

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

БІОНЕОРГАНІЧНА ХІМІЯ

Лабораторний практикум

Навчальний посібник

Харків – 2015

УДК 577.118(072.8)

ББК 28.072я73–5

Б 63

Рецензенти:

О. І. Юрченко – доктор хімічних наук, професор, завідувач кафедри хімічної метрології ХНУ імені В. Н. Каразіна;

Г. О. Сирова – доктор фармацевтичних наук, професор, завідувач кафедри медичної та біоорганічної хімії Харківського національного медичного університету.

*Затверджено до друку рішенням Вченої ради
Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна
(протокол № 3 від 23 лютого 2015 року)*

Біонеорганічна хімія: лабораторний практикум : навчальний посібник /
Б 63 О. М. Калугін, В. Г. Панченко, Ю. Є. Колупаєв та ін. – Х. : ХНУ імені В. Н. Каразіна,
2015. – 108 с.

ISBN 978-966-285-193-9

У посібнику коротко викладено основні властивості біометалів, їх біологічні функції та методи виявлення. Розглянуто основні біоліганди та методи моделювання в біонеорганічній хімії. У навчальному посібнику наведено опис лабораторних робіт, який включає основні реакції виявлення біометалів, якісні реакції на деякі біоліганди, комплексоутворення біометалів та моделювання поведінки деяких ферментних систем.

Призначений для студентів хімічних факультетів за освітньо-кваліфікаційним рівнем «Бакалавр» та «Магістр», які спеціалізуються з фармацевтичної хімії та при вивченні курсів «Біонеорганічна хімія», «Хімія біометалів» та спецкурсів.

УДК 577.118(072.8)

ББК 28.072я73-5

ISBN 978-966-285-193-9

© Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, 2015

© Калугін О. М., Панченко В. Г.,
Колупаєв Ю. Є., Корсун В. Ю.,
В'юник І. М., 2015

© Дончик І. М., макет обкладинки, 2015

ЗМІСТ

| | |
|--|-----------|
| Передмова..... | 5 |
| Розділ 1. ОСНОВНІ ЗАВДАННЯ БІОНЕОРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ. | |
| ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОМЕТАЛІВ..... | 7 |
| 1.1 Основні завдання біонеорганічної хімії..... | 7 |
| 1.2 Загальна характеристика біометалів..... | 8 |
| 1.3 Біоліганди..... | 27 |
| 1.4 Моделі в біонеорганічній хімії..... | 28 |
| 1.5 Фізико-хімічні методи дослідження координаційних сполук біометалів..... | 30 |
| Розділ 2. ЛАБОРАТОРНІ РОБОТИ..... | 40 |
| <i>Лабораторна робота № 1</i> | |
| Вивчення реакцій виявлення катіонів біометалів..... | 40 |
| <i>Лабораторна робота № 2</i> | |
| Властивості білків та якісні реакції на них..... | 65 |
| <i>Лабораторна робота № 3</i> | |
| Нуклеопротейди. нуклеїнові кислоти. Виділення та гідроліз | 71 |
| <i>Лабораторна робота № 4</i> | |
| Якісні реакції на вітаміни..... | 73 |
| <i>Лабораторна робота № 5</i> | |
| Властивості вуглеводів та реакції на вуглеводи..... | 77 |
| <i>Лабораторна робота № 6</i> | |
| Загальні властивості ферментів..... | 79 |
| <i>Лабораторна робота № 7</i> | |
| Кількісне визначення активності каталази в рослинному матеріалі перманганатометричним методом..... | 81 |
| <i>Лабораторна робота № 8</i> | |
| Визначення активності пероксидази у рослинному матеріалі | 83 |
| <i>Лабораторна робота № 9</i> | |
| Вивчення реакцій комплексоутворення з неорганічними лігандами..... | 85 |
| <i>Лабораторна робота № 10</i> | |
| Встановлення координаційної формули сполук за даними електричної провідності..... | 87 |
| <i>Лабораторна робота № 11</i> | |
| Моделювання конкуренції реакцій комплексоутворення. Прості та сумісні лігандообмінні рівноваги..... | 89 |

| | |
|--|-----|
| <i>Лабораторна робота № 12</i> | |
| Визначення кінетичних характеристик реакції окиснення іонів Г гідроген пероксидом..... | 91 |
| <i>Лабораторна робота № 13</i> | |
| Визначення порядку і константи швидкості реакції розкладання гідроген пероксиду в присутності комплексонату феруму(III)..... | 96 |
| <i>Лабораторна робота № 14</i> | |
| Визначення вмісту нітроген(II) оксиду у рослинному матеріалі..... | 98 |
| <i>Лабораторна робота № 15</i> | |
| Хімічні властивості хлорофілу..... | 100 |
| <i>Лабораторна робота № 16</i> | |
| Кількісне визначення вмісту хлорофілів і каротиноїдів у рослинному матеріалі..... | 102 |
| Список використаних джерел..... | 104 |
| Додаток..... | 105 |

ПЕРЕДМОВА

Одним із найважливіших завдань хімічної науки є вивчення відомих речовин та створення нових з метою поліпшення умов життя та здоров'я людини. До організму людини входить більшість відомих хімічних елементів та їх сполук і вони відіграють важливу роль у процесах метаболізму. Багато елементів-металів входять до організму людини та ссавців у значній кількості і є життєво необхідними, тобто без їх участі не можуть відбуватися деякі життєво важливі процеси. Тому їх назвали «біометалами» або «металами життя». Більшість таких металів в організмі міститься у вигляді координаційних сполук, які беруть участь у найважливіших фізіологічних процесах живих організмів. Тому в процесі розвитку біологічної, хімічної, біохімічної та медичної наук у цілому та хімії координаційних сполук зокрема викристалізувалася нова навчальна дисципліна, яка називається «Біонеорганічною хімією». Ця дисципліна вивчає будову, властивості та функції біологічно важливих комплексів, до складу яких входять біометали. Типовими прикладами таких сполук є гемоглобін, хлорофіл, металоферменти. Так, біонерганічна хімія з'ясовує роль біометалів у функціонуванні металоферментів та можливі шляхи моделювання цих функцій. Слід відзначити, що часто неможливо провести чітку межу між біонеорганічною хімією та суміжними галузями знань такими як координаційна хімія, біохімія, медицина, харчова хімія тощо. Для розуміння процесів, що відбуваються за участю об'єктів біонеорганічної хімії, та цілеспрямованого їх використання для збереження здоров'я людини, розв'язання екологічних проблем, підвищення продуктивності сільськогосподарських культур та збереження продуктів харчування необхідно об'єднання знань хіміків, біологів, медиків та фармацевтів.

Зважаючи на це в останні десятиліття в провідних вищих навчальних закладах України, Росії, Європи та США на хімічних, біологічних та медичних факультетах вводять курси з біонеорганічної хімії як основної дисципліни або дисципліни за вибором студента.

У даному навчальному посібнику коротко викладено основну мету та завдання біонеорганічної хімії, охарактеризовано будову, фізико-хімічні властивості та біологічні функції «металів життя» та наведено коротку інформацію про основні біоліганди, що беруть участь в утворенні життєво важливих координаційних сполук. У другому розділі наводиться опис лабораторних робіт, які дають уявлення про основні реакції виявлення біометалів та якісні реакції на деякі важливі біоліганди. Також пропонуються роботи, що дають уявлення про комплексоутворення взагалі та

про стійкість комплексних сполук залежно від природи металу і ліганду. Наводяться приклади конкурентних реакцій комплексоутворення. У посібнику подано також лабораторні роботи, що моделюють процеси за участю ферментів та вплив на їх перебіг активаторів та інгібіторів ферментних реакцій.

Хоча переважна більшість запропонованих лабораторних робіт є якісними, з метою розвитку експериментальних навичок студентів автори наводять кількісні експериментальні роботи, а також дають коротку характеристику основних фізико-хімічних методів дослідження біонеорганічних комплексів.

Навчальний посібник у першу чергу призначений для студентів, які спеціалізуються з фармацевтичної хімії. Навчальний посібник може бути використаний студентами при вивченні курсів «Неорганічна хімія», «Біонеорганічна хімія», «Хімія біометалів», «Хімія біогенних елементів», «Координаційна хімія».

ОСНОВНІ ЗАВДАННЯ БІОНЕОРГАНІЧНОЇ ХІМІЇ. ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА БІОМЕТАЛІВ

1.1. Основні завдання біонеорганічної хімії

Біонеорганічна хімія є своєрідним «містком» між неорганічною хімією і біохімією. Вона виникла на стику хімії, біології, медицини, координаційної хімії, біохімії, молекулярної біології та інших природничих наук, цьому сприяло накопичення численних експериментальних даних у галузі відповідних наук.

Багато важливих біологічних процесів потребують участі металів – це і дихання, і фотосинтез, і передача нервових імпульсів, і метаболічні перетворення, і скорочення м'язів, а також захист від токсичних і мутагенних впливів та багато іншого. Тому особливу увагу біонеорганічна хімія приділяє ролі елементів-металів у живому організмі. Останнім часом біонеорганічною хімією називають, як правило, галузь науки, що вивчає роль металів у живій природі. Як відомо, однією з головних функцій іонів металів є здатність до комплексоутворення, тому, на думку відомого вітчизняного хіміка К. Б. Яцимирського, «біонерганічна хімія за своєю суттю є біокоординаційною хімією».

Основними завданнями біонеорганічної хімії є:

- 1) вивчення на молекулярному рівні взаємодії металів (у першу чергу біометалів) з біолігандами;
- 2) дослідження природних сполук, що містять метали, металобілоків, металоферментів, проблеми транспорту і накопичення металів у живих організмах;
- 3) моделювання біологічних і біохімічних процесів;
- 4) впровадження результатів досліджень у медицину (діагностика захворювань, створення нових препаратів і встановлення механізму їх дії);
- 5) застосування результатів фундаментальних досліджень в охороні навколишнього середовища і агробіотехнологіях.

Із більш ніж 118 (з них 92 існують у природі) хімічних елементів періодичної системи Д. І. Менделєєва до складу живих організмів входять 18. Шість елементів – С, О, Н, N, P і S – є основою всіх біологічних систем, тому що входять до складу білків, нуклеїнових кислот та інших

біомакромолекул і складають основу життя на Землі. Їх загальна назва – органогени. Загальна масова частка шести елементів-органогенів в організмі складає 97.5 %. Дванадцять інших елементів також необхідні для нормальної діяльності організмів. До них належать два неметали – Cl і I та 10 металів: Na, K, Mg, Ca, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Mo. Ці 10 металів одержали назву «метали життя» або біометали і **вивчення їх ролі в живих організмах є основним завданням біонерганічної хімії.**

Принципи природного відбору цих 18 елементів для побудови живих організмів до кінця не встановлено.

1.2. Загальна характеристика біометалів

Як і у випадку інших хімічних елементів, такі фізико-хімічні властивості біометалів як заряди ядер атомів, електронна конфігурація, радіуси атомів та іонів, енергії іонізації та спорідненості до електрона і т. ін. визначаються їх положенням у періодичній системі (таблиця 1.1).

Таблиця 1.1

Фізико-хімічні властивості біометалів

| Символ елемента | Порядковий номер | Електрона формула | Ступінь окиснення в живих організмах | Радіус атома, пм | Енергія іонізації (I ₁), еВ | Стандартний електродний потенціал (E ⁰ , В) |
|-----------------|------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------|---|--|
| Na | 11 | [Ne]3s ¹ | +1 | 189 | 5.139 | -2.710 |
| Mg | 12 | [Ne]3s ² | +2 | 160 | 7.646 | -2.372 |
| K | 19 | [Ar]4s ¹ | +1 | 236 | 4.341 | -2.391 |
| Ca | 20 | [Ar]4s ² | +2 | 197 | 6.113 | -2.868 |
| Mn | 25 | [Ar]3d ⁵ 4s ² | +2; +4 | 130 | 7.435 | -1.185 |
| Fe | 26 | [Ar]3d ⁶ 4s ² | +2; +3 | 126 | 7.893 | -0.447 |
| Co | 27 | [Ar]3d ⁷ 4s ² | +2; +3 | 125 | 7.870 | -0.277 |
| Cu | 29 | [Ar]3d ¹⁰ 4s ¹ | +1; +2 | 128 | 7.726 | +0.341 |
| Zn | 30 | [Ar]3d ¹⁰ 4s ² | +2 | 139 | 9.394 | -0.761 |
| Mo | 42 | [Kr]4d ⁵ 5s ¹ | +3; +4; +5; +6 | 139 | 6.850 | -0.200 |

Виходячи з будови атома та ступенів окиснення, біометали в живих організмах зазвичай поділяють на дві групи:

1. Неперехідні елементи Na, K, Mg, Ca та Zn. Вони мають незмінні ступені окиснення та при утворенні іонів мають стійку оболонку інертного газу.
2. Перехідні елементи (*d*-елементи) Mn, Fe, Co, Cu, Mo. Вони можуть входити в біологічні системи з різними ступенями окиснення, при утворенні іонів вони не мають оболонки інертного газу.

Найпростішу електронну будову мають натрій і калій. На зовнішньому енергетичному рівні вони мають по одному електрону, які легко втрачають (див. значення першої енергії іонізації), перетворюючись на однозарядні іони, які є аналогами інертних газів неону та аргону відповідно. Натрій і калій мають великі розміри та від'ємні значення електродних окисно-відновних потенціалів і слабо поляризуються, вони утворюють переважно іонні хімічні зв'язки, частка ковалентного зв'язування в їх сполуках незначна. Утворення координаційних сполук для них не є характерним, хоча вони утворюють кристалогідрати завдяки іон-дипольним взаємодіям.

Різна поведінка іонів натрію і калію в біологічних системах зумовлена, в першу чергу, різницею в енергіях гідратації, яка визначається розмірами їх частинок.

s-елементи II групи періодичної системи – магній і кальцій – внаслідок більших зарядів ядер мають менші розміри та більші значення енергії іонізації (I_1), меншою мірою поляризуються, але завдяки більшому заряду сильніше поляризують аніони, збільшуючи таким чином частку ковалентного зв'язку в їх іонних сполуках. Mg^{2+} і Ca^{2+} з атомами Оксигену і Нітрогену можуть утворювати хімічні зв'язки за донорно-акцепторним механізмом, виявляючи таким чином здатність до комплексоутворення.

На зовнішньому енергетичному рівні вони мають два електрони, які легко віддають, перетворюючись на іони з електронними конфігураціями інертних газів неону та аргону.

Zn – це *d*-елемент, з більшим значенням енергії іонізації, завдяки проникненню $4s^2$ електрона під екран $3d^{10}$ електронів, хоча за розмірами не дуже відрізняється від кальцію та магнію, але має більшу здатність до комплексоутворення завдяки наявності вільних $4s$, $4p$ і $4d$ -орбіталей.

У металів перехідних елементів у стійких ступенях окиснення є *d*-орбіталі, що частково заповнені електронами. Перехідні елементи можуть змінювати ступені окиснення, завдяки чому вони беруть активну участь в окисно-відновних реакціях.

Натрій. Натрій є основним позаклітинним іоном в організмах ссавців. Він міститься в плазмі крові, лімфі, травних соках. Загальний вміст натрію в організмі людини становить ~70-110 г, з них 1/3 міститься в кістках, 2/3 – у рідині м'язової і нервової тканин. Добова потреба організму людини в натрії 4-7 г, але не менше 1 г (стільки натрію міститься в 10–15 г харчової солі).

Іони натрію у вигляді натрій хлориду з масовою часткою 0.9 % містяться в плазмі крові і беруть участь у забезпеченні осмотичного тиску в клітинах. Натрій карбонати та фосфати беруть участь у роботі буферних систем та підтриманні кислотно-лужної рівноваги (рН) в організмі.

Іони натрію і калію беруть участь у передачі нервових імпульсів через мембрани нервових клітин і підтримують нормальну збудливість м'язових клітин (вони пригнічують активність ферментів м'язів і тому необхідні для їх скорочення). При зміні вмісту іонів натрію в організмі (а також іонів хлору) відбуваються порушення функцій нервової та серцево-судинної систем, гладеньких і скелетних м'язів.

Натрій впливає на роботу ферментів і бере участь у регуляції водного обміну. Крім того, натрій має різко виражену здатність посилювати гідратацію білків (зв'язування води білками). Надмірне вживання натрію з їжею спричиняє накопичення зайвої кількості рідини в організмі, що у свою чергу призводить до підвищення кров'яного тиску і часто є причиною серцевих захворювань та інсультів. На здатності іонів натрію посилювати гідратацію білків заснований метод боротьби з набряками, який полягає в обмеженні надходження солей натрію в організм. Натрій хлорид служить джерелом хлоридної кислоти для шлункового соку, натрій гідрокарбонат – буферною сіллю, що підтримує кислотно-основну рівновагу в рідинах людського організму і при перенесенні карбон(IV) оксиду.

Натрій міститься в усіх органах плодівих дерев у кількості $1 \cdot 10^{-4}$ –1 %. Середній європеець споживає приблизно 15 г, японець – до 60 г натрій хлориду у вигляді кухонної солі та продуктів харчування, особливо тваринного походження. Натрій містять: кухонна сіль, часник, буряк, селера, м'ясо, молоко, яйця, капуста квашена, квасоля, тунець консервований.

Натрієва недостатність у людини спостерігається рідко, наприклад, в умовах посиленого потовиділення (у спекотну погоду зменшується майже вдвічі), при значних фізичних навантаженнях в спеку, прийомі сечогінних препаратів, застосуванні безсольових дієт та ін. Дефіцит натрію посилюється при палінні.

При надлишку натрію спостерігаються набряки, тривалий перебіг будь-яких запальних процесів, підвищення кров'яного тиску, поганий стан

шкіри. У дітей при хронічному надлишку натрію може відзначатися відставання у розумовому розвитку.

Причинами надлишку натрію в організмі можуть бути прийом з їжею великих кількостей кухонної солі; зневоднення (нестримне блювання і проноси); гіперфункція залоз нирок. Натрієва сіль сечової кислоти малорозчинна; відкладаючись у хрящових тканинах, вона часто викликає подагру.

Взаємодія натрію з іншими елементами: у більшості фізіологічних процесів натрій виступає як антагоніст калію, тому для збереження хорошого здоров'я необхідно, щоб співвідношення натрію до калію в раціоні харчування було 1:2. Шкідливим для здоров'я є надлишковий вміст натрію в організмі, який можна нейтралізувати введенням додаткових кількостей калію. Надмірне споживання натрію приводить до підвищеного виведення з організму калію, магнію і кальцію.

Калій. Калій входить до складу печінки, нирок, серця, мозку, м'язів, крові і т. д. Загальний вміст калію в організмі становить 220–250 г. Добова потреба організму в калії 3–5 г.

Калій є основним іоном цитоплазми. Внутрішньоклітинна концентрація іонів калію значно вища, ніж іонів натрію. Це пов'язано з тим, що мембрани клітин більш проникні для іонів калію, ніж для іонів натрію. Навпаки, в плазмі крові концентрація іонів натрію перевищує вміст у ній іонів калію. Цим пояснюється виникнення мембранного потенціалу клітин. В організмі постійно існує певне співвідношення іонів калію і натрію. Завдяки цьому співвідношенню підтримується нормальний ритм м'язової роботи (наприклад, м'язи серця).

Іони калію разом з іонами натрію утворюють систему, що забезпечує ізотонічність клітин і навколишнього середовища, а також нормальний перебіг біоелектричних явищ, пов'язаних з процесами нервової та м'язової збудливості і провідності (введення іонів калію сприяє розслабленню серцевих м'язів між биттям). Шок при важких опіках зумовлений втратою іонів калію з клітин.

Калій запобігає виникненню деяких форм депресій, покращує постачання мозку киснем. Іони калію беруть участь у синтезі білків, обміні вуглеводів, впливають на активність багатьох ферментів. Солі калію швидко всмоктуються при введенні всередину і швидко виводяться з орга-

нізму з сечею нирками у вигляді солей фосфатної, сульфатної та органічних кислот. Солі калію не можуть бути замінені в організмі людини ніякими іншими солями.

Хоча відомо, що поширеність іонів натрію і калію в земній корі майже однакова і попел рослин містить значні кількості сполук натрію і калію, проте рослини містять калію приблизно в 10 разів більше, ніж натрію. Велике споживання рослинами калію з ґрунту приводить до необхідності використання в землеробстві калійних добрив. Іони калію надходять в організм людини з рослинною їжею (у вегетативних органах його більше, в коренях і насінні – менше). Особливо багато калію в куразі, морській капусті, квасолі, горіхах, картоплі, родзинках, бананах.

Нестача калію в організмі виникає при надмірному вживанні кухонної солі і недостатньому вживанні фруктів і овочів, неправильному приготуванні їжі, тривалому застосуванні сечогінних препаратів і трав, а також гормонів ниркових залоз, при зловживанні алкоголем і кавою, а також стресах.

Підвищення вмісту калію в організмі супроводжується зниженням збудливості і провідності, великі дози його пригнічують автоматизм і скоротливу функцію міокарда. Надлишок калію в організмі можливий при порушеннях роботи кори надниркових залоз, хворобах нирок, при прийомі препаратів, що містять калій.

Взаємодія з іншими елементами: збільшення концентрації калію в організмі приводить до виведення натрію. Засвоєння калію порушується при дефіциті магнію. При дефіциті магнію неможливо відкорегувати рівень калію: спочатку необхідно збільшити кількість магнію, лише потім додатковий прийом калію дасть необхідний результат.

Магній. Магній і його сполуки містяться в органах і тканинах людини головним чином у внутрішньоклітинній рідині та дентині і емалі зубів, кістках скелета, підшлунковій залозі, скелетних м'язах, нирках, мозку, печінці і серці. 50–70 % магнію міститься в кістковій тканині і зубах, 20 % в м'язах, 19 % в інших тканинах організму (печінка, мозок) і 1 % міститься в позаклітинній рідині. Переважна частина магнію міститься всередині клітини в основному у зв'язаному з білками стані.

Загальний вміст магнію в організмі людини становить 20–30 г. Добова потреба в магнії дорослої людини близько 10 мг на 1 кг маси тіла.

У біологічних рідинах і тканинах організму магній міститься як в іонному вигляді, так і в зв'язаному з білками стані.

Особливо багато магнію в рослинах. Він входить до складу молекули хлорофілу $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ (до 2 %), причому іони Mg^{2+} виступають у ролі комплексоутворювача. Магній виконує важливу біологічну роль в організмі людини. Іони магнію залежно від концентрації блокують або забезпечують нервово-м'язову передачу, вони пригнічують центр дихання, а також судиноруховий центр, завдяки чому знижують артеріальний тиск.

Магній входить до складу багатьох ферментних систем і є їх незамінним компонентом і активатором, у тому числі і специфічних ферментів для магнію (карбоксипептидаза, аденозинтрифосфатаза, холіноестераза та ін.). З білками деяких ферментів (енолаза, фосфорилаза і т. д.) магній утворює комплексні сполуки. Іони магнію сприяють виділенню холестерину з організму, стимулюють перистальтику кишечника і жовчовиділення, впливають на вуглеводно-фосфатний обмін і синтез білка. Магній разом з натрієм і фосфором бере участь у м'язовій і нервовій діяльності організму.

Насичення організму іонами магнію зменшує ймовірність серцевих нападів. Разом з вітаміном B_6 він попереджає утворення каменів у нирках. Додаткове введення магнію підвищує стійкість до стресів, перевтоми і пригнічує ріст злоякісних новоутворень.

Там, де ґрунт багатий на магній (на берегах Нілу), злоякісні пухлини зустрічаються дуже рідко. А в тих районах земної кулі, де його недостатньо (деякі райони Великобританії), онкозахворювання трапляються частіше.

Іони магнію надходять до організму людини з рослинною їжею. Кількість магнію в продуктах залежить від вмісту його в ґрунті. З помелом зерна видаляється 80 % магнію. Додатковим джерелом магнію може бути будь-яка їжа, яка не піддавалася обробці. Магній міститься в крупах, молоці, горіхах.

При нестачі магнію спостерігаються: хвороби мозку, серцево-судинної системи і білокрів'я, порушення електролітного обміну міокарда, зниження швидкості кровотоку в органах і тканинах, підвищення опору периферичних судин зі зниженням мікроциркуляції.

Надлишок вмісту магнію викликає сонливість, порушення координації, мови, загальмованість, уповільнення пульсу, нудоту та ін. До цього

може привести надлишковий прийом препаратів магнію без компенсації добавками кальцію.

Взаємодія з іншими елементами. Іони магнію є антагоністами іонів кальцію. В організмі людини кальцій і магній повинні міститися у співвідношенні ~1:0.6. Так, при дефіциті магнію кальцій буде виводитися з сечею, а надлишок кальцію викликає дефіцит магнію. Обмін магнію регулюють вітаміни D, E, B₆, K. При нестачі магнію калій не утримується всередині клітин. Фосфоровмісні харчові продукти (м'ясо), фосфати і солі кальцію можуть пригнічувати всмоктування магнію в кишечнику.

Кальцій. Кальцій виконує роль універсального внутрішньоклітинного месенджера, що бере участь у передачі специфічних сигналів біореакцій у тварин і рослин. Живі організми використали унікальні властивості кальцію у формуванні біологічних структур, ферментативних і сигнальних реакціях. У кожній з відомих систем сигнальної трансдукції в тваринних і рослинних клітинах кальцій задіяний як вторинний месенджер.

Можна припустити, що при біохімічній еволюції в природі відбувається вибір кандидатів на роль вторинних посередників іонної природи. Вважають, що для передачі інформації оптимальніше використовувати невеликі за розміром, широко розповсюджені в клітині і внутрішньоклітинному середовищі іони, здатні утворювати зв'язки з біомолекулами. Великі розміри аніонів та одиничний заряд іонів калію і натрію утрудняють формування міцних зв'язків з білковими молекулами. Ймовірно, в природі при еволюції відбувався вибір між іонами кальцію і магнію.

Відомо, що кальцій здатний утворювати велику кількість координаційних зв'язків (від 6 до 9) з лігандами, на відміну від магнію (максимум 6). При цьому у іона Mg^{2+} частина координаційних зв'язків витрачається на взаємодію з молекулами води, що зменшує спорідненість магнію до білкових лігандів. Довжина зв'язку, що утворює кальцій, варіює більшою мірою порівняно з параметрами зв'язків за участю магнію. Магній зазвичай утворює правильні шестикоординаційні октаедричні комплекси зі зв'язками певної довжини. В той же час кальцій формує лабільні комплекси з високим і змінним координаційним числом і різною довжиною зв'язків. Завдяки такій здатності кальцій може «підлаштовуватися» під ділянку зв'язування в молекулі ліганду і заміщатися в цьому комплексі в 1000 разів швидше від магнію.

На початку 80-х років минулого сторіччя Расмуссеном була сформульована концепція, згідно з якою кальцій виконує функцію вторинного месенджера при проведенні сигналів, які надходять із зовнішнього і внутрішнього середовища організму. Нині роль кальцію як універсального тригера клітинних реакцій тваринних і рослинних організмів практично не викликає сумнівів. Саме цитозольний кальцій може слугувати зв'язуючою ланкою для багатьох сигнальних шляхів, сприяючи формуванню сигнальної мережі клітин.

При зміні умов існування організму відбувається посилення надходження кальцію в цитозоль іззовні та внутрішньоклітинних компартментів, в результаті чого його концентрація в клітинах може зростати на декілька порядків (до 10^{-6} М). Це приводить до його взаємодії зі специфічними білками, передусім різними протеїнкіназами і кальмодуліном. Протеїнкінази, що активуються кальцієм, фосфорилують інші білки, у тому числі ті, що беруть участь у регуляції експресії генів. Кальмодулін не має власної ферментативної активності, але, приєднуючи кальцій, набуває здатності активувати кальмодулінзалежні протеїнкінази та інші ферменти. Таким чином кальцій бере участь у регуляції активності багатьох ферментів і в передачі сигналів у генетичний апарат клітини, що необхідно для адекватної відповіді клітини на зміни умов середовища або на внутрішні сигнали, наприклад, зміну концентрації тих чи інших гормонів.

Кальцій міститься в кожній клітині тіла людини. Загальна кількість кальцію в організмі становить близько 1000–1700 г, причому 99 % його міститься в кістковій тканині, дентині та емалі зубів, а решта в м'яких тканинах і нервах. Добова потреба організму в кальції 0.8–0.9 г. В організм кальцій надходить в основному з харчовими продуктами (молоко, овочі, злаки).

Концентрація іонів кальцію в організмі регулюється гормонами парашитоподібних залоз. Всмоктування кальцію залежить від багатьох факторів, зокрема, основним регулятором засвоєння кальцію є вітамін D. При нестачі цього вітаміну всмоктування кальцію зменшується.

Кальцій є головним компонентом кісткової тканини і зубів, куди він входить у вигляді солей CaCO_3 і $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Вміст кальцію в кістках залежить від наявності солей фосфатної кислоти. Від вмісту кальцію в скелеті залежить його твердість, ріст і мінералізація кісток.

В організмах ссавців іони кальцію беруть участь у передачі нервових імпульсів, скороченні м'язів, регулюванні роботи серця, у процесах

зсідання крові. Кальцій стимулює функції деяких ферментів і гормонів, виділення інсуліну, чинить антиалергенну дію, збільшує захисні сили організму, впливає на синтез нуклеїнових кислот і білка в м'язах, на процеси відновлення водного балансу в організмі.

Оскільки кальцій знижує збудливість клітин центральної нервової системи, його зменшення в організмі супроводжується збудженням нервової системи (тетанія – судоми). Іони кальцію сприяють виділенню ацетилхоліну (антагоніст магнію). Кальцій входить до складу деяких ферментних систем (наприклад, лецитинази, амілази) і впливає на їх активність.

Іони кальцію впливають на кислотно-лужну рівновагу, функцію ендокринних залоз (особливо паращитоподібних), мають протизапальну і десенсибілізуючу дію.

Кальцій належить до елементів, що важко засвоюються, і хоча він міститься у багатьох харчових продуктах, забезпечити ним організм не так-то просто. В злаках і продуктах їх переробки, шпинаті і щавлі містяться речовини, які утворюють з кальцієм нерозчинні сполуки, що не засвоюються.

Кальцій міститься в зелених листових овочах, наприклад, шпинаті, але найбільше його в кунжутному насінні. Будь-які горіхи і насіння містять кальцій; з фруктів і ягід особливо багаті кальцієм смородина, абрикоси, виноград, ожина, суниця, агрус, вишня, полуниця; з овочів – морква, буряк, огірки, цибуля, петрушка, молода ріпа з бадиллям. Багато кальцію у висівках, меді і кисломолочних продуктах.

З гороху, квасолі, сочевиці кальцій засвоюється більш ніж на 50 %. Тваринні жири, цукор, цукерки, солодощі та копченості, зелений чай, кава і газовані напої активно виводять кальцій з організму. Заважають його засвоєнню також картопля, вівсянка, какао і шоколад. Кальцій добре всмоктується з молочних продуктів, цьому сприяє молочний цукор – лактоза, що міститься в молоці.

Дефіцит кальцію приводить до рахіту, затримки росту у дітей та підлітків, сколіозу, викривлення кісток, алергії, порушення зсідання крові, ламкості капілярів, утворення каменів у нирках. Люди, що страждають хронічною нестачею кальцію, погано витримують розумові і фізичні навантаження, стають уразливими до інфекцій; у них мимоволі скорочуються м'язи, виникають судоми, кровоточать ясна і руйнуються зуби.

Нестача кальцію в організмі може виникнути внаслідок зниження його засвоюваності в кишечнику, наприклад, при нестачі ферменту лактози в кишечнику, що приводить до непереносимості молока – основного джерела кальцію. Найбільш важкі захворювання, що викликаються дефіцитом кальцію в організмі – це остеопороз і остеомалія – розм'якшення кісток, яке медики називають «дорослим рахітом». Це захворювання може стати невиліковним, якщо своєчасно не заповнити нестачу кальцію і вітаміну D.

Нестача кальцію також може привести до розсіяного склерозу – невиліковного неврологічного захворювання. Воно виникає зазвичай після 40 років, але при гострій нестачі кальцію може розвинутися і до 30. При дефіциті кальцію поведінка людини стає нервовою, з'являється емоційне занепокоєння, погіршується настрій, виникає бажання їсти крейду.

