраняющий лечебные свойства натрия салицилата, но менее токсичный. В 1879 году было также показано, что салицилаты повышают выведение с мочой мочевой кислоты и они получили применение при лечении подагры.

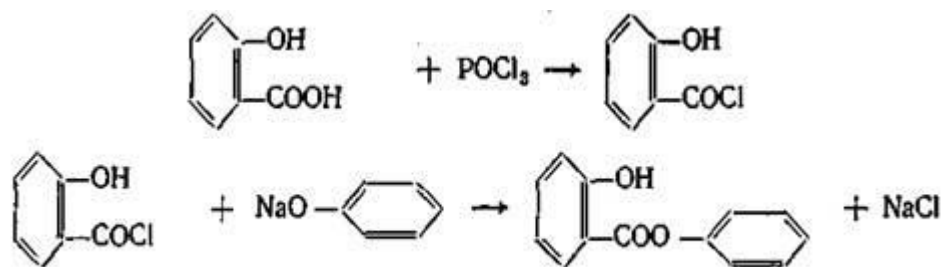
Лекарственные вещества этого типа недавно вновь привлекли к себе внимание, когда химики предприняли поиск соединений, сравнимых по терапевтической активности с препаратами группы кортизона, но не вызывающих характерные для кортикостероидов побочные эффекты.

Первые из синтезированных нестероидных соединений, обнаруживших противовоспалительные свойства, были названы анальгетиками-антипиретиками (т.е. болеутоляющими и жаропонижающими), однако в результате дальнейших испытаний удалось разработать методику, позволяющую отличать активность от других эффектов. Нестероидные противовоспалительные средства применяют при ревматоидном артрите, суставном ревматизме, остеоартрите, которые занимают среди болезней, ограничивающих физическую активность современного человека, второе место после сердечно-сосудистых заболеваний.

Практическая часть.

Мелкие бесцветные кристаллы со слабым запахом. Температура плавления 42-43°C.

Фенолсалицилат получают синтетически. Наиболее распространенным и общепринятым методом является следующий:



Оборудование и реактивы: коническая колба, обратный воздушный холодильник, водяная баня, воронка Бюхнера, термометр, фильтровальная бумага, фенолсалицилат, установка для получения углекислого газа (аппарат Киппа, заправленный известняком и соляной кислотой), прибор для перегонки с водяным паром, раствор гидроксида натрия 10%, хлороводородная кислота 20%, вода, БАУ.

Ход работы:

В круглодонную колбу вместимостью 50 мл, снабженную обратным холодильником (см.рис.14), помещают 2,5 г фенолсалицилата и 15 мл 10% раствора гидроксида натрия. Смесь кипятят в течение 1,5-2 ч на песчаной бане. После этого смесь охлаждают и пропускают в нее оксид углерода(1У) из аппарата Киппа до полного разложения феноксида натрия. Затем колбу присоединяют к прибору для перегонки с паром и отгоняют фенол с водяным паром, отбирая при этом 300 мл дистиллята. Оставшийся в перегонной колбе раствор салицилата натрия упаривают в фарфоровой чашке до объема 15 мл и добавляют 20% раствор хлороводородной кислоты до сильно кислой реакции на лакмус. Выпавший осадок салициловой кислоты отфильтровывают на воронке Бюхнера, промывают холодной водой и перекристаллизовывают из воды с добавлением активированного угля. Выход ~ 75%, т. пл. 159 °С.

Контрольные вопросы.

1. Оцените растворимость фенолов в воде.
2. Изменяют ли фенолы окраску индикаторов? Почему?
3. Сравните кислотные свойства спиртов и фенолов.
4. Напишите реакцию фенола с хлоридом железа (III). В чем практическое значение этой реакции?
5. Напишите реакцию бромирования фенола. В чем практическое значение этой реакции? Какой продукт образуется при бромировании фенола избытком бромной воды?
6. Оцените способность к окислению фенола. Сравните окисляемость фенола с бензолом.

Лабораторная работа №8

Синтез ацетилсалициловой кислоты

Цель: изучить на практике методы синтеза и очистки ароматических кислородсодержащих биологически активных веществ

Теоретическая часть.

