

світлопропускання (чорного кольору).

9. Відкрийте штору і обертайте лівого барабану встановить стрілку мікроамперметру на "0";

10. Повертаючи рукоятки замініть кювету з досліджуваним розчином на кювету з контрольним розчином (холоста проба). При цьому, стрілка мікроамперметру зміщується. Повертаючи правий барабан, знову виведіть стрілку на "0" (лівий барабан залишається у тому самому положенні).

11. Використовуючи шкалу правого барабану (нанесену червоним кольором), здійсніть відлік показника оптичної щільності досліджуваного розчину з урахуванням оптичної щільності розчинника при цьому ж світлофільтрі.

12. Виміри проведіть по три рази, данні запишіть до лабораторного зошиту.

Під час вимірювань барабани слід підводити до потрібного показника кожного разу з однієї і тієї ж сторони, щоб виключити люфт в механізмі. По закінченню роботи закрийте штору, вимкніть електроживлення, вийміть кювети, промийте їх дистильованою водою, висушіть та приберіть у футляр.

Завдання 2. Побудова калібрувального графіку та розрахунок концентрації досліджуваної речовини

Визначте на ФЕК-56М оптичну щільність (або коефіцієнт пропускання) кожної з десяти калібрувальних пробірок, підібравши кювети та світлофільтр. До контрольної кювети налейте по черзі, починаючи з самої прозорої, всі десять досліджуваних зразків. На підставі отриманих даних побудуйте калібрувальний графік, відкладаючи на горизонтальній вісі (вісь Х) відому концентрацію, а по вертикальній осі (вісь Y) - отримані значення оптичної щільності (або коефіцієнту пропускання). Вихідні данні для побудови графіка в представлені в таблиці:

Вихідні данні для побудови калібрувального графіку		
Номери пробірок з калібрувальними речовинами	Концентрація речовини у калібрувальному розчині, мг/мл	Показник оптичної щільності (або коефіцієнту пропускання, %)

Отримавши зразок розчину з невідомою концентрацією, визначте її вміст за допомогою калібрувального графіку.

Проведення розрахунків: вміст у розчині досліджуваної речовини (мг/л) розраховують за формулою:

$$C = \frac{1000 \cdot \alpha}{10}$$

де α - кількість речовини, визначене за допомогою калібрувальної кривої, мг/мл.

Після проведення вимірювань, результати запишіть у висновках.

Контрольні запитання:

1. Для чого необхідно будувати калібрувальний графік?
2. Перерахуйте основні елементи фотоелектроколориметру;
3. На якому принципі базується визначення концентрації речовини у досліджуваній розчині за допомогою фотоелектроколориметру?
4. Наведіть приклади застосування фотоелектроколориметру?

ТЕМА №10. ВИЗНАЧЕННЯ ІЗОЕЛЕКТРИЧНОЇ ТОЧКИ ЖЕЛАТИНИ

Мета роботи: навчитися визначати ізоелектричну точку біополімерів за допомогою капілярного віскозиметру та фотоелектроколориметру.

Прилади та обладнання: віскозиметр, фотоелектроколориметр, кювети, піпетки, фільтрувальний папір, пробірки з розчинами желатину, розчини кислоти та лугу.

Теоретичні відомості

Біополімери - природні високомолекулярні сполуки (ВМС). Розчини ВМС являють собою гомогенні системи, являючись істинними розчинами, де зв'язані частки не містять ядер, а представлені макромолекулами - молекулами гігантських розмірів.

Розчини ВМС утворюються мимовільно зі зменшенням вільної енергії, вони являють собою термодинамічно стійкі системи, здатні існувати без стабілізатора необмежений час у великих великих масових і значних молярних концентраціях. Розчини ВМС, подібно до розчинів низкомолекулярних з'єднань, можуть бути і молекулярними, і йонними, причому в останньому випадку природа зарядів пов'язана з наявністю функціональних груп.

Більшість біомакромолекул, такі як амінокислоти та білки, за своєю природою є амфотерними, оскільки вони містять як кислотні, так і лужні функціональні групи. Загальний заряд білку визначається бічними групами амінокислот, які можуть бути позитивно- або негативно-зарядженими, нейтральними або полярними. Загальний заряд білку при рН, який є нижчим ізоелектричної точки є позитивним. І навпаки - загальний заряд білку є негативним за умов, коли показник рН вище ізоелектричної точки.