Надлишок кальцію виникає тільки в разі його прийняття в формі препаратів – токсичною може бути доза більше 2000 мг і при харчуванні молоком протягом декількох років по 4–6 л на день.

Взаємодія кальцію з іншими елементами. Іони кальцію перебувають у біологічному антагонізмі з іонами натрію, калію і магнію. Підвищений вміст магнію і фосфору перешкоджає засвоєнню кальцію. Якщо приймати добавки кальцію (наприклад, кальцію карбонат) під час їжі, то він перешкоджає всмоктуванню феруму з його препаратів (ферум(II) сульфату), харчового негемового і гемового феруму. Але якщо кальцій карбонат приймати без їжі, то навіть у високих дозах він не перешкоджатиме всмоктуванню феруму з ферум(II) сульфату. Вітамін D покращує всмоктування кальцію в кишечнику.

Манган. Загальний вміст мангану в організмі людини становить ~10–30 г. Найбільше його в легенях, м'язах, печінці, головному мозку (гіпофізі), нирках, селезінці, кістках і т. д. Він надходить в організм головним чином з рослинними харчовими продуктами. Добова потреба організму в мангані становить для дорослих 5–10 мг.

Манган впливає на різні функції організму: жировий, білковий, вуглеводний обмін в організмі ссавців. Манган спричиняє малоспецифічну активацію ферментних систем, входить як незамінний металоконпонент в молекули деяких ферментів (аргінази, фосфотрансферази). Манган важливий для утворення тироксину – головного гормону щитоподібної залози.

Манган виявляє ліпотропний ефект, знижуючи відкладення жиру в організмі, наприклад, патологічне ожиріння, викликане дефіцитом мангану в раціоні, виліковується додатковим введенням цього мікроелемента. Значно впливає манган на мінеральний обмін: солі мангану сприяють засвоєнню фосфору і кальцію. Встановлено, що зі зниженням вмісту мангану в організмі порушується процес утворення кісткових тканин. Це захворювання виліковується введенням в їжу солей мангану.

Манган має інсуліноподібний ефект, знижуючи вміст глюкози в крові і посилюючи синтез глікогену. Відомо, що в організмі хворих на цукровий діабет мангану приблизно наполовину менше, ніж потрібно для підтримки здатності нормально переробляти цукор. Багато вчених вважають, що манган забезпечує профілактику цукрового діабету та захворювань щитоподібної залози. Солі мангану впливають на стан центральної нервової системи.

Манган(II) хлорид у комбінації з солями купруму має стимулюючий вплив на еритропоез (більш значне, ніж при введенні солей купруму або мангану поодиноці).

Позитивно впливає манган також на синтез аскорбінової кислоти *in vitro* і на біосинтез її печінкою. Крім того, солі мангану позитивно впливають на обмін вітамінів В₁ і Е, перешкоджаючи розвитку авітамінозу. Обмін таких вітамінів, як С, Е, групи В нормально відбувається тільки в присутності мангану.

Манган приводить в норму роботу статевих залоз та позитивно впливає на процес утворення молока у жінок, що годують грудьми. У людей, в харчуванні яких мангану достатньо, завжди в нормі м'язові рефлексі, стабільний опорно-руховий апарат, у них немає проблем з пам'яттю, вони енергійні і спокійні, вільно рухаються і не мають проблем у статевій сфері.

Значна кількість мангану міститься в пшениці, житі, гречці, вівсянці і рисі. Є цей важливий елемент і в бобових – найбільше в квасолі. М'ясо і риба бідні на цей елемент. Манган присутній у малині, чорній смородині, брусниці, кропі, суниці, петрушці, моркві, шпинаті, горіхах і зеленому чаї.

Нестача мангану викликає затримку росту, порушення кісткової системи (зниження міцності кісток), анемію. Засвоєнню мангану заважають зловживання какао, шоколадом, захоплення білковими і жировими дієтами, гіпотензивні препарати.

Надлишок мангану спричиняє зміну в кістках аналогічно рахіту («мангановий рахіт»), порушення всмоктування феруму. Надлишок ман-

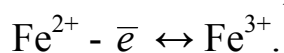
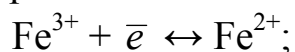
гану може бути викликаний неконтрольованим прийомом вітамінних і мінеральних препаратів, що приводить до порушення балансу між багатьма необхідними елементами в організмі. Вживання мангану протипоказано людям, які страждають на хворобу Паркінсона, а також тим, чия діяльність пов'язана з електричною технікою, мазутом, бензином та іншими шкідливими речовинами, які можуть спровокувати надлишок мангану. Найчастіше надлишок мангану і навіть отруєння ним виникає у електрозварювальників, робітників видобування руди в шахтах.

Взаємодія з іншими елементами. Як правило, якщо є дефіцит мангану, то спостерігається і дефіцит купруму; кальцій, фосфор і ферум у надлишку уповільнюють засвоєння мангану.

Ферум. Ферум належить до групи життєво необхідних елементів. Загальний вміст його в організмі людини становить ~4 г. Більша частина його міститься в еритроцитах (60–70 % у складі гемоглобіну), а також у дихальних ферментах цитохромах, що беруть участь у перенесенні електронів. Деяка кількість (приблизно 20 %) відкладається в м'язах, кістковому мозку, печінці і селезінці. 20 % його використовується для синтезу різних ферментів. Еритроцити містять гемоглобін – переносник кисню, а лімфоцити відповідальні за імунітет. У вагітних жінок та жінок, що годують грудьми, частина феруму передається дитині для повноцінного формування головного та кісткового мозку. Під час хвороб його витрата збільшується, оскільки він необхідний для синтезу імунних клітин.

Потреба організму у ферумі становить 10–20 мг на добу (10 мг для чоловіків і до 20 мг для жінок). Дорослій людині, щоб уникнути анемії, досить поповнювати його щоденні втрати, які складають в середньому 1 мг на добу. З усього феруму, що надходить в організм, засвоюється в середньому тільки 10 %. Тому, щоб засвоївся 1 мг, треба з різних продуктів отримати 10 мг феруму. Потреба організму в ферумі зростає при значних кровотечах, вагітності, годуванні грудьми.

Ферум бере активну участь в окисно-відновних процесах, що відбуваються в організмі. Іони феруму Fe^{2+} і Fe^{3+} беруть участь у біологічному окисненні і відновленні, почергово віддаючи або приєднуючи один електрон:



Чотири іони Fe^{2+} , що входять до складу гемоглобіну ($\text{C}_{3032}\text{O}_{872}\text{N}_{780}\text{S}_8\text{Fe}_4$) як комплексоутворювачі (ферумпорфіриновий комплекс), зв'язують чотири молекули кисню і переносять його в тканини. На цій властивості іонів феруму(II) і ґрунтується роль гемоглобіну як переносника кисню. Комплекс гемоглобіну з молекулярним киснем називається оксигемоглобіном. Більш міцну сполуку, що називається карбоксигемоглобіном, утворює з гемоглобіном карбон(II) оксид (CO) (чадний газ). Міцністю карбоксигемоглобіну пояснюється токсична дія чадного газу. З'єднуючись з гемоглобіном, карбон(II) оксид виводить його з ланцюга перенесення кисню.

Ферум бере участь в реакціях, необхідних для процесів росту і кро-воутворення. Іони Fe^{2+} і Fe^{3+} входять до складу більш ніж 70 ферментних систем (наприклад, каталази, цитохромоксидази, пероксидази та ін.), в тому числі дихальних. Роль феруму в процесі дихання полягає у тому, що в тканинах органічні сполуки феруму каталізують процеси дихання безпосередньо в клітинах. За підрахунками академіка А. І. Опаріна, каталі-тична дія 1 мг феруму в складі ферменту каталази відповідає каталітичній дії 10 т неорганічного феруму. Ферум бере участь в синтезі гормонів щитоподібної залози, в процесах кровотворення і його нестача в організмі приводить до розвитку анемії. Вміст негемоглобінового феруму в плазмі крові при різних захворюваннях змінюється. При інфекційному гепатиті він підвищується пропорційно тяжкості захворювання, тому його вміст можна використовувати для діагностики. Ферум сприяє виведенню токсинів з організму, бере участь у процесах регенерації, покращує стан шкіри, структури волосся і нігтів.

Розрізняють два види феруму – гемовий (входить до складу гемоглобіну) і негемовий. Гемовий ферум міститься в м'ясі (особливо багато його в печінці і нирках), негемовий (іноді його називають «неорганічним») – у рослинній їжі. Якщо гемовий ферум засвоюється добре, то негемовий значно гірше. Щоб організм краще засвоїв його, він має бути обов'язково двозарядним (тризарядний не засвоюється). Для перетворення тризарядного феруму в двозарядний потрібен вітамін С. Вітаміни С (сік цитрусових, шипшини, зелень кропу, петрушки, зелена і ріпчаста цибуля), B_{12} , пепсин, купрум сприяють засвоєнню феруму, особливо якщо вони надходять з тваринних джерел.

У той же час надлишок кальцію (молочні продукти), надлишок танинів (чай, кава, червоне вино, какао, кока-кола), а також фосфати, що входять до складу яєць, сиру і молока, погіршують його засвоєння.

Нестача феруму в організмі викликає порушення клітинного дихання, анемію.

Надлишок феруму в організмі спричиняє сидероз (відкладення сполук феруму в органах і тканинах). Позбутися надлишку феруму часто набагато важче, ніж усунути його дефіцит.

Взаємодія з іншими елементами. Вітамін С, купрум, кобальт і манган сприяють засвоєнню феруму з їжі, а додатковий прийом препаратів кальцію порушує всмоктування феруму організмом. Вітамін Е і цинк у високих концентраціях знижують засвоєння феруму.

Кобальт. В організмі міститься 1–2 мг кобальту, в найбільшій кількості він концентрується в печінці та меншою мірою в підшлунковій залозі, нирках та ниркових залозах, щитоподібній залозі та лімфатичних вузлах. У крові концентрація кобальту залежить від пори року: вона вища влітку, що пов'язано з підвищеним вживанням свіжих овочів і фруктів. Добова потреба організму в кобальті становить 0.05–1.1 мг.

Кобальт – мікроелемент, що відрізняється різноманітним впливом на життєві процеси, що відбуваються в організмі. Кобальт впливає на білковий, жировий, вуглеводний і мінеральний обміни, а також на функції розмноження і росту. Кобальт має сильний гемопоестичний вплив, збільшуючи кількість еритроцитів і гемоглобіну в крові. Кобальт позитивно впливає на обмін вітамінів, наприклад, аскорбінової кислоти (вітаміну С), на синтез ніотинової кислоти (вітаміну РР) і особливо ціанкобаламіну (вітаміну В₁₂ – C₆₃H₉₀N₁₄PCo), до складу якого він входить у кількості 4.5 %. Кобальтопорфіриновий комплекс – це основна частина ціанкобаламіну, що відіграє важливу роль у кровотворенні та інших процесах.

Мікродози солей кобальту впливають на азотний (білковий) обмін, сприяючи, наприклад, депонуванню білків у тканинах організму, посилюють синтез м'язових білків. Кобальт позитивно впливає на глікогеноутворення, його солі в дозах 1–5 мг викликають зниження вмісту цукру в крові (гіпоглікемію), а більш високі концентрації – гіперглікемію.

Кобальт необхідний для нормальної діяльності підшлункової залози і регуляції активності адреналіну. Він покращує всмоктування феруму

в кишечнику і активує перехід так званого депонованого феруму в гемоглобін еритроцитів. Він сприяє кращому засвоєнню Нітрогену білка, стимулює синтез м'язових білків. Кобальт(II) сульфат позитивно впливає на засвоєння кальцію і фосфору. Іони кобальту можуть виступати (залежно від концентрації) як активаторами, так і інгібіторами ферментних систем, особливо окиснювальних. Кобальт пригнічує збудливість центральної нервової системи.

Вміст кобальту в харчових продуктах залежить від його наявності у середовищі в різних географічних зонах. Продукти харчування, що містять кобальт: кольмар, консерви рибні, печінка тріски, тріска, томати, крупа манна, горох, горіхи, яйця курячі, часник, родзинки, зелена цибуля.

Не весь кобальт всмоктується в кишечнику людини (засвоюється приблизно п'ята частина мікроелемента). І якщо з їжею в організм надходить недостатня кількість елемента, то може розвинутися дефіцит кобальту (при тривалому отриманні кобальту з продуктами менше 10 мкг за добу).

При нестачі в раціоні солей кобальту (а також солей мангану) у крові тварин знижується кількість гемоглобіну та еритроцитів і збільшується число еозинофілів (одна з форм зернистих лейкоцитів (гранулоцитів)), тоді як при підживленні тварин кобальтом в їх крові, молоці і печінці збільшується вміст гемоглобіну, еритроцитів і ціанкобаламіну. У людини при нестачі кобальту виникає схильність до захворювань ендокринної системи та системи кровообігу.

Отримання приблизно 250–500 мг за добу вважається токсичною дозою. Отруєння кобальтом може бути на виробництві: при виготовленні кераміки, рідкого палива, різних сплавів, а також у хімічній промисловості. В організм цей елемент потрапляє у вигляді пилу через органи дихання, часом всмоктується шкірою. Надлишок кобальту може призвести до захворювання важкою кардіоміопатією з вираженою серцевою недостатністю.

Взаємодія з іншими елементами. Кобальт посилює всмоктування феруму в кишечнику і його використання в процесі утворення гемоглобіну. Кобальт, манган і купрум прискорюють одужання після перенесених важких хвороб і попереджають передчасне посивіння волосся. Підвищений вміст білка і феруму в їжі уповільнюють засвоєння кобальту в шлунково-кишковому тракті; а купрум і цинк підсилюють цей процес. Надлишок кобальту може приводити до порушення метаболізму йоду в щитоподібній залозі.

Купрум. Купрум належить до групи життєво необхідних мікроелементів і його вміст в організмі людини становить ~75–150 мг. У м'язах міститься 45 % купруму, 20 % – в печінці та 20 % – в кістковій тканині. Добова потреба дорослої людини в купрумi становить 2–3 мг. Верхній допустимий рівень споживання купруму – 5 мг на добу.

Вважають, що людям з темним волоссям потрібно більше купруму, ніж світловолосим, тому що купрум необхідний для підтримки забарвлення волосся. Нестача купруму виявляється ранньою сивиною. Купрум зв'язаний з ферментами, вітамінами, гормонами й іншими біологічно активними речовинами. Він підсилює дію інсуліну і гормонів гіпофізу, які стимулюють розвиток і функції статевих залоз. Солі купруму позитивно впливають на ріст і розвиток організму. Купрум специфічно діє на синтез гемоглобіну й утворення еритроцитів.

Крім того, купрум забезпечує краще всмоктування феруму в кишечнику, подовжуючи тим самим термін життя еритроцитів. Купрум має інсуліноподібну дію; гіпоглікемічний його вплив можна пояснити тим, що іони купруму сприяють утворенню глікогену в печінці (вплив купруму на вуглеводний обмін). Купрум у вигляді купрум ацетату прискорює виведення води з організму, не впливаючи на виведення хлоридів, а додавання в харчовий раціон тварин купрум сульфату затримує в організмі кальцій і фосфор, таким чином впливаючи на водний і мінеральний обміни. Купрум є металокомпонентом багатьох ферментних систем і виступає в ролі незамінного активатора. Водночас щодо деяких ферментних систем купрум може виступати в ролі інгібітора. Так іон Cu^{2+} є інгібітором амілази слини, ліпази і т. д.

Додатково введений у харчовий раціон купрум чинить антизобогенний ефект. Встановлено, що накопичення купруму в тканині мозку веде до ослаблення процесів збудження і посилення гальмування в корі великих півкуль.

Багато купруму в горіхах, овочах, фруктах і ягодах, морепродуктах. Питна вода теж містить купрум – приблизно 1 мг на літр.

Зазвичай того купруму, що потрапляє в організм людини з продуктами харчування, цілком достатньо, тому нестача купруму найчастіше зумовлена природними особливостями або порушенням обмінних процесів.

При нестачі купруму можливі порушення в кістковій і сполучній тканинах, внутрішні кровотечі, підвищення рівня холестерину. Причини

дефіциту купруму: недостатнє надходження; тривалий прийом кортико-стероїдів, нестероїдних протизапальних препаратів, антибіотиків; порушення регуляції обміну міді. Алкоголь сприяє дефіциту купруму.

Токсична доза купруму для людини – більше 250 мг. Підвищений вміст сполук купруму в організмі є досить токсичним для людини. Причини надлишку купруму: надмірне надходження в організм (вдихання парів і пилу сполук купруму в умовах виробництва, побутові інтоксикації розчинами сполук купруму, використання мідного посуду); порушення регуляції обміну купруму.

Взаємодія з іншими елементами. Надлишок купруму може впливати на всмоктування цинку. Ферум зменшує всмоктуваність купруму. Молібден підсилює виведення купруму з організму. Купрум сприяє окисненню вітаміну С і взаємодіє з ним при утворенні білка сполучної тканини колагену. Посилений прийом молібдену і цинку може привести до дефіциту купруму. Купрум може гальмувати засвоєння організмом феруму, кобальту, цинку, молібдену, вітаміну А.

Цинк. Цинк належить до групи незамінних мікроелементів, загальний його вміст в організмі людини становить ~1.5–2.0 г. Найбільше його в сітчастій оболонці ока, передміхуровій залозі, спермі, молочних залозах, багаті на цинк також печінка і м'язи. Добова потреба організму в цинку становить 10–15 мг; вона збільшується в період росту, статевого дозрівання організму і під час вагітності. Біологічна роль цинку пояснюється зв'язком з життєдіяльністю залоз внутрішньої секреції, де він в основному концентрується.

Цинк специфічно впливає на функцію статевого апарату. При вираженому дефіциті цинку в умовах експерименту тварини втрачають відтворювальну здатність, а додавання його солі в їжу сприяє підвищенню кількості і якості потомства.

Цинк позитивно впливає на ріст і розвиток, що свідчить про його участь у білковому обміні, зокрема, в обміні нуклеопротейдів. Іони цинку беруть участь у жировому обміні, наприклад, введення їх в організм зменшує вміст жиру у внутрішніх тканинах і печінці. Цинк впливає на вміст глюкози в крові, причому цей вплив залежить від вихідного стану вуглеводного обміну. Цинк є складовою частиною інсуліну і позитивно впливає на його секрецію. Встановлено, що зв'язування цинку приводить

до порушення нормального процесу утворення, депонування та звільнення інсуліну. Цинк впливає на мінеральний обмін: при додаванні його в їжу підвищується виділення фосфору з організму і зменшується виділення кальцію. Цинк є незамінним металокомпонентом понад 40 ферментних систем, наприклад, карбоангідрази, фосфатази, альдолази. Одні ферменти цинк активує (пероксидаза, амінопептидаза, енолаза, аргіназа), на інші ж діє як інгібітор (фосфоглюкомутаза, сукцинатоксидаза, лужна фосфатаза, рибонуклеаза і т. д.). Цинк бере участь у процесах дихання. Встановлено, що при інфекційному гепатиті кількість цинку в плазмі крові знижується, а при одужанні нормалізується. Тому рівень цинку в плазмі крові є індикатором при оцінці відновлення працездатності.

Встановлено, що з віком вміст цинку в тканинах серця, печінки та інших важливих органів різко зменшується, знижуючи їх активність. Прийом же мінімальних доз препаратів цинку стимулює роботу залоз внутрішньої секреції і покращує обмінні процеси в організмі. Всмоктування цинку з продуктів харчування відбувається в тонкому кишечнику. Ступінь засвоєння цинку в організмі залежить від достатньої кількості кальцію і фосфору, вони допомагають його засвоюваності. Іони кальцію і літію підсилюють ефект солей цинку. У сильну спеку, внаслідок посиленого потовиділення, втрати цинку можуть збільшитися в 3–5 разів.

Молочні продукти знижують засвоюваність цинку, а алкоголь і кофеїн посилено виводять його з організму. Продукти, що містять цинк: кунжутне насіння, яйця, гарбузове та соняшникове насіння, горіхи, квасоля, пшеничне борошно грубого помелу.

Дефіцит цинку зустрічається у людей, які живуть в країнах з ґрунтами бідними цинком, а також у осіб, що вживають переважно рослинну їжу, з неправильним харчуванням. До дефіциту цинку приводять також хвороби печінки і нирок, зниження функції щитоподібної залози. Прийом деяких гормональних препаратів, протизаплідних засобів і препаратів кальцію також зменшує вміст цинку в організмі. Часто причиною дефіциту цинку є його неповна засвоюваність з продуктів харчування. Так, цукор, сіль і особливо алкоголь навіть у малих кількостях знижують його рівень у м'язах, плазмі крові і печінці. До дефіциту цинку може привести використання сечогінних засобів, вживання переважно вуглеводної їжі.

У студентів, які добре вчаться, вміст цинку в організмі досить високий – про це можна дізнатися, дослідивши їх волосся.

Кількість цинку, що міститься в продуктах харчування, не може привести до його надлишку в організмі. До надлишку приводить вживання харчових добавок. Високотоксичні сполуки цинку – сульфати, хлориди та оксиди – можуть утворюватися при зберіганні продуктів харчування в оцинкованому посуді. Отруєння цинк оксидом може статися при вдиханні парів цієї речовини. Надлишок цинку в організмі уповільнює ріст кісток, порушуючи їх мінералізацію. Підвищений вміст сполук цинку в крові приводить до ослаблення сухожильних рефлексів і прогресуючої слабкості. Цинкове отруєння приводить до фіброзного переродження підшлункової залози. Не рекомендується вживати дози цинку більше 150 мг.

Взаємодія з іншими елементами. Надлишок цинку ускладнює засвоєння купруму й феруму. Цинк буде краще засвоюватися разом з фосфором, кальцієм, вітаміном А, однак при передозуванні якогось з цих елементів баланс в організмі відразу порушується.

Молибден. Вміст молибдену в організмі становить ~10 мг. Він накопичується в печінці, нирках, залозах внутрішньої секреції, легенях, селезінці, м'язах і кістках. Добова потреба організму в молибдені 0.15–0.5 мг.

Молибден є незамінним компонентом і активатором деяких ферментних систем, наприклад, гідрогенази, ксантинооксидази, а також деяких ферментів флавінової групи. Ферменти, що містять молибден, беруть участь у метаболізмі пуринів і засвоєнні нітрогену. Цей метал сприяє окисненню ксантину і пурину в молоці і печінці, молибден позитивно впливає на синтез гемоглобіну. Алкогольне отруєння проходить швидше, якщо в організмі завжди достатньо молибдену – він прискорює розкладання і виведення алкогольних токсинів.

Кількість молибдену в рослинах залежить від його вмісту в ґрунті. Молибден може втрачатися в процесі приготування їжі. Найкраще організм засвоює молибден із зелених листкових овочів. Молибден міститься в шипшині, сої, бобах, горіхах, капусті червонокачанній, часнику, гречці. У здорових людей при збалансованому харчуванні в організмі молибдену завжди вистачає.

Нестача молибдену в організмі може розвинутися внаслідок порушення в обміні феруму і супроводжується зменшенням вмісту в тканинах ксантинооксидази. При нестачі молибдену спостерігається ослаблення імунної системи. Дефіцит молибдену приводить до збільшення нітрогенвміс-

них сполук в організмі та до утворення каменів у нирках. При дефіциті молібдену найкраще отримувати його з їжі, різко збільшивши споживання зелених листових овочів і бобових. Дефіцит молібдену зустрічається вкрай рідко і спостерігається у людей, які голодують.

Причинами надлишку молібдену в організмі можуть бути його підвищена кількість у питній воді та виробнича інтоксикація. При систематичному вживанні великих кількостей молібдену розвивається ендемічна подагра, пов'язана з надлишковим утворенням сечової кислоти, яку нирки не встигають виводити з організму; тоді в суглобах і сухожиллях накопичуються розчинні в цій кислоті солі і суглоби починають хворіти. При надлишку молібдену часто призначаються препарати, що містять купрум і сульфур. Слід також збільшити споживання продуктів харчування, багатих цими елементами.

Взаємодія з іншими елементами. Молібден сприяє обміну феруму в печінці. Дефіцит молібдену викликає дефіцит купруму. Дефіцит молібдену спостерігається у всіх людей, чутливих до сульфідів (алергія на жовток, деякі вина і сульфаніламід). Збагачення органів і тканин молібденом приводить до зниження концентрації в крові таких елементів, як Fe, Cu, Zn. За допомогою міченого молібдену встановлено, що при надмірному вмісті молібдену в їжі він витісняє з печінки купрум, а з кісток фосфор. Є відомості про взаємозв'язок молібдену з вітамінами С і В₁₂. При С-авітамінозі кількість молібдену в нирках знижується в п'ять разів. Молібден слід приймати окремо від феруму, купруму та мангану, оскільки вони є його антагоністами. Антагоністами молібдену вважаються плюмбум, вольфрам і натрій – їх надлишок викликає дефіцит молібдену в організмі. Вміст молібдену в організмі підвищується при дефіциті феруму і купруму – брак цих елементів може привести до надлишку молібдену і до всіх пов'язаних з цим наслідків.

1.3. Біоліганди

У біологічних об'єктах біометали утворюють координаційні сполуки з біолігандами. Зазвичай утворення комплексів відбувається за донорно-акцепторним механізмом, метал виступає в ролі акцептора електронних пар, а біоліганд як донор електронних пар атомів Оксигену, Нітрогену, Сульфуру, Йоду та ін.

Серед основних біолігандів можна назвати такі:

- амінокислоти;
- похідні амінокислот;
- пептиди;
- білки, у т. ч. ферменти;
- гормони;
- нуклеїнові кислоти та нуклеотиди;
- нуклеопротеїди;
- вуглеводи, карбонові кислоти та ліпіди;
- вітаміни;
- фосфатиди;
- неорганічні аніони;
- іонофори;
- хіміотерапевтичні агенти.

1.4. Моделі в біонеорганічній хімії

Для вивчення механізму дії комплексів біометалів та біолігандів та з метою прогнозування їх властивостей для цілеспрямованого використання в медицині, фармації, екології, сільському господарстві у біонеорганічній хімії використовують моделі.

Основні види модельних систем у біонеорганічній хімії – це:

- 1) моделі за участю іонів металів;
- 2) моделі за участю води.

Своєрідні моделі можна отримати з металоферментів заміною в них іона одного металу на іон іншого. Таке моделювання без зміни органічної частини молекули дозволяє вводити «електронну мітку» безпосередньо в активний центр ферменту. Зазвичай вводять такий метал, який легше піддається виявленню, наприклад, магній замінюють манганом, цинк – кобальтом, кальцій – рідкісноземельними елементами та ін. Залежно від обраного методу аналізу застосовують той чи інший метал.

Модельні системи використовувалися для вивчення вибіркового лужного гідролізу в присутності іонів перехідних металів.

Жоден зі штучно створених каталізаторів не може зрівнятися з ферментами за ефективністю і вибірковістю впливу на перетворення органічних

молекул. Оскільки багато з відомих дотепер ферментів (більше двох тисяч) містять іони металів, їх каталітична активність і специфічність визначаються комплексоутворюючою природою металу, з одного боку, і лігандного – властивостями активного центру ферменту і субстрату, – з іншого.

Всебічне вивчення механізму металоорганічного каталізу є перспективною галуззю досліджень, що спрямована на створення штучних моделей каталізаторів з використанням структурної організації металоферментів. Такі каталізатори відкривають можливості створення принципово нових технологічних процесів. Дослідження будови різних ферментів дозволило розділити їх на білкову частину та активні групи. Експериментально встановлено, що деякі ферменти зберігають каталітичні властивості при відщепленні від них значної частини молекули. У деяких випадках були синтезовані активні групи та досліджена їх каталітична активність, яка виявлялася нижчою порівняно з активністю нативного ферменту.

На даний час основними напрямками в розвитку досліджень біонеорганічного каталізу є такі:

- 1) вивчення структури активних груп, механізму дії ферментів і, особливо, металоферментів;
- 2) моделювання ферментів;
- 3) використання принципів структурної організації та дії ферментів при створенні хімічних каталізаторів;
- 4) дослідження поведінки синтетичних каталізаторів в біологічних системах з метою створення каталізаторів, що працюють спільно з ферментами.

Вивчення відносної гідрофобності або гідрофільності речовин може використовуватися як простий метод відбору (скринінгу) анестезуючих і збуджуючих засобів.

Відсутність сольватації приводить до утворення в біологічних системах осадів; це спостерігається при катаракті, жовчокам'яній хворобі, атеросклерозі. Катаракта спричинюється осадженням кальцієвих солей у кришталіку ока; коли шар досягає достатньої товщини, падаюче світло перестає потрапляти на сітківку і настає сліпота. В утворенні жовчних каменів і виникненні атеросклерозу (втрати еластичності стінок артерій, що ведуть до серця) беруть участь кальцій і холестерин. Жовчний камінь являє собою осад кальцій холестерату, що видаляють або вимиванням, або

хірургічно. Атеросклероз – складніша хвороба, яка пов'язана зі зміною в середньому шарі стінок артерій та зв'язана з осадженням кальцієвих солей (наприклад, кальцій карбонату), що приводить до ламкості судин. Таким чином, завдання хіміків знайти способи розчинення цих осадів в організмі.

1.5 Фізико-хімічні методи дослідження координаційних сполук біометалів

Кондуктометрія

Кондуктометрія – один з найточніших, найпростіших і часто використовуваних методів дослідження розчинів електролітів. Його перевагами є швидкість виконання вимірювань, можливість аналізу забарвлених і каламутних розчинів, роботи в широкому інтервалі температур, концентрації та тиску. Однак для забезпечення чутливості та точності аналізу необхідно використовувати ретельно очищені розчинники й електроліти, оскільки навіть мізерна кількість домішок приводить до зміни електричної провідності. Також цей метод надзвичайно чутливий і до зміни температури.

Розчини багатьох координаційних сполук біометалів є електролітами, які при розчиненні розпадаються на зовнішню та внутрішню сфери. Якщо внутрішня сфера досить міцна, то можливо використати вимірювання електричної провідності свіжоприготованих розчинів досліджуваної сполуки для підтвердження координаційної формули. Встановлено, що за температури 25 °С гранична молярна електрична провідність водних розчинів координаційних сполук змінюється в таких межах:

для 1:1 електролітів – приблизно $100 \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^2 \cdot \text{моль}^{-1}$;

для 1:2 електролітів – приблизно $250 \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^2 \cdot \text{моль}^{-1}$;

для 1:3 електролітів – приблизно $400 \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^2 \cdot \text{моль}^{-1}$;

для 1:4 електролітів – приблизно $500 \text{ Ом}^{-1} \cdot \text{см}^2 \cdot \text{моль}^{-1}$.

Спектроскопія інфрачервоного і комбінаційного розсіювання (коливальна спектроскопія)

Колівальна спектроскопія використовується в біонеорганічній хімії для вивчення будови внутрішньої сфери координаційних сполук, способу координації лігандів та змін, що відбуваються в молекулі ліганду при

координації та для дослідження різних типів коливань (валентні, деформаційні, місткові та ін.). У коливальних спектрах координаційних сполук спостерігають характеристичні частоти лігандів. При комплексоутворенні вони можуть розщеплюватися на кілька компонент або зміщуватися і змінюватися за інтенсивністю через перерозподіл електронної густини в молекулі ліганду. У далекій інфрачервоній частині спектра спостерігають валентні коливання зв'язків метал-ліганд. У біонеорганічній хімії застосування коливальної спектроскопії ускладнюється присутністю води (водні розчини), яка поглинає інфрачервоні промені, а також складністю об'єктів дослідження.