Ацетилсалициловая кислота оказывает противовоспалительное, жаропонижающее и болеутоляющее действие, и её широко применяют при лихорадочных состояниях, головной боли, невралгиях и др. и в качестве противоревматического средства.

Противовоспалительное действие ацетилсалициловой кислоты (и других салицилатов) объясняется её влиянием на процессы, протекающие в очаге воспаления: уменьшением проницаемости капилляров, понижением активности гиалуронидазы, ограничением энергетического обеспечения воспалительного процесса путём торможения образования АТФ и др. В механизме противовоспалительного действия имеет значение ингибирование биосинтеза простагландинов.

Жаропонижающее действие связано также с влиянием на гипоталамические центры терморегуляции.

Аналгезирующий эффект обусловлен влиянием на центры болевой чувствительности, а также способностью салицилатов уменьшать альгогенное действие брадикинина.

Кроверазжижающее действие аспирина позволяет применять его для снижения внутричерепного давления при головных болях.

Салициловая кислота послужила основой для целого класса лекарственных веществ называемых салицилатами, примером такого препарата является диоксибензойная кислота.

Практическая часть.

Ацетилсалициловая кислота при гидролизе распадается на салициловую и уксусную кислоты. Гидролиз проводят при кипячении раствора ацетилсалициловой кислоты в воде в течение 30 с. После охлаждения салициловая кислота, плохо растворимая в воде, выпадает в осадок в виде пушистых игольчатых кристаллов.

Ничтожно малые количества ацетилсалициловой кислоты обнаруживаются в реакции с реактивом Коберта в присутствии серной кислоты (2 части серной к-ты, одна часть реактива Коберта): раствор окрашивается в розовый цвет (иногда требуется нагревание).

Ацетилсалициловая кислота ведёт себя при этом полностью аналогично салициловой к-те.

Ацетилсалициловую кислоту получают из салициловой этерификацией уксусной кислотой.

Оборудование и реактивы: коническая колба, обратный воздушный холодильник, водяная баня, воронка Бюхнера, термометр, фильтровальная бумага, салициловая кислота, уксусный ангидрид, толуол, этанол, вода БАУ.

Ход работы:

В коническую колбу вместимостью 10 мл, снабженную обратным воздушным холодильником, помещают 1,3 г салициловой кислоты и 1,2 мл уксусного ангидрида и добавляют 1 каплю концентрированной серной кислоты. Смесь нагревают 1 ч на водяной бане при температуре 60 °С (термометр помещают в баню). После этого температуру повышают до 90-95 °С и продолжают нагревание в течение 1ч. Смесь охлаждают в бане со льдом, выпавшие кристаллы отфильтровывают на воронке Бюхнера, промывают сначала ледяной водой, а затем небольшим количеством холодного толуола. Неочищенную ацетилсалициловую кислоту помещают в коническую колбу вместимостью 25 мл, снабженную обратным холодильником, и растворяют в минимальном количестве кипящего этанола (этанол добавляют маленькими порциями через форштосс холодильника). Горячий спиртовой раствор выливают в 2,5- кратный объем теплой воды (~ 50 °С), образовавшемуся прозрачному раствору дают медленно остыть. Выпавшие кристаллы отфильтровывают на воронке Бюхнера и высушивают на воздухе. Выход - 80%, т. пл. 128-135 °С. Ацетилсалициловая кислота не имеет четкой температуры плавления, так как при нагревании частично разлагается.

Контрольные вопросы.

1. Сравните реакционную способность бензойной и салициловой кислот по отношению к бромной воде, способности к окислению, отношению к нагреванию.
2. Напишите уравнения реакций бромирования салициловой кислоты при избытке брома.
3. Напишите уравнение реакции, протекающей при нагревании салициловой кислоты.

Лабораторная работа №9

Синтез ацетанилида.

Цель:изучить на практике методы синтеза и очистки ароматических азотсодержащих биологически активных веществ

Теоретическая часть.