Безпосередньо у самій ізоелектричній точці сума позитивних зарядів на білковій молекулі дорівнює сумі негативних. Тому, будучи поміщена у електричне поле така молекула не рухається.

Доказом наявності заряду у часточки ВМС є її поведінка при проведенні електрофорезу: заряджена частинка, яка присутня у розчині, під дією електричних сил рухається в сторону електроду протилежного знаку. Для білків між зарядом молекул та електрофоретичною рухливістю існує

пряма пропорційна залежність в широкому проміжку рН. У кислому середовищі, коли в результаті надлишку йонів водню пригнічена йонізація карбоксильних груп, молекула білку поводить себе як основа, набуває позитивний заряд і під час електрофорезу рухається до катода.

У лужному середовищі, навпаки, пригнічена йонізація аміногруп, і молекула білку поводить себе як кислота і під час електрофорезу переміщується до аноду.

У ізoeлектричному стані властивості розчинів білків різко змінюється: при цьому вони мають найменшу в'язкість, погану розчинність. При значенні рН, близькому до ізoeлектричної точки, різноманітні заряджені групи -NH₃⁺ та COO⁻ притягуються один до одного і нитка білка закручується у спіраль.

Молекули ВМС у розгорнутому стані надають розчинам більш високу в'язкість, ніж молекули ВМС, згорнуті у спіраль або клубок.

Завдання 1. Визначити ізoeлектричну точку желатину віскозиметричним методом

В'язкість свіжоприготованого 1 % розчину желатину вимірюють за допомогою віскозиметра капілярного типу. Для цього в чотири пронумеровані колби або стаканчики місткістю 50 мл внесіть по 25 мл свіжоприготованого розчину желатину. Потім додайте 0,1 розчину HCl (або NaOH) згідно таблиці:

№ колби	Об'єм 0,1 М розчину HCl, мл	Об'єм 0,1 М розчину NaOH, мл	рН розчину	Час витікання для розчину води Q ₀ , с	Час витікання для розчину желатину, Q, с	$\frac{Q}{Q_0} - 1$	$\frac{1}{\eta_{\text{пнт}}}$
1	2,35	-	3				
2	0,32	-	5,1				
3	-	0,15	7				
4	-	1,99	11				

Після перемішування розчинів (без збовтування) їх витримують 10 хв. за кімнатної температури, після чого приступити до вимірювання часу протікання дистильованої води і розчинів желатину.

Розрахуйте питому в'язкість ($\eta_{\text{пнт}}$) розчинів за формулою:

$$\eta_{\text{пнт}} = \eta_0 \times Q_0 / Q. \quad (\eta_0 = 1,1)$$

Результати необхідно занести до таблиці. Побудуйте графік залежності $\eta = f(\text{pH})$, за яким знайдіть ізoeлектричну точку та поясніть форму отриманої кривої.

Завдання 2. Визначення ізoeлектричної точки желатину за допомогою фотоелектроколориметру

У пронумеровані колби (1 - 9) внесіть по 10 мл відфільтрованого розчину желатину, після чого додайте розчини хлоридної кислоти, лугу і води відповідно до таблиці:

Об'єми реагентів для визначення ізoeлектричної точки желатину									
№ колби	1	2	3	4	5	6	7	8	9
V(HCl), мл	10	4	1	0,5					
V(KOH), мл						1	3	6	10
V(H ₂ O), мл		6	9	9,5	10	9	7	4	

Потім, за допомогою фотоелектроколориметру із світлофільтром №3 ($\lambda = 400 \text{ nm}$) визначити оптичну щільність D розчинів.

Каламутність розчинів вираховувати за формулою:

$$\tau = \frac{2,3D}{l}$$

Отримані дані занесіть до таблиці та використовуючи ці дані побудуйте графік залежності каламутності розчину від рН:

№ колби	рН розчину	Оптична щільність (D)	Каламутність розчину (τ, cm^{-1})
1	1,8		
2	2,67		
3	4,75		
4	5,31		
5	6,5		
6	7,45		
7	8,02		
8	9,77		
9	10,21		

Отримані результати запишіть у вигляді висновків.

Контрольні запитання:

- Охарактеризуйте поняття "ізоелектрична точка"?
- Вкажіть, яке значення має визначення ізоелектричної точки для біомакромолекул?
- Перерахуйте основні етапи визначення ізоелектричної точки желатину;
- Чому ізоелектричну точку для желатину можна визначити за допомогою віскозиметру та фотоелектроколориметру?