Електронна спектроскопія (абсорбційна спектроскопія у видимій і ультрафіолетовій областях спектра)

Електронна спектроскопія досить широко застосовується в біонеорганічній хімії. В електронній спектроскопії поглинання квантів світла пов'язано з електронними переходами. Абсорбційна спектроскопія у видимій та ультрафіолетовій частинах спектра використовується для дослідження симетрії комплексів, що утворилися, способу координації, геометрії внутрішньої координаційної сфери комплексів перехідних біометалів з незаповненими *d*- і *f*-орбіталями. Електронні переходи можуть бути чотирьох типів:

1) *d-d* - переходи центрального атома металу-комплексоутворювача, що визначають забарвлення координаційних сполук та залежать від приєднаних безпосередньо до центрального іона донорних атомів ліганду;

2) смуги перенесення заряду, які характеризуються високими енергіями та значними інтенсивностями, визначаються перенесенням електронів з орбіталей (σ - або π -зв'язуючих орбіталей), локалізованих на лігандах на орбіталі іона металу (можливе і зворотне перенесення – із заповнених орбіталей металу на вакантні π^* -орбіталі, локалізовані на лігандах);

3) рідбергівські смуги (інтенсивні в далекій ультрафіолетовій частині спектра), відповідають перенесенням електронів атома металу з заповнених *d*-орбіталей на його вакантні *p*-орбіталі;

4) інтралігандні смуги (характерні для лігандів зі супряженими зв'язками), що відповідають перенесенню електрона з заповнених орбіталей ліганду на вільні.

Ядерний магнітний резонанс (ЯМР)

Метод ядерного магнітного резонансу ЯМР широко застосовується для досліджень у біонеорганічній хімії. В основі методу ЯМР реєстрація резонансного поглинання енергії радіочастотного випромінювання речовиною у магнітному полі. При цьому кванти енергії радіочастотного випромінювання поглинаються ядрами елементів, що мають магнітний момент – так званий «ядерний спі́н», у першу чергу – протонами. Треба відзначити, що в ядрах атомів, що найчастіше входять до складу органічних сполук (таких, як ^{12}C , ^{16}O та ін.), масове число та заряд парні, а тому їх «ядерний спі́н» дорівнює нулю. Такі ядра не дають сигналів ядерного резонансу. У той же час ядра атомів ^1H , ^{13}C , ^{19}F і ^{31}P мають ядерний спі́н, що дорівнює $\pm 1/2$, і речовини, до складу яких уведені ці атоми, досить зручно досліджувати методом ЯМР. Існують також елементи, ядра яких мають спі́н, який дорівнює одиниці або більшій величині, кратній $1/2$. Вивчення ЯМР сполук, до складу яких входять такі елементи, складніше здійснити експериментально. Відсутність спі́на у найважливішого органогена ^{12}C є великою перевагою методу, оскільки якби атом ^{12}C мав магнітний момент, спектри ЯМР були б набагато складнішими. Якщо потрібно спостерігати сигнал ЯМР від атома Карбону, можна вводити у досліджувані об'єкти його ізотоп ^{13}C .

Метод ЯМР, відкритий в 1946 р., є одним з найбільш важливих нових методів дослідження органічних сполук та біокомплексів завдяки тому, що ядра атомів, залежно від того, якими іншими ядрами вони оточені в молекулі (різне магнітне оточення), дають сигнал ЯМР (резонансний ефект) при різних значеннях напруженості постійного магнітного поля.

Для хіміків найцікавіші такі характеристики, які можуть бути отримані при розгляді спектрів ЯМР:

1. Ширина й площа лінії (піка), а також час релаксації, тобто час, необхідний для повернення ядра з верхнього енергетичного рівня на нижній. Ці характеристики можуть дати відомості про рух і, зокрема, про обертання груп усередині твердого тіла, а в деяких випадках – про відстань між сусідніми ядрами.

2. «Хімічні зсуви», які можуть дати відомості про характер хімічних зв'язків, і є основою аналізу спектрограм ЯМР.

3. Число й відносна площа ліній тонкої структури. Ці характеристики також дають відомості про хімічні зв'язки.

Парамагнітні іони різко змінюють час релаксації різних ядер і в першу чергу протонів. У біонеорганічній хімії ЯМР-техніка використовується на ядрах $^{23}_{11}\text{Na}$ і $^{43}_{20}\text{Ca}$ при визначенні стабільності відповідних комплексів.

Магнітна сприйнятливість

За допомогою магнітної сприйнятливості визначають тип комплексів (для комплексів перехідних металів), що зумовлено наявністю неспарених електронів на орбіталях координаційних сполук. Однак експериментально визначені значення магнітного моменту істотно відрізняються від обчислених, тому що крім спінового квантового числа необхідно враховувати орбітальне квантове число. Експериментальні вимірювання магнітної сприйнятливості не потребують застосування дуже складної апаратури, але і точність їх невелика.

Електронний парамагнітний резонанс (ЕПР)

Електронний парамагнітний резонанс використовується для визначення типу комплексів, геометрії, будови внутрішньої сфери координаційних сполук, характеристик хімічного зв'язку комплексів перехідних металів за умови, що відповідний об'єкт дослідження має парамагнітний момент, що відповідає сумарному електронному спіну, який не може дорівнювати нулю. В електронному парамагнітному резонансі використовується явище різної орієнтації спінів електронів у сильному магнітному полі. Зазвичай, на досліджувану систему впливають мікрохвильовим опроміненням певної частоти і поступово збільшують напругу сталого магнітного поля. При певному значенні напруги відбувається поглинання енергії. Це значення залежить від оточення, в якому міститься неспарений електрон. Крім того, що особливо важливо, характер оточення позначається на формі сигналу за рахунок взаємодії електрона з ядрами і з іншими електронами (спін-спінове розщеплення).

Уширення ліній при спін-решітчастій релаксації (час встановлення теплової рівноваги між неспареним електроном і решіткою кристала) приводить до неможливості їх розшифровки за звичайних температур. У такому разі треба знімати спектри ЕПР за дуже низьких температур (при температурі рідкого азоту або гелію).

Метод ЕПР відрізняється дуже високою чутливістю і дозволяє визначати до 10^{-12} парамагнітних частинок в 1 л. ЕПР широко використовується в біонеорганічній хімії. Спектри ЕПР зняті для багатьох комплексів біометалів з різними лігандами. Найбільш перспективним є дослідження спектрів ЕПР для сполук Cu, Mo(V), а при низьких температурах – для сполук Mn, Fe та Co.

Гамма-резонансна спектроскопія

Гамма-резонансна спектроскопія в біонеорганічній хімії застосовується практично тільки при вивченні комплексів, що містять атоми Феруму.

Поглинання гамма-квантів, відкрите Мессбауером, відбувається при суворому дотриманні умов резонансу. Так, при розпаді ядра ^{57}Co утворюється ядро ^{57}Fe , здатне поглинати γ -кванти з енергією 14.41 кеВ. Ця енергія залежить від оточення атома Феруму і може відрізнитися від її значення для чистого (металічного) заліза на деяку величину, що називається ізомерним зрушенням. Для компенсації різниці енергії збудження атома Феруму у вільному стані і його різних хімічних сполук використовують ефект Доплера, тобто переміщують досліджуваний зразок у напрямку до випромінювача (або від нього) з певною швидкістю (що виражається в міліметрах за секунду). Зміна швидкості на 1 мм/с відповідає зміні величини зрушення на $4.9 \cdot 10^{-6}$ еВ.

Ядро Феруму у збудженому стані характеризується квантовим числом $J=3/2$ і може бути, відповідно, в двох станах ($J=3/2$ і $J=1/2$). Наявність цих станів приводить до появи так званого квадрупольного розщеплення в спектрах гамма-резонансного поглинання. Величина квадрупольного розщеплення залежить від спінового стану і симетрії оточення атома Феруму.

Гамма-резонансна спектроскопія застосовується для вивчення ферумвмісних протеїнів. При цьому спостерігається суттєва різниця у спектрах окисненої та відновленої форм Феруму.

Визначення оптичної активності – дисперсія оптичного обертання (ДОО) та круговий дихроїзм (КД)

Дисперсія оптичного обертання і круговий дихроїзм застосовуються для визначення конфігурації комплексів перехідних металів з біолігандами.

Методи ДОО і КД засновані на тому, що оптична активність змінюється зі зміною довжини хвилі падаючого світла. Якщо опромінювати оптично активну сполуку поляризованим світлом зі змінною довжиною хвилі λ , то можна одержати графік залежності кута оптичного обертання α від довжини хвилі λ , тобто криву ДОО.

Круговим дихроїзмом називають різницю між коефіцієнтами поглинання світла, поляризованого по колу вліво і вправо ($\varepsilon_L - \varepsilon_R$). Спектр КД – це крива залежності ($\varepsilon_L - \varepsilon_R$) від λ . Особливо цікаві спектри ДОО і КД у межах піків поглинання у видимому світлі і в ультрафіолеті. Ці спектри можна порівняти зі змінами конфігурації; вони дають змогу стежити за стехіометрією реакції; крім того, аналіз спектрів ДОО і КД дозволяє спостерігати зміни конформації і ефекти, пов'язані з утворенням іонних пар. Дисперсія оптичного обертання і круговий дихроїзм активно застосовуються в біонеорганічній хімії для дослідження координаційних сполук біометалів з біолігандами.

Рентгеноелектронна і фотоелектронна спектроскопія

Рентгеноелектронна і фотоелектронна спектроскопія використовується для дослідження положення енергетичних рівнів орбіталей, зайнятих валентними і невалентними електронами, а також для дослідження найближчого оточення біометалів у комплексах, які складаються з атомів Оксигену, Нітрогену і Сульфуру, а також для дослідження енергетичних рівнів біометалів і молекулярних орбіталей, що характеризують даний комплекс. У методі рентгеноелектронної спектроскопії для дослідження використовують рентгенівські кванти високої енергії, що вибивають електрон як з валентних, так і з глибинних атомних орбіталей. У методі фотоелектронної спектроскопії використовують кванти ультрафіолетового світла, що вибиває валентні електрони. На дослідний зразок діють монохроматичним рентгенівським або ультрафіолетовим випромінюванням, вибиваючи електрон із оболонки, що має кінетичну енергію, доступну для вимірювань. Енергія електрона, що міститься на атомній або молекулярній орбіталі, обчислюється як різниця між енергією кванта світла і величиною вимірної кінетичної енергії. Застосування методів рентгеноелектронної та фотоелектронної спектроскопії для дослідження біокоординаційних сполук обмежене через малу доступність необхідної апаратури.

EXAFS – спектроскопія

EXAFS (extended X-ray absorption fine structure – протяжна тонка структура рентгенівського спектра поглинання).

Експериментальна суть структурного аналізу за EXAFS спектрами досить проста, хоча теорія самого методу дуже складна й дотепер розроблена ще не повністю. Структурний аналіз за EXAFS спектрами полягає у порівнянні рентгенівського спектра поглинання моноатомного газу, який не має структури, зі спектром поглинання конденсованого середовища, що має близький порядок. Різницевий спектр, одержуваний з такого порівняння, несе інформацію про хімічну структуру речовини. Ця інформація виражається у флуктуаціях спектра поглинання, які утворюють тонку структуру, що виявляється у вигляді хвилястості спектра поблизу стрибка поглинання вибраного атома досліджуваної речовини, а також у хімічному зрушенні енергетичного порогу порушення стрибка поглинання. Носієм структурної інформації в EXAFS спектрах є коефіцієнт поглинання рентгенівських променів, який легко вимірюється експериментально, причому його однаково просто виміряти для речовини у будь-якому агрегатному стані, на відміну від рентгенівських дифракційних картин.

За положенням максимумів EXAFS спектрів визначають радіуси координаційних сфер. Метод EXAFS не дає уявлення про те, яка відносна геометрія атомів лігандів, однак розсіяні хвилі залежать від електронної структури цих атомів, і тому їх можна ідентифікувати із інтенсивності.

Спектри EXAFS – дають змогу:

- 1) оцінити тип атомного оточення, якщо воно не відоме заздалегідь. Але через те, що розсіювання залежить від електронної густини оточуючих лігандів, важко відрізнити атоми або іони з аналогічними електронними конфігураціями (наприклад, N і O або S і Cl);
- 2) визначити відстань між атомами ліганду і центральним металом;
- 3) визначити кількість атомів даного типу, що розсіюють, у складі ліганду.

EXAFS спектроскопію частіше за все використовують для визначення структурних параметрів першої координаційної сфери комплексних сполук. Цим методом визначають амплітуди відносних коливань та координаційні числа з точністю 20–30 %, а радіус координаційної сфери з точністю 10^{-3} нм.

Метод іонних проб

Не всі біометали можна визначити за допомогою фізичних методів. Особливо важко досліджувати координаційні сполуки іонів неперехідних металів. Тому в біонеорганічній хімії широке розповсюдження одержав метод «іонних проб», тобто заміщення в біокомплексі іона, який важко визначати, іоном, який визначати більш легко.

Для того, щоб таке заміщення стало можливим, необхідно дотримуватись певних умов:

1) іони, які заміщуються, повинні мати близькі розміри (радіуси) – ізоморфне заміщення;

2) іони повинні мати однакові координаційні числа;

3) іони повинні мати схожі зовнішні електронні оболонки і координувати одні й ті ж донорні атоми (наприклад, $K^+ \rightarrow NH_4^+$ (Tl^+); $Mg^{2+} \rightarrow Mn^{2+}$ (Ni^{2+}); $Ca^{2+} \rightarrow Mn^{2+}$; $Fe^{3+} \rightarrow Ln^{3+}$; $Zn^{2+} \rightarrow Co^{2+}$). При заміщенні одного іона іншим надзвичайно важливо встановити, чи зберігаються біологічні функції після такої заміни. Якщо біологічні функції зберігаються – це свідчить про адекватність заміни.

Потенціометрія

Потенціометрією називають сукупність фізико-хімічних методів дослідження, основою яких є вимірювання електрорушійної сили (ЕРС) ланцюгів, складених із індикаторного електрода й електрода порівняння. Оскільки потенціал індикаторного електрода залежить від активності досліджуваного іона в розчині, вимірювання ЕРС дозволяють визначити кількість відповідних іонів. Розрізняють прямі та непрямі потенціометричні методи.

У прямих потенціометричних методах джерелом інформації для визначення активності іонів є числове значення потенціалу індикаторного електрода. Правильне потенціометричне визначення можливе лише при правильному підборі індикаторного електрода, що відповідає меті дослідження.

Для вимірювань концентрації катіонів багатьох металів досить придатними виявляються пластинки з того ж металу (наприклад, для визначення активності іонів купруму або аргентуму). Але цей прийом не можна використовувати якщо метали взаємодіють із водою, утворюють

плівки або дають невідтворювані потенціали внаслідок несталості кристалічної структури (лужні, лужно-земельні метали, залізо, хром, вольфрам та ін.). У таких випадках використовують іонселективні електроди.

У біонеорганічній хімії часто використовують калійселективний електрод (на основі антибіотика валіноміцину) та кальційселективний електрод (на основі діоктилфенілоктонату).

У прямих потенціометричних методах попередньо калібрують індикаторний електрод або будують градувальний графік. Для цього перед проведенням вимірювань аналізованого розчину вимірювання проводять для серії стандартних розчинів (з відомими концентраціями).

Непрямі потенціометричні методи використовують для вимірювань точки еквівалентності в титриметричному аналізі (потенціометричне титрування). В ацидоз- чи алкаліметрії як індикаторний електрод застосовують скляний електрод, тому що його потенціал залежить від рН. В оксидиметричному титруванні застосовують редокс-електрод. В осаджувальному і комплексиметричному титруванні використовують іон-селективні електроди. Для визначення точки еквівалентності будують криву титрування: залежність ЕРС ланцюга від об'єму прилитого титранту. За точкою перегину кривої графіка визначають точку еквівалентності.

Потенціометричне титрування має низку переваг перед титруванням з візуальною індикацією точки еквівалентності: можливість титрування каламутних і забарвлених рідин, легкість автоматизації аналізу.

Вольтамперометрія

Вольтамперометрія – фізико-хімічний метод аналізу, в основі якого лежить одержання вольтамперних кривих (полярограм), що записуються автоматично.

Полярограма виражає залежність струму від напруги в ланцюгу, що складається з дослідного розчину і двох занурених в нього електродів (один з них поляризується, інший – ні). Цей метод був запропонований чеським ученим Я. Гейровським у 1922 році.

Речовини в розчині можуть окиснюватися і відновлюватися на електроді, що поляризується. У такій якості використовують крапельний ртутний електрод. Допоміжним електродом слугує ртутний електрод з великою поверхнею, що практично не поляризується. Вольтамперометрія

з використанням ртутного крапельного електроду називається полярографією. Вольтамперометричні криві (полярограми) одержують за допомогою приладів – полярографів. У цьому методі при поступовому збільшенні зовнішньої напруги струм у ланцюгу спочатку малий (реакція не відбвається), потім спостерігається різке зростання струму (початок реакції відновлення чи окиснення досліджуваної речовини на крапельному електроді). При подальшому зростанні напруги досягають моменту, коли швидкість дифузії іонів до електрода, а таким чином і струм у ланцюгу, досягають максимального значення. Цей струм називають дифузним. Таким чином отримують полярографічну криву, висота якої пропорційна концентрації іонів чи молекул, що беруть участь в окисно-відновній реакції на крапельному електроді. Це дозволяє використовувати полярографію для кількісного визначення речовини у розчині.

Потенціал $\varphi_{1/2}$, за якого струм досягає половини граничного дифузного струму, називається потенціалом напівхвилі. Цей потенціал визначається природою реагуючих іонів чи молекул на електроді, що поляризується. Таким чином, вимірювання значень $\varphi_{1/2}$ дають можливість проводити якісний аналіз розчинів, тому що кожному виду іонів чи молекул на полярограмі відповідає певна хвиля, і це дає можливість визначати кілька речовин в одній пробі розчину. Речовину, що міститься у розчині, визначають за значенням потенціалу $\varphi_{1/2}$, а її концентрацію – за висотою відповідних хвиль.

Вольтамперометрія досить чутливий метод і тому з його використанням визначають досить маленькі концентрації речовин у розчині (до $1 \cdot 10^{-4} \%$), а для виконання аналізу досить лише 3–5 мл розчину. Проведення ж аналізу займає приблизно 10 хвилин. Вольтамерометрія використовується у біонеорганічній хімії для визначення як природи металів у комплексах, так і концентрації металів у розчині, а також вольтамперометрію активно використовують у медико-біологічних дослідженнях.

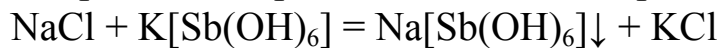
ЛАБОРАТОРНІ РОБОТИ

Лабораторна робота № 1

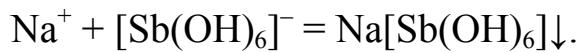
ВИВЧЕННЯ РЕАКЦІЙ ВИЯВЛЕННЯ КАТІОНІВ БІОМЕТАЛІВ ТА ДЕЯКИХ АНІОНІВ

Реакції катіона натрію. Для вивчення реакцій виявлення катіона натрію можна використовувати водні розчини його хлориду, сульфату чи нітрату. Відомо дуже небагато малорозчинних сполук натрію.

1. *Калій гексагідроксостибіат(V)* $K[Sb(OH)_6]$ осаджує з розчинів солей натрію білий кристалічний осад натрій гексагідроксостибіату(V):



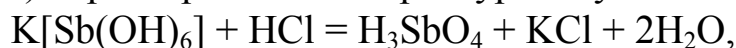
або



До 2–3 крапель розчину солі натрію додайте такий самий об'єм реактиву та потріть скляною паличкою внутрішню поверхню стінок пробірки. Роздивіться осад, переконайтесь, що він кристалічний.

Розділіть осад на чотири частини, випробуйте його розчинність у холодній та гарячій воді, в хлоридній кислоті та в натрій гідроксиді.

Для безпомилкового виявлення іона Na^+ необхідно дотримуватись наступних умов. Реакцію можна виконувати тільки в нейтральному середовищі ($pH \approx 7$), тому що в кислому середовищі калій гексагідроксостибіат(V) перетворюється на ортосурм'яну кислоту H_3SbO_4 :



а остання розкладається з утворенням аморфного осаду метасурм'яної кислоти $HSbO_3$:



Через це, спостерігаючи випадання аморфного осаду, не можна робити висновок про наявність іонів Na^+ .

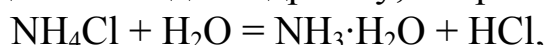
У сильнолужному середовищі осад $Na[Sb(OH)_6]$ розчиняється з утворенням середньої солі Na_3SbO_4 :



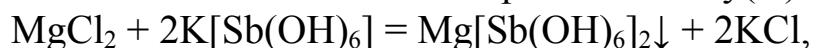
З огляду на це, кислий розчин для аналізу попередньо нейтралізують KOH (можна K_2CO_3), а лужний – слабкою кислотою (зазвичай – оцтовою).

Оскільки розчинність $\text{Na}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$ при нагріванні сильно збільшується, осадження виконують на холоді (15–20 °С). Інколи охолоджують пробірку з розчином водою з-під крану.

Потирання скляною паличкою стінок пробірки необхідно для того, щоб запобігти утворенню пересиченого розчину $\text{Na}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$ та прискорити випадання осаду. Перед тим, як робити висновок про відсутність іона Na^+ , необхідно дати вмісту пробірки постояти 10–15 хв. Виявленню іона Na^+ з допомогою $\text{K}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$ заважають катіони NH_4^+ та Mg^{2+} . Солі амонію, що утворені сильними кислотами, надають розчину кислую реакцію внаслідок гідролізу, наприклад:



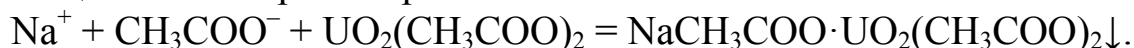
а кислоти, як уже було визначено, розкладають $\text{K}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$ з виділенням осаду метасурм'яної кислоти. Іони Mg^{2+} утворюють з реактивом білий кристалічний осад магній гексагідроксостибіату(V):



який помилково можна прийняти за $\text{Na}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$.

Заважають виявленню Na^+ також катіони 2-ої аналітичної групи (Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+}). Як наслідок, катіон Na^+ можна виявляти дією $\text{K}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$ тільки після того, як із розчину видалені іони NH_4^+ , Mg^{2+} , а також катіони 2-ї групи. Ця реакція не відрізняється високою чутливістю (мінімальна концентрація 1:3300) і дозволяє виявляти іони Na^+ тільки в достатньо концентрованих розчинах. Занадто розбавлені розчини концентрують випарюванням. Але набагато простіше і зручніше використовувати з цією метою катіоніти.

2. *Ураніл ацетат* $\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2$. На сухе предметне скельце помістіть краплю розчину солі Na^+ і обережно випарте досуха. Помістіть поруч краплю розчину ураніл ацетату в розбавленій оцтовій кислоті та перемішайте паличкою реактив з сухим залишком. Через 1–2 хв. утворюються кристали натрій-ураніл-ацетату $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot \text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2$ – жовтуваті тетраедри (або октаедри), добре помітні під мікроскопом. Суть цієї реакції можна виразити рівнянням:



Ця реакція більш чутлива, ніж з $\text{K}[\text{Sb}(\text{OH})_6]$. Мінімум виявлення – біля 1 мкг Na^+ . Однак за наявності великої кількості іонів Mg^{2+} можуть утворитися схожі кристали потрійної солі $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot \text{Mg}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$.

3. *Цинк-ураніл ацетат* $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2$. Із розчинів солей Na^+ , підкислених оцтовою кислотою, цей реактив осаджує

зеленувато-жовті тетраедричні кристали натрій-цинк-ураніл ацетату $\text{NaCH}_3\text{COO} \cdot \text{Zn} (\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{UO}_2(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$.

На предметне скельце помістіть краплю розчину солі Na^+ , випарте досуха, помістіть поруч краплю реактиву і кінцем палички змішайте її з сухим залишком. Через 1–2 хв. роздивіться утворені кристали під мікроскопом.

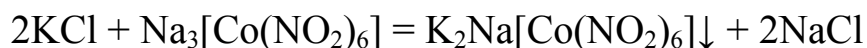
Реакція досить чутлива (мінімум виявлення 0.01 мкг Na^+). Інші катіони 1-ї та 2-ї аналітичних груп не заважають виявленню, якщо їх кількість не перевищує концентрацію Na^+ в десятки разів.

4. Проба на забарвлення полум'я. Всі леткі солі натрію забарвляють полум'я пальника в інтенсивно жовтий колір. Для виконання проби краще за все взяти натрій хлорид як найбільш летку сполуку.

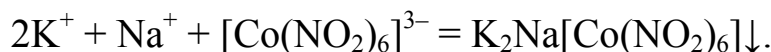
Скляну паличку з впаяною в неї платиновою дротинкою з петлею внесіть у безбарвне полум'я. Якщо дротинка достатньо чиста, полум'я залишиться безбарвним. В іншому разі її потрібно очистити, опустивши в хлоридну кислоту і знову внести в полум'я доти, доки воно не перестане забарвлюватися. Очищену дротинку помістіть у розчин натрій хлориду або захопіть петлею небагато сухої солі. Полум'я пальника забарвлюється іонами Na^+ в характерний жовтий колір.

Реакції катіона калію. Для вивчення реакцій іона K^+ зазвичай використовують розчини калій хлориду, сульфату або нітрату. Найважливішим реактивом на іон K^+ є натрій гексанітритокобальтат(III).

1. Натрій гексанітритокобальтат(III) $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$ виділяє із розчинів солей калію жовтий кристалічний осад подвійної солі калію або натрію:



або

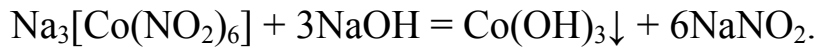


Для виконання реакції потрібен свіжоприготований розчин натрій гексанітритокобальтату(III), оскільки при зберіганні реактив розкладається з виділенням іонів Co^{2+} , що мають рожеве забарвлення. Рожевий розчин реактиву непридатний до використання.

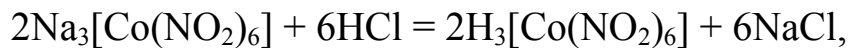
До 2–3 крапель розчину солі калію додайте 3 краплі реактиву та потріть скляною паличкою стінки пробірки. Випадає жовтий кристалічний (але не аморфний!) осад.

Реакція досить чутлива, мінімальна концентрація для неї 1:13000. Можна виконувати її на годинниковому чи предметному скельці. При

виконанні реакції необхідно дотримуватися таких умов. Аналізований розчин повинен мати рН не більше 7, оскільки в лужному середовищі реактив легко розкладається з утворенням темно-бурого аморфного осаду гідроксиду Со(III):



У сильнокислому середовищі утворюється дуже нестійка кислота $\text{H}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$:



яка в момент утворення розкладається з виділенням оксидів нітрогену:



Однак в оцтовій кислоті ані сам реактив, ані осад, що утворюється, не руйнуються.

Потирання скляною паличкою стінок пробірки запобігає утворенню перенасиченого розчину і прискорює випадання осаду. З розбавлених розчинів він виділяється після нетривалого стояння.

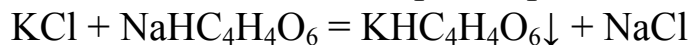
Присутність солей амонію заважає виконанню реакції, оскільки при цьому також випадає жовтий кристалічний осад:



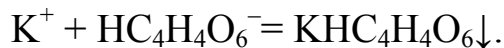
Іон Mg^{2+} , що утворює з реактивом розчинну сполуку, виявленню калію не заважає.

Таким чином, катіон K^+ потрібно виявляти дією натрій гексанітри-токобальтату(III) $\text{Na}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$ в нейтральному або оцтовокислому середовищі, яке може містити Mg^{2+} , але не повинно містити солей амонію, вони мають бути попередньо видалені прожарюванням.

2. Натрій гідротартрат $\text{NaHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ виділяє із нейтральних розчинів солей калію білий дрібнокристалічний осад калій гідротартрату:

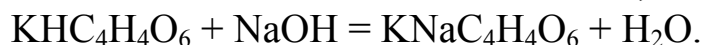
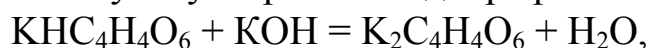


або

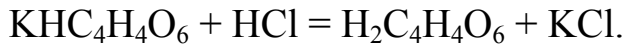


До 4–5 крапель розчину солі калію додайте стільки ж реактиву, потріть паличкою стінки пробірки і охолодіть під краном. Випробуйте розчинність осаду в холодній та гарячій воді, визначте його реакцію на дію мінеральних кислот, оцтової кислоти та лугів.

Реакцію потрібно проводити в нейтральному середовищі. При наявності лугів утворюються добре розчинні середні солі винної кислоти:

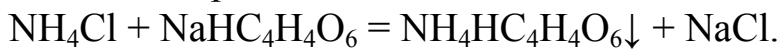


У сильнокислому середовищі осад також не випадає через утворення розчинної винної (виннокам'яної) кислоти:



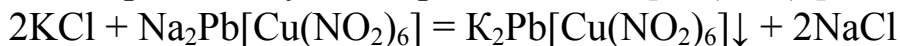
В оцтовій кислоті осад не розчиняється. Калій гідротартрат $\text{KHC}_4\text{H}_4\text{O}_6$ помітно розчинний у воді і з розбавлених розчинів не осаджується. З підвищенням температури його розчинність збільшується. Через це реакцію потрібно виконувати на холоді і з достатньо концентрованим розчином солі калію. Швидкому випаданню осаду сприяє потирання скляною паличкою стінок пробірки.

Реакція малочутлива, мінімальна концентрація 1:1000. Присутність солей амонію заважає виявленню K^+ , оскільки іон NH_4^+ також утворює з реактивом малорозчинний осад:

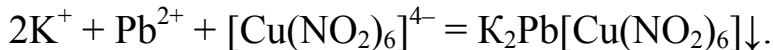


Очевидно, що перед виявленням K^+ іон NH_4^+ , а також катіони інших груп повинні бути видалені з розчину.

3. *Потрійний нітрит* $\text{Na}_2\text{Pb}[\text{Cu}(\text{NO}_2)_6]$. Реактив утворює з солями K^+ чорні або коричневі кубічні кристали $\text{K}_2\text{Pb}[\text{Cu}(\text{NO}_2)_6]$:



або

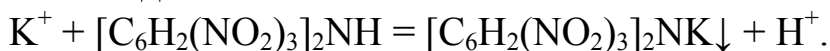


На предметне скельце нанесіть краплю розчину солі калію та випарте досуха. Помістіть поряд краплю реактиву та змішайте паличкою з сухим залишком. Роздивіться форму та колір кристалів під мікроскопом. Реакцію виконують при $\text{pH} = 7$.

Мінімальна концентрація приблизно 1:7000, тобто реакція не досить чутлива. Однак з допомогою Н-катіонітів вдається підвищити її чутливість у 50 разів, тобто до мінімальної концентрації 1:350000.

Іони NH_4^+ заважають виявленню K^+ , оскільки також утворюють з потрійним натрій нітритом чорні кристали. Іони Na^+ та Mg^{2+} виконанню реакції не заважають.

4. *Дипікриламін* $[\text{C}_6\text{H}_2(\text{NO}_2)_3]_2\text{NH}$. Цей органічний реагент, що називається також реактивом Полуектова, утворює з іоном K^+ оранжево-червоний осад калієвої солі:



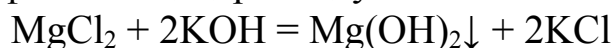
На листок фільтрувального паперу нанесіть краплю нейтрального розчину солі калію та додайте краплю реактиву. Оранжево-червона пляма, що з'являється, не зникає при змочуванні 1–2 краплями розчину HCl з концентрацією 1 моль/л.

Іон NH_4^+ при великій концентрації також утворює осад з дипікриламином.

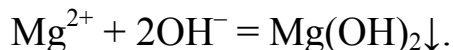
5. *Проба на забарвлення полум'я.* Леткі солі калію (наприклад, KCl) забарвлюють безбарвне полум'я пальника в характерний фіолетовий колір.

Реакції катіона магнію. Для вивчення реакцій з іоном Mg^{2+} беруть розчин магній хлориду або сульфату.

1. *Луги* (NaOH або KOH) виділяють із розчинів солей магнію білий аморфний осад гідроксиду:



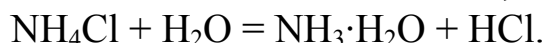
або



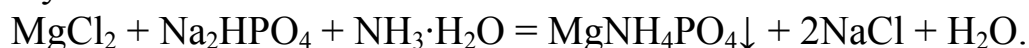
При аналізі цю реакцію використовують для відділення Mg^{2+} від інших катіонів 1-ї групи, гідроксиди яких добре розчинні у воді.