Продукт взаимодействия анилина и уксусной кислоты. Исторически был первым анальгетиком. Производное пенициллина, антисептик. Имеет также практическое применение в качестве противолихорадочного, жаропонижающего средства, откуда и его название антифебрин. Используется как растворитель в маникюрных лаках и как опалесцирующая добавка в жидких пудрах. Также применяют для синтеза промежуточных продуктов (например, п-нитроацетанилида, п-нитроанилина, п-фенилендиамина) в производстве красителей и лекарственных средств (например, сульфамидных препаратов); как стабилизатор растворов перекиси водорода H_2O_2 ; пластификатор ("синтетическая камфора") нитратов целлюлозы (в основном целлулоида)

Практическая часть.

Анилид уксусной кислоты, C_8H_9NO , или $C_6H_5NH(C_2H_3O)$ Ацетанилид получается при продолжительном кипячении смеси анилина с крепкой уксусной кислотой, причем происходит выделение элементов воды. Ацетанилид кристаллизуется в бесцветных ромбических табличках, плавится при $112^\circ C$, кипит (без разложения) при 295° ; уд. вес его 1,2105 (при $4^\circ C$); легко растворим в спирте и эфире, трудно в воде: 189 ч. ее растворяют при 6° 1 ч. Ацетанилид При нагревании с соляной или серной кислотой Ацетанилид распадается на свои компоненты; вода действует так же, но трудно. С металлическим натрием и ртутью образуются металлич. производные, причем замещению подвергается аммиачный водород.

Оборудование и реактивы: коническая колба, обратный воздушный холодильник, водяная баня, воронка Бюхнера, фильтровальная бумага, анилин, уксусный ангидрид, вода БАУ.

Ход работы:

В коническую колбу вместимостью 100 мл, снабженную обратным воздушным холодильником, помещают 2 мл анилина и 10 мл воды. Колбу энергично встряхивают и к полученной эмульсии добавляют 2,7 мл уксусного ангидрида. После этого колбу нагревают на кипящей водяной бане 10—15 мин, затем охлаждают в бане со льдом, образовавшиеся кристаллы ацетанилида отфильтровывают на воронке Бюхнера и промывают на фильтре с небольшим количеством холодной воды. Неочищенный ацетанилид перекристаллизовывают из воды с добавлением активированного угля. Выход ~ 80%, т. пл. $114^\circ C$.

Контрольные вопросы.

1. Изменяет ли анилин окраску индикаторов? Почему?
2. Сравните основные свойства алифатических и ароматических аминов.
3. Напишите реакции образования и разложения солей анилина: гидрохлорида и сульфата.
4. Какие реакции являются качественными на анилин. Напишите схемы реакций.
5. Оцените способность анилина к окислению? Для чего используют черный анилин?
6. Напишите схему реакции ацилирования анилина уксусным ангидридом. Каков механизм данной реакции?
7. Рассмотрите механизм реакции diazotирования анилина.
8. Напишите схему реакции азосочетания хлорида фенилдиазония с фенолом, β -нафтолом, N,N-диметиланилином. Каково практическое значение реакции азосочетания?

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение

высшего профессионального образования

«СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Невинномысский технологический институт (филиал) СКФУ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по выполнению курсового проекта

по дисциплине « Химическая технология синтетических биологически активных веществ»

для студентов очной формы обучения

направления подготовки

18.03.01 Химическая технология

Невинномысск 2025

Методические указания разработаны в соответствии с требованиями ФГОС ВО и рабочей программы дисциплины «Химическая технология синтетических биологически активных веществ». Указания предназначены для студентов очной формы обучения направления подготовки 18.03.01 Химическая технология.

Содержат основные тематику курсовых работ, структуру работы, порядок оформления работы, критерии оценивания, а также список рекомендуемой литературы.

Составители

Гонтарь Н.В.

Содержание

Введение	77
Цель, задачи	79
Формулировка задания	79
СТРУКТУРЫ РАБОТЫ	81
Общие требования к написанию и оформлению работы	82
ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ВЫПОЛНЕНИЯ ЗАДАНИЯ	83
КРИТЕРИИ ОЦЕНИВАНИЯ РАБОТЫ	83
ПОРЯДОК ЗАЩИТЫ РАБОТЫ.....	84
СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	85

Введение

Дисциплина «Химическая технология синтетических биологически активных веществ» относится к дисциплинам части, формируемой участниками образовательных отношений учебного плана. Она направлена на формирование профессиональных компетенций обучающихся в процессе выполнения работ, определенных ФГОС ВО.

В результате освоения материала всех разделов пособия по дисциплине «Химическая технология синтетических БАВ» ООП студент приобретает следующие компетенции:

Код, формулировка компетенции	Код, формулировка индикатора	Планируемые результаты обучения по дисциплине (модулю), характеризующие этапы формирования компетенций, индикаторов
ПК-1 Способен разрабатывать мероприятия по совершенствованию технологических процессов производства парфюмерно-косметической продукции	ИД-1 ПК-1 разрабатывает мероприятия по оптимизации технологических режимов производства парфюмерно-косметической продукции	<p>Пороговый уровень понимает технологический процесс в соответствии с регламентом, основ использования технических средств для измерения основных параметров технологического процесса, свойств сырья и продукции</p> <p>Повышенный уровень понимает основы анализа сырья, материалов и готовой продукции, основы осуществления оценки результатов анализа; стандартные и сертификационные испытания материалов, изделий и технологических процессов</p>
	ИД-2 ПК-1 осуществляет организацию разработки новых рецептурно-компонентных решений парфюмерно-косметической продукции	<p>Пороговый уровень осуществляет технологический процесс в соответствии с регламентом и использует технические средства для измерения основных параметров технологического процесса, свойств сырья и продукции</p> <p>Повышенный уровень проводит анализ сырья, материалов и готовой продукции, осуществляет оценку результатов анализа; проводит стандартные и сертификационные испытания материалов, изделий и технологических процессов</p>
	ИД-3 ПК-1 разрабатывает	Пороговый уровень

	предложения по модернизации технологической линии производства парфюмерно-косметической продукции	применяет методы осуществления технологического процесса в соответствии с регламентом и использования технических средств для измерения основных параметров технологического процесса, свойств сырья и продукции Повышенный уровень применяет методы проведения анализа сырья, материалов и готовой продукции, осуществления оценки результатов анализа; стандартные и сертификационные испытания материалов, изделий и технологических процессов
ПК-2 Способен организовать контроль качества продукции на всех стадиях производственного процесса	ИД-1 ПК-2 анализирует качество сырья и материалов, полуфабрикатов и комплектующих изделий на соответствие требованиям нормативной документации	Пороговый уровень понимает контроль качества продукции на всех стадиях производственного процессов, осуществлять технологический процесс Повышенный уровень понимает испытания новых и модернизированных образцов продукции, осуществлять технологический процесс
	ИД-2 ПК-2 осуществляет внедрение новых методов и средств технического контроля	Пороговый уровень анализирует качество сырья и материалов, полуфабрикатов, осуществлять технологический процесс Повышенный уровень анализирует качество новых и модернизированных образцов продукции, осуществлять технологический процесс
	ИД-3 ПК-2 осуществляет проведение испытаний новых и модернизированных образцов продукции	Пороговый уровень применяет методы оценки качества сырья и материалов, полуфабрикатов, осуществлять технологический процесс Повышенный уровень применяет методы испытания новых и модернизированных образцов продукции, осуществлять технологический процесс

Методические указания составлены на современном научном уровне и рассчитаны на студентов, по направлению 18.03.01 Химическая технология.

Для подготовки курсовой работы студент должен изучить материал по соответствующей теме, используя основную и дополнительную литературу.

ЦЕЛЬ, ЗАДАЧИ

Цель: углубление, обобщение, систематизация и закрепление полученных теоретических знаний и практических умений

Задачи: приобретение навыков самостоятельной работы с теоретическим и практическим материалом;

приобретение навыков анализа и обобщения практического материала по теме, умений применять теоретические знания в решении практических задач, а также развитие творческой инициативы студентов, их самостоятельности при подборе теоретического материала и изучении практических ситуаций;

формирование умений применять теоретические знания при решении поставленных задач, использования справочной и нормативной документации по дисциплине.