Амоніак осаджує іони Mg^{2+} не повністю. При наявності ж солей амонію дисоціація $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ настільки пригнічується, що осад магній гідроксиду зовсім не випадає (через нестачу іонів OH^- в розчині).

До 2–3 крапель розчину солі магнію додайте стільки ж розчину KOH ; зверніть увагу на аморфний характер осаду $\text{Mg}(\text{OH})_2$. В іншій пробірці до 2 крапель розчину солі магнію прилийте спочатку 2 краплі насиченого розчину амоній хлориду, а потім 2 краплі розчину амоніаку. Переконайтеся, що осад не випадає. Очевидно, магній гідроксид розчиняється не тільки в кислотах, але також і в солях амонію:



2. *Натрій гідрофосфат* Na_2HPO_4 при наявності амоніаку і амоній хлориду утворює з солями Mg^{2+} білий кристалічний осад магній-амоній фосфату:



Амоній хлорид додають для того, щоб від дії амоніаку не випав осад $\text{Mg}(\text{OH})_2$. Магній-амоній фосфат розчинний у мінеральних кислотах і навіть в оцтовій кислоті, через це реакцію виконують у нейтральному або слабколужному середовищі.

До 2–3 крапель розчину солі Mg^{2+} додайте 2 краплі розчину амоній хлориду та 4 краплі реактиву Na_2HPO_4 , потім добавляйте розчин амоніаку з концентрацією 2 моль/л до лужної реакції на лакмус (чи до появи запаху

амоніаку), перемішуючи розчин паличкою після додавання кожної краплі реактиву. З розбавлених розчинів осад випадає не відразу: появу його можна прискорити збовтуванням чи потиранням паличкою стінок пробірки. Інколи дають розчину відстоятися 15–20 хв.

Реакція з натрій гідрофосфатом досить чутлива і найчастіше використовується для виявлення Mg^{2+} при систематичному аналізі.

Катіони інших аналітичних груп (окрім 1-ї) заважають виявленню Mg^{2+} , оскільки також утворюють з натрій гідрофосфатом нерозчинні фосфати. Через це ці катіони потрібно видалити.

3. *Хромоген чорний*. Органічний барвник хромоген чорний спеціальний ET-00, що має склад $C_{20}H_{13}O_7N_3S$, утворює з іонами Mg^{2+} комплекс винно-червоного кольору.

До 4–5 крапель розчину солі магнію додайте 1–2 краплі розчину амоніаку (або амонійної буферної суміші) і 2–3 краплі розчину хромогену чорного. Розчин стає винно-червоним, але осад не випадає, оскільки отримана сполука добре розчинна у воді. Замість розчину хромогену чорного можна додати кілька дрібок сухої суміші барвника з натрій хлоридом у співвідношенні 1:100.

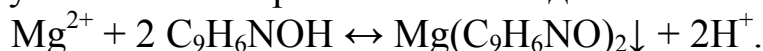
4. *Магnezон I* (*n*-нітробензолазорезорцин), який має в лужному середовищі червоно-фіолетове забарвлення, адсорбується магній гідроксидом, що осаджується, і забарвлює його в синій колір.

До 2–3 крапель нейтрального або слабокислого розчину солі магнію (краще на фарфоровій пластинці) додайте 1–2 краплі лужного розчину магnezону. Спостерігайте перехід червоно-фіолетового забарвлення реактиву в синє або випадання синього осаду (якщо з'являється жовте забарвлення, то нейтралізуйте надлишкову кислоту 1–2 краплями розчину NaOH).

Реакція дозволяє виявити приблизно 0.5 мкг магнію.

Солі амонію заважають і повинні бути видалені. Катіони 2-ї групи (а також алюмінію та мангану) виявленню магнію не заважають.

5. *8-оксихінолін* C_9H_6NOH з аміачних розчинів солей магнію виділяє зеленувато-жовтий кристалічний осад магній оксихінолінату:



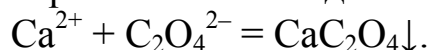
Осад розчинний у мінеральних кислотах і навіть в оцтовій кислоті. Він випадає тільки з аміачних розчинів (pH = 9.5 - 12.5).

До 2 крапель розчину солі магнію додайте 1 краплю насиченого розчину NH_4Cl , 2 краплі концентрованого амоніаку, потім 3 краплі спиртового розчину з масовою часткою 8-оксихіноліну $w = 5\%$. Перемішайте

вміст пробірки скляною паличкою та спостерігайте випадання осаду. Катіони 1-ї та 2-ї груп не заважають.

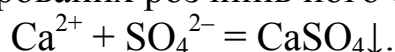
Реакції катіона кальцію. Для вивчення реакцій з іоном Ca^{2+} використовують розчини кальцій хлориду або нітрату.

1. Амонію оксалат $(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4$ осаджує з розчинів солей Ca^{2+} білий дрібнокристалічний осад оксалату кальцію:



До 1–2 крапель розчину солі кальцію додайте стільки ж амоній оксалату. Осад розчинний у мінеральних кислотах, але не розчинний в оцтовій. Нагрівання сприяє швидкому осадженню кальцій оксалату. Цією реакцією виявляють Ca^{2+} , але тільки після видалення Ba^{2+} та Sr^{2+} , які також утворюють осади з амоній оксалатом.

2. Розчинні сульфати. Іон SO_4^{2-} осаджує Ca^{2+} тільки з досить концентрованих розчинів його солей:



Осад розчиняється в амоній сульфаті $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ з утворенням комплексної солі $(\text{NH}_4)_2[\text{Ca}(\text{SO}_4)_2]$.

Розчини солей Ca^{2+} , на відміну від Ba^{2+} та Sr^{2+} , не утворюють каламуті з гіпсовою водою.

3. Мікрокристалоскопічна реакція. До краплі розчину солі кальцію на предметному скельці додайте краплю 2 М H_2SO_4 і випарте до появи облямівки по краю краплі. Роздівіться голчасті кристали гіпсу $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, що зібрані в пучки. Мінімум виявлення – 0.04 мкг Ca. Кристали барій та стронцій сульфатів мають іншу форму.

4. Мурексид. Органічний барвник мурексид $\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_6\text{O}_6$ в лужному середовищі утворює з іонами Ca^{2+} розчинний комплекс червоного кольору.

До 3–4 крапель розчину солі кальцію додайте 1–2 краплі 2 М розчину натрій гідроксиду та декілька дрібок сухого мурексиду (точніше суміші його з натрій хлоридом у співвідношенні 1:100). Можна використовувати і свіжоприготовлений розчин мурексиду, але він малостійкий, швидко стає непридатним для використання.

З іонами Ba^{2+} та Sr^{2+} мурексид дає фіолетове забарвлення.

5. Родизонат натрію. Із лужних розчинів солей кальцію натрій родизонат $\text{Na}_2\text{C}_6\text{O}_6$ виділяє фіолетовий осад $\text{CaC}_6\text{O}_6 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$.

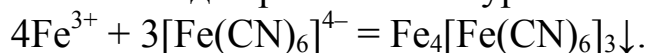
На фільтрувальний папір (або на фарфорову пластинку) нанесіть 1 краплю нейтрального або слабкокислого розчину солі кальцію, додайте спочатку краплю розчину натрій родизонату з масовою часткою $w = 0.2\%$, а потім краплю 0.5 M розчину NaOH . Зверніть увагу на колір отриманої плями.

Реакція досить чутлива: мінімальна концентрація $1:50000$. Інші катіони 2-ї групи (Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+}) не заважають.

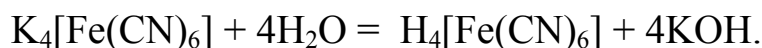
6. Проба на забарвлення полум'я. Полум'я пальника забарвлюється леткими солями кальцію в цегляно-червоний колір.

Реакції катіона феруму(III). Водні розчини солей феруму(III) мають жовте або червоно-буре забарвлення.

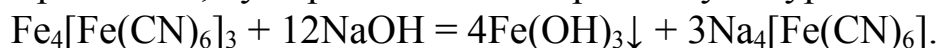
1. Калій гексаціаноферат(II) $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ утворює з іоном Fe^{3+} темно-синій осад берлінської лазури:



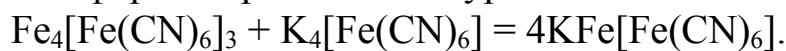
У розбавленій HCl осад не розчиняється. Реакцію проводять у кислому розчині для пригнічення гідролізу реактиву, що відбувається за рівнянням:



Крім цього, луги розкладають берлінську лазур:



При дії великим надлишком калій гексаціаноферату(II) утворюється розчинна форма берлінської лазури:

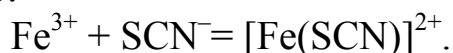


До 1–2 крапель розчину солі феруму(III) додайте стільки ж хлоридної кислоти та 2–3 краплі розчину $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.

Іон Zn^{2+} утворює з $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ білий осад подвійної солі, також розчинний у лугах:

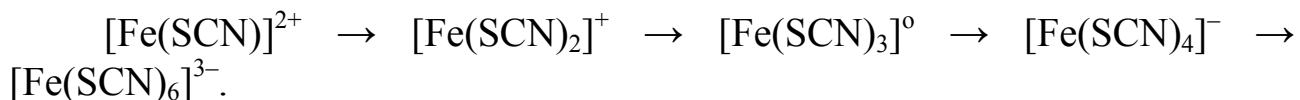


2. Амоній або калій тіоціанати (NH_4SCN або KSCN) утворюють з Fe^{3+} комплекс $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$, що забарвлює розчин у криваво-червоний колір:



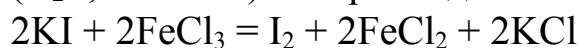
При надлишку реактиву рівновага цієї оборотної реакції зміщується праворуч і забарвлення розчину посилюється.

Поряд з цим утворюється ряд по-різному забарвлених комплексних іонів:

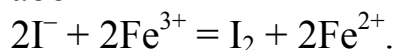


Реакцію виконують або в пробірці або крапельним методом на фільтрувальному папері. Виконанню цієї чутливої реакції заважають щавлева, винна, фосфатна кислоти, а також фториди, що утворюють з Fe^{3+} більш міцні комплексні іони $[\text{FeF}_6]^{3-}$.

3. *Відновлення Fe^{3+} до Fe^{2+} .* Катіон Fe^{3+} , приєднуючи електрон, поводить себе в деяких реакціях як окиснювач. Однак він порівняно слабкий окиснювач і взаємодіє тільки з найбільш активними відновниками (H_2S , KI та ін.). Наприклад:

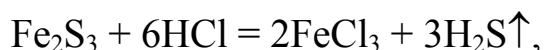


або



4–5 крапель розчину калій йодиду підкисліть 2–3 краплями хлоридної (або сульфатної) кислоти, додайте 3–4 краплі розчину солі Fe^{3+} та збовтайте. Побуріння розчину вказує на виділення вільного йоду. Після додавання бензолу та струшування верхній шар органічного розчинника забарвлюється йодом у фіолетовий колір.

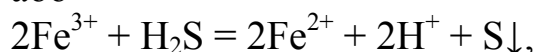
Інколи при аналізі осад ферум(III) сульфід Fe_2S_3 обробляють розбавленою HCl :



гідроген сульфід, який при цьому виділяється, відновлює Fe^{3+} до Fe^{2+} :

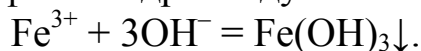


або



і в розчині з'являється каламуть – вільна сірка.

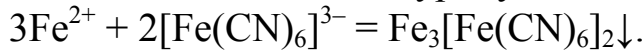
4. *Луги (NaOH або KOH)* осаджують Fe^{3+} у вигляді червоно-бурого аморфного гідроксиду:



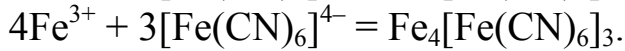
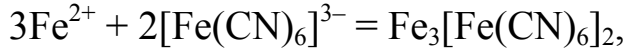
Ферум(III) гідроксид на відміну від $\text{Al}(\text{OH})_3$, $\text{Cr}(\text{OH})_3$ та $\text{Zn}(\text{OH})_2$ не розчиняється в надлишку лугу. Нерозчинний він і в солях амонію. Гідроксиди всіх двозарядних катіонів 3-ї групи розчиняються в солях амонію.

Реакції катіона феруму(II). Водні розчини солей феруму(II) забарвлені в блідо-зелений колір.

1. *Калій гексаціаноферат(III)* $K_3[Fe(CN)_6]$ утворює з іоном Fe^{2+} темно-синій осад так званої турнбулевої сині:



Вміст осаду турнбулевої сині може співпадати з вмістом осаду берлінської лазурі, оскільки можливі реакції:

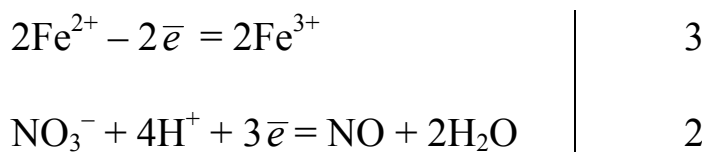
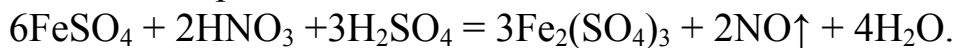


Через це вміст осаду турнбулевої сині не повністю відповідає формулі $Fe_3[Fe(CN)_6]_2$, а залежить від умов осадження, в сполуку входять катіони K^+ .

Осад не розчинний у хлоридній кислоті, але розкладається лугами з утворенням ферум(II) гідроксиду. Через це реакцію проводять у нейтральному або слабкокислому середовищі.

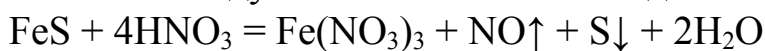
До 2–3 крапель розчину солі феруму(II) прилийте 1–2 краплі розчину $K_3[Fe(CN)_6]$. Реакція чутлива і частіше за інші використовується для виявлення Fe^{2+} .

2. *Окиснення Fe^{2+} до Fe^{3+}* . Катіон Fe^{2+} може окиснюватися до Fe^{3+} такими окисниками, як нітратна кислота (HNO_3), гідроген пероксид (H_2O_2), $KMnO_4$ та ін. Наприклад:

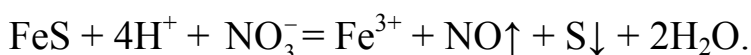


До 4–5 крапель розчину ферум(II) сульфату додайте 3–4 краплі 1 М розчину H_2SO_4 для створення кислого середовища, додайте 3 краплі концентрованої нітратної кислоти та нагрійте до зникнення бурого забарвлення, що з'являється внаслідок утворення нестійкого комплексу $[Fe(NO)]SO_4$. З однією краплею розчину зробіть пробу на повноту окиснення Fe^{2+} до Fe^{3+} . Реакція на Fe^{2+} з $K_3[Fe(CN)_6]$ не повинна спостерігатися. При необхідності додайте ще одну краплю нітратної кислоти та продовжуйте нагрівання. Потім дайте розчину охолонути і зробіть пробу на присутність іонів Fe^{3+} з $K_4[Fe(CN)_6]$ або з NH_4SCN .

За одним з методів аналізу осад сульфідів (та гідроксидів) катіонів 3-ї групи розчиняють у концентрованій нітратній кислоті; одночасно з розчиненням осаду іон Fe^{2+} окиснюється до іона Fe^{3+} :

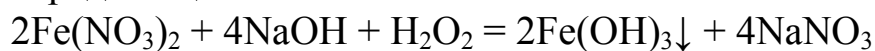


або



Окиснення необхідне, оскільки іони Fe^{3+} повніше осаджуються з розчинів лугами, ніж Fe^{2+} .

Крім того, іон Fe^{2+} окиснюють до Fe^{3+} гідроген пероксидом у лужному середовищі:



або



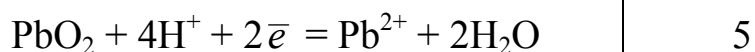
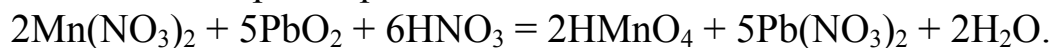
До 4–5 крапель розчину солі феруму(II) додайте 2–3 краплі 2 М розчину NaOH, 3–4 краплі гідроген пероксиду з масовою часткою H_2O_2 $w = 3\%$ та нагрійте на водяній бані 2–3 хв. Спостерігайте випадання червоно-бурого осаду ферум(III) гідроксиду.

3. *Луги* (NaOH або KOH) та $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ осаджують Fe^{2+} у вигляді ферум(II) гідроксиду, який за звичайних умов має не білий, а брудно-зеленуватий колір. Ферум(II) гідроксид розчиняється в кислотах, але не розчиняється в лугах. Кисень повітря в присутності води окиснює його до $\text{Fe}(\text{OH})_3$. Амоніак осаджує Fe^{2+} не повністю, в присутності ж солей амонію, які пригнічують дисоціацію $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, осад взагалі не утворюється, оскільки $\text{ДР}_{\text{Fe}(\text{OH})_2}$ не досягається.

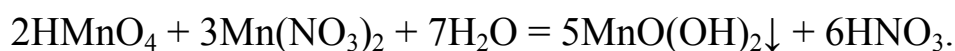
Реакції катіона мангану(II). Водні розчини солей мангану мають блідо-рожевий колір.

1. *Окиснення Mn^{2+} до MnO_4^- .* Малиново-фіолетове забарвлення іона MnO_4^- , що утворюється при окисненні Mn^{2+} , використовується при аналізі для виявлення мангану.

а) *Окиснення Mn^{2+} плюмбум(IV) оксидом* проходить при наявності нітратної кислоти при нагріванні:



Виконанню реакції заважає надлишок солі мангану(II), який відновлює аніон MnO_4^- до $\text{MnO}(\text{OH})_2$ бурого кольору:



Через це в розчині не повинно бути також інших відновників. Наприклад, іони Cl^- переводять MnO_4^- в Mn^{2+} і характерне забарвлення зникає:

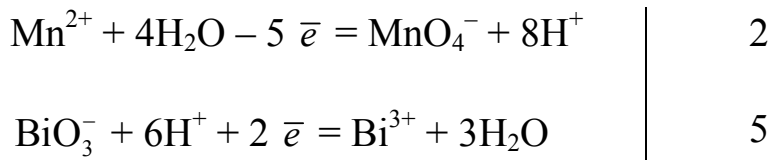


Візьміть у пробірку дрібку плумбум(IV) оксиду, додайте 4–5 крапель нітратної кислоти (густина 1.2 г/мл), нагрійте, відцентрифугуйте і, не відділяючи осаду, зверніть увагу на забарвлення центрифугату. Він повинен бути безбарвним (малиново-фіолетове забарвлення вказує на забрудненість манганом самих реактивів, які потрібно замінити).

До безбарвної окиснювальної суміші додайте одну краплю розчину манган(II) сульфату або нітрату (але не хлориду), перемішайте і знову нагрійте на бані. Переконайтесь, що забарвлення, яке з'явилося у іона MnO_4^- зникає при додаванні ще 3–4 крапель солі мангану(II). Мінімум виявлення – 5 мкг мангану в 1 мл розчину.

Якщо у розчині, що випробовується, присутні іони Cl^- , то їх попередньо осаджують кількома краплями розчину аргентум нітрату, центрифугують і звільняються від осаду аргентум хлориду.

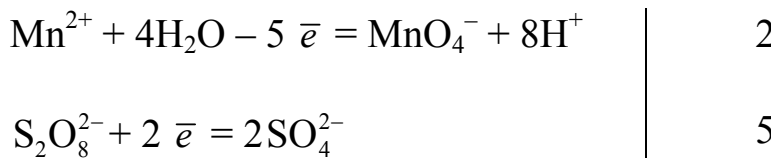
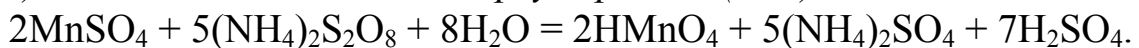
б) Окиснення Mn^{2+} натрій вісмутатом NaBiO_3 зручне тим, що відбувається без нагрівання:



Іони Cl^- та інші відновники повинні бути відсутніми в розчині, що досліджується.

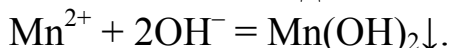
До 1–2 крапель розчину солі мангану(II) додайте 2–3 краплі нітратної кислоти (з густиною 1.2 г/мл) та небагато порошку NaBiO_3 , перемішайте, відцентрифугуйте, спостерігайте забарвлення центрифугату.

в) Окиснення Mn^{2+} амоній персульфатом $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$:

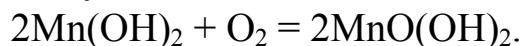


Цю реакцію проводять при наявності каталізатора – аргентум нітрату, без якого іон Mn^{2+} окиснюється не до MnO_4^- , а до бурого осаду $\text{MnO}(\text{OH})_2$. Іони Cl^- та інші відновники заважають виконанню реакції.

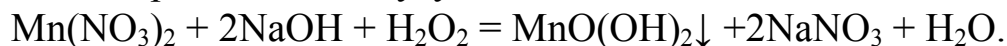
2. Реакція з лугами (NaOH або KOH) та $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Луги утворюють з іоном Mn^{2+} білий осад манган(II) гідроксиду:



Останній розчинний у кислотах, але не розчиняється в надлишку лугу. Киснем повітря він поступово окиснюється до бурого манган(IV) гідроксиду:

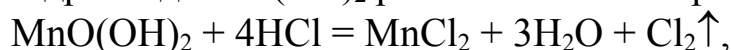


Осад $\text{MnO}(\text{OH})_2$ утворюється також при окисненні Mn^{2+} гідроген пероксидом при наявності лугу:

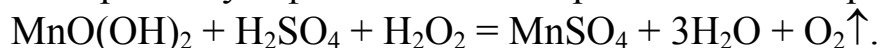


До 2–3 крапель розчину солі мангану(II) додайте декілька крапель розчину NaOH до появи білого осаду $\text{Mn}(\text{OH})_2$. Зверніть увагу на те, що осад поступово буріє внаслідок окиснення $\text{Mn}(\text{OH})_2$ до $\text{MnO}(\text{OH})_2$. Потім додайте до осаду 2–3 краплі гідроген пероксиду з масовою часткою H_2O_2 $w = 3\%$, осад вміть стає буро-чорним, оскільки Mn^{2+} швидко окиснюється до $\text{MnO}(\text{OH})_2$.

Гідроксид $\text{MnO}(\text{OH})_2$ розчиняється в хлоридній кислоті при нагріванні:



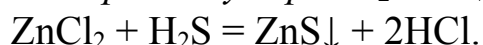
або при дії сульфатної кислоти при наявності гідроген пероксиду:



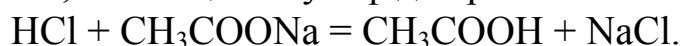
В обох випадках манган(IV) відновлюється до іона Mn^{2+} . Амоніак також осаджує Mn^{2+} у вигляді $\text{Mn}(\text{OH})_2$, але при наявності солей амонію цього не відбувається.

Реакції катіона цинку. Водні розчини солей цинку безбарвні.

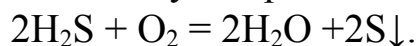
1. Гідроген сульфід H_2S осаджує іони Zn^{2+} у вигляді білого сульфіду:



Однак осадження не може бути повним, оскільки цинк сульфід частково розчиняється в хлоридній кислоті. Для повного осадження до розчину додають натрій ацетат і таким чином замінюють сильну кислоту слабкою, в якій цинк сульфід нерозчинний:



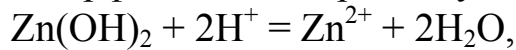
Інколи після пропускання гідроген сульфід у розчині з'являється білувата каламуть сірки:



Сірка, на відміну від цинк сульфід, не розчинна в хлоридній кислоті.

До 4–5 крапель розчину солі цинку додайте 2–3 краплі розчину натрій ацетату та повільно пропускайте H_2S (у витяжній шафі!). Перевірте, чи розчиняється осад у HCl . Реакцію використовують при аналізі виявлення іона Zn^{2+} .

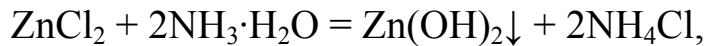
2. *Луги* (NaOH або KOH) та $NH_3 \cdot H_2O$. Луги утворюють з іонами Zn^{2+} білий аморфний осад гідроксиду $Zn(OH)_2$, що виявляє амфотерність:



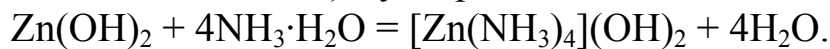
До 4–5 крапель розчину солі цинку додайте спочатку 1–2 краплі розчину NaOH, а потім надлишок його – до розчинення осаду.

Якщо на розчин цинкату ($Na_2[Zn(OH)_4]$ або $K_2[Zn(OH)_4]$) подіяти амоній хлоридом, осад $Zn(OH)_2$ не утворюється.

$NH_3 \cdot H_2O$ також осаджує іони Zn^{2+} у вигляді гідроксиду:



однак при цьому цинк гідроксид розчиняється у надлишку $NH_3 \cdot H_2O$ (а також в солях амонію) з утворенням комплексних іонів $[Zn(NH_3)_4]^{2+}$:



До 5–6 крапель розчину солі цинку обережно додавайте розчин амоніаку. Спостерігайте утворення осаду цинк гідроксиду і наступне його розчинення. При наявності солей амонію амоніак зовсім не осаджує іони Zn^{2+} .

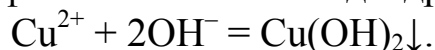
3. *Мікрокристалоскопічна реакція*. Помістіть на предметне скельце краплю розчину солі цинку, підкисленого оцтовою кислотою, і додайте краплю розчину $(NH_4)_2[Hg(SCN)_4]$. Спостерігайте утворення кристалів $Zn[Hg(SCN)_4]$.

Реакція не дуже чутлива, мінімальна концентрація для виявлення 1:10000. Застосовуючи катіоніти, вдається підвищити чутливість реакції в статичних умовах до мінімальної концентрації для виявлення 1:160000, а в динамічних умовах – до 1:1000000.

4. *Дитизон* (дифенілтіокарбазон) $C_{13}H_{12}N_4S$ інколи застосовують для виявлення іона цинку за наявності інших катіонів III групи. Зазвичай використовують розчин дитизону в хлороформі (або чотирехлористому вуглеці). З катіоном цинку дитизон утворює внутрішньокмлексну сіль, що забарвлює в лужному середовищі як шар органічного розчинника, так і водний шар у малиново-червоний колір (на відміну від інших катіонів).

Реакції катіона купруму(II). Водні розчини солей купруму(II) мають блакитний колір.

1. *Луги* (NaOH або KOH) утворюють з катіонами купруму(II) аморфний блакитний осад гідроксиду:



Але в надлишку лугу при нагріванні він частково розчиняється з утворенням гідроксокупрату:

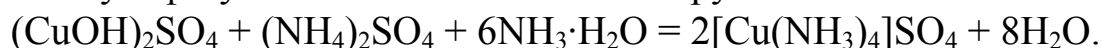


До 3–4 крапель розчину солі купруму додайте 2–3 краплі розчину натрій гідроксиду. До частини осаду додайте лугу та нагрійте на водяній бані, переконайтеся, що купрат-іон надає розчину синє забарвлення. Іншу частину осаду розчиніть у хлоридній (або сульфатній) кислоті.

2. Амоніак $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ утворює з іоном купруму зеленуватий осад гідроксосульфату:

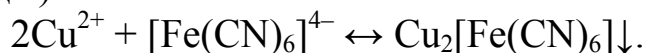


який у надлишку реактиву розчиняється з отриманням купрум(II) тетраамінсульфату інтенсивно синього кольору:



До 3–4 крапель розчину солі купруму додайте розбавленого розчину амоніаку спочатку до появи зеленуватого осаду, а потім до його розчинення. Реакція використовується для виявлення катіона купруму(II).

3. Калій гексаціаноферат(II) $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ з іонами Cu^{2+} утворює червоно-бурий осад купрум гексаціаноферату(II) $\text{Cu}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (характерна реакція):

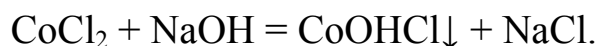


До 3–4 крапель розчину солі купруму(II) додайте декілька крапель реактиву $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ і спостерігайте появу характерного забарвлення.

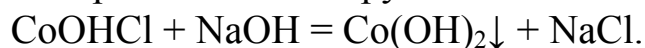
4. *Проба на забарвлення полум'я.* Леткі солі купруму (наприклад, CuSO_4) забарвлюють безбарвне полум'я пальника в характерний зелений колір.

Реакції катіона кобальту. Водні розчини солей кобальту(II) мають рожеве забарвлення.

1. *Луги та амоніак.* З розчинів солей кобальту(II) натрій (або калій) гідроксид виділяє синій осад основної солі:

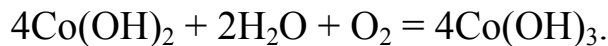


Надлишок лугу при нагріванні переводить CoOHCl в кобальт(II) гідроксид рожевого кольору:

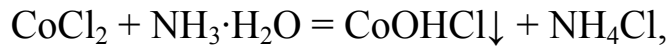


До 4–5 крапель розчину солі Co^{2+} додайте 1 краплю розчину натрій гідроксиду. Переведіть синій осад CoOHCl у рожевий $\text{Co}(\text{OH})_2$ дією

надлишку лугу. Кисень повітря поступово окиснює його до темно-бурого кобальт(III) гідроксиду:



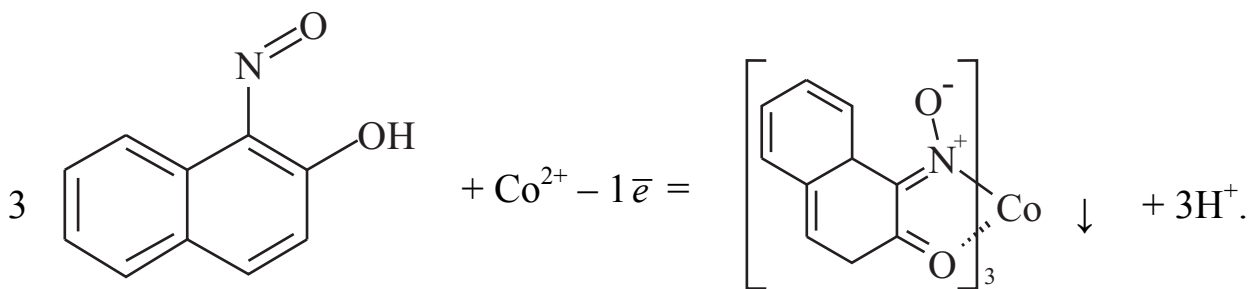
Амоніак також осаджує іон кобальту(II) у вигляді CoOHCl , але при додаванні надлишку $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (або солі амонію) осад розчиняється з утворенням комплексної сполуки жовтого кольору:



До 4–5 крапель розчину солі кобальту(II) додайте спочатку одну краплю $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, а потім його надлишок (до розчинення осаду).

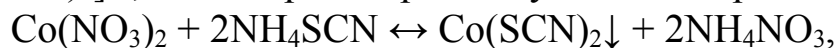
При наявності солей амонію $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ не осаджує іонів Co^{2+} .

2. Реакція М. А. Ільїнського. α -Нітрозо- β -нафтол $\text{C}_{10}\text{H}_6(\text{NO})\text{OH}$ утворює з іоном Co^{2+} пурпурно-червоний осад $\text{Co}[\text{C}_{10}\text{H}_6(\text{NO})\text{O}]_3$, окиснюючи Co^{2+} до Co^{3+} :



До 2–3 крапель розчину солі кобальту(II) в пробірці додайте 1–2 краплі оцтової кислоти, 5 крапель свіжоприготованого розчину α -нітрозо- β -нафтолу та нагрійте на водяній бані. При необхідності потріть паличкою стінки пробірки.