ФОРМУЛИРОВКА ЗАДАНИЯ

Первым делом студент выберет тему курсовой работы, которая соответствует личному и профессиональному интересу.

Примерная тематика курсовых работ

1. Производство бензилпеницилина.
2. Производство фенацетина.
3. Сушка антибиотиков. Распылительная сушилка.
4. Производство гваякола.
5. Производство стрептоцида из фенилуретана.
6. Получение синтетической аскорбиновой кислоты из L-сорбозы.
7. Производство витамина В2. Стадия конденсации 3,4-ксилил-6-фенилазо1-рибамина с барбитуровой кислотой.
8. Производство витамина Д3. Стадия получения бензоат холестерина.
9. Производство никотиновой кислоты. Стадия – окислительный аммонолиз.
10. Производство липоевой кислоты. Стадия – получение хлорангидридноэтилового эфира адипиновой кислоты.
11. Производство фолиевой кислоты. Стадия конденсации трех

компонентов: p-аминобензоилглутаминовая кислота + 2,3-дибромпропионовый альдегид + 2,4,5-триамино-6-оксипиримидин-сульфат

12. Глубинный аэробный периодический процесс.

13. Технология приготовления питательных сред для микробиологической промышленности.

14. Выделение и очистка продуктов микробиального синтеза.

15. Получение технологических ферментных препаратов методом поверхностного культивирования.

16. Интенсивные технологии получения этанола из сельскохозяйственного сырья.

17. Технология производства лимонной кислоты методом поверхностного культивирования.

18. Технология ферментативного производства фруктозной патоки.

19. Технология подготовки сульфитных щелоков к выращиванию микроорганизмов.

20. Технология выращивания и выделения кормовых дрожжей при переработке мелассной барды.

21. Биосинтез БАВ из хлореллы.

22. Технология стадии подготовки гидролизата для культивирования микроорганизмов.

23. Технология гидролиза растительного сырья (JjD). Технология синтеза пенициллина.

24. Производство искусственных подсластителей и заменителей сахара.

25. Технология получения иммобилизованных ферментов.

После определения темы студент должен ознакомиться с вопросами, подлежащими разработке и рассмотрению и контрольными сроками представления отдельных разделов работы преподавателю, отражающихся в задании на курсовую работу. Графический материал не предусмотрен

Перечень подлежащих разработке вопросов:

а) по теоретической части – характеристика сырья и готового продукта;

– физико-химические основы процесса ;

– технологическое оформление процесса

б) по аналитической части:

– алгоритм расчета материального баланса процесса;

–алгоритм расчета теплового баланса процесса;

СТРУКТУРЫ РАБОТЫ

1. Титульный лист.
2. Задание на курсовой проект
3. Содержание
4. Введение
5. Основная часть (состоит из теоретической и аналитической частей)
6. Заключение
7. Список использованных источников
8. Приложения.
9. Отзыв руководителя

Титульный лист – оформляется по установленному образцу (Приложение 1). Перенос слов на титульном листе не допускается. Точка в конце предложений не ставится.

Задание на курсовой проект – выдается руководителем

Содержание – включает вопросы темы в виде заголовков, глав или параграфов, наименование всех разделов и подразделов, заключение, список использованной литературы, наименование приложений с указанием страниц, с которых начинаются эти элементы курсовой работы.

Введение – раскрывается актуальность темы, формулируются цели и задачи работы. Во введении может быть отражена практическая значимость работы, которая состоит, прежде всего, в том, что результаты исследования могут быть рекомендованы к использованию их в организации и планировании хозяйственной деятельности предприятия, выработке его ценовой, ассортиментной, финансовой и социальной политики.

В **основной** части курсовой работы практического или экспериментального характера производится деление собранного материала на две части:

- теоретическая часть содержит теоретические основы разрабатываемой темы; рассматриваются характеристика сырья и готового продукта; физико-химические основы процесса; технологическое оформление процесса;
- аналитическая часть носит аналитический (практический) характер. Содержит алгоритм расчета материального и теплового балансов процесса (или математическую модель производства).

Заключение курсовой работы должно отражать краткий итог проведенного тематического анализа и включать основные выводы. Заключительная часть курсовой работы должна быть достаточно краткой и тщательно отредактированной.

Список использованных источников содержит все источники, которые студент использовал в процессе выполнения курсовой работы, при этом должны быть соблюдены общепринятые правила библиографического описания источников.

Приложения к курсовой работе включают материалы, связанные с выполнением курсовой работы, но, которые по каким-либо причинам не включены в основную часть (схемы, таблицы, фотоснимки, плакаты, иллюстрации и т.п.).

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К НАПИСАНИЮ И ОФОРМЛЕНИЮ РАБОТЫ

Курсовая работа оформляется в соответствии с требованиями ЕСКД на листах формата А4 (210 297 мм), на одной стороне листа, которые должны быть сброшюрованы в следующей последовательности: титульный лист, задание, содержание, введение, основное содержание (текст) курсовой работы, заключение, список использованных источников, приложения, отзыв руководителя.

Общий объем курсовой работы должен составлять 30–40 страниц печатного текста, не считая приложений. Текст работы должен быть отпечатан через полтора интервала (1,5 строки), шрифтом Times New Roman, размером 14. Цвет шрифта должен быть черным. Текст следует печатать, соблюдая следующие размеры полей: верхнее – 20 мм, нижнее – 20 мм, левое – 20 мм правое – 10 мм. Рамки на полях выполняются в соответствии с требованиями ЕСКД. Абзац: выравнивание – по ширине; первая строка-отступ – 1,25; должен быть выставлен автоматически (не допускается делать абзацный отступ пробелами или табуляцией) интервал перед и после абзаца – 0 пунктов. Функция переноса слов «авто» выставляется обязательно. Изложение основного текста курсовой работы должно быть последовательным, логичным, четким. Особое внимание должно быть обращено на орфографию, синтаксис. Недопустимо механическое переписывание целиком абзацев, страниц, таблиц без ссылки на источники (цитата берется в квадратных скобках указывается номер источника по списку литературы). Сокращение слов в тексте не допускается, за исключением сокращений, установленных ГОСТом. Текст курсовой работы должен иметь сплошную нумерацию страниц. Страницы следует нумеровать арабскими цифрами, соблюдая сквозную нумерацию по всему тексту работы. Номер страницы проставляется справа в нижней части листа без точки. Титульный лист включается в общую нумерацию страниц работы, но номер на нем не проставляется. Приложения оформляются как продолжение курсовой работы на последующих листах, но общий объем курсовой работы оно не входит. В тексте курсовой работы на все приложения

должны быть даны ссылки. Каждое приложение следует начинать с новой страницы с указанием наверху справа слова «Приложение» и его номера. Приложения должны иметь заголовок, который записывается симметрично относительно текста с прописной буквы отдельной строкой.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ВЫПОЛНЕНИЯ ЗАДАНИЯ

Первым делом студент выберет тему курсовой работы, который соответствующую личному и профессиональному интересу; После определения темы студент должен познакомиться с вопросами, подлежащими разработке и рассмотрению и контрольными сроками представления отдельных разделов работы преподавателю, отражающихся в задании на курсовую работу. Следующим этапом выполнения курсовой работы является подбор литературы. В процессе выполнения работы студент может использовать учебную, научную и методическую литературу, использовать интернет - ресурсы.

КРИТЕРИИ ОЦЕНИВАНИЯ РАБОТЫ

Критерии оценивания курсовой работы приведены в Фонде оценочных средств по дисциплине Общая химическая технология

Критерии оценки:

Оценка «отлично» выставляется студенту, полностью освоившему все компетенции и показавшему всесторонние, систематизированные, глубокие знания учебной программы дисциплины и умение уверенно применять их на практике при решении конкретных задач, свободное и правильное обоснование принятых решений;

Оценка «хорошо» выставляется студенту, если он в недостаточной мере освоил все компетенции, но твердо знает материал, грамотно и по существу излагает его, умеет применять полученные знания на практике, но допускает в ответе или в решении задач некоторые неточности;