3. Амоній тіоціанат NH_4SCN утворює з Co^{2+} комплексний іон $[\text{Co}(\text{SCN})_4]^{2-}$, що забарвлює розчин у синій колір:



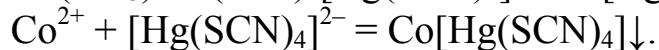
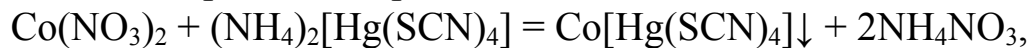
Чутливість реакції підвищується при наявності амілового спирту (або суміші його з етиловим етером); іон $[\text{Co}(\text{SCN})_4]^{2-}$ забарвлює спиртовий шар в інтенсивно синій колір.

До 2–3 крапель розчину солі кобальту(II) прилийте 8–10 крапель насиченого розчину амоній тіоціанату (або небагато твердої солі) і додайте 5–6 крапель амілового спирту.

Виконанню реакції заважає іон Fe^{3+} , що утворює з тіоціанатами криваво-червоний розчин $[\text{Fe}(\text{SCN})]^{2+}$. Через це іони Fe^{3+} попередньо

зв'язують у стійкіші комплекси дією натрій фториду, винної або ортофосфатної кислот.

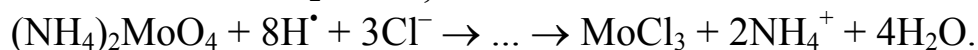
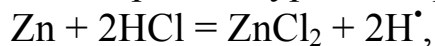
4. *Мікрокристалоскопічна реакція.* Розчин $(\text{NH}_4)_2[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$ утворює з іонами Co^{2+} яскраво-сині кристали:



Краплю нейтрального (або слабокислого) розчину солі кобальту(II) помістіть на предметне скельце, випарте досуха, дайте охолонути, обробіть краплею реактиву і роздивіться кристали під мікроскопом. Якщо можлива присутність іона Fe^{3+} , то в краплю розчину спочатку вводять дрібку натрій фториду, а потім діють розчином $(\text{NH}_4)_2[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$.

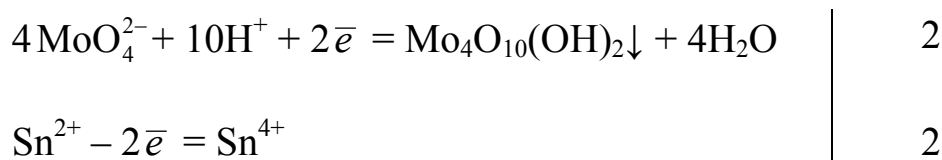
Реакції сполук молібдену

1. *Відновлення молібдену(VI) до молібдену(III).* До 1 мл розчину амоній молібдату долийте 1 мл концентрованої хлоридної кислоти і вкиньте шматочок цинку. Спостерігайте за ходом реакції. При цьому залежно від ступеня відновлення молібдену розчин забарвлюється у синій, потім зелений і, нарешті, бурий колір, що зумовлюється утворенням MoCl_3 :



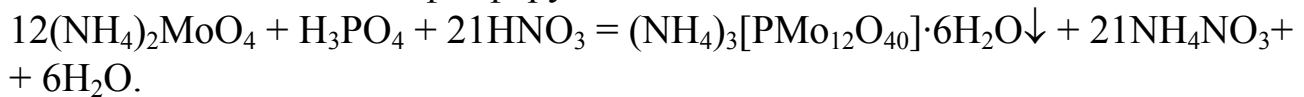
бурого кольору

Проробіть те саме, взявши замість цинку розчин SnCl_2 , який додайте краплями. При відновленні сполук молібдену(VI) станум(II) хлоридом утворюється так звана «молібденова синь»:



Молібденова синь не є індивідуальною сполукою, а містить молібден у проміжних ступенях окиснення від +5 до +6. Передбачуваний склад «молібденової сині» $\text{Mo}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2$, формула якої записується ще й як $\text{Mo}_2\text{O}_5 \cdot \text{MoO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Виділено також кристали $\text{Mo}_8\text{O}_{15}(\text{OH})_{16}$ (5.75), $\text{MoO}_2(\text{OH})_{0.5}$ (5.50), $\text{MoO}_{2.6} \cdot n\text{H}_2\text{O}$ (5.20) і $\text{MoO}_2(\text{OH})$ (5.0) (у дужках наведено середній ступінь окиснення Молібдену).

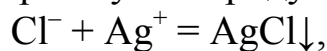
2. *Гетерополісполуки молібдену(VI)*. Налийте в пробірку 1–2 мл розчину амоній молібдату, додайте 2–3 краплі концентрованої нітратної кислоти та кілька крапель розчину ортофосфатної кислоти або її солі. Вміст пробірки злегка нагрійте, після чого утвориться малорозчинний у воді жовтий осад солі $(\text{NH}_4)_3[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, яка використовується для кількісного визначення фосфору.



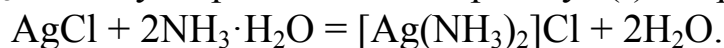
Спостерігайте за розчиненням цієї солі в розчині натрій гідроксиду:
 $(\text{NH}_4)_3[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}] \cdot 6\text{H}_2\text{O} \downarrow + 3\text{NaOH} = \text{Na}_3[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}] + 3\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O} + 6\text{H}_2\text{O}.$

Реакції хлорид-аніона. Більшість хлоридів розчинні у воді, виняток становлять солі AgCl , TlCl , Hg_2Cl_2 , PbCl_2 , SbOCl . Іони Cl^- безбарвні.

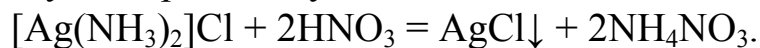
1. *Аргентум нітрат* (AgNO_3) утворює з іоном Cl^- білий сирнистий осад аргентум хлориду:



що поступово темнішає на світлі через виділення вільного срібла. Осад аргентум хлориду нерозчинний у кислотах, але легко розчиняється в $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ з утворенням діамінаргентум(I) хлориду:



При підкисленні розчину нітратною кислотою комплексний іон $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ руйнується внаслідок утворення більш стійкого катіона NH_4^+ і аргентум хлорид знову випадає в осад:



До 4–5 крапель розчину натрій хлориду додайте 2–3 краплі розчину аргентум нітрату. До осаду аргентум хлориду додайте по краплях розчин $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ до повного розчинення. Зруйнують діамінаргентум(I) хлорид $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}$ додаванням нітратної кислоти. Спостерігайте появу каламуті аргентум хлориду.

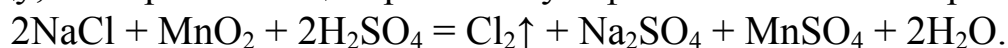
Якщо крім аргентум хлориду в осаді присутні йодид і аргентум бромід, то при дії $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ аргентум йодид практично не розчиняється, тому що має дуже малу величину добутку розчинності (ДР) ($8.3 \cdot 10^{-17}$). У аргентум броміду AgBr добуток розчинності трохи більший ($7.7 \cdot 10^{-13}$), і він помітно розчинний у $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Однак його розчинність можна знизити, якщо замість $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ скористатися розчином амоній карбонату $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$. Останній, гідролізуючись, створює настільки невеликі концентрації $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, що аргентум бромід майже не розчиняється. Таким чином, центрифугуванням вдається відділити розчинний $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}$ від

осаду AgI і AgBr . Оскільки іон $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ не дуже міцний, концентрація катіонів Ag^+ у центрифугаті виявляється достатньою, щоб при введенні іонів Br^- добуток розчинності аргентум броміду було перевищено. Тож, при додаванні до прозорого центрифугату кількох крапель розчину калій броміду KBr з'являється рясна жовто-біла каламуть аргентум броміду AgBr . Це також вказує на присутність у розчині іона Cl^- .

Усі залишки солей аргентуму злийте у спеціальну банку.

2. *Сильні окисники* (KMnO_4 , KClO_3 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ та ін.) в кислому середовищі переводять іон Cl^- у вільний хлор.

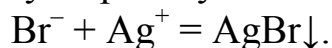
Як окисник зазвичай використовують мангану(IV) оксид. До 2–3 крапель розчину натрій хлориду додайте трохи твердого манган(IV) оксиду, 1–2 краплі концентрованої сульфатної кислоти і нагрійте:



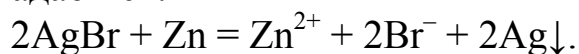
Зверніть увагу на колір і запах газу, що виділяється. Піднесіть до отвору пробірки йодкрохмальний папір, спостерігайте зміну його забарвлення.

Реакції бромід-аніона. Іони Br^- безбарвні. Нерозчинні у воді броміди аргентуму, гідраргіруму(I) та плюмбуму.

1. *Аргентум нітрат* (AgNO_3) утворює з іоном Br^- жовтуватий осад аргентум броміду:



Осад нерозчинний у нітратній кислоті, амоній карбонаті, але розчиняється в надлишку $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ з утворенням $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Br}$. Під дією цинкового пилу при наявності води (або 1 М H_2SO_4) аргентум бромід розкладається:

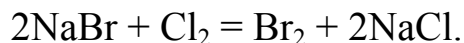


Срібло, що виділилось, утворює чорний осад, а іон Br^- переходить у розчин, де і може бути виявлений.

До 5–6 крапель розчину калій броміду додайте 2–3 краплі розчину аргентум нітрату, відцентрифугуйте осад та відкиньте центрифугат. До осаду аргентум броміду додайте 5–6 крапель води, трохи цинкового пилу та перемішайте скляною паличкою. Потім осад, тобто суміш вільного срібла та надлишку цинку, відцентрифугуйте та відкиньте, а в центрифугаті знову виявіть іон Br^- однією з реакцій (наприклад, дією хлорної води).

2. *Сильні окисники* (KMnO_4 , KClO_3 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) в кислому середовищі окиснюють іон Br^- до вільного бромю.

Частіше за все окисником виступає хлорна вода:



Підкисліть 2–3 краплі розчину натрій броміду кількома краплями сульфатної кислоти (в лужному середовищі бром переходить у безбарвні сполуки), додайте 2–3 краплі свіжоприготованої хлорної води та 2–3 краплі бензолу (чи бензину) (*у витяжній шафі!*). Струсіть вміст пробірки. Бензол, в якому бром розчиняється краще, ніж у воді, набуває червоно-бурого забарвлення.

3. Фуксинсірчиста кислота. Пари бром у дають з фуксинсірчистою кислотою синьо-фіолетове забарвлення. Реакція дозволяє виявити іон Br^- при наявності іонів Cl^- та I^- , які не забарвлюють реактив.

До 2–3 крапель досліджуваного розчину на годинниковому скельці додайте 4–5 крапель хромової кислоти з масовою часткою $w = 25\%$ для окиснення іонів Br^- до вільного бром у. На внутрішню поверхню другого годинникового скельця прикріпіть фільтрувальний папір, що просочений фуксинсірчистою кислотою (тобто розчином фуксину, знебарвленим натрій гідросульфідом NaHSO_3 в присутності HCl). Накрийте перше скельце другим та нагрівайте протягом 10 хвилин газу камеру на водяній бані. Папір забарвлюється в синьо-фіолетовий колір.

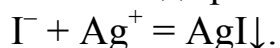
4. Флюоресцеїн $\text{C}_{20}\text{H}_{12}\text{O}_5$. Вільний бром перетворює флюоресцеїн на еозин $\text{C}_{20}\text{H}_8\text{O}_5\text{Br}_4$ – речовину червоного кольору. Необхідний для цього бром отримують окисненням іонів Br^- плюмбум(IV) оксидом у оцтовому середовищі:



У пробірку з 1–2 краплями розчину, що досліджується, додайте трохи PbO_2 та підкисліть оцтовою кислотою. Закрийте пробірку пробкою з вставленою в неї мікролійкою, а на лійку покладіть фільтрувальний папір, просочений флюоресцеїном (*у витяжній шафі!*). Обережно нагрійте суміш на бані. При наявності Br^- папір почервоніє. Іони I^- попередньо видаляють, оскільки пари йоду діють на флюоресцеїн аналогічно.

Реакції йодид-аніона. З йодидів не розчинні у воді AgI , PbI_2 , Hg_2I_2 , HgI_2 , Cu_2I_2 . Іон I^- безбарвний.

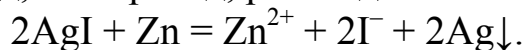
1. Аргентум нітрат (AgNO_3) утворює з іоном I^- блідо-жовтий сирнистий осад аргентум йодиду:



Осад не розчиняється в нітратній кислоті і в $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, але легко переходить у розчин при додаванні натрій тіосульфату:



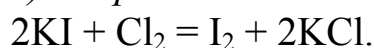
Від дії цинкового пилу при наявності води (або 1 М H_2SO_4) аргентум йодид, як і бромід, розкладається з виділенням срібла:



Реакцію виконують так само, як на іон Br^- .

2. *Окисники.* Аніон I^- набагато легше окиснюється, ніж хлорид- і бромід-іони. Навіть такі слабкі окисники, як Fe^{3+} або Cu^{2+} , виділяють вільний йод з йодидів. Особливо часто в аналітичній практиці використовують дію на йодиди хлорної води і нітритів.

а) *Хлорна вода* легко витісняє вільний йод з йодиду:

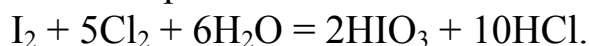


Якщо при цьому до розчину долити бензол (або очищений бензин) і струсити суміш, то органічний розчинник забарвлюється йодом у фіолетовий колір. Мізерно малі кількості йоду, що виділяється, виявляють чутливою реакцією з крохмальним клейстером.

Реакцію проводять у розчині, підкисленому 1 М сульфатною кислотою, оскільки в лужному середовищі забарвлення йоду зникає:

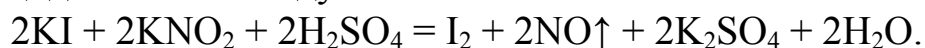


Хлорну воду додають до розчину обережно, краплями, надлишок її окиснює одержаний йод до йодноватої кислоти:



При одночасній присутності іонів I^- та Br^- хлорна вода спочатку окиснює I^- . Подальше додавання хлорної води приводить до знебарвлення фіолетового забарвлення бензольного шару, оскільки йод окиснюється до йодноватої кислоти HIO_3 . Після цього починається виділення бромиду, що забарвлює бензольний шар у червоно-бурий колір. Реакція служить для виявлення іонів I^- та Br^- при їх сумісній присутності.

б) *Натрій (або калій) нітрит* також окиснює I^- у кислому середовищі до вільного йоду:



Йод, що виділився, виявляють посинінням крохмалю або забарвленням бензолу (бензину) в фіолетовий колір.

Іони Br^- у протилежність іонам I^- нітритами не окиснюються.

До 1–2 краплин розчину калій йодиду додайте стільки ж розчину калій нітриту KNO_2 , підкисліть 1 М сульфатною кислотою і додайте 1–2 краплі крохмального розчину. Синє забарвлення сполуки йоду з крохмалем при нагріванні зникає, при охолодженні знову з'являється.

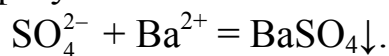
Таким чином, виявленню хлорид-іона дією нітратної кислоти на $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}$ заважає присутність в амоніачному розчині домішок $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Br}$. Однак, обробляючи осад солей аргентуму (AgCl , AgBr , AgI) розчином амоній карбонату $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (замість амоній гідроксиду), переводять у розчин тільки хлорид-іони, тобто відокремлюють їх від бромід-іонів.

Хлорид-іон не заважає виявленню іонів Γ та Br^- дією хлорної води (при наявності бензолу).

Бромід-іон може бути виявлений дією хлорної води при наявності іона Γ , оскільки йод окиснюється надлишком хлору до безбарвного аніона IO_3^- . Після цього розчин забарвлюється тільки вільним бромом, що виділяється.

Реакції сульфат-аніона. Більшість сульфатів добре розчиняється у воді, але сульфати барію, кальцію, стронцію і плюмбуму мало розчинні в ній. Іон SO_4^{2-} безбарвний.

1. *Барій хлорид* утворює з іоном SO_4^{2-} білий кристалічний осад сульфату:

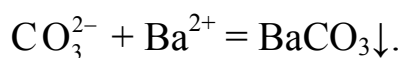


До 4–5 крапель розчину натрій сульфату додайте 2–3 краплі реактиву. Переконайтеся, що осад BaSO_4 не розчиняється в кислотах.

2. *Барій родизонат.* Нанесіть на фільтрувальний папір послідовно 1 краплю розчину барій хлориду і 1 краплю натрій родизонату (або родизонової кислоти). Зверніть увагу на червоний колір утвореного барій родизонату. Червону пляму цієї сполуки змочіть 1–2 краплями досліджуваного на вміст сульфат-іона розчину. При наявності іона SO_4^{2-} червоне забарвлення барій родизонату негайно знебарвлюється внаслідок утворення білого барій сульфату. Реакція селективна для сульфат-іона.

Реакції карбонат-аніона. Іон CO_3^{2-} розчинів не забарвлює.

1. *Барій хлорид* утворює з іоном CO_3^{2-} білий осад барій карбонату:

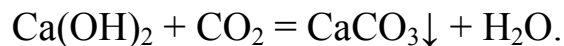


Як і всі карбонати, BaCO_3 легко розкладається в хлоридній, нітратній і навіть в оцтовій кислотах.

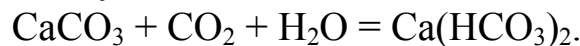
2. *Кислоти (HCl і H₂SO₄)* розкладають карбонати з виділенням карбон(IV) оксиду:



що викликає помутніння розчину Ca(OH)₂, якщо крізь нього пропустити вуглекислий газ, що виділяється:



Каламуть може, однак, швидко зникнути внаслідок утворення розчинної у воді кислої солі:



Зазвичай замість Ca(OH)₂ застосовують розчин Ba(OH)₂.

Реакції фосфат-аніона. Для вивчення реакцій іона PO₄³⁻ користуються розчином натрій гідрофосфату. Фосфат-іон безбарвний.

1. *Барій хлорид* виділяє з розчину натрій гідрофосфату білий осад барій гідрофосфату:



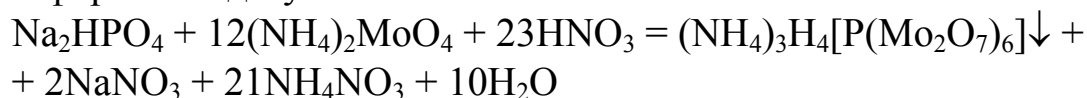
До 4–5 краплин розчину натрій гідрофосфату додайте 2–3 краплі розчину барій хлориду.

При наявності лугів або NH₃·H₂O, що переводять іон HPO₄²⁻ в PO₄³⁻, утворюється середня сіль:

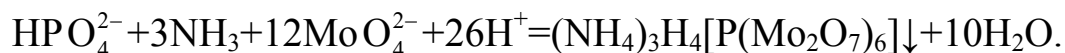


Осади BaHPO₄ і Ba₃(PO₄)₂ розчинні у сильних кислотах (за винятком сульфатної), а також в оцтовій кислоті.

2. *Молібденова рідина* – розчин амоній молібдату (NH₄)₂MoO₄ в нітратній кислоті, утворює з іоном PO₄³⁻ жовтий кристалічний осад амоній фосфомолібдату:



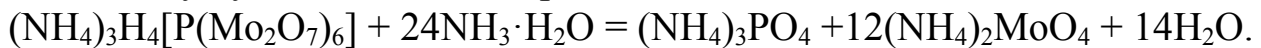
або



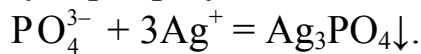
Амоній фосфомолібдат можна вважати амонієвою сіллю фосфомолібденової кислоти H₇[P(Mo₂O₇)₆]. Іноді використовують емпіричну формулу амоній фосфомолібдату (NH₄)₃PO₄·12MoO₃·6H₂O.

Виконуючи реакцію, діють надлишком реактиву, оскільки осад розчиняється в натрій гідрофосфаті. До 5–6 крапель молібденової рідини, попередньо нагрітої на бані, додайте 1–2 краплі розчину натрій гідро-

фосфату і дайте постояти. Корисно додати кілька кристалів амоній нітрату, оскільки однойменний іон NH_4^+ знижує розчинність осаду. Осад розчинний у лугах і в амоній гідроксиді:

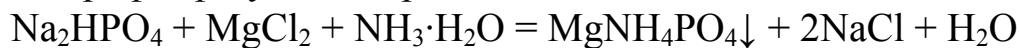


3. *Аргентум нітрат* (AgNO_3) утворює з іоном PO_4^{3-} жовтий осад аргентум фосфату:

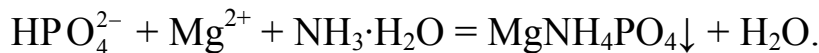


Налийте у пробірку 1 мл розчину солі ортофосфатної кислоти та додайте кілька крапель розчину аргентум нітрату, спостерігайте за утворенням жовтого осаду. У пробірку долийте трохи розбавленої нітратної кислоти до розчинення осаду. Після цього обережно долийте по стінках пробірки 1 мл розбавленого розчину амоніаку. На межі двох шарів, що утворилися після додавання амоніаку, спостерігайте за утворенням жовтого кільця аргентум ортофосфату. Напишіть рівняння реакції.

4. *Магнезіальна суміш* ($\text{MgCl}_2 + \text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O} + \text{NH}_4\text{Cl}$) виділяє з розчину натрій гідрофосфату білий кристалічний осад:



або



Осад розчинний у сильних кислотах і в оцтовій кислоті.

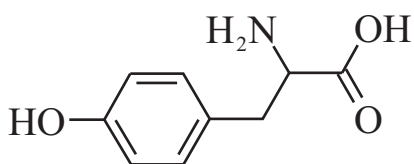
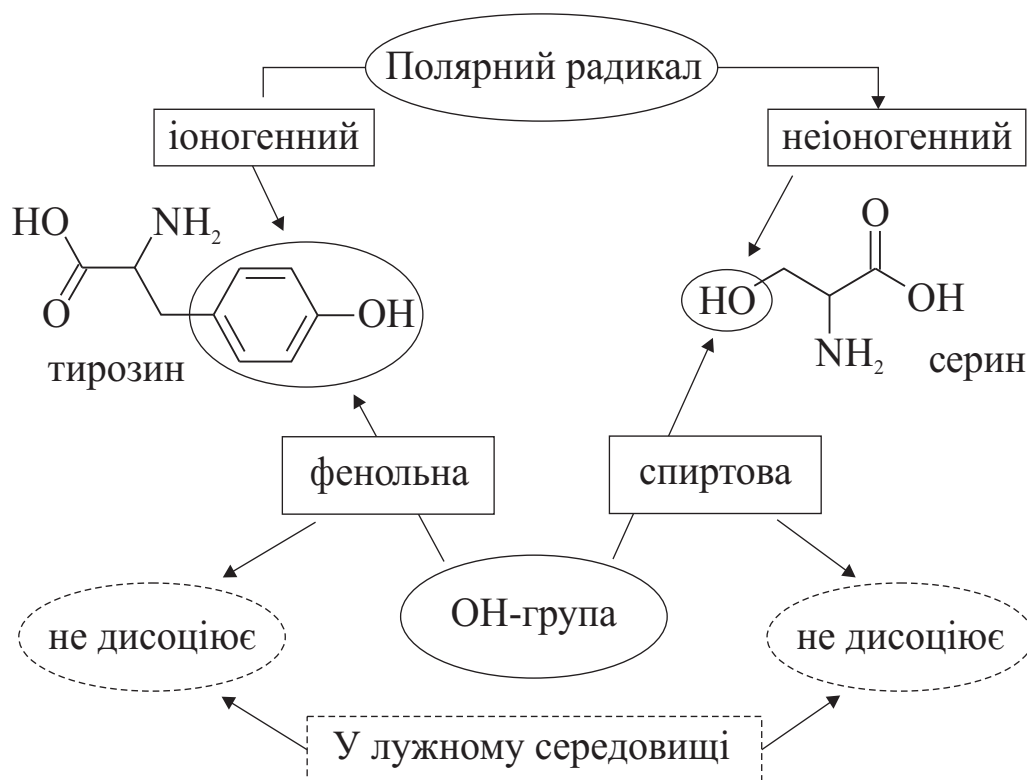
До 2–3 крапель розчину магній хлориду додайте стільки ж розчину $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$, і осад $\text{Mg}(\text{OH})_2$, що випав, розчиніть у амоній хлориді, додаючи його краплями. Отриману магнезіальну суміш нагрійте на водяній бані і додавайте розчин натрій гідрофосфату до появи осаду магнію-амонію фосфату MgNH_4PO_4 . Випробуйте його реакцію на дію кислот.

5. *Бензидин* $\text{C}_{12}\text{H}_8(\text{NH}_2)_2$. На фільтрувальний папір нанесіть краплю досліджуваного розчину і краплю підкисленого нітратною кислотою розчину амоній молібдату $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ (для зв'язування домішок до розчину додають винну кислоту). Нагрійте папір над електричною плитою, додайте 1–2 краплі підкисленого оцтовою кислотою бензидину і потримайте над парами амоніаку для зниження кислотності. При наявності PO_4^{3-} на папері з'являється синя пляма.

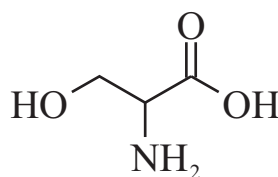
Лабораторна робота № 2

ВЛАСТИВОСТІ БІЛКІВ ТА ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА НИХ

Залежно від характеру бічного радикала α -амінокислоти поділяються на дві групи: з неполярними (гідрофобними) та полярними (гідрофільними) радикалами. До першої групи належать α -амінокислоти з аліфатичним (аланін, лейцин, ізолейцин, метіонін, валін) та ароматичним (фенілаланін, триптофан) бічними радикалами. До другої – α -амінокислоти, в яких у радикалі є полярні функціональні групи, що здатні до іонізації (іоногенні) або не здатні переходити в іонний стан (неіоногенні) в умовах організму. Наприклад, у тирозині гідроксильна група іоногенна (має фенольний характер), у серині – неіоногенна (має спиртову природу):



Тирозин

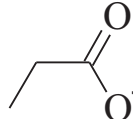


Серин

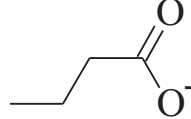
Полярні α -амінокислоти з іоногенними групами в радикалах у визначених умовах можуть перебувати в іонному стані, тобто нести негативний або позитивний заряди:

а) негативний заряд

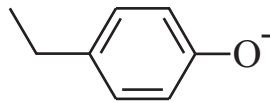
Аспарагінова
кислота



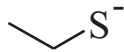
Глутамінова
кислота



Тирозин

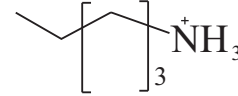


Цистеїн

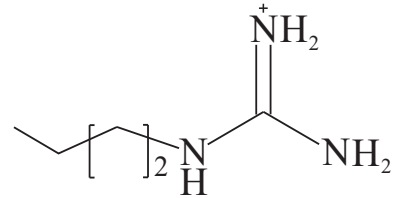


б) позитивний заряд

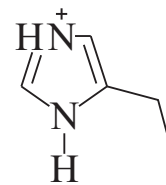
Лізин



Аргінін



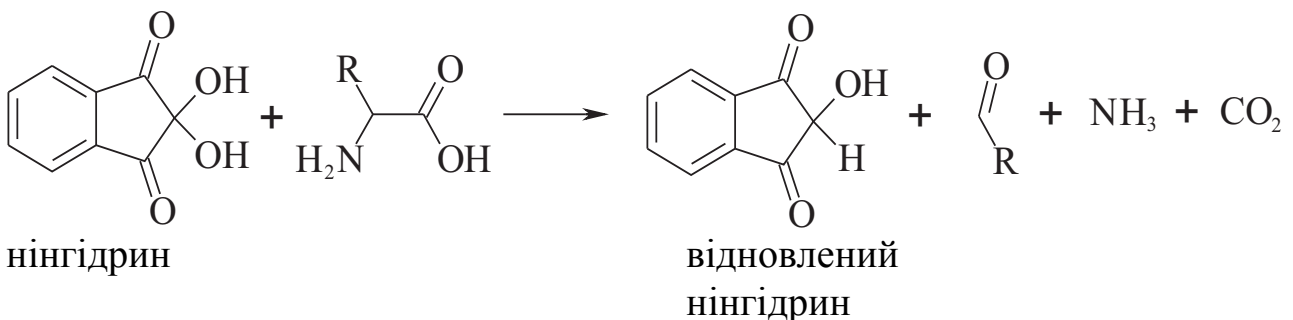
Гістидин

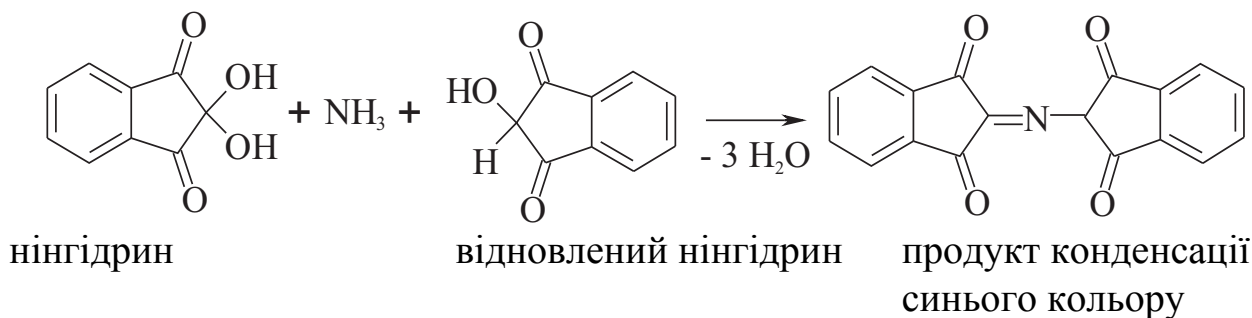


У білках іоногенні групи радикалів, як правило, розміщуються на поверхні макромолекул і зумовлюють іонні (електростатичні) взаємодії. У ролі полярних неіоногенних груп у радикалах часто виступають спиртові гідроксильні або амідні групи.

Особливість хімії амінокислот і білків полягає в наявності численних якісних (кольорових) реакцій, що склали в свій час основу хімічного аналізу. Нині, коли дослідження проводиться за допомогою фізико-хімічних методів, багато якісних реакцій все ж зберігають своє значення, а деякі використовуються для виявлення α -амінокислот при хроматографічному аналізі.

Загальна якісна реакція α -амінокислот – реакція з нінгідрином. Продукт нінгідринової реакції має синьо-фіолетовий колір, що використовується для візуального виявлення амінокислот на хроматограмах (на папері, у тонкому шарі), а також спектрофотометричного виявлення на амінокислотних аналізаторах (продукт поглинає світло в діапазоні 550–570 нм).





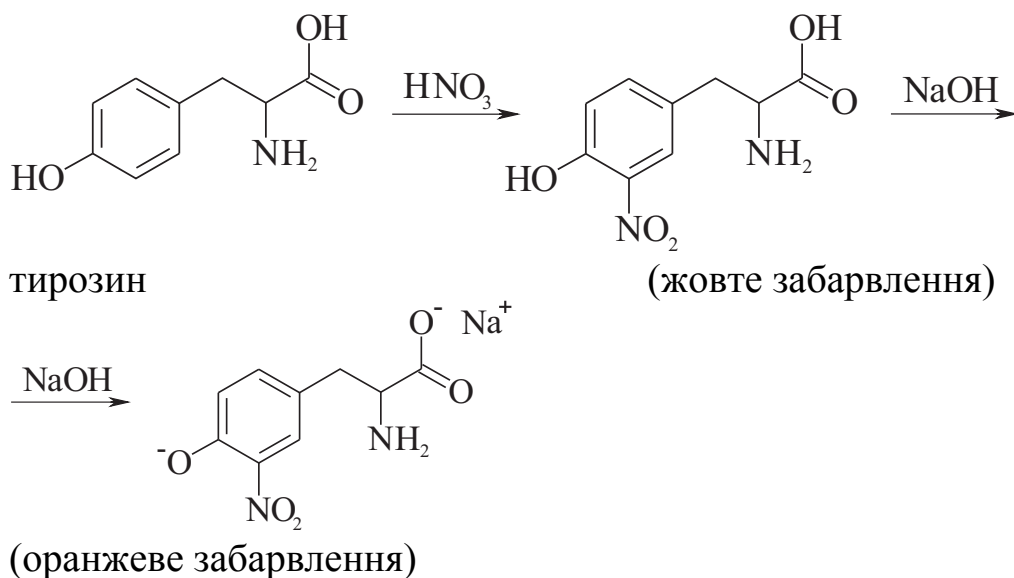
Для виявлення пептидних зв'язків у пептидах і білках застосовується біуретова реакція, в яку вступають усі пептиди та білки, що містять щонайменше два таких зв'язки.