Оценка «удовлетворительно» выставляется студенту частично и поверхностно освоившему компетенции и показавшему фрагментарный, разрозненный характер знаний, недостаточно правильные формулировки базовых понятий, нарушения логической последовательности в изложении программного материала, но при этом он владеет основными разделами учебной программы, необходимыми для дальнейшего обучения и может применять полученные знания по образцу в стандартной ситуации;

Оценка «неудовлетворительно» выставляется студенту, который не освоил компетенции и не знает большей части основного содержания учебной программы дисциплины, допускает

грубые ошибки в формулировках основных понятий дисциплины и не умеет использовать полученные знания при решении типовых практических задач.

ПОРЯДОК ЗАЩИТЫ РАБОТЫ

Защита курсовой работы является обязательной формой проверки выполнения работы. Защита производится на заседании кафедры, специальной комиссией, утверждаемой директором института, состоящей обычно из 2 преподавателей кафедры, при непосредственном участии руководителя, в присутствии студентов. Результаты наиболее интересных курсовых работ могут быть доложены на научных конференциях.

Защита состоит в коротком докладе студента по выполненной работе и в ответах на вопросы присутствующих на защите. Научный руководитель зачитывает отзыв на курсовую работу студента.

Результаты защиты курсового проекта оцениваются дифференцированной отметкой по пятибалльной системе. Оценка курсовой работы заносится в зачетную книжку студента и зачетно-экзаменационную ведомость.

Студент, не представивший в установленный срок курсовую работу или не защитивший ее по неуважительной причине, считается имеющим академическую задолженность.

Курсовые работы, представляющие теоретический и практический интерес, представляют на конкурс в студенческие научные общества, конференции.

При проверке задания, оцениваются

последовательность и рациональность выполнения,

точность используемых формул,

степень соответствия объема и содержания работы теме, правильности и точности в решении задач;

качество оформления работы;

При защите работы оцениваются:

самостоятельность мышления и творческий подход к решению задач;

логику и четкость изложения материала;

обоснованность основных положений работы;

знание литературы по теме;

правильность и полноту ответов на вопросы в ходе защиты курсовой работы.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная литература:

1. Коробкин, В. И. Химическая технология синтетических биологически активных веществ : [учебник] для вузов / В. И. Коробкин, Л. В. Передельский. - 13-е изд. - Ростов н/Д : Феникс, 2004. - 602 с. - (Высшее образование). - Библиогр.: с. 602.
2. Орлов Д.С. Химическая технология синтетических биологически активных веществ и охрана биосферы при химическом загрязнении: Учебное пособие для вузов/ Л.К.Садовникова,И.Н.Лозановская. - 2-е, перераб. и доп. - М.:Высш. школа,2002. - 334 с.: ил. - 320-322

Дополнительная литература:

1. Степановских, А. С. Общая Химическая технология синтетических биологически активных веществ : учебник для вузов / А. С. Степановских. — М. : ЮНИТИ-ДАНА, 2012. — 687 с. — ISBN 5-238-00854-6.
2. Братчикова, И. Г. Физико-химические основы инженерной экологии :учебное пособие / И. Г. Братчикова. — М. : Российский университет дружбы народов, 2011. — 124 с. — ISBN 978-5-209-03579-4.

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФГАОУ ВО «СЕВЕРО-КАВКАЗСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Невинномысский технологический институт (филиал) СКФУ

Кафедра химической технологии, машин и аппаратов химических производств

КУРСОВОЙ ПРОЕКТ

по дисциплине

«Химическая технология синтетических биологически активных веществ»

на тему

«_____»

Выполнил:

ФИО _____

студент _____ курса группы _____

направления _____

формы обучения _____

(подпись)

Руководитель работы:

(ФИО, должность, кафедра)

Работа допущена к защите _____

(подпись руководителя)

(дата)

Работа выполнена и

защищена с оценкой _____ Дата защиты _____

Члены комиссии _____

(должность)

(подпись)

(И. О. Фамилия)

_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

Невинномысск, 20 г.