Існує також низка окремих реакцій, що дозволяють виявляти окремі α -амінокислоти або групи подібних α -амінокислот.

Триптофан виявляють за допомогою реакції з *n*-диметиламінобензальдегідом у середовищі сульфатної кислоти за допомогою реакції Ерліха, в результаті якої з'являється червоно-фіолетове забарвлення. Ця реакція використовується для кількісного аналізу триптофану в продуктах розщеплення білків.

Цистеїн виявляють за допомогою кількох якісних реакцій, що ґрунтуються на реакційній здатності меркаптогрупи, що міститься в ньому. Наприклад, при нагріванні розчину білка з плюмбум ацетатом (CH₃COO)₂Pb у лужному середовищі утворюється чорний осад плюмбум сульфід у PbS, що вказує на присутність у білках цистеїну.

Для виявлення ароматичних та гетероциклічних α -амінокислот використовується ксантопротеїнова реакція (реакція на фенілаланін, тирозин, гістидин, триптофан). Наприклад, при дії концентрованої нітратної кислоти на тирозин утворюється нітросполука, забарвлена в жовтий колір. При додаванні до неї лугу забарвлення стає оранжевим у зв'язку з іонізацією фенольної гідроксильної групи та збільшенням вкладу аніона в супряження:



Реакції осадження білків

Ефект осадження білків може бути спричинений зневодненням білкових глобул, що досягається дією солей або органічних розчинників. Процес виділення білка з розчину при додаванні солей називають висолюванням. Осаджуюча здатність солі залежить як від катіона, так і від аніона. Для оборотного осадження білків часто використовують амоній сульфат і натрій хлорид. Під впливом солей важких металів зазвичай відбувається необоротне осадження білків, оскільки при цьому не лише руйнується гідратна оболонка білкової молекули, а й відбувається утворення міцних зв'язків іонів металу з різними функціональними групами білків (насамперед з тіольними).

Висолювання дією солей амонію і натрію уже протягом понад століття широко використовується для розділення й одержання в очищеному вигляді білків, у т.ч. ферментів.

1. Осадження білків амоній сульфатом

До 3 мл розчину яєчного білка з масовою часткою $w = 1\%$ додайте такий самий об'єм насиченого розчину амоній сульфату. Осад глобулінів, що при цьому утворився, відфільтруйте. До фільтрату додайте кристалічний амоній сульфат до насичення розчину. При цьому утворюється осад альбумінів.

2. Висолювання солями важких металів

У дві пробірки налейте по 0.5 мл розчину білка з масовою часткою $w = 1\%$. Краплинами додайте: в першу пробірку розчин купрум(II) сульфату з масовою часткою $w = 5\%$, а в другу – розчин плюмбум ацетату з масовою часткою $w = 0.5\%$. Спостерігайте за утворенням осаду.

3. Осадження білків органічними розчинниками

До 2 мл розчину яєчного білка з масовою часткою $w = 1\%$ додайте 4 мл ацетону. Опишіть спостереження.

4. Осадження білків концентрованими мінеральними й органічними кислотами

Концентровані мінеральні кислоти зумовлюють денатурацію білка внаслідок дегідратації та нейтралізації зарядів колоїдних частинок білка. Органічні кислоти також незворотно осаджують білки. Найчастіше для цього використовують трихлороцтову та сульфосаліцилову кислоти. Такий підхід застосовують, коли необхідно видалити білки з біологічної рідини (наприклад, коли вони заважають аналізу інших сполук),

в окремих випадках дією мінеральних кислот зупиняють ферментативні реакції.

У три пробірки прилийте: в першу 5–6 крапель концентрованої сульфатної кислоти; в другу – 1 мл розчину трихлороцтової кислоти з масовою часткою $w = 10\%$; в третю – 5 мл сульфосаліцилової кислоти. В усі пробірки додайте по 1 мл розчину білка з масовою часткою $w = 1\%$. Поясніть явища, що спостерігаються.

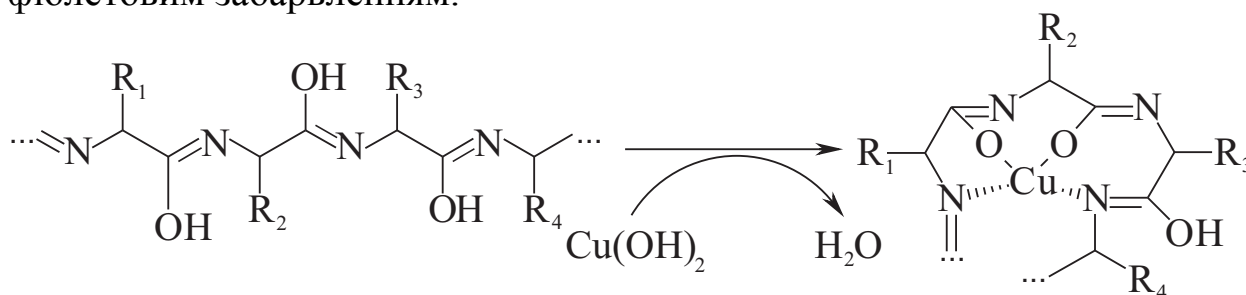
Кольорові реакції на білки

Методи виявлення білків базуються на двох типах реакцій:

- за місцем пептидного зв'язку;
- за місцем амінокислотних залишків у молекулах білків.

1. Визначення в молекулах білків пептидних зв'язків за біуретовою реакцією

Суть реакції полягає у взаємодії білків з іонами купруму(II) в лужному середовищі. При цьому утворюються комплекси з синьо-фіолетовим забарвленням.



Ступінь забарвлення біуретового комплексу залежить від концентрації білка і кількості солі купруму у розчині. Тому ця методика використовується не лише для якісної реакції на білки, а й для кількісного їх визначення.

До 2 мл розчину білка з масовою часткою $w = 1\%$ додайте 4 мл розчину натрій гідроксиду з масовою часткою $w = 10\%$ і 0.2 мл розчину купрум(II) сульфату з масовою часткою $w = 1\%$. Розчин перемішайте. Вміст пробірки набуває фіолетового забарвлення. Надлишок CuSO_4 у реакції може маскувати фіолетовий колір, тому його кількість повинна бути мінімальною.

2. Визначення білків та амінокислот за нінгідриновою реакцією

Нінгідрінова реакція характерна для α -аміногруп. Амінокислоти, поліпептиди і білки при кип'ятінні з водним розчином нінгідрину утворюють синє або синьо-фіолетове забарвлення.

Ця реакція зі спиртовим розчином нінгідрину широко використовується для виявлення амінокислот після їх розділення хроматографічним методом, для кількісного визначення амінокислот.

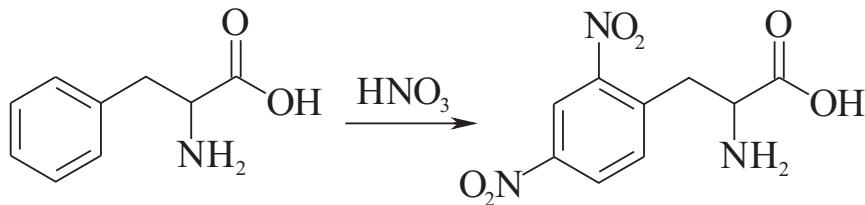
До 3 мл розчину білка додайте 5 крапель розчину нінгідрину з масовою часткою $w = 0.5\%$ і прокип'ятіть 1–2 хв. Вміст пробірки набуває рожево-фіолетового забарвлення, яке через деякий час переходить у синє.

Специфічні реакції на білки

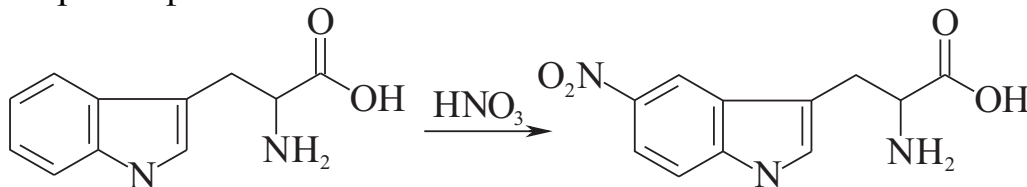
1. Ксантопротеїнова реакція

Використовується для визначення ароматичних амінокислот: тирозину, фенілаланіну і триптофану. При дії концентрованої нітратної кислоти з'являється жовте забарвлення внаслідок утворення ароматичних нітропохідних.

Реакція з фенілаланіном:



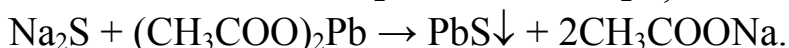
Реакція з триптофаном:



До 1 мл розчину білка додайте 5–6 крапель концентрованої нітратної кислоти до появи каламуті. При нагріванні осаду розчин забарвлюється в жовтий колір, а потім осад поступово розчиняється.

2. Реакція Фоля

Вона ґрунтується на здатності луґу взаємодіяти з сульфгидрильними групами. При цьому відбувається відщеплення сульфуру з утворенням натрій сульфіді, який з сіллю плюмбуму дає осад чорного кольору:



До 3 мл розчину білка додайте 3 мл реактиву Фоля (розчин плюмбум ацетату з натрій гідроксидом (див. додаток)), прокип'ятіть і дайте постояти 1–2 хв. При відстоюванні випадає чорний або бурий осад PbS. За цією реакцією визначають наявність сірковмісних амінокислот – цистину і цистеїну.

Лабораторна робота № 3

НУКЛЕОПРОТЕЇДИ. НУКЛЕЇНОВІ КИСЛОТИ. ВИДІЛЕННЯ ТА ГІДРОЛІЗ

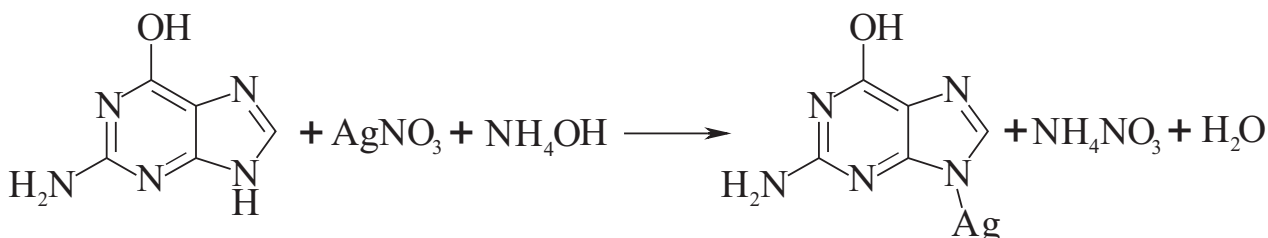
Завдання. У широкогорлу колбу помістіть 50 мл свіжих дріжджів (або 2.5 г сухих) залийте 20 мл розчину сульфатної кислоти з масовою часткою $w = 10\%$. Колбу закрийте корком з повітряним холодильником і нагрівайте на повільному вогні. Через 1–1.5 години нагрівання припиніть, суміш охолодіть і профільтруйте. У фільтраті визначте продукти гідролізу.

1. Біуретова реакція на білок

До 1 мл гідролізату додайте 2 мл розчину NaOH з масовою часткою $w = 10\%$ і 2–3 краплі розчину CuSO_4 з масовою часткою $w = 1\%$. Спостерігайте появу характерного забарвлення.

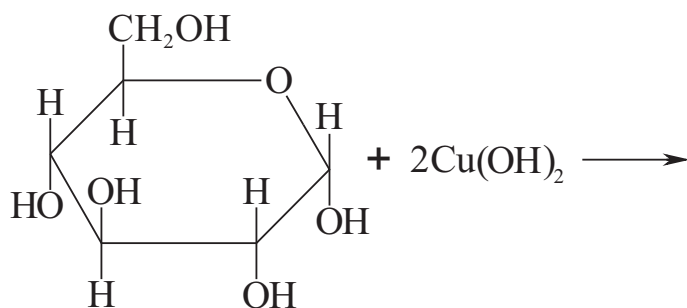
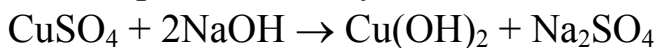
2. Проба на азотні основи

До 1 мл гідролізату додайте 5 крапель розчину амоніаку, а потім 5 крапель аміачного розчину аргентум нітрату. Утворюється осад бурого кольору – комплекс срібних сполук азотистих основ:

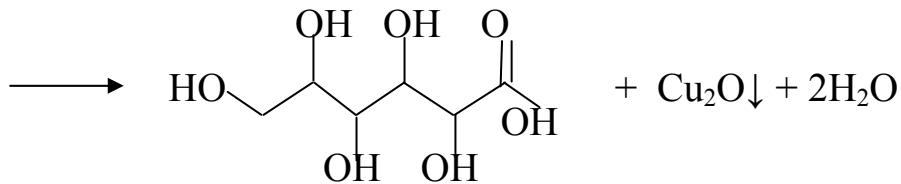


3. Реакція Троммера на відновні цукри

До 1 мл гідролізату додайте 2 мл розчину натрій гідроксиду з масовою часткою $w = 30\%$ і дві–три краплі розчину CuSO_4 з масовою часткою $w = 1\%$. Суміш перемішайте і нагрійте до кипіння. Спостерігайте утворення червоного осаду Cu_2O .



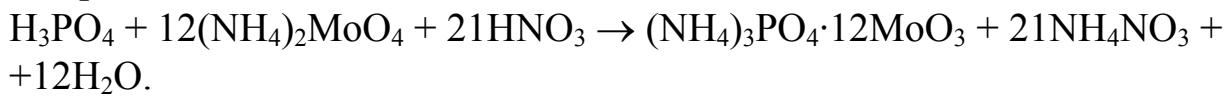
α -глюкоза



ГЛЮКОНОВА КИСЛОТА

4. Проба на фосфатну кислоту

До 2 мл гідролізату додайте 2 мл молібденової рідини (розчин амоній молібдату в нітратній кислоті (див. додаток)) і прокип'ятіть кілька хвилин. За наявності фосфатної кислоти суміш забарвлюється у жовтий колір:



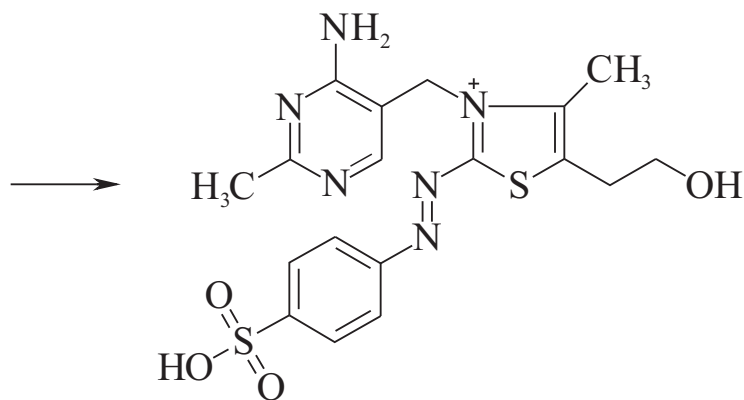
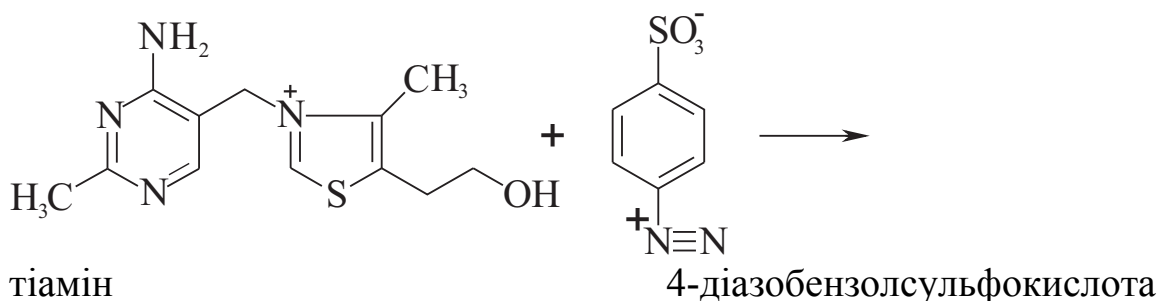
Лабораторна робота № 4

ЯКІСНІ РЕАКЦІЇ НА ВІТАМІНИ

Якісні реакції на водорозчинні вітаміни

1. Якісна реакція на вітамін B₁ (тіамінхлорид)

При додаванні до розчину тіаміну в лужному середовищі діазобензолсульфоїкислоти утворюється складна сполука цього вітаміну, що забарвлена в оранжевий або червоний колір. Діазобензолсульфоїкислота утворюється в результаті реакції діазотування при взаємодії сульфанілової кислоти з натрій нітритом. Потім вона реагує в лужному середовищі з тіаміном з утворенням забарвленої азосполуки:



До п'яти крапель лужного розчину сульфанілової кислоти додайте п'ять крапель розчину натрій нітриту з масовою часткою $w = 5\%$. До добутого розчину діазореактиву додайте невелику кількість тіамінхлориду і 5–7 крапель розчину Na_2CO_3 з масовою часткою $w = 10\%$. Рідина забарвлюється в оранжевий колір.

2. Якісна реакція на вітамін B₆ (піридоксин)

До п'яти крапель розчину вітаміну B₆ з масовою часткою $w = 1\%$ додайте п'ять крапель розчину ферум(III) хлориду з масовою часткою $w = 1\%$ і перемішайте. Утворюється червоне забарвлення.

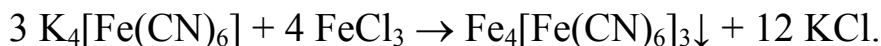
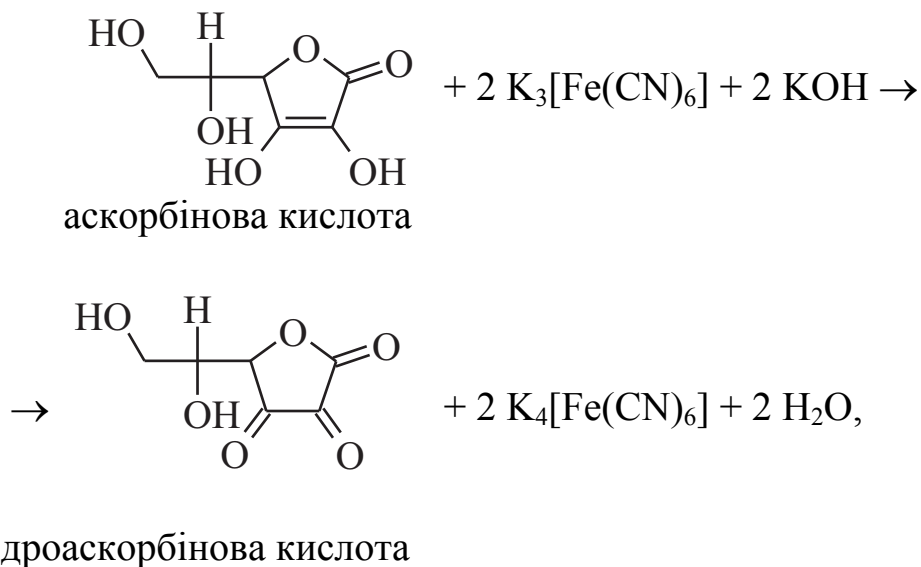
3. Реакція на вітамін РР (нікотинова кислота)

Принцип методу: вітамін РР при нагріванні з розчином купрум(II) ацетату утворює синій осад важко розчинної купрумвмісної солі нікотинової кислоти.

У пробірку налейте 5–7 крапель розчину вітаміну РР з масовою часткою 3 %, потім долейте 7–10 крапель розчину купрум(II) ацетату з масовою часткою 5 %, витримайте 2–3 хв. (не перемішуючи). Утворюється осад купрумвмісної солі нікотинової кислоти.

4. Реакція на вітамін С (аскорбінова кислота)

Аскорбінова кислота в лужному середовищі відновлює калій гексаціаноферат(III) до калій гексаціаноферату(II), який при взаємодії з ферум(III) хлоридом у кислому середовищі утворює малорозчинну у воді сіль феруму(III) – берлінську лазур, що випадає в осад темно-синього кольору:



синій

Шматочки бульб картоплі або листків капусти розітріть у ступці, додайте 10 мл води, розмішайте і профільтруйте. У дві пробірки налейте по 1 мл: в першу – води, в другу – фільтрату. В обидві пробірки додайте одну краплю насиченого розчину $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, потім одну краплю розчину FeCl_3 і п'ять крапель хлоридної кислоти. За наявності дегідроаскорбінової кислоти $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ відновлюється до $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, який з іонами Fe^{3+} утворює берлінську лазур. У контрольній пробірці буде спостерігатися буре забарвлення (за наявності домішок у реактивах можливий зеленуватий відтінок).

*Якісні реакції на жиророзчинні вітаміни**1. Якісна реакція на вітамін А. Реакція Друммонда.*

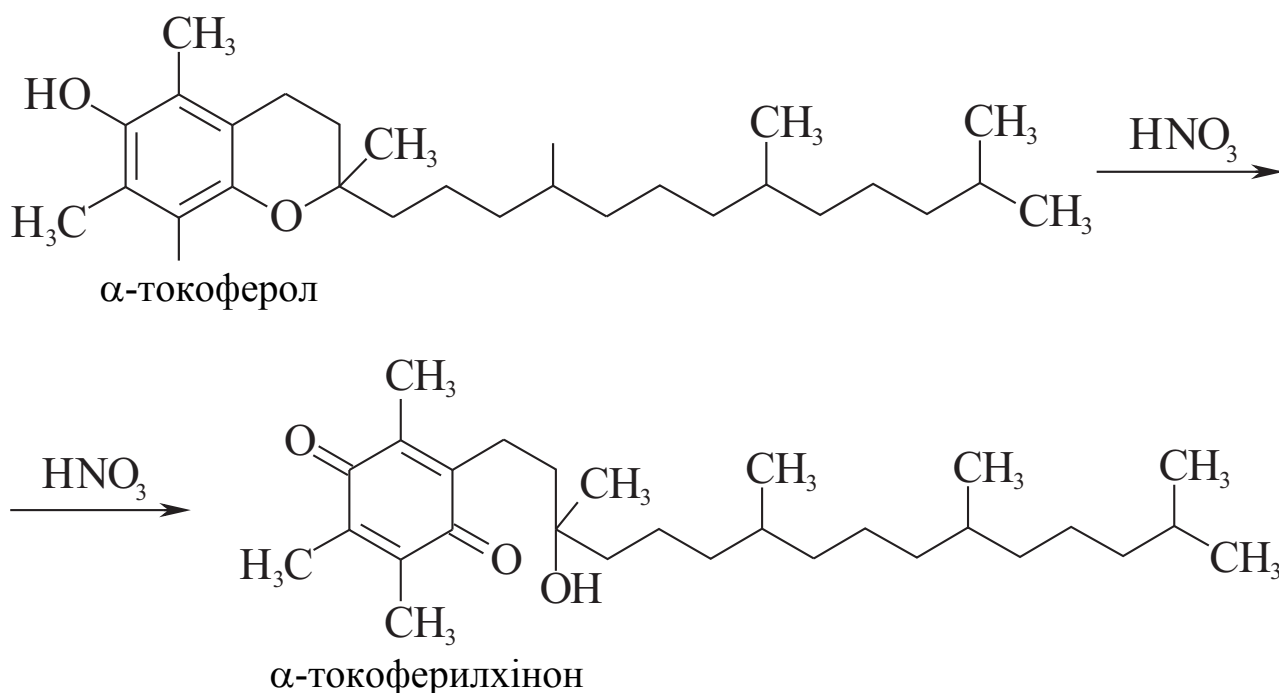
У суху пробірку внесіть п'ять крапель розчину рибачого жиру в хлороформі й одну краплю концентрованої сульфатної кислоти. Рідина забарвлюється в синій колір, який швидко змінюється на фіолетовий, а потім поступово переходить у бурий.

2. Якісна реакція на вітамін D

Дослід проводити у витяжній шафі. На сухе годинникове скельце нанесіть одну–дві краплі рибачого жиру, додайте 2–3 краплі розчину бром у хлороформі і перемішайте. З'являється блакитно-зелене забарвлення.

3. Якісна реакція на вітамін Е (токоферол)

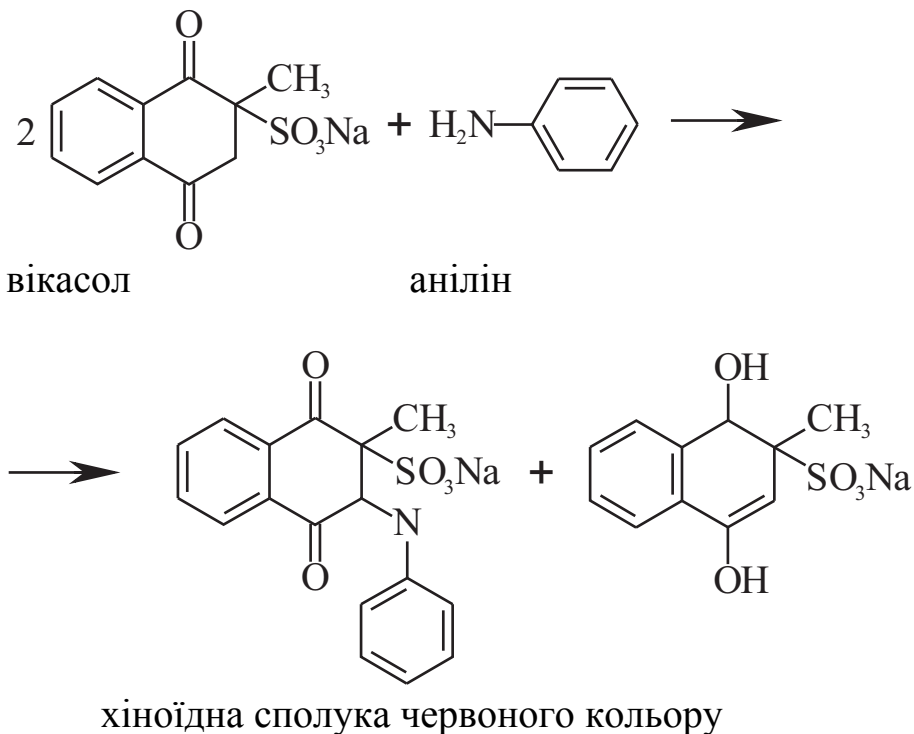
При взаємодії з нітратною кислотою токоферол окиснюється до хіноїдної сполуки червоного кольору:



У суху пробірку внесіть п'ять крапель спиртового розчину токоферолу з масовою часткою $w = 0.1\%$, додайте 10 крапель концентрованої нітратної кислоти. При струшуванні утворюється емульсія, яка поступово забарвлюється в червоний колір. При відстоюванні емульсія розшаровується і забарвлення залишається у верхньому шарі.

4. Якісна реакція на вітамін К

При взаємодії вікасолу (синтетичний аналог вітаміну К) з аніліном утворюється сполука червоного кольору:



До 2 мл 0.1 н розчину вікасолу додайте 1 мл аніліну і перемішайте. Суміш забарвлюється в червоний колір.

Лабораторна робота № 5

ВЛАСТИВОСТІ ВУГЛЕВОДІВ І РЕАКЦІЇ НА ВУГЛЕВОДИ*1. Якісні реакції на альдегідну групу**а) Реакція Троммера*

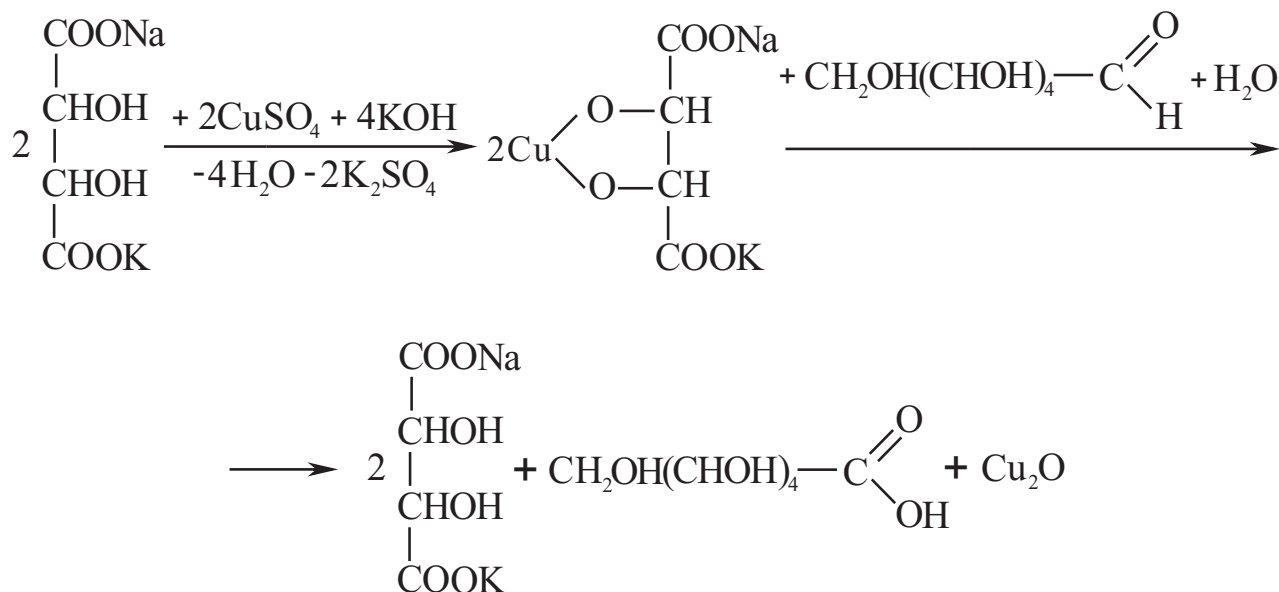
У лужному середовищі при нагріванні моносахариди та мальтоза відновлюють купрум(II) оксид (гідроксид) до купрум(I) оксиду. Невідновні дисахариди (сахароза) позитивної реакції Троммера не дають.

У три пробірки налийте по 1–2 мл розчину натрій гідроксиду з масовою часткою $w = 10\%$ і додайте: в першу пробірку 2 мл розчину глюкози, в другу – мальтози, а в третю – сахарози. До сумішей при постійному струшуванні краплями додайте купрум(II) сульфат до появи стійкої каламуті. При нагріванні спочатку в перших двох пробірках утворюється жовте забарвлення (CuOH), яке поступово перетворюється на червоне (Cu_2O).

Запишіть рівняння реакцій, покажіть їх окисно-відновний характер. Поясніть з точки зору будови молекул, чому сахароза не здатна відновлювати купрум(II) гідроксид.

б) Реакція з реактивом Фелінга

Ця реакція використовується для якісного і кількісного визначення відновних цукрів (зокрема, глюкози). В основу реакції покладено реакцію Троммера, яка не проходить кількісно, але за наявності сегнетової солі (калій-натрій тартрату) глюкоза вступає в реакцію в стехіометричному співвідношенні:



Зменшення інтенсивності синього забарвлення реактиву Фелінга пропорційне вмісту відновних цукрів у пробі. Тому, вимірюючи колориметричними методами оптичну густину розчину, можна визначити і вміст відновних цукрів. У навчальному практикумі реакція з рідиною Фелінга використовується для якісного визначення відновних цукрів.

У пробірку прилийте 1.5–2 мл розчину глюкози, додайте 1 мл реактиву Фелінга, нагрійте до кипіння. Поясніть явище.

2. Гідроліз сахарози

У пробірку налейте 1–2 мл сахарози, додайте 0.5–1 мл розбавленої сульфатної кислоти. Вміст пробірки прокип'ятить (1–2 хв.), охолодіть. Розчин обережно нейтралізуйте сухою содою, додайте рідину Фелінга або реактиви для проведення реакції Троммера. Нагрійте. Поясніть зміни. Напишіть рівняння реакцій, що відбуваються.

3. Реакції крохмалю

а) Реакція з реактивом Люголя

До 2 мл розчину крохмалю з масовою часткою $w = 1\%$ додайте 1–2 краплі розчину Люголя. Опишіть спостереження.

б) Реакція з реактивом Фелінга

До 2 мл розчину крохмалю з масовою часткою $w = 1\%$ додайте 1 мл реактиву Фелінга, нагрійте. Поясніть відсутність реакції на вільну альдегідну групу.

4. Кислотний гідроліз крохмалю

У хімічний стаканчик налейте 20–30 мл розчину крохмалю і 10 мл сульфатної кислоти з масовою часткою $w = 20\%$. Суміш прокип'ятить 10 хв. Через 5 хв. відлійте 0.5 мл суміші і додайте краплю реактиву Люголя. Якщо синє забарвлення не з'являється, то гідроліз закінчився. При появі синього забарвлення продовжуйте нагрівання. Розчин охолодіть і нейтралізуйте сухим кальцій карбонатом. Після нейтралізації розчин профільтруйте і проведіть реакцію з реактивом Фелінга при нагріванні. Що при цьому спостерігається?

5. Виявлення цукрів у рослинному матеріалі

Наріжте на дрібні шматочки коренеплоди моркви, цукрового буряка або плоди яблук. Помістіть матеріал в окремі пробірки (приблизно $\frac{1}{4}$ пробірки), залийте невеликою кількістю води, обережно нагрійте. Одержану витяжку відфільтруйте і перенесіть однакові порції у дві чисті пробірки. Проведіть реакції на відновні цукри з купрум(II) гідроксидом та реактивом Фелінга.

Лабораторна робота № 6

ЗАГАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ ФЕРМЕНТІВ*1. Дія ферменту амілази (α -1,4-глюкан-4-глюкангідролаза-3.2.1.1)*

α -амілаза каталізує гідроліз крохмалю через стадію утворення декстринів до дисахариду мальтози. Дію амілази можна виявити за зменшенням концентрації крохмалю (аналізується за допомогою реакції з йодом) або за збільшенням концентрації продуктів реакції (реєструється реакцією Фелінга). Амілаза міститься в рослинах, мікроорганізмах, є ферментом травлення у тварин (наприклад, амілаза слини).

У пробірку налейте 1–2 мл слини, додайте 2–3 мл крохмалю, ретельно перемішайте і поставте на 15 хв. у водяну баню або термостат при температурі 38 °С. Після цього вміст пробірки розділіть навпіл. В першу пробірку додайте 1–2 краплі розчину Люголя. Опишіть та поясніть спостереження. У другу пробірку додайте 1 мл реактиву Фелінга та нагрійте до кипіння. Поясніть спостереження.

2. Специфічність дії ферментів

У дві пробірки внесіть по чотири краплі слини, в першу пробірку додайте 10 крапель розчину крохмалю з масовою часткою 1 %, а в другу – 10 крапель розчину сахарози з масовою часткою 1 %. Обидві пробірки помістіть на 15 хв. у термостат або водяну баню з температурою 38 °С. Після цього проаналізуйте вміст відновних цукрів за реакцією Фелінга. Додайте реактив Фелінга та нагрійте. Опишіть та поясніть спостереження.

3. Вплив рН середовища на активність амілази

У 7 пробірок налейте розчини Na_2HPO_4 з молярною концентрацією $c = 0.1$ моль/л і лимонної кислоти з молярною концентрацією $c = 0.1$ моль/л в об'ємах, вказаних у таблиці.

| Номер пробірки | Об'єм 0.2 М розчину Na_2HPO_4 , мл | Об'єм 0.1 М розчину лимонної кислоти, мл | рН суміші | Кількість $w = 0.5$ % розчину крохмалю, краплі | Кількість розбавленої слини, краплі | Забарвлення розчину |
|----------------|--|--|-----------|--|-------------------------------------|---------------------|
| 1 | 2.90 | 2.10 | 5.6 | 10 | 10 | |
| 2 | 3.15 | 1.85 | 6.0 | 10 | 10 | |
| 3 | 3.45 | 1.55 | 6.4 | 10 | 10 | |
| 4 | 3.85 | 1.15 | 6.8 | 10 | 10 | |
| 5 | 4.35 | 0.65 | 7.2 | 10 | 10 | |
| 6 | 4.70 | 0.30 | 7.6 | 10 | 10 | |
| 7 | 4.85 | 0.15 | 8.0 | 10 | 10 | |

Одержані таким чином розчини мають рН від 5.6 до 8.0. У кожную пробірку додайте по 10 крапель розчину крохмалю з масовою часткою $w = 0.5\%$ і по 10 крапель слини, попередньо розбавленої в 100 разів. Вміст пробірки перемішайте і залиште при кімнатній температурі. Через 5 хв. у четвертій пробірці візьміть пробу з йодом (у цій пробірці значення рН оптимальне для амілази).

Якщо спостерігається синє забарвлення, продовжуйте нагрівання ще протягом 5 хв. При появі у цій пробірці червоного забарвлення в усі пробірки додайте по одній краплі розчину йоду з масовою часткою $w = 0.1\%$. Вміст пробірок перемішайте і спостерігайте, яке забарвлення з'явилося в кожній з пробірок. Результати спостережень запишіть у таблицю, враховуючи, що синє забарвлення свідчить про наявність крохмалю, червоне – декстринів, жовте – мальтози.

4. Вплив активаторів та інгібіторів на активність амілази

Іони або сполуки, що підвищують активність ферментів, називаються активаторами, а речовини, які знижують активність ферментів – інгібіторами. До активаторів належать чимало іонів: Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} та інші, а також деякі органічні речовини, наприклад, жовчні кислоти є активаторами ліпази.

Інгібітори поділяють на оборотні і необоротні. Оборотні інгібітори бувають конкурентними і неконкурентними. Конкурентні інгібітори – це сполуки, структура яких схожа на структуру субстрату. Через це вони зв'язуються з активним центром ферменту. Неконкурентні інгібітори безпосередньо не взаємодіють з активним центром ферменту. Вони впливають на його структуру опосередковано, приєднуючись до інших частин молекул. Необоротні інгібітори утворюють міцні зв'язки з активним центром ферменту. Їх прикладами можуть бути деякі органічні сполуки і важкі метали.

Запропонований дослід ілюструє дію активатора – натрій хлориду та інгібітора – купрум сульфату на активність амілази. Вплив цих солей на ферментативну активність можна оцінити за ступенем гідролізу крохмалю під дією амілази при наявності NaCl і CuSO_4 .

Слину розведіть у п'ять разів. Візьміть три пробірки. У першу налийте 1 мл води, в другу – 0.8 мл води і 0.2 мл розчину NaCl з масовою часткою $w = 1\%$, в третю – 0.8 мл води і 0.2 мл розчину CuSO_4 з масовою часткою $w = 1\%$. В усі пробірки додайте по 1 мл слини. Розчини перемішайте, додайте в усі по 0.5 мл розчину крохмалю з масовою часткою $w = 0.5\%$, знову перемішайте і поставте у водяну баню з температурою 38°C на 5 хв. Далі в усіх пробірках проведіть пробу на крохмаль. За забарвленням з йодом визначте, до яких продуктів розщепився крохмаль. Запишіть результати спостережень і зробіть висновок щодо впливу NaCl та CuSO_4 на активність амілази.

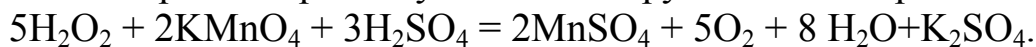
*Лабораторна робота № 7***КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ КАТАЛАЗИ
В РОСЛИННОМУ МАТЕРІАЛІ ПЕРМАНГНАТОМЕТРИЧНИМ
МЕТОДОМ**

У процесі окиснення низки речовин, а також знешкодження супер-оксидного аніон-радикала в рослинних об'єктах утворюється гідроген пероксид. У невеликих кількостях він виконує сигнальні функції, може також брати участь у знищенні патогенних бактерій, процесах зміцнення клітинних стінок тощо, але у великих кількостях H_2O_2 токсичний для рослинного організму. Тому в клітинах існують ферменти знешкодження гідроген пероксиду. Один з основних – каталаза, яка розщеплює гідроген пероксид до води і кисню в реакції самоокиснення-самовідновлення:



Каталаза – двокомпонентний фермент, що складається з білка і простетичної групи – ферумпорфірину. Саме завдяки наявності у каталазі порфірину і здійснюється акт каталізу.

Суть методу аналізу активності каталази полягає у визначенні кількості гідроген пероксиду, що розкладається ферментом, виділеним з певної кількості рослинного матеріалу, за одиницю часу. Гідроген пероксид додають до рослинної проби у надлишку, кількість, що залишається, визначають перманганатометричним титруванням. Паралельно визначають кількість гідроген пероксиду в контрольній пробі, в якій фермент попередньо вбитий сульфатною кислотою. Ферментативну реакцію в дослідних пробах зупиняють через певний час додаванням сульфатної кислоти, яка одночасно інактивує фермент і створює потрібне кисле середовище для перманганатометричного титрування гідроген пероксиду. Реакція титрування йде за рівнянням:

*Виконання роботи**1. Гомогенізація тканини і екстракція ферменту*

Наважку рослинного матеріалу (маса 0.2 г) ретельно гомогенізуйте у фарфоровій ступці з невеликим об'ємом 0.05 М калій натрій фосфатного буферу (рН = 6.8). Розтерту масу кількісно перенесіть у вимірювальну колбу, і доведіть об'єм фосфатним буфером до 25 мл. Гомогенат поставте в холодильник на 30 хв. для повного вилучення розчинної форми каталази (більша частина ферменту представлена саме цією формою). Після екстракції гомогенат центрифугуйте при 8000 g протягом 10 хв.

З центрифужних пробірок обережно декантуйте надосадкову рідину, не допускаючи скаламучування осаду. Цю рідину використовуйте як препарат внутрішньоклітинних форм ферменту.

2. Аналіз активності ферменту

Активність каталази визначають за кількістю гідроген пероксиду, що розкладається під дією ферменту.

Для аналізу в три колби відміряйте по 5 мл екстракту. В першу з них (контрольну) відразу додайте 3 мл розчину сульфатної кислоти з масовою часткою $w = 25\%$ для інактивації ферменту. Далі в усі три колби внесіть по 5 мл розчину H_2O_2 з молярною концентрацією еквівалента 0.1 моль/л. В момент додавання H_2O_2 включайте секундомір. Інкубація – 3 хв (точно). Можна за вказівкою викладача дослідити активність ферменту за час інкубації від 3 до 20 хвилин. Після цього у дослідні колби (2–3-я) додайте по 3 мл розчину сульфатної кислоти з масовою часткою $w = 25\%$ для зупинки реакції.

Після інактивації ферменту кількість гідроген пероксиду, що не розклався, визначте титруванням 0.002 М розчином калій перманганату в кислому середовищі до появи слаборожевого забарвлення. Паралельно титруйте і контрольну суміш, в якій фермент був попередньо інактивованою кислотою. Визначте об'єм у мл розчину калій перманганату, який пішов на титрування гідроген пероксиду у дослідних і контрольних пробах. За різницею між титруванням контрольної і дослідних проб знайдіть кількість KMnO_4 , еквівалентну кількості H_2O_2 .

Активність ферменту розрахуйте за формулою:

$$E = \frac{(V_0 - V_{exp}) \cdot 50 \cdot V}{m \cdot v \cdot t},$$

де E – активність каталази;

V_0, V_{exp} – об'єми KMnO_4 , витрачені на титрування контрольної і дослідних проб відповідно;

50 – коефіцієнт перерахунку на мікромолі H_2O_2 ;

V – загальний об'єм екстракту, мл;

m – наважка рослинного матеріалу, г;

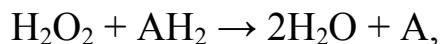
v – об'єм екстракту, взятий для аналізу;

t – час інкубації, хв.

Завдання. Розрахуйте активність ферменту, виміряну після різного часу інкубації реакційної суміші. Побудуйте графік залежності перетвореного субстрату (активності ферменту) від часу інкубації. На осі абсцис відкладіть час (хв.), на осі ординат – величину активності (E – мкмоль H_2O_2 / г (наважки) за 1 хв.). Відмітьте на графіку проміжок часу, впродовж якого швидкість реакції не залежить від часу інкубації і відповідає початковій («істинній») швидкості реакції.

*Лабораторна робота № 8***ВИЗНАЧЕННЯ АКТИВНОСТІ ПЕРОКСИДАЗИ
У РОСЛИННОМУ МАТЕРІАЛІ**

Пероксидаза – фермент з дуже широким спектром функцій, представлений різними формами, що мають неоднакову спорідненість до різних субстратів. Одна з основних функцій пероксидази – знешкодження гідроген пероксиду з одночасним окисненням інших сполук відновників за схемою:



де А і АН₂ – окиснена і відновлена форми відновника.

У ролі відновників можуть виступати глутатіон, аскорбінова кислота, різноманітні фенольні речовини. При окисненні фенольних речовин у клітинних стінках рослин утворюються зшивки між фенольними ядрами, що сприяє зміцненню цих структур і розглядається як механізм формування протиінфекційних бар'єрів. Крім того, пероксидаза при надлишку відновників може брати участь у генеруванні активних форм кисню. У зв'язку з цим, пероксидазу розглядають як фермент, причетний до різноманітних захисних реакцій. Його активність і спектр використовуються як показники стійкості рослин до дії стресорів, у. т. ч. патогенів.

Одним із субстратів пероксидази (відновників, що виступають у ролі донорів гідрогену) є гваякол. Його використовують при визначенні активності пероксидази в рослинних об'єктах. Внаслідок окиснення гваяколу утворюється конденсована сполука коричневого кольору. В основі методу визначення активності пероксидази – зміна оптичної густини розчину, який складається з ферментного препарату, гваяколу і гідроген пероксиду, за одиницю часу. Оптичну густину визначають спектрофотометрично при довжині хвилі 440 нм.

Виконання роботи

У ступці гомогенізуйте 0.1 г проростків пшениці, додавши невелику кількість 0.005 МК, Na⁻ фосфатного буферу (рН 6.2), перенесіть гомогенат у вимірювальний циліндр на 25 мл. Залиште для екстракції на 10 хв. Гомогенат відцентрифугуйте при 1000 g протягом 15 хв. У пробірках розбавте фільтрат буфером у 4 рази і використовуйте як ферментний препарат.

У кювету внесіть автопіпеткою 0.75 мл гваяколу (7 мг/мл), 2.25 мл К, Na⁻ фосфатного буферу (рН = 6.2), 0.75 мл ферментного препарату (фільтрат) і встановіть «0» за шкалою «D». Після цього додайте 0.75 мл Н₂О₂

з масовою часткою $w = 0.5\%$ і увімкніть секундомір. Знімайте показання приладу через кожні 20 с протягом 2 хв. Для розрахунків, як правило, використовують результати за 60 і 120 с.

Розрахуйте активність ферменту за формулою:

$$E = \frac{\Delta D \cdot V_1 \cdot V_2 \cdot P}{V_3 \cdot n \cdot t},$$

де E – активність ферменту (умовн. од./ $(\text{г} \cdot \text{хв})$),

ΔD – зміна оптичної густини за час спостережень (наприклад, за 1 хв),

V_1 – загальний об'єм гомогенату,

V_2 – загальний об'єм розчину в кюветі;

V_3 – об'єм, взятий для аналізу (внесений у кювету),

P – коефіцієнт розбавлення,

n – наважка (г),

t – час (хв).

Лабораторна робота № 9

ВИВЧЕННЯ РЕАКЦІЙ КОМПЛЕКСОУТВОРЕННЯ З НЕОРГАНІЧНИМИ ЛІГАНДАМИ

Мета роботи. Вивчити реакції іонів-біометалів та іонів-токсикантів з неорганічними лігандами.

Виконання роботи

1. Утворення гідроксокомплексів d- і p-елементів

Попередньо треба одержати нерозчинні гідроксиди металів. Для цього в сім пробірок налейте по 1 мл розчину розчинної солі, дотримуючись такого порядку: в першу пробірку – розчин солі феруму(III); в другу – розчин солі цинку, потім солі купруму(II), солі кобальту, солі нікелю, солі плюмбуму(II) і солі алюмінію. В кожну пробірку додайте краплями розбавлений розчин лугу (з концентрацією 0.1 моль/л) до чіткого утворення осаду. *Пам'ятайте, що деякі осади можуть розчинятися у надлишку лугу, тому додавання надлишку лугу на цьому етапі неприпустиме.* Забарвлення утворених осадів відзначте в таблиці:

| Катіон | Колір осаду при додаванні розбавленого розчину лугу | Зміни, що відбулися при додаванні концентрованого розчину лугу | Зміни, що відбулися при додаванні амоніаку |
|------------------|---|--|--|
| Fe^{3+} | | | |
| Zn^{2+} | | | |
| Cu^{2+} | | | |
| Co^{2+} | | | |
| Ni^{2+} | | | |
| Pb^{2+} | | | |
| Al^{3+} | | | |

Потім перевірте можливість утворення гідроксокомплексів. Для цього в кожну з пробірок додайте по 1–2 мл концентрованого розчину лугу. Зміни, які відбулися в пробірках, відзначте в таблиці. Запишіть рівняння реакцій в іонній формі.

2. Утворення амінокомплексів *d*- і *p*-елементів

У шість пробірок налейте по 1 мл розчину кожної солі, дотримуючись такого порядку: в першу пробірку – розчин солі феруму(III); в другу – розчин солі цинку, потім солі купруму(II), солі нікелю, солі плюмбуму(II) і солі алюмінію. В кожну з пробірок додайте по 2 мл концентрованого розчину амоніаку. Вміст пробірок перемішайте. У таблиці відзначте зміни, які відбулися в пробірках. Запишіть рівняння реакцій в іонній формі.

3. Утворення амінокомплексів кобальту

У пробірку налейте 1 мл розчину солі кобальту і додайте 3 мл концентрованого розчину амоніаку. Вміст пробірки перемішайте. У лабораторному журналі відзначайте зміни, що відбуваються. Пробірку залиште в штативі на 30 хв., не перемішуючи її вмісту.

Спостереження та рівняння хімічних реакцій запишіть у лабораторний журнал.

При формулюванні висновків майте на увазі, що утворення стійких гідроксо- та амінокомплексів супроводжується повним розчиненням осаду, що відразу утворюється. Утворення каламутної рідини означає не розчинення, а пептизацію осаду.

Завдання. 1. Назвіть за міжнародною номенклатурою одержані вами комплексні сполуки.

2. Скориставшись довідниковими даними встановіть, які з досліджених вами гідроксо- та амінокомплексів є найміцнішими.

3. Складіть формули досліджених вами комплексних сполук, вкажіть для кожної з них центральний атом, ліганди, координаційне число, зовнішню та внутрішню координаційні сфери. Запишіть рівняння первинної та вторинної дисоціації одержаних вами комплексних солей.

4. Висновки сформулюйте у вигляді таких тез:

- Іони, що утворюють стійкі аміно- і гідроксокомплекси...
- Іони, що утворюють стійкі тільки амінокомплекси...
- Іони, що утворюють стійкі тільки гідроксокомплекси...
- Іони, що не утворюють стійких ні аміно-, ні гідроксокомплексів...

Лабораторна робота № 10

**ВСТАНОВЛЕННЯ КООРДИНАЦІЙНОЇ ФОРМУЛИ СПОЛУК
ЗА ДАНИМИ ЕЛЕКТРИЧНОЇ ПРОВІДНОСТІ**

Комплексний електроліт може дисоціювати на внутрішню та зовнішню сфери. Внутрішня сфера далі незначною мірою переважно постадійно дисоціює. Якщо внутрішня сфера досить стійка, то можливо використати вимірювання електричної провідності свіжоприготованих розчинів досліджуваної сполуки для підтвердження координаційної формули. Раніше було встановлено, що за температури 25 °С гранична молярна електрична провідність водних розчинів координаційних сполук змінюється в межах від 100 до 500 Ом⁻¹·см²·моль⁻¹ залежно від типу електроліту.

Мета роботи. Для низки сполук $\text{CoCl}_3 \cdot 5\text{NH}_3$, $\text{CoCl}_3 \cdot 5\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ і $\text{CoCl}_3 \cdot 4\text{NH}_3$ кондуктометричним методом встановити склад внутрішньої і зовнішньої координаційної сфери.

Виконання роботи:

1. У попередньо відкалібровану за стандартними розчинами калій хлориду кондуктометричну комірку налейте розчинник (воду) так, щоб були повністю занурені електроди, помістіть у водний термостат на 15–20 хвилин та за допомогою кондуктометра або містка змінного струму виміряйте опір розчинника (в Ом) при температурі 25 °С.

2. Приготуйте у мірній колбі 100 мл розчину досліджуваної солі з концентрацією 0.1 моль/л.

3. Методом розбавлення з приготованого розчину приготуйте 15–20 розчинів (за вказівкою викладача) досліджуваної солі в інтервалі концентрацій 0.1 ÷ 0.001 моль/л.

4. Виміряйте опір кожного з розчинів при 25 °С (термостатувати 15–20 хвилин) за допомогою кондуктометра або містка змінного струму. Перед кожним вимірюванням кондуктометричну комірку сполосніть кілька разів невеликою кількістю досліджуваного розчину. Вимірювання починайте від розчину з найменшою концентрацією і закінчуючи розчином з найвищою концентрацією.

5. Експериментальні дані занесіть у таблицю:

| c , моль·дм ⁻³ | \sqrt{c} | R , Ом | κ , Ом ⁻¹ ·см ⁻¹ | λ , Ом ⁻¹ ·см ² ·моль ⁻¹ |
|-----------------------------|------------|----------|---|---|
| | | | | |

Питому електричну провідність κ (в $\text{Ом}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$) розчинника та розчинів розрахуйте за формулою:

$$\kappa = \frac{K}{R},$$

де $K = \frac{l}{s}$, стала кондуктометричної комірки, (де l – відстань між електродами, s – площа електродів) визначається калібруванням за стандартними розчинами калій хлориду;

R – опір досліджуваного розчину в Ом.

Молярну електричну провідність λ (в $\text{Ом}^{-1}\cdot\text{см}^2\cdot\text{моль}^{-1}$) розчину координаційної сполуки визначте за формулою:

$$\lambda = \frac{(\kappa - \kappa_0) \cdot 1000}{c},$$

де c – молярна концентрація розчину в моль/л,

κ , κ_0 – питома електрична провідність розчину та розчинника відповідно.

6. Побудуйте графік залежності $\lambda - \sqrt{c}$.

7. Значення граничної молярної електричної провідності (λ) комплексу знайдіть екстраполяцією концентраційної залежності молярної електричної провідності на нульову концентрацію.

8. Визначте тип електроліту та склад внутрішньої і зовнішньої сфери комплексу.

Лабораторна робота № 11

МОДЕЛЮВАННЯ КОНКУРЕНЦІЇ РЕАКЦІЙ КОМПЛЕКСОУТВОРЕННЯ. ПРОСТІ ТА СУМІСНІ ЛІГАНДОБМІННІ РІВНОВАГИ

Мета роботи. Вивчити реакції іонів біометалів та іонів токсикантів з органічними лігандами, а також сумісні лігандообмінні рівноваги, що моделюють конкуренцію реакцій комплексоутворення.

Виконання роботи

1. Вивчення впливу природи розчинника на стійкість комплексного іона

У пробірку налийте 1 мл солі кобальту(II) ($c = 0.2$ моль/л), додайте 2–3 мл насиченого розчину калій тіоціанату. Запишіть забарвлення утвореної сполуки. Розчин розділіть порівну у дві пробірки. В одну з них додайте такий же об'єм води, а в другу – такий самий об'єм ізоамілового спирту. Відзначте зміни кольору в кожному випадку, після чого сформулюйте висновок.

2. Вивчення конкуруючих реакцій комплексоутворення

а) Конкуренція за іон феруму(III). У три пробірки налийте по 1 мл ферум(III) хлориду ($c(\text{FeCl}_3) = 0.2$ моль/л). В одну з пробірок додайте 1 мл дистильованої води, в другу – 1 мл насиченого розчину калій фториду, в третю – 1 мл насиченого розчину калій тартрату. Вміст пробірок перемішайте і в кожен з них додайте по 5 крапель насиченого розчину калій тіоціанату. Запишіть спостереження у вигляді таблиці:

| Пробірка | Доданий реагент | Колір вмісту пробірки | Формула утвореної сполуки |
|----------|-----------------|-----------------------|---------------------------|
| 1 | Вода | | |
| 2 | Калій фторид | | |
| 3 | Калій тартрат | | |

Калій тартрат є двозарядним аніоном винної кислоти

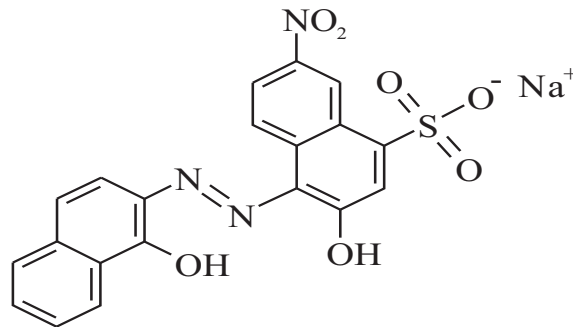
$\text{HOOC}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{OH})-\text{COOH}$; у даних умовах виявляє себе як тридентантний ліганд. При складанні формул утворених сполук майте на увазі, що координаційне число іона феруму дорівнює 6.

б) Конкуренція за іон кальцію

У пробірку помістіть 10 крапель розчину кальцій хлориду ($c(\text{CaCl}_2) = 0.2$ моль/л), додайте 1.5 мл амонійного буферного розчину ($\text{pH} = 9$) та кілька дрібок еріохрому чорного Т. Вміст пробірки перемішайте та відзначте колір утвореної сполуки. Розчин розділіть на дві частини: одну з них залиште для порівняння, а до другої додайте краплями розчин

натрій ЕДТА ($c(\text{NaEDTA}) = 0.01$ моль/л) до зміни кольору. Спостереження запишіть у лабораторний журнал.

Еріохром чорний Т належить до так званих металоіндикаторів, здатних утворювати забарвлені комплексні сполуки з багатьма металами. Структурний фрагмент цієї сполуки можна представити так:

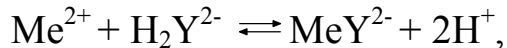


Схематично взаємодію іона металу з металоіндикатором можна зобразити:



де X^{3-} – аніон, до складу якого входить наведена вище група атомів.

Схематично взаємодію іона металу з натрій ЕДТА можна зобразити:



де Y^{4-} – аніон ЕДТА.

Завдання.

Поясніть спостереження з позицій теорії сумісних рівноваг і конкуруючих процесів.

Відзначте:

- об'єкт конкуренції;
- конкуруючі між собою частинки;
- конкуруючі між собою процеси (запишіть рівняння хімічних реакцій);
- висновок про переважаючий напрям перебігу процесу.

3. Вивчення впливу рН на склад комплексної сполуки

У три пробірки налейте по 3 мл буферних розчинів з рН 1.0; 2.5; 7.4. До кожного розчину додайте 3 краплі розчину солі феруму(III) ($c = 0.2$ моль/л) і по 2 краплі насиченого розчину натрій саліцилату. Відзначте колір утворених сполук. Запишіть формули утворених комплексних сполук і вкажіть їх константи нестійкості. Зробіть висновок про вплив рН середовища на склад комплексної сполуки.

Лабораторна робота № 12

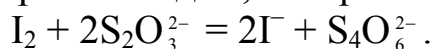
**ВИЗНАЧЕННЯ КІНЕТИЧНИХ ХАРАКТЕРИСТИК РЕАКЦІЇ
ОКИСНЕННЯ ІОНІВ І ГІДРОГЕН ПЕРОКСИДОМ**

Мета роботи. Ознайомитися при самостійній навчально-дослідній роботі з визначенням константи швидкості, порядку та енергії активації хімічної реакції.

Завдання. Дослідити кінетику реакції окиснення І гідроген пероксидом при різних температурах.

Гідроген пероксид у кислому середовищі повільно окиснює іони йоду:
$$2\text{I}^- + \text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{I}_2 + 2\text{H}_2\text{O}.$$

У реакції беруть участь три види частинок і в реакційній суміші можуть змінюватися концентрації всіх цих частинок. Але кислота додається в суміш у великому надлишку і тому $c(\text{H}^+)$ може вважатися сталою. Крім того, при досліді періодично додають натрій тіосульфат, який реагує з утвореним йодом, повертаючи іони І у початковий стан:



Тому концентрація І також залишається практично сталою. Таким чином, змінними величинами залишається час t і концентрація гідроген пероксиду. Підбираючи далі кінетичне рівняння для розрахунку константи швидкості, визначаємо конкретно порядок реакції за гідроген пероксидом та константу швидкості. Ця константа залежить від концентрації калій йодиду і називається *експериментальною константою швидкості* k_{exp} . Для визначення залежності k_{exp} від концентрації І слід проводити досліди при різних концентраціях КІ. Це може бути виконано іншими студентами за вказівкою викладача. Після узагальнення даних, одержаних всіма студентами групи, можна обчислити істинну константу швидкості.

Для визначення енергії активації проводять дослід з таким же складом розчину при температурі на 10–12 градусів вище.

Реакція каталізується амоній молібдатом. Це використовується для швидкого доведення реакції до кінця після проведення заданого числа вимірювань. Якщо каталізатор додавати в суміш у дуже малих кількостях, то можна кількісно вивчити його вплив на швидкість реакції.

Виконання експерименту

1. Приготування реакційної суміші

Бюретку наповніть розчином натрій тіосульфату ($c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0.05$ моль/л). У мірний циліндр налейте від 20 до 50 мл розчину калій йодиду ($c(\text{KI}) = 0.03$ моль/л) (за вказівкою викладача) і додайте дистильованої води до загального об'єму 50 мл (якщо взято 50 мл розчину KI, то воду не додають). Розчин перенесіть у ретельно вимиту конічну колбу. Туди ж додайте 5 мл сульфатної кислоти ($c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1.0$ моль/л) із мірної пробірки, 4–5 крапель крохмалю і рівно 1 мл натрій тіосульфату з бюретки. Приготуйте секундомір. Для початку реакції залишилося лише додати гідроген пероксид.

2. Проведення вимірювань

З окремої бюретки до вмісту колби додайте 5.0 мл розчину гідроген пероксиду ($c(\text{H}_2\text{O}_2) = 0.15$ моль/л), енергійно перемішайте і поставте під бюреткою з $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Реакція розпочалась. Однак для точного визначення нульового часу реакції секундомір вмикайте в момент появи забарвлення розчину в синій колір. У цей момент повністю прореагував з йодом натрій тіосульфат, що містився в 1.0 мл доданого з бюретки розчину. Не гаючи часу, із бюретки додавайте ще 1.0 мл розчину натрій тіосульфату і перемішуйте. Забарвлення зникає. Продовжуйте спостерігати за розчином і записуйте показники секундоміра в момент наступної появи забарвлення. Секундомір при цьому краще не тримати в руках, щоб раптово його не вимкнути. Знову додайте 1.0 мл розчину $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ і повторіть всі дії. Слід виконати не менш п'яти відліків за секундоміром. Після цього додайте 3–5 крапель концентрованого розчину каталізатора і дотитруйте вміст колби натрій тіосульфатом до того часу, доки синє забарвлення перестане з'являтися. Запишіть кінцеве показання бюретки, яке позначається як V_0 . Від початку дослідів і до його останнього відліку розчин у бюретку не доливати!

Результати вимірювань занесіть у таблицю:

| Об'єм розчину V_t $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, що вступив у реакцію до моменту часу t , мл | Моменти часу появи забарвлення, t | | $k_{exp} = \frac{1}{t} \ln \frac{V_0 - 1}{V_0 - V_t}$ | Примітки |
|--|-------------------------------------|-----------------------|---|----------|
| | За секундоміром | Переведення в секунди | | |
| 1 | 0 | 0 | – | |
| 2 | | | | |
| 3 | | | | |
| і т.д. | | | | |
| V_0 | | | | |

Умови проведення досліду: $t, ^\circ\text{C} = \dots$, $c(\text{KI}) = \dots$, $c(\text{H}^+) = \dots$,
 $c_0(\text{H}_2\text{O}_2) = \dots$

3. Проведення досліду при підвищеній температурі

При вивченні залежності швидкості реакції від температури треба проводити дослід не менш, ніж при двох температурах. Згідно з правилом Вант-Гоффа, достатня зміна швидкості реакції відбувається при підвищенні температури на ~ 10 градусів.

Приготуйте таку ж суміш, як і в першому досліді. Перед тим, як додавати гідроген пероксид колбу помістіть у водяну баню, нагріту до температури на 2–3 градуси вище, ніж потрібно для проведення досліду. У колбу опустіть термометр, і коли він покаже потрібну температуру, додайте гідроген пероксид. Вимірювання проводьте так, як і в першому досліді. Не допускайте сильного відхилення температури від заданої величини! Результати запишіть в таку ж таблицю, як і в першому досліді.

4. Проведення досліду в присутності каталізатора

У суміш реагуючих речовин до початку реакції додайте від 1 до 4 крапель розбавленого розчину амоній молібдату ($c(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} = 0.0025$ моль/л) як каталізатора. Вимірювання проводьте так, як і в першому досліді, однак слід враховувати, що реакція відбувається швидше, і треба встигати з додаванням 1 мл натрій тіосульфату до виділення такої кількості йоду, яка не повністю прореагує з цим тіосульфатом. Тоді синє забарвлення не зникне. Результати відліків занесіть у таблицю, вкажіть в умовах досліду, скільки додано каталізатора.

Обробка результатів дослідження

Експериментальну константу швидкості розрахуйте за кінетичним рівнянням 1-го порядку. Для спрощення обчислень відношення концентрацій під знаком логарифму можна замінити відношенням об'ємів, одержавши таким чином формулу, наведену в таблиці результатів експерименту. Відповідність використаного рівняння реальному порядку реакції узгоджується сталістю розрахованих значень констант швидкості з урахуванням можливого в експерименті розмаху результатів. Розрахуйте середнє значення константи швидкості. Сталу концентрацію Γ , при якій проведено дослід, розрахуйте за рівнянням:

$$c(I^-) = \frac{cV}{\sum V},$$

де

c і V – концентрація і об'єм вихідного розчину KI.

Для подальшої обробки результатів візьміть значення k_{exp} , одержані іншими студентами групи при інших початкових умовах. Ці дані занесіть до таблиці:

| Дослід | $c(\text{KI})$, моль/л | Температура, K | Концентрація каталізатора $c((\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24})$, моль/л | k_{exp} , с^{-1} |
|--------|-------------------------|------------------|---|------------------------------------|
| | | | | |

За даними таблиці побудуйте графік залежності k_{exp} від концентрації калій йодиду. Якщо отримаєте пряму лінію, тоді визначте тангенс кута нахилу до осі c . Він дорівнює константі швидкості 2-го порядку:

$$k = \frac{k_{\text{exp}}}{c(I^-)}.$$

Енергію активації розрахуйте за рівнянням:

$$E_a = \frac{R \ln \frac{k_2}{k_1}}{\left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right)}.$$

Залежність k_{exp} від концентрації каталізатора також представте у вигляді графіка. Концентрацію каталізатора розрахуйте за формулою:

$$c((\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}) = \frac{V_k n c}{\sum V},$$

де

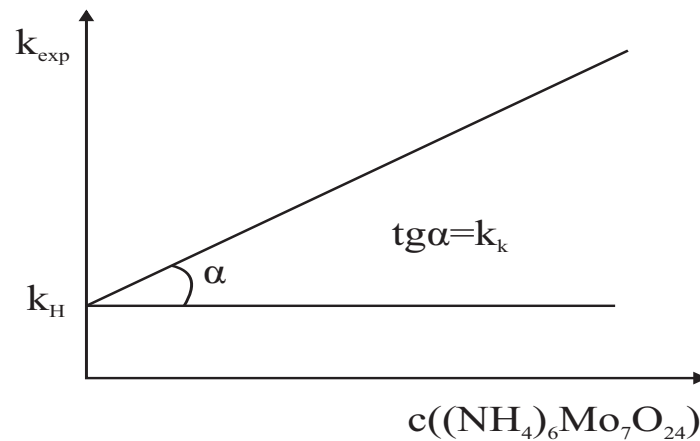
V_k – об'єм однієї краплі розчину каталізатора;

n – число крапель каталізатора;

c – концентрація вихідного розчину амоній молібдату;

$\sum V$ – загальний об'єм приготовленої суміші.

При задовільних результатах визначення k_{exp} можна одержати пряму лінію.



Перетин її з вертикальною віссю дає відрізок, який дорівнює константі швидкості реакції без участі каталізатора. Тангенс кута нахилу прямої дорівнює швидкості реакції за участю каталізатора. Експериментальна концентрація каталізатора дуже мала, і k_k іноді може бути дуже великою величиною. Із графіка випливає також, що одночасно відбуваються як каталітична, так і не каталітична реакції.

Зробіть висновок про порядок реакції за концентраціями реагуючих речовин. Запишіть кінцеве кінетичне рівняння реакції.

Лабораторна робота № 13

ВИЗНАЧЕННЯ ПОРЯДКУ І КОНСТАНТИ ШВИДКОСТІ РЕАКЦІЇ РОЗКЛАДАННЯ ГІДРОГЕН ПЕРОКСИДУ В ПРИСУТНОСТІ КОМПЛЕКСОНАТУ ФЕРУМУ(III)

Мета роботи. Набути навички визначення кінетичних характеристик реакцій.

Завдання. Дослідити кінетику розкладу гідроген пероксиду при наявності комплексонату феруму(III).

Гідроген пероксид – термодинамічно нестійка речовина, яка повільно розкладається на воду і кисень. Реакція розкладання прискорюється різними гомогенними і гетерогенними каталізаторами: іонами багатьох металів, манган(IV) оксидом, ферментом каталазою в клітинах. В активному центрі каталази міститься атом Феруму. Тому є цікавим вивчити розкладання гідроген пероксиду, використовуючи як **модель каталази** комплексну сполуку феруму. Наприклад, каталітичну активність виявляє етилендіамінтетраацетат феруму(III), який у лужному середовищі має склад $[\text{FeY}(\text{OH})]^{2-}$, де Y^{4-} – залишок етилендіамінтетраоцтової кислоти $(\text{OOCCH}_2)_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COO})_2^{4-}$. Механізм розкладання H_2O_2 за участю цього каталізатора включає приєднання пероксидної групи HO_2^- до феруму з утворенням аналога фермент-субстратного комплексу. Ферум при перенесенні електрона від одного атома O_2^{2-} до іншого по чергові то окиснюється, то відновлюється. Швидкість реакції пропорційна як концентрації гідроген пероксиду, так і концентрації каталізатора. При підвищенні концентрації іонів H^+ каталізатор поступово переходить у неактивну форму, внаслідок чого швидкість реакції обернено пропорційна концентрації H^+ . Отримуємо кінетичне рівняння:

$$v = -\frac{dc(\text{H}_2\text{O}_2)}{dt} = k c(\text{H}_2\text{O}_2)c(\text{FeY}(\text{OH}))^{2-}/c(\text{H}^+),$$

справедливість якого треба довести при експерименті. Під час окремого дослідження концентрації іонів гідрогену і каталізатора не змінюються, завдяки чому можна встановити порядок реакції за H_2O_2 . У дослідженнях при різних концентраціях каталізатора визначається залежність за останнім. Вимірювання при досліді проводяться при періодичному відборі проб та йодометричному визначенні гідроген пероксиду.

Виконання експерименту

У лабораторному журналі підготуйте таблицю для запису результатів дослідів:

| Проба | Час взяття проби, t | | Результати титрування, $V(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$, мл | $k_{\text{exp}} = \frac{1}{t} \ln \frac{V_0}{V}$, с^{-1} |
|-------|-----------------------|-----------------------|--|--|
| | За секундоміром | Переведення в секунди | | |
| 0 | | | | |
| 1 | | | | |
| 2 | | | | |

Бюретки місткістю 25 мл заповніть буферним розчином (суміш, що містить 3.2 моль/л амоніаку і 0.8 моль/л NH_4Cl) та розчином комплексонату феруму(III) (суміш рівних об'ємів $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$ з концентрацією 0.025 моль/л, натрій етилендіамінтетраацетату з концентрацією 0.05 моль/л і амоніаку, що додається до досягнення $\text{pH} = 8-9$). Мікробюретку місткістю 5 мл заповніть розчином натрій тіосульфату ($c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0.05$ моль/л). У шість колб для титрування мірним циліндром або піпеткою внесіть по 2 мл сульфатної кислоти ($c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 0.8$ моль/л) і 1 мл розчину калій йодиду з масовою часткою $w=5\%$; із крапельниці додайте по 2 краплі розчину амоній молібдату ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$) з масовою часткою $w = 10\%$.

Для проведення кінетичного дослідження в стакан внесіть 40 мл розчину гідроген пероксиду ($c(\text{H}_2\text{O}_2) = 0.013$ моль/л) з мірного циліндру, 6.0 мл буферного розчину і 4.0 мл розчину комплексонату феруму(III) із бюреток. Можна за вказівкою викладача взяти інші об'єми каталізатора від 3 до 8 мл. Розчин швидко перемішайте. Відзначайте зміни забарвлення, що спостерігаються. Перелийте розчин у бюретку місткістю 50 мл і встановіть рівень розчину на ціле число мілілітрів. Після цього відмірте в приготовлену колбу для титрування нульову пробу об'ємом 5.0 мл і включіть секундомір. Потім з інтервалом 5–7 хв. в інші п'ять колб відмірте такі ж проби, кожного разу записуючи час взяття проби за секундоміром.

У взятих пробах розчину йод, що виділився, титруйте розчином натрій тіосульфату (як в йодометрії). Запишіть затрачений об'єм титранту в таблицю.

Обробка результатів експерименту

Затрачений об'єм титранту пропорційний концентрації гідроген пероксиду в пробах. Цей об'єм підставте в рівняння для розрахунку константи швидкості 1-го порядку (остання колонка в таблиці). Обчисліть середнє значення константи швидкості. Якщо інші студенти проводили дослід з різними об'ємами доданого каталізатора, то побудуйте графік залежності константи швидкості від концентрації каталізатора та обчисліть константу при $c(\text{каталізатора}) = 1$ моль/л.

*Лабораторна робота № 14***ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ НІТРОГЕН(II) ОКСИДУ
У РОСЛИННОМУ МАТЕРІАЛІ**

Нітроген(II) оксид є важливим сигнальним посередником у клітинах тварин і рослин. Відомо, що у рослин нітроген(II) оксид як сигнальна молекула може індукувати ферментні системи, що генерують активні форми кисню, зокрема, гідроген пероксид. З іншого боку, гідроген пероксид, вміст якого в рослинних клітинах підвищується за дії певних стресових чинників, фітогормонів, може посилювати утворення нітроген(II) оксиду. Припускають, що NO і H₂O₂ у клітинах рослин і тварин перебувають у складній функціональній взаємодії, механізми якої досі не відомі.

Зміни вмісту нітроген(II) оксиду в рослинних тканинах можуть бути маркером стресових реакцій. Відомо, що кількість нітроген(II) оксиду може підвищуватися під впливом екзогенних сполук, які виконують роль сигнальних посередників і здатні індукувати різноманітні фізіологічні реакції, результатом яких може бути підвищення неспецифічної стійкості рослин до різноманітних несприятливих чинників – низьких і високих температур, посухи, дії солей, патогенних грибів тощо.

Мета роботи. Опанувати метод визначення вмісту нітроген(II) оксиду в рослинних тканинах і вивчити вплив обробки екзогенним гідроген пероксидом на вміст NO в коренях проростків пшениці.

Хід роботи. Для проведення досліду використовуйте етіюльовані проростки пшениці (*Triticum aestivum* L.), вирощеної на очищеній водопровідній воді при температурі 20–22 °C у чашках Петрі. Тридобові проростки дослідного варіанта інкубуйте протягом доби на 10 мМ розчині гідроген пероксиду. Контрольні проростки в цей час продовжуйте інкубувати на воді.

Через добу від початку впливу H₂O₂ визначте вміст NO в коренях проростків, які більш чутливі до зовнішніх впливів порівняно з пагонами. Наважку рослинного матеріалу масою 1 г на льоду гомогенізуйте в ацетатному буфері з концентрацією 50 ммоль/л (рН = 3.6) з додаванням цинк ацетату з масовою часткою $w = 2\%$ (кінцевий об'єм гомогенату 15 мл). Гомогенат центрифугуйте при температурі не вище 4 °C за 8000 g протягом 15 хвилин, потім до 10 мл супернатанту додайте 250 мг деревного вугілля. Суміш відфільтруйте через паперовий фільтр, після чого змішайте 2 мл фільтрату з 1 мл реактиву Грісса з масовою часткою $w = 1\%$

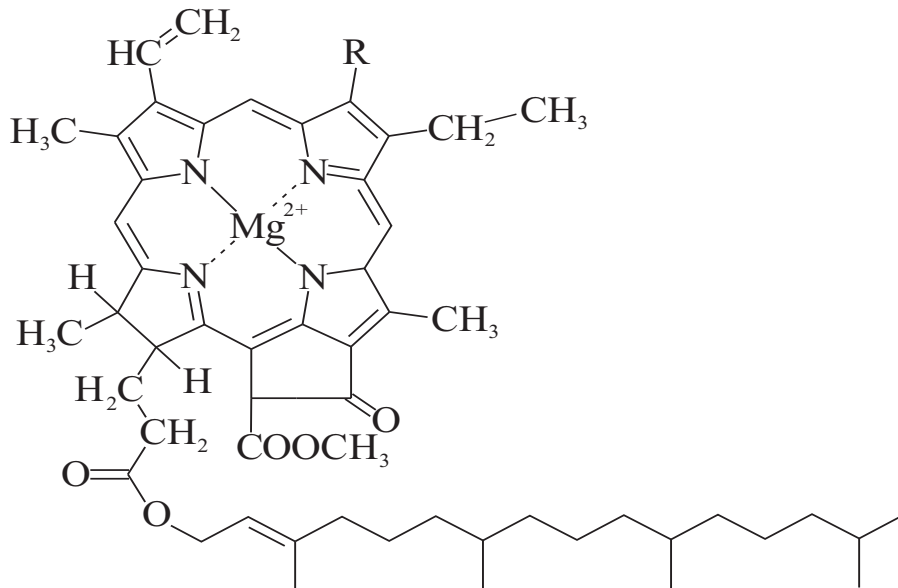
в оцтовій кислоті з масовою часткою $w=12\%$. Через 30 хвилин з використанням спектрофотометра визначте світлопоглинання розчину на довжині хвилі 530 нм. Як стандарт використовуйте розчини натрій нітриту.

Завдання. Визначте вміст NO в коренях контрольних проростків і оброблених гідроген пероксидом. Зробіть висновок про вплив екзогенного гідроген пероксиду на вміст нітроген(II) оксиду.

Лабораторна робота № 15

ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ХЛОРОФІЛУ

За хімічною природою хлорофіли *a* і *b* – складні ефіри дикарбонової кислоти хлорофіліну та двох спиртів – метанолу й одноатомного ненасиченого спирту фітолу. Тому за хімічною номенклатурою їх можна визначити як фітилметилхлорофіліди.



Хлорофіл *a*: R = CH₃;

Хлорофіл *b*: R = CHO.

Структурною основою молекули хлорофілу є порфіринове ядро, утворене чотирма пірольними кільцями, зв'язаними одне з одним метиновими містками. У центрі ядра міститься атом магнію, що утримується у цьому положенні за рахунок зв'язків з атомами Нітрогену. Чотири атоми Нітрогену надають ядру відносно гідрофільного характеру. Важлива структурна особливість хлорофілу – наявність в його молекулі ізоциклічного угруповання – циклопентану. Отже, асиметрична молекула хлорофілу містить гідрофільну «голівку» і ліпофільний «хвіст», представлений довгим ланцюгом фітолу. Такий розподіл на гідрофільну і гідрофобну частини важливий для просторової фіксації молекули хлорофілу в ламелах гран.

Циклічна система кон'югованих подвійних зв'язків порфірину та іон магнію визначають фотохімічну активність пігменту.

Хід роботи. Одержання спиртового розчину (витяжки) пігментів.

Зазвичай пігменти з зелених листків рослин вилучають полярними органічними розчинниками – етанолом або ацетоном, що руйнують

зв'язки хлорофілів з ліпопротеїдами пластид і тим самим забезпечують їх повне екстрагування.

Для одержання витяжки пігментів використовують як сирий, так і сухий матеріал. 0,5–1 г сирих листків необхідно подрібнити ножицями, відкинувши великі жилки, помістити в ступку, додати на кінчику шпателя кальцій карбонату (для нейтралізації кислот клітинного соку) і розтерти, приливаючи невелику кількість етанолу. Розтерту масу перенести у лійку з фільтром, рештки маси змити зі ступки і товкачика спиртом (загальний об'єм до 15 мл). Фільтрат, що містить пігменти, використовувати у подальших дослідах.

Одержання феофітину і зворотне заміщення гідрогену атомом металу.

Іон магнію порівняно слабо утримується у порфіриновому ядрі хлорофілу і при обережному впливі сильних кислот легко заміщується двома протонами з утворенням феофітину буро-оливкового кольору.

Для проведення реакції у дві пробірки візьміть 2–3 мл витяжки пігментів і додайте в кожен по 1–2 краплі хлоридної кислоти з масовою часткою $w = 10\%$ і перемішайте. Опишіть спостереження і запишіть рівняння реакції.

Одну пробірку з отриманим феофітином залиште для контролю, а у другу внесіть кілька кристалів купрум ацетату і підігрійте розчин на водяній бані до кипіння. Опишіть спостереження, відзначивши забарвлення продукту реакції. Запишіть рівняння реакції.

Омилення хлорофілу лугом.

Впливаючи на хлорофіл лугами, можна викликати омилення ефірних груп, тобто відокремлення залишків метанолу і фітону. Сіль хлорофілінової кислоти, що утворюється при цьому, зберігає зелене забарвлення й оптичні властивості хлорофілу, але відрізняється від нього більшою гідрофільністю.

У пробірку з 2–3 мл спиртового розчину пігментів прилийте 1 мл розчину натрій гідроксиду з масовою часткою $w = 20\%$ і перемішайте. Поставте суміш на водяну баню. Коли розчин закипить, пробірку одразу дістаньте і охолодіть. До охолодженого розчину додайте однаковий об'єм бензину і кілька крапель води для кращого розділення суміші. Вміст пробірки різко струсіть і дайте відстоятися.

У бензиновий шар переходять оранжевий каротин і жовті ксантофіли, що містяться у витяжці з листків поряд з хлорофілами, а у нижній спиртовий шар – натрієва сіль хлорофілінової кислоти. Запишіть реакцію її утворення з хлорофілу.

Лабораторна робота № 16

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ ХЛОРОФІЛІВ І КАРОТИНОЇДІВ У РОСЛИННОМУ МАТЕРІАЛІ

Хлорофіл і каротиноїди – найважливіші компоненти фотосинтетичного апарату листків. Їх вміст залежить від фізіологічного стану рослинного організму і від його генетичної природи. Цей показник вважається інформативним у фізіології рослин. Він може бути важливим і для характеристики якості рослинної сировини, що використовується в фармації.

Для вилучення пігментів найчастіше використовують етиловий спирт і ацетон. Пігменти зазвичай екстрагують зі свіжого матеріалу. Витяжку використовують для кількісного аналізу за допомогою спектрофотометра або фотоелектроколориметра.

Хід роботи. Наважку листків певного ярусу масою 0.1 або 0.2 г перемішайте у фарфоровій ступці з додаванням невеликої кількості кальцій карбонату і розітріть з 2–3 мл спирту або ацетону. До розтертої маси додайте 4–5 мл екстрагенту і знову розітріть кілька хвилин. Розтерту масу злийте у лійку зі скляним фільтром і відфільтруйте під вакуумом у колбу Бунзена або у градуйовану вакуумну пробірку. Екстракцію невеликими порціями розчинника повторюйте до повного вилучення пігментів (знебарвлення рослинної маси). Після цього зафіксуйте об'єм екстракту і виміряйте його оптичну густину на спектрофотометрі за довжиною хвиль, що відповідають максимумам поглинання хлорофілів a і b у червоній частині спектра і за довжиною абсорбційного максимуму каротиноїдів. Положення максимумів залежить від природи розчинника. Для розрахунків використовуйте формули:

для 100 % ацетону:

$$c_{\text{хл. } a} = 9.784D_{662} - 0.990D_{644};$$

$$c_{\text{хл. } b} = 21.426D_{644} - 4.650D_{662};$$

$$c_{\text{хл. } a + \text{хл. } b} = 5.134D_{662} + 20.436D_{644};$$

$$c_{\text{кар.}} = 4.695D_{440,5} - 0.268c_{\text{хл. } a + \text{хл. } b};$$

Для 96 % розчину етанолу:

$$c_{\text{хл. } a} = 13.70D_{665} - 5.76D_{649};$$

$$c_{\text{хл. } b} = 25.80D_{649} - 7.60D_{665};$$

$$c_{\text{хл. } a + \text{хл. } b} = 6.10D_{665} + 20.04D_{649}.$$

де $c_{\text{хл. } a}$, $c_{\text{хл. } b}$, $c_{\text{хл. } a + \text{хл. } b}$ та $c_{\text{кар.}}$ – відповідно концентрації хлорофілів a і b , їх суми і каротиноїдів, мг/мл; D – експериментально отримані величини оптичної густини за відповідних довжин хвиль.

Перед вимірюванням ознайомтеся з інструкцією до спектрофотометра.

Вміст хлорофілу в масі рослинного матеріалу x (на один грам матеріалу) визначте за формулою

$$x = c_{\text{хл.}} V / m,$$

де $c_{\text{хл.}}$ – концентрація хлорофілу a чи b , їх суми або каротиноїдів, мг/мл;

V – об'єм, мл;

m – маса рослинного матеріалу, г.

Вміст хлорофілу в масі рослинного матеріалу зазвичай визначають у мг/г або у відсотках.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ахметов Н. С. Общая и неорганическая химия / Н. С. Ахметов. – М.: Высш. шк., 2005. – 743 с.
2. Барашков Г. К. Медицинская бионеорганика. Основы, аналитика, клиника / Г. К. Барашков. – М.: БИНОМ, 2011. – 512 с.
3. Биологические аспекты координационной химии / Под ред. К. Б. Яцимирского. – К.: Наукова думка, 1979. – 266 с.
4. Дятлова Н. М. Комплексоны и комплексонаты металлов // Н. М. Дятлова, В. Я. Темкина, К. И. Попов. – М.: Химия, 1988. – 544 с.
5. Ершов Ю. А. Механизмы токсического действия неорганических соединений / Ю. А. Ершов, Т. В. Плетнева. – М.: Медицина, 1989. – 272 с.
6. Загальна та біонеорганічна хімія / О. І. Карнаухов, Д. О. Мельничук, К. О. Чеботько, В. А. Копілевич. – Вінниця : Нова книга, 2003. – 544 с.
7. Кабата-Пендиас А. Микроэлементы в почвах и растениях. / А. Кабата-Пендиас, Х. Пендиас. – М.: Мир, 1989. – 439 с.
8. Карнаухов А. И. Бионеорганическая химия / А. И. Карнаухов А. Т. Безнис. – К.: Вища школа, 1992. – 223 с.
9. Колупаєв Ю. Є. Біоорганічна та біонеорганічна хімія: Агроекологічні і фітофізіологічні аспекти / Ю. Є. Колупаєв. – Х.: Харк. держ. аграрн. ун-т, 2000. – 304 с.
10. Логинова Н. В. Бионеорганическая химия: металлокомплексы в медицине / Н. В. Логинова. – Минск: БГУ, 2000. – 227 с.
11. Методы и достижения бионеорганической химии / Под ред. К. Мак Олифф. – М.: Мир, 1978. – 416 с.
12. Неорганическая биохимия: в 2 кн. / Под ред. Г. Эйгорна. – М.: Мир, 1978. – Кн. 1. – 711 с.; Кн 2. – 736 с.
13. Уильямс Д. Металлы жизни / Д. Уильямс. – М.: Мир, 1975. – 236 с.
14. Хухрянский В. Г. Химия биогенных элементов / В. Г. Хухрянский, А. Я. Цыганенко, Н. В. Павленко. – К.: Вища школа, 1984. – 176 с.
15. Хьюи Дж. Неорганическая химия / Дж. Хьюи. – М.: Мир, 1987. – 696 с.
16. Цитович И. К. Курс аналитической химии / И. К. Цитович. – М.: Высшая школа, 1985. – 400 с.
17. Яцимирский К. Б. Введение в бионеорганическую химию / К. Б. Яцимирский. – К.: Наукова думка, 1976. – 143 с.
18. Яцимирский К. Б. Проблемы бионеорганической химии / К. Б. Яцимирский. – М.: Знание, 1976. – 63 с.
19. Bioinorganic Chemistry. 72. Structure and Bonding / Editors: M. J. Clarke, J. V. Goodenough, J. A. Ibers, C. K. Jorgensen et al. – Springer Verlag Berlin Heidelberg, 1990. – 230 p.
20. Inorganic Biochemistry / An Introduction J. A. Cowan. – VCN Publishers, 1993. – 349 p.

ДОДАТОК

Приготування деяких реактивів

Калій дигідростибіат. До 1 л киплячої води додають 22 г KH_2SbO_4 і кип'ять до розчинення солі. Розчину дають постояти до наступного дня і фільтрують.

Натрій гексанітритокобальтат(III). Розчиняють окремо 6 г $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ в 5 мл дистильованої води і 15 г NaNO_2 в 50 мл води. Охолоджені розчини зливають, додають при перемішуванні 5 мл розчину оцтової кислоти з масовою часткою $w = 50\%$ і залишають на 24 години, поки не припиниться виділення нітроген оксидів. Після цього розчин фільтрують і зберігають у склянці з добре притертою пробкою. Перед застосуванням розчин розбавляють водою в п'ять разів (розбавлений розчин швидко псується через розкладання реактиву).

Дипікриламін. Наважки 3 г дипікриламіну і 1.3 г магній оксиду переносять у мірну колбу ємністю 100 мл. У колбу до половини наливають дистильовану воду, ретельно струшують і доливають дистильованою водою до мітки. Приготований реактив відстоюють 15–20 годин і після цього розчин фільтрують.

Еріохром. Змішують 0.25 г індикатору з 50 г сухого натрій хориду, попередньо ретельно розтертого в ступці.

Мурексид. Змішують 0.5 г індикатору з 100 г сухого натрій хлориду, попередньо ретельно розтертого в ступці.

Алізарин S. 0.1 г реактиву $\text{C}_{15}\text{H}_5\text{O}_2(\text{OH})_2\text{SO}_3\text{Na}$ розчиняють у 10 мл 0,1 н. розчину NaOH і розбавляють водою до 100 мл.

Алюмініон. 0.50 г алюмініону розчиняють у 125 мл нагрітої до кипіння дистильованої води, розчин охолоджують до кімнатної температури і додають 125 мл розбавленого ацетатного буферного розчину. Розчин алюмініону готовий до використання відразу. У темній герметично закритій склянці він стійкий при зберіганні в холодильнику не більше трьох місяців.

Оксихінолін. Розчиняють 5 г оксихіноліну в 12 г льодяної оцтової кислоти і розбавляють дистильованою водою до 100 мл.

Молібденова рідина. Розчиняють 150 г амоній молібдату в 1 л води, розчин вливають в 1 л HNO_3 (густина 1.2 г/мл) (не навпаки!). Білий осад молібдатної кислоти, що спочатку утворився, розчиняється. Розчин залишають на 48 год. Якщо при цьому випав осад, то обережно декантують.

Реактив Фоля. До розчину плюмбум ацетату з масовою часткою $w = 5\%$ додають однаковий об'єм розчину NaOH з масовою часткою $w = 30\%$ до розчинення утвореного осаду.

Плюмбум ацетат. Щоб приготувати 0.25 М розчин, у дистильованій воді розчиняють 94.8 г $Pb(CH_3COO)_2 \cdot 3H_2O$, додають кілька крапель оцтової кислоти і доводять дистильованою водою об'єм розчину до 1 л.

Амоній карбонат. 96 г солі розтирають у дрібний порошок, який розчиняють у 300 мл 2 М розчину $NH_3 \cdot H_2O$, і доводять дистильованою водою об'єм розчину до 1 л.

Реактив Люголя. 2 г калій йодиду розчиняють у 300 мл дистильованої води, в отриманому розчині розчиняють 1 г кристалічного йоду; реактив зберігають у посуді з темного скла.

Фелінга реактив – суміш однакових об'ємів розчину купрум сульфату з масовою часткою $w = 7\%$ і розчину сегнетової солі з масовою часткою $w = 34.6\%$ у розчині їдкою натру з масовою часткою $w = 10\%$. Сегнетова сіль – тетрагідрат подвійної натрієво-калієвої солі винної кислоти $NaKC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$ (калій-натрій тартрат).

Розчин крохмалю. У фарфоровій ступці розтирають 1 г крохмалю з невеликою кількістю холодної води. Суспензію наливають невеликими порціями в 100 мл киплячої дистильованої води і кип'ятять протягом кількох хвилин до утворення прозорого розчину, після чого охолоджують.

Натрій сульфід. Розчиняють 240 г $Na_2S \cdot 9H_2O$ і 20 г NaOH у дистильованій воді і доводять дистильованою водою об'єм розчину до 1 л (концентрація приготовленого розчину – 1 моль/л).

Станум(II) хлорид. Щоб приготувати 0.25 М розчин, до 56.6 г $SnCl_2 \cdot 20H_2O$ додають 20 мл концентрованої хлоридної кислоти та 200 мл дистильованої води. Якщо залишається нерозчинний осад, то з нього зливають розчин, в який поміщають шматочок металічного олова і доводять дистильованою водою об'єм розчину до 1 л.

Аміачний буферний розчин (pH 9.5 – 10.0). 20 г амоній хлориду розчиняють у 200–300 мл дистильованої води в мірній колбі місткістю 1 л, додають 100 мл концентрованого розчину амоніаку і доводять об'єм розчину дистильованою водою до мітки. Зберігати розчин слід у щільно закритому посуді.

Ацетатний буферний розчин (pH 3.6 – 5.6)

Розчини:

А – 0.5 М CH_3COOH (30 мл льодяної оцтової кислоти долити до 970 мл дистильованої води);

Б – 0.5 М CH_3COONa (68 г солі розчинити в 1 л дистильованої води).

Для отримання 200 мл буферного розчину необхідного рН потрібно злити розчини А і Б у кількостях:

| рН | 3.6 | 3.8 | 4.0 | 4.2 | 4.4 | 4.6 | 4.8 | 5.0 | 5.2 | 5.4 | 5.6 |
|-------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Об'єм розчину, мл | | | | | | | | | | | |
| А | 185 | 176 | 164 | 147 | 126 | 102 | 80 | 59 | 42 | 29 | 19 |
| Б | 15 | 24 | 36 | 53 | 74 | 98 | 120 | 141 | 158 | 171 | 181 |

Фосфатний буферний розчин (рН 6.0 – 8.0)

Розчини:

А – KH_2PO_4 з концентрацією $c = 0.2$ моль/л (13.6 г солі в 1 л дистильованої води);

Б – Na_2HPO_4 з концентрацією $c = 0.2$ моль/л (31.2 г $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ в 1 л дистильованої води).

Для отримання 100 мл буферного розчину необхідного рН потрібно злити розчини А і Б у кількостях:

| рН | 6.0 | 6.5 | 7.0 | 7.2 | 7.4 | 7.6 | 8.0 |
|-------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| Об'єм розчину, мл | | | | | | | |
| А | 87.9 | 68.7 | 48.8 | 27.4 | 18.2 | 11.5 | 3.1 |
| Б | 12.1 | 31.3 | 51.2 | 72.6 | 81.8 | 88.5 | 96.9 |